



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CAMPUS I  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS - CCT  
CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL**

**JADE MARINHO GONÇALVES**

**TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM BEBIDA  
LÁCTEA FERMENTADA ADICIONADA DE PRODUTOS DA CASCA DA  
JABUTICABA E UMA CULTURA COMERCIAL POTENCIALMENTE PROBIÓTICA**

**CAMPINA GRANDE  
2017**

**JADE MARINHO GONÇALVES**

**TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM BEBIDA  
LÁCTEA FERMENTADA ADICIONADA DE PRODUTOS DA CASCA DA  
JABUTICABA E UMA CULTURA COMERCIAL POTENCIALMENTE PROBIÓTICA**

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

Orientadora:  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Flávia Carolina Alonso Buriti  
Coorientadora:  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> 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.

G635t Gonçalves, Jade Marinho.  
Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em bebida láctea fermentada adicionada de produtos da casca da jabuticaba e uma cultura comercial potencialmente probiótica [manuscrito] : / Jade Marinho Goncalves. - 2017.  
61 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. Myrciaria cauliflora. 2. Probióticos. 3. Fenólicos totais. 4. Capacidade antioxidante.

21. ed. CDD 660



**JADE MARINHO GONÇALVES**

**TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM BEBIDA  
LÁCTEA FERMENTADA ADICIONADA DE PRODUTOS DA CASCA DA  
JABUTICABA E UMA CULTURA COMERCIAL POTENCIALMENTE PROBIÓTICA**

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

Aprovada em: 12/12/2017.

**BANCA EXAMINADORA**

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

Eliane Rolim Florentino  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Eliane Rolim Florentino  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)  
(Co-orientadora)

Adriana Valéria Guimarães  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Adriana Valéria Arruda Guimarães  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)  
(Examinadora)

Maria Roberto de Oliveira Pinto  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Maria Roberto de Oliveira Pinto  
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)  
(Examinadora)

Ao meu pai, pela dedicação, esforço,  
companheirismo e amizade, DEDICO.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus pelas oportunidades que a mim foram dadas, por toda proteção e toda força para superar as dificuldades do caminho e permanecer firme no foco do objetivo.

À Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), pela oportunidade de realização do curso de Química Industrial, assim como ao Departamento de Química do Centro de Ciências e Tecnologia (CCT), ao Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos (NUPEA), ao Laboratório de Genética - Departamento de Biologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) e ao Núcleo de Estudos em Genética e Educação (NEGE) pela colaboração para a pesquisa de conclusão de curso.

À minha orientadora Flávia Carolina, que me deu todo suporte necessário, e, com muita dedicação, me conduziu no caminho da pesquisa tornando-me apta a atuar como profissional.

A todos os professores que me lecionaram durante todo o meu percurso acadêmico na Universidade Estadual da Paraíba.

À CAPES que me abriu as portas para a oportunidade de ter a experiência da realização de um intercâmbio no exterior, onde pude agregar conhecimentos e crescer como pessoa e como profissional.

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.

À minha família que, sempre presente, me dá todo amor e amparo. Meu pai Ednaldo, que sempre me apoiou, me motivou e se esforçou para me ajudar no que quer que eu precise. Minha mãe Telma, que sempre, com carinho, me amou e se preocupou com a minha formação moral. E minha avó Zezé, que é a luz da minha vida.

Àos meus amigos de pesquisa Anderson, Juliana, Ana Paula, Beatriz e Hilthon, que me ajudaram com o trabalho realizado e compartilharam de experiências engrandecedoras durante todo o trajeto.

Aos técnicos e estagiários do NUPEA.

A meu grande amigo Rafael, que sempre esteve ao meu lado, com muita paciência, cuidado e carinho.

À todos os amigos que fiz durante toda a trajetória no curso de Química Industrial.

E, por fim, à todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

## RESUMO

A jabuticaba, da espécie *Myrciaria cauliflora*, é uma fruta que apresenta grande quantidade de antioxidantes em sua composição. Este fruto é consumido *in natura* e também aproveitado para a elaboração de sucos, compotas, doce, geleias, bebidas entre outros. Dessa forma, pode-se empregar a jabuticaba na produção de bebidas lácteas com a finalidade de minimizar os custos de produção, aumentar seu valor nutritivo, suas características sensoriais, bem como também atribuir funcionalidade a este produto. Probióticos são adicionados especialmente em elaborações lácteas e a subsistência desses microrganismos pode ser bem maior quando ingredientes abundantes em compostos fenólicos são integrados na formulação. O objetivo deste trabalho foi investigar o teor de compostos fenólicos, assim como a capacidade antioxidante de uma bebida láctea fermentada com o microrganismo *Streptococcus thermophilus* TA-40, adicionada da cultura potencialmente probiótica de *Lactobacillus rhamnosus* LR32 e produtos da casca de jabuticaba. Foram realizadas as comparações desta bebida com uma bebida controle, sem a presença do microrganismo probiótico *L. rhamnosus*, sendo elaborada somente com o microrganismo *S. thermophilus* os produtos da casca. Embora não significativa ( $p > 0,05$ ), houve uma tendência de aumento do teor de fenólicos totais e do sequestro de radicais 1,1-difenil-2-picrilidrazil (DPPH) nas bebidas adicionadas do microrganismo probiótico. Quanto aos resultados de  $EC_{50}$ , que é a quantidade de bebida láctea necessária para reduzir a absorbância inicial em 50% (neste trabalho expresso como a quantidade de bebida necessária para a captura de 1g de radicais DPPH), verificou-se que a bebida probiótica diferiu significativamente da bebida controle aos 7 dias de armazenamento ( $p < 0,05$ ). Ao longo de 21 dias de armazenamento, houve uma tendência de menores valores de  $EC_{50}$  para a formulação com o probiótico. Tais resultados indicam que o produto probiótico apresenta uma possível vantagem em relação ao produto controle, uma vez que seria necessária uma menor quantidade desse produto para a captação de maior quantidade de radicais livres.

**Palavras chave:** *Myrciaria cauliflora*. *Lactobacillus rhamnosus*. Fenólicos totais. Capacidade antioxidante.

## ABSTRACT

The jaboticaba, of the *Myrciaria cauliflora* species, is a fruit that shows a composition rich in antioxidants. This fruit is consumed *in natura* and is also used for the elaboration of juices, pastes, jams, jellies, beverages among others. Due to this fact, the jaboticaba could be used in the production of dairy beverages in order to minimize the production costs, to increase its nutritional value and its sensorial features, as well as to attribute functionality to this product. Probiotics are added especially in dairy formulations and the subsistence of these microorganisms may be much higher when ingredients abundant in phenolic compounds are present in the formulation. The aim of this study was to investigate the content of phenolic compounds as well as the antioxidant capacity of a dairy beverage fermented with the starter microorganism *Streptococcus thermophilus* TA-40, the potentially probiotic culture of *Lactobacillus rhamnosus* LR32 used as adjunct and added of products of processed with the jaboticaba peel. This beverage was compared with a control beverage, not added of the probiotic microorganism, only with the *S. thermophilus* microorganism and the jaboticaba products. Although not significant ( $p > 0.05$ ), there was a trend of an increasing in the total phenolic content and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH) scavenging activity in the beverages containing the probiotic microorganism. Regarding the  $EC_{50}$  results, which is the amount of dairy beverage required to reduce the initial absorbance by 50% (in this study expressed as the amount of beverage required to scavenge 1 g DPPH radicals), it was found that the probiotic beverage differed from the control at 7 days of storage ( $p < 0.05$ ). Over 21 days of storage, there was also a trend of lower  $EC_{50}$  values for the formulation with the probiotic. These results indicate that the probiotic product has a possible advantage over the control product, since a smaller amount of this product would be necessary for the scavenging activity of a more free radicals concentration.

**Key words:** *Myrciaria cauliflora*. *Lactobacillus rhamnosus*. Total phenolics. Antioxidant capacity.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	11
1.1	Objetivos.....	13
1.1.1	<i>Objetivo geral</i> .....	13
1.1.2	<i>Objetivos específicos</i> .....	13
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	15
2.1	Jaboticaba.....	15
2.2	Alimentos funcionais .....	17
2.3	Probióticos.....	19
2.4	Bebida lacteal à base de soro .....	23
2.5	Radicais livres e antioxidantes .....	27
2.6	Compostos fenólicos.....	29
2.7	Métodos para a quantificação de antioxidantes .....	33
3	METODOLOGIA .....	35
3.1	Obtenção dos frutos e resíduos da jaboticaba.....	35
3.2	Preparo do extrato aquoso.....	35
3.3	Preparo do extrato hidroalcoólico .....	35
3.4	Preparo da geleia da casca de jaboticaba.....	36
3.5	Preparo da calda de casca de jaboticaba.....	37
3.6.	Desenvolvimento das bebidas lácteas fermentadas.....	37
3.6.1	<i>Preparo da base láctea</i> .....	37
3.6.2	<i>Processo de fermentação</i> .....	38
3.6.3	<i>Produção da bebida láctea cremosa fermentada probiótica</i> .....	38
3.7.1	<i>Preparação dos reagentes</i> .....	39
3.7.1.1	<i>Metanol acidificado 0,01 mol L<sup>-1</sup></i> .....	39
3.7.1.2	<i>Metanol acidificado 9,4 mmol L<sup>-1</sup></i> .....	40
3.7.1.3	<i>Solução de ácido gálico</i> .....	40
3.7.1.4	<i>Carbonato de sódio a 30%</i> .....	40
3.7.1.5	<i>Solução de DPPH 0.1 nmol L<sup>-1</sup></i> .....	40
3.7.2	<i>Curvas de calibração</i> .....	41
3.7.2.1	<i>Preparo dos padrões da curva</i> .....	41
3.7.2.2	<i>Determinação da curva do DPPH</i> .....	41
3.7.3	<i>Obtenção dos extratos da amostra</i> .....	41

## SUMÁRIO

3.7.4.1	<i>Análise de compostos fenólicos totais</i> .....	42
3.7.4.2	<i>Análise de DPPH</i> .....	42
3.7.4.2.1	Cálculo do sequestro de radicais DPPH.....	43
3.7.4.2.2	Obtenção do EC <sub>50</sub> .....	43
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	45
5	<b>CONCLUSÃO</b> .....	48
	<b>REFERENCIAS</b> .....	49

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é grande produtor de frutas e hortaliças e o desenvolvimento de técnicas de preservação desses vegetais, maximizando seus componentes nutricionais e propriedades sensoriais, é uma forma de viabilizar o aproveitamento racional desses produtos (ANDRADE, 2003).

O fruto da jabuticaba tem origem no centro sul do Brasil, com concentração de produção nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Espírito Santo (OLIVEIRA et al., 2003). Com casca vermelha púrpura, polpa branca mucilaginosa e agridoce, a jabuticaba é muito saborosa, podendo conter até quatro sementes em seu interior. É um fruto extremamente perecível, com período de comercialização pós-colheita em torno de três dias (LIMA et al., 2008). Esse elevado grau de perecibilidade é devido ao alto teor de açúcares e água contidos em sua polpa (ASCHERI; ASCHERI; CARVALHO, 2006). Por consequência disso, é comercializada geralmente na forma de geléias (LIMA et al., 2008). Entre as espécies comerciais de jabuticaba hoje em dia conhecidas, destacam -se a *Myrciaria cauliflora* (Mart.)

O. Berg. e a *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg. A espécie *M. Jaboticaba*, conhecida como Sabará, uma das mais cultivadas no Brasil, possui os frutos mais próprios para consumo *in natura*, assim como para a industrialização (DONALDIO, 2000). Dessa forma, a jabuticabeira é uma frutífera de forte interesse para os produtores rurais de muitas regiões brasileiras devido à alta produtividade, rusticidade e aproveitamento dos frutos das mais variadas maneiras. A partir da jabuticaba também pode -se produzir sucos, fermentados, compotas, licor e vinagre (ANDERSEN, 1989; BRUNINI et al., 2004).

A jabuticaba é um fruto tropical que possui um enorme valor nutricional, por conter um alto teor de carboidratos, fibras, vitaminas, flavonoides, além de sais minerais como ferro, cálcio e fósforo principalmente em sua casca (ASCHERI; ASCHERI; CARVALHO, 2006). Segundo esse elevado valor nutricional também se dá em razão da presença relevante de compostos fenólicos em sua composição (LIMA et al., 2008). Tais compostos são responsáveis essenciais pela capacidade antioxidante dos frutos, agindo na prevenção do estresse oxidativo e nos processos de inibição de algumas

doenças e processos inflamatórios em humanos (ROCHA et al., 2011; SOUSA; VIEIRA; LIMA, 2011).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas, que englobam uma vasta diversidade de estruturas, diferenciando entre si, em relação a estruturas químicas, complexidade e reatividade. Esses compostos podem ser separados em dois grupos: os flavonoides e os não flavonoides (SHAHIDI; NACZK, 1995; TEIXEIRA et al, 2011). Os compostos fenólicos colaboram para o sabor, odor e coloração de diversos vegetais, sendo inúmeras vezes usados como corantes de bebidas (AHERNE; O'BRIEN, 2002; SIMÕES et al., 2001). Além do mais, compostos fenólicos são primordiais para o crescimento, reprodução das plantas, e ajudam também para o aumento da resistência do vegetal perante situações de estresse, protegendo contra a ação de predadores e microrganismos patógenos, de reações oxidativas e da ação da luz ultravioleta (UV) (SHAHIDI; NACZK, 1995; TEIXEIRA, 2011).

Estudos epidemiológicos propõem que um elevado consumo de alimentos abundantes em antioxidantes naturais aumenta a capacidade antioxidante do plasma e diminui o risco de algumas doenças, como câncer, acidente vascular cerebral, doenças coronarianas e algumas doenças relacionadas à idade (ARTS; HOLLMAN, 2005; GREENWALD et al., 2001; HEBER, 2004; JOSHIPURA et al., 1999; ROUANET et al., 2010; SERAFINI, 2006; STAHL; SIES, 2005; TEIXEIRA, 2011).

Alimentos que contribuem para a redução do risco de doenças são conhecidos por alimentos funcionais. Considera-se que os alimentos funcionais (*in natura* ou produtos alimentícios) devem apresentar em sua composição alguma substância biologicamente ativa que, ao ser integrada numa dieta usual, modula processos metabólicos ou fisiológicos, resultando em diminuição do risco de doenças e manutenção da saúde (FAGUNDES; COSTA, 2003; RODRIGUEZ; MEGÍAS, 2003).

Dentre os alimentos funcionais, destacam-se os probióticos. Estes são definidos como alimentos ou suplementos contendo microrganismos vivos que colaboram no melhoramento do equilíbrio da microbiota intestinal (WORLD HEALTH ORGANIZATION; FOOD AND AGRICULTURE

ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2006; HILL et al., 2014; MORAIS; JACOB, 2006).

O emprego de microrganismos probióticos, em conjunto com a adição da polpa da jabuticaba, à bebidas lácteas fermentadas, tem como objetivo agregar valor nutritivo ao produto, fazendo com que este seja um alimento funcional, agindo de maneira que venha a trazer resultados benéficos ao organismo e conseqüentemente à saúde do consumidor.

Dessa forma, o presente trabalho estuda a quantificação de compostos fenólicos totais presentes em bebidas lácteas fermentadas com probióticos durante sua vida de prateleira.

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.1 Objetivo geral**

O objetivo geral do presente trabalho foi investigar a influência da adição da polpa da jabuticaba e de uma cultura potencialmente probiótica sobre os parâmetros de atividade antioxidante em bebida láctea.

### **1.1.2 Objetivos específicos**

Foram objetivos específicos deste trabalho:

- a) investigar a influência da polpa de jabuticaba em conjunto com o microrganismo probiótico sobre a concentração de compostos fenólicos totais da bebida;
- b) investigar a influência da polpa de jabuticaba em conjunto com o microrganismo probiótico sobre a capacidade de captação de radicais 1,1-difenil-2-picrilhidrazila (DPPH);

- c) quantificar a concentração de bebida láctea fermentada responsável pela metade da resposta antioxidante máxima ( $EC_{50}$ ) expressa em g de bebida láctea/g de DPPH.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Jabuticaba

Segundo Guedes (2009) e Luna et al. (2005), a fruticultura é a área que mais se expande no contexto da agricultura brasileira. Está em constante desenvolvimento, quando relacionadas às novas opções de cultivo, tanto pela procura por parte dos produtores, como pela busca de novas opções de frutas pelos consumidores, ajudando para o crescimento de produção e mercado (ANDRADE et al., 2008; GUEDES, 2009).

A jabuticabeira que faz parte da família das mirtáceas, é uma planta oriunda do Brasil, proveniente da região de Minas Gerais (MORTON 1987; SILVEIRA et al., 2006). Atualmente encontra-se abundantemente distribuída na maioria das regiões brasileiras (GOMES 1980; LORENZI 1992; SILVEIRA et al., 2006), desde o Estado do Pará até o Rio Grande do Sul; entretanto, é nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo que ocorrem as maiores produções (BRUNINI et al., 2004; LIMA, 2002; SOUZA, 2014). Também é cultivada em outros países como Bolívia, Argentina, Uruguai e Peru (GOMES, 1980; LORENZI, 1992; SILVEIRA et al., 2006).

Em geral, as jabuticabeiras são árvores de tamanho médio (de 3 a 15 m de altura) de grande rusticidade e longevidade (OLIVEIRA, 2016; SASSO, 2009). Sua madeira apresenta elevada dureza, sendo utilizada no preparo de vigas, esteios, dormentes e outras obras. Porém, é necessário um longo período para que elas possam dar seus primeiros frutos que se formam diretamente no tronco. Estes frutos, que são muito apreciados também por pássaros e animais silvestres, são do tipo baga globosa de até 3 cm de diâmetro, com casca preta-avermelhada, variedades verde-claras e verde-bronzeadas e com listras roxas ou vermelhas (GOMES, 1987; LIMA, 2009).

Os frutos da jabuticabeira, que possuem polpa suculenta geralmente doce, são consumidos, principalmente *in natura*, sendo muito apreciadas na forma de licor, geleia e aguardente (CARVALHO, 2013; LORENZI et al., 2006). Sua polpa é rica em vitamina C e minerais, especialmente potássio e cálcio (SOUZA, 2016; TEIXEIRA et al., 2011) e apresenta comumente uma única semente, podendo, entretanto, possuir até quatro (GOMES, 1987; LIMA, 2009). A casca da jabuticaba é adstringente,

utilizada contra diarreia e irritações de pele, sendo também indicada na medicina popular contra asma, inflamação dos intestinos e hemoptise (HERBÁRIO, 2006; LIMA, 2009). Na Figura 1 é apresentada uma foto dos frutos de jabuticaba, sua polpa em fruto recém aberto e suas sementes.

Figura 1 – Frutos de jabuticabeira, polpa e sementes.



Fonte: Temporada (2012).

Segundo Ascheri et al. (2006) e Boesso (2014), a jabuticaba é um fruto tropical de grande valor nutricional, devido à sua fonte considerável de carboidratos, fibras alimentares, vitaminas e sais minerais como ferro, cálcio e fósforo, bem como possui elevado teor de água. Na Tabela 1 é apresentada a composição média os frutos da jabuticaba *in natura*.

Tabela 1 – Composição por 100 g de jabuticaba *in natura*.

<b>Componentes</b>	<b>Teor (g 100 g<sup>-1</sup>)</b>
Umidade (%)	83,60
Energia (kcal)	58,00
Proteína (g)	0,60
Lipídeos (g)	0,10
Carboidrato (g)	15,30
Fibra alimentar (g)	2,30
Cinzas (g)	0,40
Cálcio (mg)	8,00
Ferro (mg)	0,10
Fósforo (mg)	15,00
Potássio (mg)	130,00
Vitamina C (mg)	16,20

Fonte: Universidade Estadual de Campinas (2011).

Essa abundância em constituintes nutricionais também está relacionada à presença de compostos fenólicos, especialmente em sua casca (LIMA et al., 2008; SOUZA, 2016), que compreendem uma concentração 25 vezes maior que a sua polpa. Os flavonoides, que apresentam propriedades antioxidantes, são os fenólicos mais importantes presentes na jabuticaba (SIMÕES et al., 2000).

As duas espécies mais importantes de jabuticaba são *Myrciaria jaboticaba* (jabuticaba Sabará), possuindo frutos pequenos de pedúnculo escuro, e *Myrciaria cauliflora* (jabuticaba paulista), com frutos grandes e sésseis (GOMES, 1983; JESUS et al., 2004). Todavia, a jabuticabeira “Sabará” é evidenciada por ser a mais conhecida, apreciada e comercializada no Brasil (RAMOS, 2016; SASSO, 2009).

Pesquisas apontaram que o fruto completo da jabuticaba apresenta atividade antioxidante e conteúdo significativo de antocianinas, sendo estes os pigmentos responsáveis por uma variedade de cores atrativas e brilhantes de frutas, flores e folhas que variam do vermelho vivo ao violeta e azul, os quais também são apontados como grande benfeitor da saúde das artérias. Na jabuticaba, as antocianinas apresentam maior concentração na casca (HERBÁRIO, 2010; MOURA, 2016).

As características sensoriais da jabuticaba são um atrativo que expande o potencial de venda, especialmente em mercados que procuram novidades em época de escassez de outros frutos. Ela também pode ser utilizada pela indústria farmacêutica e pela alimentícia, além dos produtos anteriormente citados, em razão do alto teor de substâncias antioxidantes (DANNER et al., 2006; SOUZA, 2016).

## **2.2 Alimentos funcionais**

Em geral, alimentos funcionais são todos os alimentos ou bebidas que, consumidos na alimentação cotidiana, podem trazer benefícios fisiológicos específicos, graças à presença de ingredientes fisiologicamente saudáveis (CÂNDIDO, CAMPOS, 2005; MORAES, COLLA, 2006). As afirmações, segundo a AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2016), podem relatar o papel fisiológico do nutriente ou não nutriente no crescimento, desenvolvimento e nas funções normais do organismo. Essas alegações podem, além disso, fazer referência à manutenção geral da saúde e à redução do risco de doenças.

Os alimentos de competência da ANVISA que conduzem essas afirmações 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)

Os alimentos funcionais originaram-se de um ponto de vista de alimentos, novo para aquela época, lançado pelo Japão na década de 1980, a partir de um programa de governo que tinha como propósito desenvolver alimentos saudáveis para uma população que envelhecia e apresentava uma elevada expectativa de vida (ANJO, 2004).

Há vários anos, é de consenso que para um alimento ser considerado funcional ele precisa, além de fornecer a nutrição básica, também promover a saúde (OLIVEIRA et al., 2002; SANDERS, 1998), podendo afetar benéficamente uma ou mais funções alvo no corpo (MORAES, COLLA, 2006; ROBERFROID, 2002). Também é consenso que esses alimentos devam ser potencialmente capazes de promover a saúde a partir de mecanismos não esperados pela nutrição convencional, podendo-se enfatizar que esse efeito limita-se à promoção da saúde e não à cura de doenças (OLIVEIRA, et al., 2002; SANDERS, 1998).

Portanto, os alimentos funcionais necessitam apresentar propriedades benéficas além das nutricionais básicas, contidos na forma de alimentos comuns. Os alimentos funcionais são consumidos em dietas convencionais, mas demonstram aptidão em regularizar funções corporais de forma a ajudar na proteção contra doenças como hipertensão, diabetes, câncer, osteoporose e coronariopatias (MORAES; COLLA, 2006; SOUZA, et al., 2003).

Os alimentos funcionais provêm a oportunidade de combinar produtos comestíveis de fácil mudança de sua formulação com moléculas biologicamente ativas, como estratégia de correção de distúrbios metabólicos (MORAES, COLLA, 2006; WALZEM, 2004). Entretanto, é necessário salientar que eles não podem ser destinados ao tratamento de doenças agudas ou à utilização de cuidados paliativos (JONES, 2002).

Os alimentos e ingredientes funcionais são classificados de duas maneiras: quanto à fonte, de origem vegetal ou animal, ou quanto aos benefícios que oferecem, agindo 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).

Um fator importante na avaliação de alimentos funcionais é a biodisponibilidade dos antioxidantes presentes, que é considerado como um fator chave na atividade biológica de substâncias no trato gastrointestinal e sua absorção através das paredes intestinais para a circulação do sangue (GRAJEK; OLEJNIK, SIP, 2005).

Segundo Moraes e Colla (2006) e Roberfroid (2002), alimentos funcionais apresentam as seguintes características:

- a) necessitam ser alimentos convencionais e serem consumidos na dieta normal/usual;
- b) devem ser constituídos por componentes naturais, algumas vezes, em alta concentração ou presentes em alimentos que geralmente não os supririam;
- c) necessitam conter efeitos positivos além do valor básico nutritivo, que pode aumentar o bem-estar e a saúde e/ou reduzir o risco de ocorrência de doenças, propiciando benefícios à saúde além de elevar a qualidade de vida, inclusive os desempenhos físico, psicológico e comportamental;
- d) a alegação da propriedade funcional deve ter embasamento científico;
- e) pode ser um alimento natural ou um alimento no qual um dos constituintes tenha sido removido;
- g) pode ser um alimento onde a natureza de um ou mais constituinte tenha sofrido modificação;
- h) pode ser um alimento no qual a bioatividade de um ou mais constituintes tenha sofrido modificação.

Destacam-se entre os alimentos que possuem cepas de microrganismos probióticos aqueles com justificação de propriedades benéficas à saúde e que apresentam estudos para a sua utilização tecnológica e industrial (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001).

### **2.3 Probióticos**

O termo probiótico foi inicialmente proposto por Lilly e Stillwell em 1965 que definiram como “substâncias secretadas por um microorganismo para estimular o

crescimento de outro” (ANTUNES et al., 2007). Posteriormente, Fuller (1989) considerou como probióticos os suplementos alimentares que possuíssem bactérias vivas e que provocassem efeitos benéficos no hospedeiro, favorecendo o equilíbrio de sua microbiota intestinal. Já Havenaar e Huis In't Veld (1992), consideraram que probióticos fossem culturas únicas ou mistas de microrganismos que, administrados a animais ou humanos, gerassem efeitos benéficos no hospedeiro por incremento das propriedades da microbiota nativa. Há alguns anos, Hill et al (2014), atualizou a definição da Organização Mundial de Saúde e Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, considerando os probióticos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício de saúde sobre o hospedeiro.

Os probióticos são encontrados como bactérias, fungos ou leveduras, entretanto, a maioria são bactérias. Entre as bactérias, as que mais se destacam em preparações probióticas são as produtoras de ácido láctico (SINGH et al., 2011).

As culturas mais aplicadas como probióticas fazem parte dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. As bifidobactérias são microrganismos Gram positivos, que compreendem 30 espécies distintas. As de origem humana usam a galactose, lactose e frutose como fontes de carbono. Já os lactobacilos dispõem de 56 espécies, sendo que as mais utilizadas são *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* e *L. casei* (STURMER et al., 2012). As principais espécies de microrganismos utilizados como probiótico são apresentadas no Quadro 1.

Quadro 1 – Espécies comumente empregadas em produtos probióticos.

<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Bifidobacterium spp.</i>	Outras
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>B. longum</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>L. rhamnosus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranum</i>
<i>L. brevis</i>	<i>B. breve</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>L. helbeticus</i>		
<i>L. johnsonii</i>		

Fonte: Adaptado de Collins et al (1998)

Lactobacilos e bifidobactérias são produtores de compostos orgânicos, resultantes da atividade fermentativa, como ácido lático, peróxido de hidrogênio e ácido acético que aumentam a acidez intestinal, e substâncias nomeadas de bacteriocinas, proteínas metabolicamente ativas, que ajudam na destruição de microorganismos indesejáveis inibindo proliferação bacteriana e os danos ao epitélio intestinal (MORAIS, JACOB, 2006). Isso viabiliza o processo digestivo, e também reforça o sistema imunológico, pela função de barreira desempenhada pela microbiota intestinal (KAILASAPATHY; CHIN, 2000). Tanto *Lactobacillus* como *Bifidobacterium* têm a habilidade de promover a lise de proteínas com potencial alergênico no trato gastrintestinal. Esse processo auxilia na redução da alergenicidade das proteínas, reduzindo o risco de alergia alimentar (MORAIS; JACOB, 2006).

Para serem classificados como probióticos, estes microrganismos precisam apresentar algumas características: ausência de toxicidade e patogenicidade; propriedades adequadas a fim de que sejam produzidos e incorporados em alimentos sem perder sua efetividade e funcionalidade; viabilidade ao longo da vida útil do produto; capacidade de sobrevivência às defesas inatas do organismo no trato gastrintestinal superior, incluindo a sobrevivência a exposição à acidez gástrica

e aos sais biliares; habilidade de colonizar a mucosa intestinal e aptidão de executar um efeito de melhoria da saúde do hospedeiro (O'MAY; MACFARLANE, 2005).

De uma perspectiva tecnológica, é necessário que os microrganismos probióticos tenham sua produção em larga escala facilitada; resistir ao processamento (FERREIRA; TESHIMA, 2000; PRADO, et al., 2008); preservar a acidez do produto estável, resultar em sabores, textura e/ou aromas apropriados e agradáveis após a fermentação, além de manter um número elevado de células viáveis ao longo de toda a vida útil do produto (LEE; SALMINEN, 1995; MATTILA-SANDHOLM et al., 2002; PRADO et al., 2008; PUUPPONEN-PIMIÄ et al.; 2002).

As culturas probióticas, em sua grande parte, são originárias do intestino saudável humano ou animal. Desta forma, estas culturas têm a capacidade de constituir a microbiota do hospedeiro, ainda que temporariamente, após serem consumidas. É possível dizer que, uma linhagem probiótica irá exercer melhor sua ação benéfica quando se encontrar em ambiente semelhante ao qual foi isolada, considerando que é hospedeiro-específica (SAARELA et al., 2000). Essas ações podem estar relacionadas ao aumento do metabolismo de lactose, à atividade antimicrobiana e anticarcinogênica, à proteção contra distúrbios gastrintestinais, à redução dos níveis de colesterol, à manutenção do balanço gastrintestinal, à atividade e à estimulação da resposta imune (AWAISHEH; HADDADIN; ROBINSON, 2005; CHOU; HOU, 2000; DOLEYRES; LACROIX, 2005; MADUREIRA et al., 2005; SABOYA; OETTERER; OLIVEIRA, 1997; SCALABRINI et al., 1998).

Para que haja a produção de benefícios funcionais, é recomendado um mínimo de  $10^5$  a  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup> de bactérias probióticas em alimentos (JARDIM, 2012; SAMONA; ROBINSON, 1994). O valor de  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup> de bactérias probióticas seria o limite mínimo estabelecido pelo International Standard IDF/FIL para um produto ser considerado probiótico (MARTINEZ-VILLALUENGA et al., 2006; JARDIM, 2012). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2016), o fabricante deve indicar a quantidade viável para os probióticos no produto pronto para o consumo e esta empresa deve confirmar a eficácia dessa concentração a partir de ensaios clínicos.

A indústria de alimentos, principalmente a área voltada para os laticínios, tem adicionado culturas probióticas para atribuir propriedades funcionais aos seus produtos. Os principais produtos comercializados no mundo com alegação de promover a saúde, são os leites fermentados e iogurtes contendo probióticos, porém

existem também sobremesas a base de leite, leite em pó destinados a recém-nascidos, sorvetes, manteiga, maionese, diversos tipos de queijos, produtos em cápsulas ou em pó para serem dissolvidos em bebidas frias e alimentos de origem vegetal fermentados (ANTUNES et al., 2017; SAAD, 2006). Algumas bebidas lácteas fermentadas possuem microrganismos probióticos que conferem um efeito de modulação e ativação de processos metabólicos, melhorando as condições de saúde. Entre os potenciais valores nutritivos efetuados por este grupo constam: regulação e estabilização da microbiota intestinal; promoção da resistência gastrintestinal à colonização por patógenos; redução da população de patógenos e ação antagônica a partir da produção de ácidos acético e lático, de bacteriocinas e de outros compostos antimicrobianos; melhor utilização da lactose e promoção da digestão do açúcar em indivíduos intolerantes a lactose; estimulação e modulação do sistema imune; alívio da constipação; aumento da absorção de minerais e produção de vitaminas; melhora na digestibilidade; ação anticarcinogênica; ação hipocolesterolêmica (JARDIM, 2012; MARTEAU; RAMBAUD, 1993; SAAD, 2006; YAESHIMA, 1996).

Os probióticos são disponíveis e ofertados para comercialização na forma de preparações farmacêuticas (cápsula ou sachês) ou naturais (leite fermentados, iogurte, sorvete, variados tipos de queijos, sucos fortificados e outros alimentos de origem vegetal fermentados) sendo possível existir em sua composição um único ou um conjunto de microrganismos. A correta preservação do produto favorece a manutenção da viabilidade durante um bom tempo em temperatura ambiente (STEFE; ALVES; RIBEIRO, 2008).

Sendo assim, os probióticos mantêm-se vivos no cólon, se multiplicam, porém não permanecem como colonizadores perenes da mucosa intestinal, deixando de ser detectados alguns dias depois de interrompido seu consumo (BOUHNİK et al., 1992). Isto se deve, especialmente, à periódica descamação e regeneração celular do epitélio intestinal, carregando grande número de culturas aderidas. Por esse fato, é sugerível o consumo contínuo de produtos que possuam tais culturas (ANTUNES et al., 2017; BEZKOROVAINY, 2001).

#### **2.4 Bebida lactea à base de soro**

A presença da bebida láctea no mercado tem se expandido, bem como: valor nutricional com a presença de cálcio e proteínas de alto valor biológico; papel dos componentes bioativos e de bactérias lácticas para a saúde; custo reduzido do produto para o fabricante e preço final acessível para o consumidor (FERREIRA, 1997; 2002; JARDIM, 2012; NIELSEN, 1997; SANTOS; FERREIRA, 2001; UNITED STATES DAIRY EXPORT COUNCIL, 2002).

Ao longo dos anos, a indústria admitiu também que o soro lácteo é muito versátil e colabora na elaboração de alimentos lácteos fermentados por microrganismos probióticos e, por esse motivo, esses produtos estão assumindo uma vasta popularidade frente aos que buscam por alimentos funcionais (BALDISSERA et al., 2011; BOÊNIO, 2014). O emprego de soro de queijo na produção de bebidas lácteas compõe uma forma racional de aproveitamento além de apresentar um ótimo valor nutritivo e proporcionar elevada qualidade proteica com um teor de gordura e lactose reduzido (ALMEIDA et al., 2001; SMITH, 2003)

O soro lácteo é a fração aquosa do leite que é separada do coágulo através da adição de ácido (soro ácido) ou de enzima (soro doce), ao longo da produção convencional de queijos (TEIXEIRA; FONSECA, 2008). Este subproduto preserva aproximadamente 55 % dos nutrientes contidos no leite, sendo considerado significativo, tendo em vista o volume produzido e sua composição nutricional (LEITE et al., 2012). PESCUMA et al. (2008) explica que os benefícios da utilização de bactérias lácticas na fermentação do soro estão relacionados à forte atividade metabólica sobre carboidratos, lipídeos, proteínas e peptídeos alergênicos que nele são existentes. Com isso, as bactérias promovem colaboração na digestibilidade, conservação, melhoria da textura e perfil sensorial do alimento, uma vez que há a minimização do teor de lactose, produção de ácido láctico que contribui para o flavor e textura do produto final.

Sendo assim, para os laticínios, a transformação do soro líquido em bebidas fermentadas ou não, é uma das mais atrativas alternativas para o aproveitamento do soro para consumo humano, em razão da simplicidade do processo, utilização de equipamentos de beneficiamento do leite, além das ótimas propriedades funcionais da proteína do soro (GANDHI; PATEL, 1994). A produção de bebidas a partir do aproveitamento do soro líquido necessita de investimentos relativamente baixos, com equipamentos e acessórios, que são, inclusive, usados em outras operações de um laticínio, como câmaras frias, fermenteiras e padronizadoras. Por isto, a

fabricação deste produto é altamente viável, tendo-se em vista que a maioria dos laticínios já dispõe destes itens (RIBEIRO, 2013; SIVIERI; OLIVEIRA, 2002).

Dessa forma, de acordo com a Instrução Normativa nº 16 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a bebida láctea fermentada é um produto lácteo alcançado a partir da mistura de leite e soro de queijo, constituído ou não de outras substâncias alimentícias, e fermentado por micro-organismos ou agregado de leite fermentado. Este produto precisa ter no mínimo 51% de base láctea e contagem total de bactérias lácticas viáveis de  $10^6$  unidades formadoras de colônia por grama (UFC  $g^{-1}$ ) por todo o período do prazo de validade e não deve ser tratada termicamente após a fermentação (BRASIL, 2005). Portanto, a aplicação de soro, bactérias probióticas e prebióticos a uma bebida láctea possibilita o resultado de um alimento funcional, que serve como uma nova opção para a indústria de laticínios e para os consumidores interessados em uma dieta saudável e nutritiva, aliado a um produto com novas características sensoriais (MOURA, 2016). São considerados os ingredientes obrigatórios das bebidas lácteas fermentadas, o leite, soro de queijo e cultura de bactérias lácteas ou leite fermentado. Como opção, é possível utilizar também o creme de leite, sólidos de origem láctea, manteiga, gordura anidra do leite, caseinados alimentícios, proteínas lácteas, leitelho e outros produtos de origem láctea; açúcares e/ou glicídios, maltodextrina, edulcorantes, frutas, mel, cereais, gorduras vegetais, chocolate, amidos, gelatina ou outras substâncias alimentícias (BRASIL, 2005).

De acordo com o tratamento térmico a que é submetida, as bebidas lácteas podem ser classificadas em pasteurizadas, esterilizadas, UHT ou tratadas termicamente após fermentação. com o acréscimo ou não de outro(s) produto(s) alimentício(s) ou substância(s) alimentícia(s). Neste último caso, quando não é realizada nenhum acréscimo, a base láctea deve representar 100% (m/m) do total de ingredientes. Sobre a fermentação láctea pode-se classificá-la em fermentada ou não fermentada com adição ou sem adição de ingredientes não lácteos (BRASIL, 2005; RECCHIA, 2014).

O procedimento na elaboração de bebidas lácteas fermentadas pode ser realizado por meio da inoculação de cultura láctea contida de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (FRANCO; LANDGRAF, 2004; RIBEIRO, 2013; TEBALDI, 2005; WANG et al., 2013). Essas bactérias se desenvolvem na bebida láctea por meio da simbiose. Durante essa etapa, o

lactobacilo, libera aminoácidos e peptídeos provindos das proteínas do leite, que estimulam o crescimento do estreptococo, o qual provoca a produção de ácido fórmico e dióxido de carbono, viabilizando a multiplicação do lactobacilo (OLIVEIRA; DAMIN, 2003; RIBEIRO, 2013). O estreptococo inicia seu desenvolvimento, alcançando uma densidade populacional máxima em, em cerca de 2 horas, beneficiado pela baixa acidez inicial do leite (aproximadamente 20 °D, equivalente a 0,2 g de ácido láctico 100 g<sup>-1</sup>). Neste ponto, a relação entre a população dos dois microrganismos é, em média, de 4:1. A partir do momento que a acidez do meio tende a um valor aproximado de 46 °D (0,46 g de ácido láctico 100 g<sup>-1</sup>), inicia-se o desenvolvimento do lactobacilo, atingindo então, uma densidade populacional máxima em 3 horas e meia. Após esse tempo, a relação entre as populações se aproxima a 1:1 (ABREU, 2005; AQUARONE et al., 1983; RIBEIRO, 2013).

A bebida láctea à base de soro pode apresentar variações quanto ao tratamento térmico, fermentação e adição de produtos originando uma gama de diferentes produtos. Sendo assim, bebidas lácteas fermentadas à base de soro são em base uma mistura de iogurte e soro (PENNA, 1997).

Para produção de bebidas com soro líquido os custos para investimentos são consideradas relativamente baixos, com equipamentos e acessórios, que são, inclusive, utilizados em outras operações de um laticínio, como câmaras frias, fermenteiras e padronizadoras. Por isso, a fabricação deste produto é bastante viável, em razão da maioria dos laticínios já disponibilizarem destes itens (RIBEIRO, 2013; SIVIERI; OLIVEIRA, 2002).

Segundo Pescuma et al. (2008), os benefícios do emprego de bactérias lácticas na fermentação do soro estão relacionados à forte atividade metabólica sobre carboidratos, lipídeos, proteínas e peptídeos alergênicos que nele estão presentes. Com isto, as bactérias promovem auxílio na digestibilidade, conservação e melhoria da textura e perfil sensorial do alimento, uma vez que existe a redução do teor de lactose e produção de ácido láctico que contribui para o flavor e textura do produto final. Além dos benefícios tecnológicos e probióticos, sua utilização, também possibilita a prolongação da vida útil de componentes do leite e colaboram para a sua inocuidade, pois estes microrganismos produzem metabólitos tóxicos a bactérias deterioradoras e patogênicas, como ácido láctico, ácido propiônico, álcoois, dióxido de carbono, peróxido de hidrogênio e substâncias antagonísticas (HELANDER et al., 1997; RIBEIRO, 2013; RODAS et al., 2001; WANG et al., 2013).

## 2.5 Radicais livres e antioxidantes

Pode-se definir como radicais livres moléculas ou átomos com capacidade independente de possuir existência apresentando um ou mais elétrons não-pareados em seu orbital. São extremamente instáveis, com meia-vida curta e quimicamente muito reativos, podendo gerar danos por reagir com basicamente qualquer molécula que entra em contato (GONÇALVES, 2008; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1998).

De acordo com Valko et al., 2007, os radicais livres e as espécies reativas de oxigênio são resultados do metabolismo celular liberados no decorrer do processo de diminuição de oxigênio, sendo este usado para transformar em energia os nutrientes absorvidos dos alimentos. Durante sua evolução, os organismos aeróbicos, além de se adaptarem à presença de radicais livres, eles também desenvolveram mecanismos que permitiam a utilização vantajosa destes radicais em diversos processos fisiológicos nas células.

Devasagayam et al. (2004) e Gonçalves (2008) destacam a ideia de que não só as espécies reativas de oxigênio (*Reactive oxygen species* – ROS) como também as espécies reativas de nitrogênio (*Reactive nitrogen species* – RNS) desenvolvem-se para ajudar na manutenção da homeostase celular ou equilíbrio de reações de redução e oxidação (redox) em tecidos saudáveis. Em baixas concentrações, estes radicais livres atuam em benefício da defesa contra agentes infecciosos, formação de adenosina trifosfato (ATP) através da adenosina difosfato (ADP) na mitocôndria, regulação do crescimento celular e produção de oxigenases (lipooxigenase e ciclooxigenase) para formação de prostaglandinas e leucotrienos.

A produção desordenada de radicais e ROS ou a falta de mecanismos de defesa em razão da desnutrição podem ser prejudiciais e, por consequência, induzir a oxidação de lipídios de membrana, proteínas, enzimas, carboidratos e ácido desoxirribonucleico (DNA), afetando o equilíbrio acarretando o estresse oxidativo ou danos oxidativos (GONÇALVES, 2008; HALLIWELL, 1994; PIETTA, 2000; VALKO et al., 2007). Esses danos causados a esses componentes celulares se acumulam, com o passar dos anos, e favorece a degeneração de células somáticas e indução de doenças crônico-degenerativas, principalmente as que estão relacionadas com o avanço da idade, enfatizando-se o câncer, aterosclerose, doenças inflamatórias, mal

de Parkinson, mal de Alzheimer e catarata. (GONÇALVES, 2008; LANGSETH, 2000; SCALBERT et al., 2005).

Todo esse estresse redox está ligado a variados fatores, tais como hábitos de vida julgados inapropriados (consumo de álcool, tabagismo, dieta inadequada, exercício físico praticado em excesso e exposição à radiação não ionizante ultravioleta e outras ondas curtas); condições ambientais impróprias ( temperatura alta e poluição ambiental, domiciliar e ocupacional); envelhecimento e estados psicológicos que possa causar estresse emocional. Existem também patologias crônicas (diabetes mellitus, hipertensão arterial, câncer, entre outras) e patologias degenerativas (Alzheimer e Parkinson) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

Antioxidantes são substâncias que possuem a capacidade de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis e têm como função fundamental proteger os componentes celulares e conservar o estado redox celular (HALLIWELL, 2001; SIMÃO, 2010). Eles previnem os efeitos deletérios da oxidação, inibindo o início da lipoperoxidação, sequestrando radicais livres e/ou quelando íons metálicos, e protegem organismos aeróbicos do estresse oxidativo, definido como elevação na formação de espécies reativas de oxigênio (RODRIGUES et al., 2003; SIMÃO, 2010).

Para ser um bom antioxidante é necessário que ele possua substituintes doadores de elétrons ou de hidrogênio ao radical, em função de seu potencial de redução; capacidade de deslocamento do radical formado em sua estrutura; capacidade de quelar metais de transição envolvidos no processo oxidativo e acesso ao local de ação, de acordo com sua hidrofília ou lipofília e de seu coeficiente de partição (LAGE, 2014; MANACH et al, 2004). Esses agentes que defendem as células contra os efeitos dos radicais livres podem ser classificados em antioxidantes enzimáticos ou não-enzimáticos (BIANCHI; ANTUNES 1999; SIES, 1993).

- De acordo com Bianchi e Antunes (1999), os antioxidantes agem em variados níveis na proteção dos organismos. Tais níveis podem ser: o mecanismo de defesa primordial utilizado contra os radicais livres é impossibilitar a sua formação, especialmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre;
- os antioxidantes têm capacidade de interceptar os radicais livres produzidos pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impossibilitando o ataque sobre lipídeos, aminoácidos das proteínas, dupla ligação dos ácidos graxos

poli-insaturados e as bases do DNA, impedindo a formação de lesões e perda da integridade celular. Os antioxidantes adquiridos da dieta, bem como as vitaminas C, E e A, os flavonóides e carotenóides são altamente importantes na intercepção dos radicais livres;

- outro mecanismo de proteção é o reparo das lesões causadas pelos radicais. Tal processo está associado com a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas.

Com fundamentação nos estudos sobre os antioxidantes tem-se ressaltado, particularmente, a utilização de nutrientes isolados no tratamento e prevenção de doenças. Porém, nos alimentos são encontrados uma vasta diversidade de substâncias que podem agir com sinergismo na proteção das células e tecidos (BIANCHI; ANTUNES, 1999; HERCBERG et al., 1998; JACOB, 1995; NIKI et al., 1995). Esses embasamentos têm proposto que a incidência de doenças crônico-degenerativas provocadas pelo estresse oxidativo em sistemas biológicos pode ser retardada pelo consumo de antioxidantes naturais identificadas na dieta, especialmente os compostos fenólicos (MOREIRA; MANCINI-FILHO, 2004; OLIVEIRA, 2015; SIMÕES, 2000).

## **2.6 Compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos são substâncias se encontram largamente distribuídos na natureza e já foram detectadas em um número de 8000 plantas. Eles formam um grupo extremamente complexo que faz parte dos componentes de uma diversidade de vegetais, frutas e produtos industrializados. Podem ser pigmentos, que conferem a aparência colorida aos alimentos, ou produtos do metabolismo secundário. Esses compostos atuam como antioxidantes, tanto pela sua capacidade em doar hidrogênio ou elétrons, como também em razão dos seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de ingredientes do alimento, especialmente de lipídeos (SILVA et al., 2010).

As propriedades redutoras e a estrutura química dos compostos fenólicos são principais características da razão por qual estes possuem uma excelente atividade antioxidante. Estas suas particularidades desenvolvem um papel bastante importante na neutralização ou seqüestro de radicais livres e quelação de metais de transição, atuando tanto na fase de iniciação, como na propagação do processo

oxidativo. Os intermediários formados através da ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, em virtude da ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (CHUN et al., 2005; SANTOS, 2011).

Os principais compostos fenólicos presentes nas frutas e hortaliças podem ser agrupados em diversas classes, de acordo com o tipo e o número de anéis fenólicos, e em subclasses, segundo as substituições específicas na estrutura básica, combinações com carboidratos e formas polimerizadas (ALMEIDA, 2007; FARAH; DONANGELO, 2006).

Segundo os autores Matilla et al. (2011) e Silva (2014), os compostos fenólicos englobam três grandes grupos sendo eles os flavonóides, ácidos fenólicos e taninos. Os flavonóides compõem o principal grupo integrado à estes compostos e os demais subgrupos como as antocianinas, flavononas, flavonóis, flavanas e os isoflavonoides (MORAES; COLLA, 2006; SIMÃO, 2010). A ampla variedade estrutural desses composto é justificada pelas alterações que esses eles sofrem, como hidroxilação, metilação e acilação entre outras. Nas plantas, esses são essenciais para a pigmentação, o crescimento, a reprodução e a resistência a patógenos, também sendo definidos como fortes antioxidantes (MORAES; COLLA, 2006; SIMÃO, 2010). De uma perspectiva nutricional, os flavonóides são, consideravelmente, agentes antioxidantes com capacidade de impedir a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade, além destes diminuírem relevantemente as tendências a doenças trombóticas (RAUHA et al., 2000).

Por outro lado, sabe-se que os ácidos fenólicos apresentam-se em dois grupos, sendo eles os derivados do ácido hidroxicinâmico e derivados do ácido hidroxibenzóico. Os derivados do ácido hidroxicinâmico são compostos fenólicos de origem natural que são contidos de um anel aromático juntamente com uma cadeia carbônica, esta composta por 3 carbonos unidos ao anel. Os ácidos *p*-cumárico, ferúlico, caféico e sináptico são os hidroxicinâmicos mais ocorrentes na natureza. Habitualmente eles estão presentes nas plantas em forma de ésteres, como por exemplo o ácido clorogênico, éster do ácido quínico, cuja molécula é constituída pelo ácido quínico esterificado ao ácido caféico. Existem também como glicosídeos ou ligados a proteínas e a demais polímeros da parede celular e, dificilmente, como ácidos livres. Isômeros do ácido clorogênico e do ácido cafeico são descritos com antioxidantes (BELITZ; GROSCH, 1988; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2014; DURÁN; PADILLA, 1993; HARBORNE, 1973). No grupo dos ácidos

hidroxibenzoicos, compostos que contêm grupo carboxílico ligado ao anel aromático, destacam-se os ácidos protocatecuico, vanílico, siríngico, gentísico, salicílico, elágico e gálico. Esses dois grupos de ácidos fenólicos têm apresentado propriedades antioxidantes (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2014; HARBORNE, 1973). Apesar de outras características também ajudem na atividade antioxidante dos ácidos fenólicos e seus ésteres, esta é, de modo geral, determinada pelo número de hidroxilas presentes na molécula (RAJALAKSMI; NARASIMHAN, 1995; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2014).

Quando os taninos são substâncias secundárias fenólicas, responsáveis pela adstringência dos vegetais, apresentando massa molecular em torno de 500 e 3000 Dalton e solúveis em água (SANTOS; MELO, 2004). O termo taninos é amplamente aproveitados para designar qualquer grande composto polifenólico constituindo um número satisfatório de grupos hidroxila e outros grupos químicos, como a carboxila, que possibilitem a formação de complexos fortes com proteínas e outras macromoléculas (DESHPANDE et al., 1986). Eles apresentam a habilidade de atuarem como captadores de radicais livres, e possuem atividade antimicrobiana, antiviral, antifúngica, anti-dicarréica e anti-séptica (ARAÚJO, 2008; MONTEIRO et al., 2005).

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 (CORDÃO et al., 2010; FRUTOS et al., 2004).

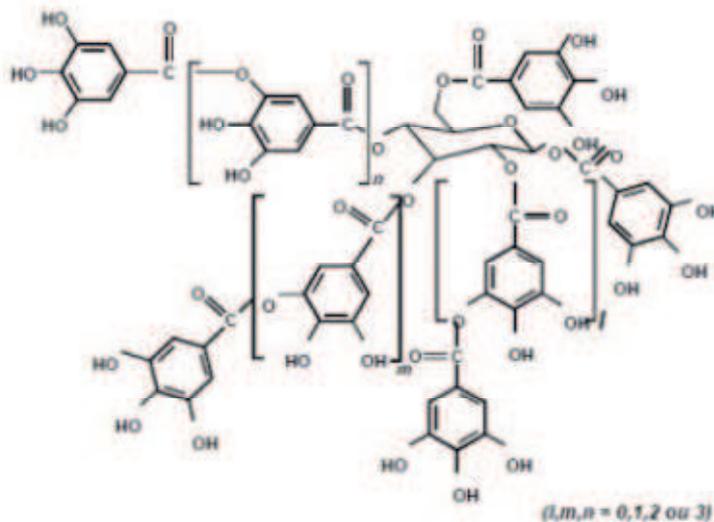
Tanto quanto as diversas doenças degenerativas (câncer, esclerose múltipla, arteroesclerose, etc.) como também o processo de envelhecimento estão relacionados às altas concentrações de radicais livres. Como os taninos agem como captadores de radicais, interceptam o oxigênio ativo formando radicais estáveis (MELLO; SANTOS, 2001).

Os taninos podem ser classificados como: taninos hidrolisáveis, estes encontrados em dicotiledôneas herbáceas e lenhosas; e taninos condensados que ocorrem mais largamente em gmnospermas e angiospermas (SANTOS; MELO, 2004).

Os taninos hidrolisáveis são apontados como galotaninos e elagitaninos. Os galotaninos são caracterizados pela presença de várias moléculas de ácidos orgânicos, bem como gálico e digálico, esterificados a uma molécula de glicose. Os elagitaninos são compostos por unidades de ácido elágico ligadas a glicosídeos. Estes compostos são simplesmente hidrolisados por ácidos ou enzimas em suas unidades monoméricas (AGUILAR et al., 2007; BHAT; SINGH; SHARMA, 1998; MELO, 2012; MUELLER-HARVEY, 2001; REED, 1995).

Na Figura 2 apresenta-se uma estrutura modelo dos taninos hidrolisáveis.

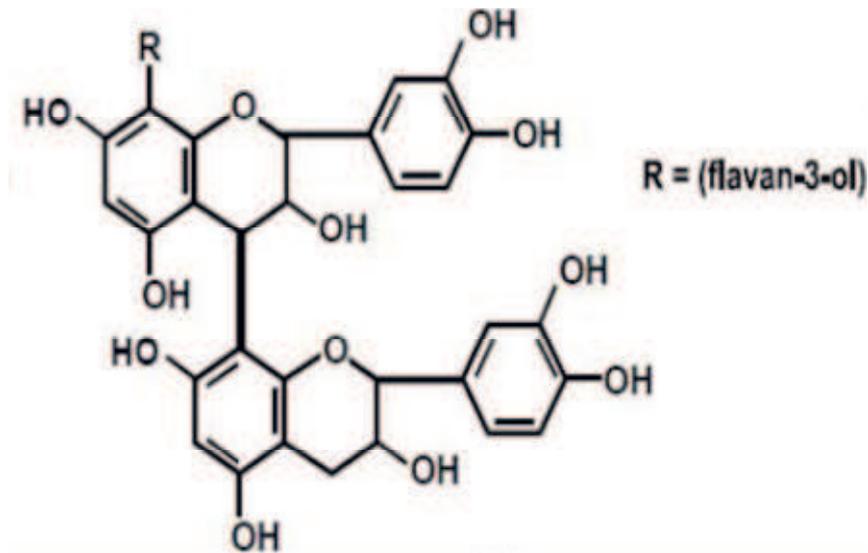
Figura 2 – Estrutura de taninos hidrolisáveis



Fonte: Nakamura et al. (2003)

Já os taninos condensados, representados na figura 3, compreendem moléculas compostas por unidades flavonóides unidas entre si por ligações carbono-carbono; possuem estruturação complexa e são resistentes à hidrólise, mas podem ser solúveis em solventes orgânicos polares, dependendo de sua estrutura (REED, 1995; SCHOFIELD; MBUGUA; PELL, 2001; MELO, 2012).

Figura 3 – Estrutura de taninos condensados.



Fonte: Lekha e Lonsane (1997).

## 2.7 Métodos para a quantificação de antioxidantes

A determinação da atividade antioxidante dos alimentos é interessante pelo fato de, além de indicar o potencial antioxidante dos mesmos antes de ser consumido, é importante para analisar a proteção contra a sua oxidação e deterioração, reações que acarretam a diminuição da sua qualidade e do seu valor nutricional (LIMA, 2008; RIBEIRO, 2011).

De acordo com as reações químicas envolvidas, a maioria dos métodos utilizados para analisar a capacidade antioxidante dividem-se em dois tipos: (1) com base na reação de transferência de elétrons, representados pelo método de Folin-Ciocalteu e sequestro de radicais livres, tais como o 1,1-difenil-2-picrilidrazil (DPPH) e (2) com fundamento na reação de transferência de átomos de hidrogênio, representado pelo ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) e sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico (HUANG et al., 2005).

O método de Folin-Ciocalteu foi determinado por Otto Folin e Vintila Ciocalteu em 1927, o qual mede a capacidade redutora das amostras e é o mais extensivamente empregado, popularmente reconhecido como o teste para medir o conteúdo total de fenóis. Sendo um método espectrofotométrico que detecta todos os grupos fenólicos presentes no extrato (FOLIN; CIOCALTEU, 1927; PIRES, 2014).

O reagente de Folin-Ciocalteu constitui-se do ácido fosfotúngstico-fosfomolibdico e quando interagindo com os composto fenólicos, em condições alcalinas, há uma desagregação de um próton fenólico ocorrendo a formação do ânion fenolato. Esse ânion tem a habilidade de diminuir o reagente, formando o complexo azul de molibdênio (GENOVESE et al., 2003; HUANG et al., 2005), favorecendo com isso, a determinação da concentração por absorbância na espectrometria. A leitura pode ser realizada na região do visível em torno de 760 nm (GOULART et al., 2009).

Já o método do radical DPPH baseia-se na determinação da capacidade de captura do radical livre 2,2-difenil-1-picrihidrazil pelos compostos antioxidantes. Em meio à presença de compostos contendo atividade antioxidante, ocorre uma redução da absorbância, correspondente à concentração e à atividade antioxidante da amostra (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Para essa análise usa-se uma solução metanólica de DPPH, que absorve no comprimento de onda por volta de 517nm e, a medida que seu elétron deixa de ser desemparelhado, a absorção baixa ocasionando a mudança de coloração diante das moléculas antioxidantes ensaiadas (DI MAMBRO; MARQUELE; FONSECA, 2005; RIBEIRO, 2011).

A redução e a absorbância obtidos pela quantidade do radical DPPH alteram consideravelmente de acordo com os diferentes tipos e concentrações de antioxidantes. A técnica do EC<sub>50</sub> foi sugerida para determinar a eficiência antirradical por meio da quantidade de antioxidante necessária para cair em 50% a concentração inicial do radical DPPH e o tempo necessário para alcançar a estabilidade na concentração do mesmo (SANCHEZ-MORENO; LARRAURI; SAURA-CALIXTO, 1998).

### **3 METODOLOGIA**

Os itens citados na metodologia, têm como referências o trabalhos de Almeida (2016), Cruz (2013), Florentino (1997), Karaaslan et al. (2011) Rufino et al (2008) e dos Santos et al. (2017).

#### **3.1 Obtenção dos frutos e resíduos da jabuticaba**

Os frutos da jabuticaba foram comprados no comércio local da cidade de Campina Grande-PB, na estação de sua safra referentes ao período dos meses de março a abril dos anos de 2014 e 2015. Os mesmos foram selecionados, lavados e higienizados com uma solução hipoclorito de sódio (200 mg L<sup>-1</sup> de cloro livre), e por despulpamento manual. As frações da jabuticaba foram separadas (polpa, casca e semente) e suas cascas foram acondicionadas a uma temperatura de -18 °C em freezer horizontal.

#### **3.2 Preparo do extrato aquoso**

Em meio ácido e em temperatura ambiente, as cascas da jabuticaba foram tratadas por meio da adição de suco de limão na proporção de 0,15: 1,0: 2,0 (suco de limão: casca de jabuticaba: água destilada) por um tempo de 45 minutos para que houvesse a hidrólise parcial e solubilização dos taninos, estes sendo os responsáveis pelo gosto adstringente. Posteriormente, as cascas foram enxaguadas, trituradas com água destilada na proporção de 90,5 para 170 g (casca: água) e filtradas em redes de nylon (abertura em cerca de 0,300 mm) para que ocorresse a separação do resíduo das cascas do filtrado. O filtrado foi usado para triturações sequenciais de outras cascas, até a obtenção de um extrato aquoso contendo 2,5 g 100 g<sup>-1</sup> de sólidos solúveis, para que, posteriormente, houvesse a produção de geleia e calda de jabuticaba. O resíduo obtido a cada trituração foi armazenado a 4 °C, para que este fosse reaproveitado na produção do extrato hidroalcoólico, em etapa subsequente.

#### **3.3 Preparo do extrato hidroalcoólico**

O resíduo da obtenção do extrato aquoso removido da casca da jabuticaba foi hidratado durante o tempo de 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). Utilizou-se 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 uma temperatura de 50 °C. Logo após, o resíduo foi filtrado em rede de nylon (abertura de, aproximadamente, 0,300 mm). O extrato hidroalcoólico obtido de três filtrações foi disposto em béqueres de 1000 mL para a secagem em estufa de circulação de ar, em uma temperatura constante de 50 °C, até a evaporação do etanol e atingir 5% a 6% do volume inicial. O extrato foi armazenado em tubos criogênicos a -18 °C, sendo acrescentado nas formulações na proporção de 2% (18,7 g de extrato hidroalcoólico para 935 g de base láctea), de maneira a ajudar na coloração, como também no aumento do teor de compostos fenólicos do produto final.

### **3.4 Preparo da geleia da casca de jabuticaba**

Para o preparo da geleia utilizou-se o extrato aquoso com 2,5 g 100 g<sup>-1</sup> 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 citados até a obtenção de 60% de sólidos solúveis, no qual a geleia apresentou consistência firme, porém espalhável, apropriada para o acompanhamento de bebida láctea cremosa. Na Tabela 2 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 2 – Proporção de ingrediente para a produção da geleia adicionada às bebidas lácteas:

Componentes	Proporção (g 100 g <sup>-1</sup> )
Extrato aquoso (2,5% de sólidos solúveis)	66,4116
Açúcar comercial (sacarose)	33,174
Pectina (YF310, DuPont)	0,41
Corante natural carmim de cochonilha	0,0044
Total	100

Fonte: dados da pesquisa

### 3.5 Preparo da calda de casca de jabuticaba

A calda de casca de jabuticaba foi empregada para incorporação na bebida láctea tendo em vista o incremento do teor de compostos fenólicos. O preparo da calda foi similar ao preparo da geleia, no qual foi utilizado o extrato aquoso (2,5 g 100 g<sup>-1</sup> de sólidos solúveis), açúcar e pectina nas proporções apresentadas na Tabela 3. Posterior à cocção, sob leve aquecimento, foi obtido o teor de sólidos solúveis, com cerca de 40 g 100 g<sup>-1</sup>, sendo a calda armazenada sob refrigeração a 4 °C até a sua incorporação na bebida láctea fermentada.

Tabela 3 – Produção da calda da casca de jabuticaba:

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

Fonte: dados da pesquisa.

### 3.6 Desenvolvimento das bebidas lácteas fermentadas

#### 3.6.1 Preparo da base láctea

Para se obter a base láctea foram utilizados soro de queijo Minas frescal, leite em pó (Molico, Nestlé, Araçatuba, Brasil) reconstituído e açúcar. O soro foi, de antemão, obtido após a coagulação do queijo, este produzido previamente utilizando

leite pasteurizado Cariri Light (Cooperativa Agropecuária do Cariri Ltda., Campina Grande, Brasil), coagulante Hannilase (Chr. Hansen, Valinhos, Brasil) e cloreto de cálcio. Em seguida do preparo do queijo, o soro de queijo foi acondicionado em sacos de plástico de nylon e armazenado a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  até a sua utilização.

Os ingredientes do soro de queijo, açúcar e leite em pó desnatado passaram por um tratamento térmico onde se deu a elaboração da base láctea para sequencialmente 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. São apresentados na Tabela 4 os ingredientes da base láctea (antes da adição das culturas). Esta base foi tratada termicamente a  $85\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos e armazenada a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o processo de fermentação.

Tabela 4 – Ingredientes utilizados no preparo da base láctea

Componentes	Proporção (g 100 g <sup>-1</sup> )
Soro de queijo	84,00
Açúcar (sacarose comercial)	8,00
Leite em pó desnatado (Molico, Nestlé, Araçatuba, Brasil)	8,00
Total	100

Fonte: dados de pesquisa.

### 3.6.2 Processo de fermentação

Precedente à fermentação, a base láctea pasteurizada foi aquecida a  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , para a adição da cultura starter liofilizada, composta de *Streptococcus thermophilus* TA40 (DuPont) e das bactérias probióticas, sendo condicionada a  $43 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante o tempo necessário para alcançar valor de pH menor ou igual a 5,0 e acidez igual ou superior a  $0,6\text{ g } 100\text{ g}^{-1}$  de ácido láctico.

### 3.6.3 Produção da bebida láctea cremosa fermentada probiótica

A bebida láctea foi elaborada com as proporções estipuladas em ensaios pilotos, as quais são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 – Ingredientes utilizados no preparo da base láctea.

Componentes	Proporção (g 100 g <sup>-1</sup> )
Base láctea	90
Pectina YF310 (DuPont)	1,75
Extrato hidroalcoólico	2
Corante natural carmim de cochonilha	0,045
Ácido láctico alimentício (85%, Purac Sínteses)	0,48
Calda	5,725
<b>Total</b>	<b>100</b>

Fonte: dados da pesquisa.

Preparou-se 2 formulações em 3 lotes cada (triplicatas verdadeiras): formulação controle F1 – produzida com a cultura iniciadora de *S. thermophilus* TA40; formulação probiótica F2 – elaborada com *S. thermophilus* TA40 e a cultura comercial potencialmente probiótica de *Lactobacillus rhamnosus* LR32. Com esse objetivo, foram elaboradas 935 g de base láctea de cada formulação para mistura aos outros ingredientes, para a obtenção da bebida láctea cremosa.

Em seguida com ajuda de um liquidificador misturou-se todos os componentes (base láctea, ácido láctico, corante carmim de cochonilha, calda da casca de jabuticaba, extrato hidroalcoólico e pectina). Após, 75 g de cada formulação, separadamente, foram embaladas em potes plásticos já incluindo a geleia da casca de jabuticaba (12 - 13 g) e acondicionadas 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.

### **3.7.1 Preparação dos reagentes**

#### *3.7.1.1 Metanol acidificado 0,01 mol L<sup>-1</sup>*

Com a ajuda de um funil, completou-se, até a aferição do menisco, um balão de 1000mL com uma solução de álcool metílico P.A. Em seguida, em uma capela, mediu-se 1 mL de ácido clorídrico P.A. (0,01 mol) e adicionou-o ao metanol contido no balão. Homogeneizou-se e transferiu-se a solução de metanol acidificado para um recipiente de vidro âmbar.

### 3.7.1.2 *Metanol acidificado 9,4 mmol L<sup>-1</sup>*

Preparou-se uma solução de metanol acidificado 9,4 mmol. L<sup>-1</sup> adicionando-se em um balão volumétrico de 200 mL, 12 mL de água destilada e completando-se o volume do balão com o metanol acidificado 0,01 mol L<sup>-1</sup>.

### 3.7.1.3 *Solução de ácido gálico*

Pesou-se 0,0200 g de ácido gálico anidro puríssimo (Vetec, Sigma-Aldrich, Duque de Caxias, Brasil) dissolveu-se essa massa com uma pequena quantidade de metanol acidificado 9,4 mmol L<sup>-1</sup>. A seguir, transferiu-se para um balão de 100 mL e completou-se o volume com o metanol acidificado 9,4 mmol L<sup>-1</sup>.

Essa solução foi utilizada como “solução mãe” para os padrões da curva de calibração.

### 3.7.1.4 *Carbonato de sódio a 30%*

Utilizando uma balança analítica, em um bécker, pesou-se 30 g de carbonato de sódio P.A., diluiu-o com um pouco de água destilada. Sendo esta uma reação exotérmica, esperou-se esfriar a diluição e transferiu-a para um balão de 100 mL. Completou-se o balão, aferindo-se o menisco com água destilada e transferiu-se a solução para um recipiente de vidro âmbar.

### 3.7.1.5 *Solução de DPPH 0.1 nmol L<sup>-1</sup>*

Utilizando uma balança analítica, em um bécker, pesou-se 0,0010 g de DPPH (Aldrich Chemistry, Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, EUA), adicionou-se uma pequena quantidade de álcool etílico P.A., homogeneizou-se com a ajuda de um bastão de vidro e transferiu-se essa diluição para um balão de 25 mL. Fez-se necessário a realização de várias lavagens do bécker com o etanol para a completa transferência do DPPH. Por fim, completou-se o balão com o etanol até a aferição do menisco.

### **3.7.2 Curvas de calibração**

#### *3.7.2.1 Preparo dos padrões da curva*

Pipetou-se, 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 de ácido gálico ( $200 \text{ mg L}^{-1}$  em metanol acidificado), transferiu-se, respectivamente, para 11 balões volumétricos de 10 mL, e completou-se o volume, de cada um, com metanol acidificado  $9,4 \text{ mmol L}^{-1}$ . Zerou-se o espectrofotômetro (SP – 2000UV, Spectrum, Tucumán, Argentina) com o metanol acidificado  $9,4 \text{ mmol L}^{-1}$  e mediu-se a absorvância de todas as diluições em seus respectivos balões.

#### *3.7.2.2 Determinação da curva do DPPH*

A partir de uma solução-mãe de DPPH a  $0,1 \text{ nmol L}^{-1}$  em etanol, realizou-se a curva de calibração para a análise de antioxidantes totais por DPPH. Pesou-se 0,004 g de DPPH e transferiu-se quantitativamente para um balão volumétrico de 100 mL toda a massa pesada, e, em seguida, completou-se com etanol P.A.

Os volumes utilizados para a construção da curva de DPPH foram 0  $\mu\text{L}$ , 2,5  $\mu\text{L}$ , 5  $\mu\text{L}$ , 10  $\mu\text{L}$ , 20  $\mu\text{L}$ , 30  $\mu\text{L}$ , 40  $\mu\text{L}$ , 50  $\mu\text{L}$ , 60  $\mu\text{L}$ , 70  $\mu\text{L}$ , 80  $\mu\text{L}$ , 90  $\mu\text{L}$  e 100  $\mu\text{L}$  e a leitura da absorvância foi realizada no espectrofotômetro em um comprimento de onda de 517 nm.

### **3.7.3 Obtenção dos extratos da amostra**

Com a ajuda de uma balança analítica, pesou-se, em 5 criotubos diferentes, aproximadamente 0,2500 g da amostra da bebida láctea. Com uma pipeta automática de 1000  $\mu\text{L}$ , adicionou-se 1 mL do metanol acidificado  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ , em cada um deles. Os tubos foram agitados no vórtex por alguns segundos para que houvesse homogeneização e foram acondicionados em refrigeração a uma temperatura de  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  por, no mínimo, 12 horas. No dia seguinte, as amostras foram levadas ao Laboratório de Genética, no Departamento de Biologia (Complexo Integrado das Três Marias/UEPB), para a realização da centrifugação, em centrífuga refrigerada Eppendorf (5810R, Eppendorf, Hamburg, Germany). Centrifugou-se as

amostras 6 vezes, por 5 minutos, em uma rotação de 13.500 g, a uma temperatura de 4 °C. Entre as centrifugações transferiu-se o sobrenadante de cada criotubo para um balão de 25 mL, adicionou-se 500 µL do metanol acidificado a cada amostra e homogeneizou-os no vortex por alguns segundos. Após as 6 centrifugações, completou-se o volume do balão até o traço de aferição com o metanol acidificado, retirou-se 2mL dessa solução e transferiu-a para um criotubo vazio. Centrifugou-se novamente o extrato coletado por 1 minuto e transferiu-se o sobrenadante dessa centrifugação para outro criotubo vazio, assim obtendo o extrato final a ser analisado.

### **3.7.4 Análise do extrato final**

#### *3.7.4.1 Análise de compostos fenólicos totais*

No Laboratório de Química Aplicada, do Departamento de Química do Centro de Ciências e Tecnologia (CCT/UEPB), analisou-se o extrato obtido a partir das centrifugações. Todos os procedimentos foram realizados no escuro e em temperatura ambiente. Separou-se 4 tubos de ensaios plásticos de 15 mL cada, sendo 3 para a amostra e 1 para o branco. Iniciou-se a preparação dos 3 primeiros tubos adicionando a cada um deles 60 µL da amostra e, em sequência, foi adicionado ao tubo do branco 60 µL da solução de metanol acidificado 9,4 mmol.L<sup>-1</sup>. Em seguida, aos 4 tubos foram incluídos 2.340 µL de água destilada e 150 µL do reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Alemanha). Agitou-se os tubos no vórtex até completa homogeneização e aguardou-se 8 minutos. Após esse tempo, adicionou-se 450 µL da solução aquosa de carbonato de sódio a 30% a todos os tubos. Agitou-se os tubos novamente no vórtex e aguardou-se 30 minutos. Por fim, mediu-se a absorbância em um espectrofotômetro (MARCA, CIDADE, PAÍS?) em comprimento de onda de 750 nm, tendo sido o equipamento zerado com metanol acidificado 0,01 mol L<sup>-1</sup>.

#### *3.7.4.2 Análise de DPPH*

No Laboratório de Química Aplicada, do Departamento de Química do CCT/UEPB, realizou-se a análise de DPPH utilizando o extrato obtido a partir das

centrifugações. Inicialmente, no escuro e em temperatura ambiente, preparou-se 25 mL da solução de DPPH. Em seguida, separou-se 6 tubos de ensaios plásticos de 15 mL cada, sendo 3 para o branco e 3 para a amostra, fazendo-se 3 diluições diferentes para cada grupo de tubos. Adicionou-se 2,95 mL, 2,90 mL e 2,80 mL da solução de DPPH aos tubos, tanto para a amostra, como para o branco. Após isso, adicionou-se 0,05 mL, 0,1 mL e 0,2 mL de etanol aos seus respectivos tubos do branco (com 2,95 mL, 2,90 mL e 2,80 mL da solução de DPPH) e, por fim, adicionou-se 0,05 mL, 0,1 mL e 0,2 mL de extrato da amostra aos seus respectivos tubos (com 2,95 mL, 2,90 mL e 2,80 mL da solução de DPPH). Em um espectrofotômetro (marca) zerado com etanol P.A., em comprimento de onda em 517nm, leu-se os valores da absorbância de cada solução contida nos tubos. Fez-se essa leitura após 0, 30 e 60 minutos.

#### 3.7.4.2.1 Cálculo do sequestro de radicais DPPH

Com base nos resultados obtidos no item anterior calculou-se a porcentagem de sequestro de radicais DPPH e o EC<sub>50</sub> para cada amostra..

Foi possível calcular a porcentagem de sequestro de radicais DPPH através da equação (1):

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

onde:

ABSC<sub>60 min</sub> é a absorbância do controle no tempo de 60 min, ABSA<sub>60 min</sub> é a absorbância da amostra no tempo de 60 min.

#### 3.7.4.2.2 Obtenção do EC<sub>50</sub>

Para a obtenção do EC<sub>50</sub> realizou-se os cálculos de retorno com base no ensaio de calibração com diferentes concentrações de DPPH e das equações obtidas a partir da massa de DPPH equivalente à metade da absorbância do controle, dos gráficos de dispersão das absorbâncias das diferentes amostras nas diferentes concentrações de extrato, de acordo com a descrição no protocolo de

Rufino et al. (2008), expressando o resultado final em g de amostra g<sup>-1</sup> de DPPH captado.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos das análises de compostos fenólicos totais estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Teor de fenólicos totais (mgEq ácido gálico 100 g<sup>-1</sup> de amostra) obtidos para as amostras de bebida láctea controle TA-40 (F1) e probiótica TA-40 + LR32 (F2) durante o armazenamento de 1, 7, 14 e 21 dias (D1, D7, D14 e D21, respectivamente).

Tempo de armazenamento (dias)	Tratamento	
	Controle (F1) TA-40	Probiótico (F2) TA-40 + LR32
1	54,09 ± 9,27Aa	45,08 ± 9,97Aa
7	75,34 ± 37,11Aa	58,36±20,34Aa
14	68,35 ± 31,29Aa	60,69±20,84Aa
21	62,77 ± 21,60Aa	61,61±10,14Aa

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

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

Fonte: dados de pesquisa.

Na análise de fenólicos totais, com base na Tabela 6, observa-se que as bases lácteas com e sem adição do microrganismo probiótico *L. rhamnosus* LR32, dentro de um mesmo tempo de amostragem, não diferem significativamente entre elas ( $p > 0,05$ ), como também, verifica-se a ausência de diferença significativa entre os dias de armazenamento do tratamento controle e do probiótico ( $p > 0,05$ ). Ou seja, nas duas bebidas existe aproximadamente a mesma quantidade de compostos fenólicos em função do desvio-padrão alto ao longo do armazenamento. No entanto, existe uma tendência de aumento dos valores médios de fenólicos aos 7 dias, o que pode estar associado à complexação com os compostos da base láctea, sendo ligeiramente maior na bebida controle.

Analisando-se a Tabela 7, percebe-se que não ocorrem diferenças significativas entre a bebida controle e a bebida adicionada do probiótico *L. rhamnosus* comparando-as entre si nos mesmos períodos de armazenamento ( $p >$

0,05). Observando-se também cada bebida individualmente em seus respectivos tempos de armazenamento é visto que não há diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Embora não tenha havido diferenças significativas existe uma tendência de aumento da capacidade de captação de radicais DPPH na primeira semana de armazenamento para a bebida com *L. rhamnosus*.

Tabela 7 – Captação de radicais DPPH (%) pelas amostras de bebida láctea controle TA-40 (F1) e probiótica TA-40 + LR32 (F2) durante o armazenamento de 1, 7, 14 e 21 dias (D1, D7, D14 e D21, respectivamente).

Tempo de armazenamento (dias)	Tratamento	
	Controle (F1) TA-40	Probiótico (F2) TA-40 + LR32
1	29,65 ± 13,23 Aa	35,90 ± 15,58 Aa
7	27,45 ± 15,61 Aa	43,32 ± 1,40 Aa
14	28,26 ± 14,39 Aa	26,45 ± 10,68 Aa
21	35,03 ± 15,21 Aa	35,66 ± 9,06 Aa

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

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

Fonte: dados de pesquisa.

Na Tabela 8, observa-se que as bases lácteas, com e sem adição do microrganismo probiótico *L. rhamnosus*, dentro de um mesmo tempo de amostragem, não diferem significativamente entre elas aos 1, 14 e 21 dias de armazenamento ( $p > 0,05$ ) quanto ao  $EC_{50}$ . No entanto, no sétimo dia, verificou-se que o tratamento com o probiótico apresentou valor de  $EC_{50}$  significativamente reduzido em relação ao controle ( $p < 0,05$ ). Uma possível explicação para isto pode ser devido à importância da capacidade de captação de radicais livres pelos fenólicos totais. Mesmo sem diferenças significativas entre os dias 1 e 7 no tratamento probiótico para fenólicos totais e capacidade de captação de radicais DPPH, estes dois parâmetros também apresentaram os valores mais elevados no dia 7 nesta bebida. Por esta razão, aos 7 dias seria necessária uma menor quantidade de bebida láctea para a captura de 1g de DPPH.

Tabela 8 – Valores de EC<sub>50</sub> (g de bebida g<sup>-1</sup> de DPPH) obtidos para as amostras de bebida láctea controle TA-40 (F1) e probiótica TA-40 + LR32 (F2) durante o armazenamento de 1, 7, 14 e 21 dias (D1, D7, D14 e D21, respectivamente).

Tempo de armazenamento (dias)	Tratamento	
	Controle (F1) TA-40	Probiótico (F2) TA-40 + LR32
1	329,75 ± 121,61Ab	287,53±124,11Aac
7	349,72±137,83Bc	207,10±10,23Aa
14	300,05±108,05Aa	289,55±248,52Ac
21	387,81±270,42Aabc	242,41±17,21Ab

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

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

Fonte: dados de pesquisa.

Para o tratamento do controle, houve diferenças significativa entre os valores de EC<sub>50</sub> na primeira e segunda semana 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 probiótica, pelo fato dessa última conter dois microrganismos presentes para trabalhar na modificação estrutural dessas moléculas existentes na bebida, conseguindo resultar em menores valores de EC<sub>50</sub> ao final da primeira semana de armazenamento.

Na última semana de armazenamento do tratamento controle e a partir da segunda semana de armazenamento da bebida probiótica, é possível que os fenólicos totais exerçam maior interação com outras moléculas, reduzindo os grupos funcionais disponíveis para a captação dos radicais livres presentes no meio, reduzindo-se assim, o EC<sub>50</sub>.

## 5 CONCLUSÃO

A bebida láctea adicionada da casca da jabuticaba e fermentada com o microrganismo *Streptococcus thermophilus* TA-40 tendeu a um aumento do teor de fenólicos, assim como uma maior potencialidade de sua atividade antioxidante.

A adição da cultura probiótica *L. rhamnosus* LR32 foi essencial para promover uma melhora significativa dos valores de EC<sub>50</sub> bebidas lácteas.

Dessa forma, é viável o aproveitamento da casca de jabuticaba em conjunto ao uso da cepa probiótica LR32 para a produção de bebidas lácteas fermentadas adicionadas com potencial funcional.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, L. R. **Processamento do leite e tecnologia de produtos lácteos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2005.
- AGUILAR, C. N. et al. Induction and repression patterns of fungal tannase in solid-state and submerged cultures. **Process Biochemistry**, London, v. 36, n. 6, p. 565-570, jan. 2001.
- ALMEIDA, A. A. P. Atividade antimicrobiana de extratos de compostos fenólicos e nitrogenados do café. 2007. 135 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2007.
- ALMEIDA, K. E.; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de Queijo Minas Frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 187-192, 2001.
- ALMEIDA, R. L. J. **Análises bromatológicas em bebidas láctea potencialmente probiótica com soro de queijo e ingredientes obtidos do aproveitamento da casca da jabuticaba (Myrciaria cauliflora) [manuscrito] / 41 p.: il.color.** [S.l.]: Universidade Estadual da Paraíba, 2016.
- ANDERSEN, O. **As frutas silvestres brasileiras**. São Paulo: Globo, 1989.
- ANDRADE, R. A de. et al. Caracterização morfológica e química de frutos de rambutan. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 4, p. 958-963, 2008.
- ANDRADE, S. A. et al. Desidratação osmótica do jenipapo (*Genipa americana* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 276-281, 2003.
- ANJO, D. L. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004.
- ANTUNES, A. E. C. et al. Probióticos: agentes promotores de saúde. **Nutrire**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 103-122, 2007.
- \_\_\_\_\_. Probióticos: agentes promotores de saúde. **Nutrire**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 103-122, dez. 2007.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde**. [S.l.]: ANVISA, 2016.
- AQUARONE, E.; LIMA, U. A.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgard Blücher, 1983.
- ARAÚJO, T. A. S. **Taninos e Flavonóides em Plantas Medicinais da Caatinga: um estudo de etnobotânica quantitativa**. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2008.

ASCHERI, D. P. R.; ASCHERI, J. L. R.; CARVALHO, C. W. P. de. Caracterização da farinha de bagaço de jabuticaba e propriedades funcionais dos extrusados. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, dez. 2006.

AWAISHEH, S. S.; HADDADIN, M. S. Y.; ROBINSON, R. K. Incorporation of selected nutraceuticals and probiotic bacteria into a fermented milk. **International Dairy Journal**, v. 15, n. 11, p. 1184-1190, 2005.

BALDISSERA, A. C. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, 2011.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. Química de los alimentos. Zaragoza: Acribia, 1988. In: BIRCH, A. E. et al. Antioxidant proprieties of evening primrose seed extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Chicago, v. 49, p. 4502-4507, 2001.

BEZKOROVAINY, A. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, p. S399-S403, 2001.

BHAT, T. K.; SINGH, B.; SHARMA, O. P. Microbial degradation of tannins: a current perspective. **Biodegradation**, Dordrecht, v. 9, n. 5, p. 343-357, out. 1998.

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

BOÊNIO, J. A. **Bebidas lácteas fermentadas formuladas com leite, soro de leite e extrato de arroz vermelho**: aspectos físicos, químicos, microbiológicos e sensorial. Goiania: Universidade Federal de Goiás, 2014.

BOESSO, F. F. **Caracterização físico-química, energética e sensorial de refresco adoçado de jabuticaba**. Botucatu: [s.n.], 2014.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005: aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2005. Disponível em: <[http://www.lex.com.br/doc\\_411405\\_instrucao\\_normativa\\_n\\_16\\_de\\_23\\_de\\_agosto\\_de\\_2005.aspx](http://www.lex.com.br/doc_411405_instrucao_normativa_n_16_de_23_de_agosto_de_2005.aspx)>. Acesso em: 15 nov. 2017.

BRUNINI, M. A. et al. Influência de embalagens e temperatura no armazenamento de jabuticabas (*Myrciaria jabuticaba* (Vell) Berg) cv 'SABARÁ'. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3, p. 378-383, 2004.

CANDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. Alimentos funcionais: uma revisão. **Boletim da SBCTA**, v. 29, n. 2, p. 193-203, 2005.

- CARVALHO, G. G. **Propriedades antioxidantes e sensoriais de barras de cereais convencionais e light adicionadas de casca de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*)**. 2013. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2013.
- CHOU, C. C.; HOU, J. W. Growth of bifidobacteria in soymilk and their survival in the fermented soymilk drink during storage. **International Journal Food Microbiology**, v. 56, p. 113-121, 2000.
- CHUN, S. S. et al. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. **Process Biochemistry**, n. 40, p. 809-816, 2005.
- CITADIN, I.; DANNER, M. A.; SASSO, S. A. Z. Jaboticabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 343-656, jun. 2010.
- COLLINS, J. K.; THORNTON, G.; SULLIVAN, G. O. Selection of probiotic strains for human applications. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 8, p. 487-490, 1998.
- CORDÃO, M. A. et al. Taninos e seus efeitos na alimentação animal: revisão bibliográfica. **PUBVET**, Londrina, v. 4, n. 32, 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.
- CUNHA, T. M. et al. A influência do uso de soro de queijo e bactérias probióticas nas propriedades de bebidas lácteas fermentadas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 1, p. 23-33, 2009.
- DANNER, M. A. et al. Enraizamento de jaboticabeira (*Plinia Trunciflora*) por mergulhia aérea. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, p. 530-532, 2006.
- DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. **Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos**. [S.l.]: Universidade Tuiuti do Paran, 2014.
- DEVASAGAYAM, T. P. A. et al. Free radical and antioxidant in human health: current status and future prospects. **Journal of the Association of Physicians of India**, v. 52, 2004.
- DI MAMBRO, V. M.; MARQUELE, F. D.; FONSECA, M. J. V. Avaliação in vitro da ação antioxidante em formulações antienvhecimento. **Cosmetics & Toiletries**, v. 17, n. 4, p. 74-78, 2005.
- DOLEYRES, Y.; LACROIX, C. Technologies with free and immobilised cells for probiotic bifidobacteria production and protection. **International Dairy Journal**, v. 15, p. 973-988, 2005.

DONADIO, L. C. **Jaboticaba (Myrciaria jaboticaba (Vell. Berg))**. Jaboticabal: FUNEP, 2000.

DURÁN, R. M.; PADILLA, R. B. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 44, n. 2, p. 101-106, 1993.

EINBOND, L. S. et al. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, v. 84, n. 1, p. 23-28, 2004.

FERREIRA, A. C. **Breve história e perspectivas para a indústria de laticínios no Brasil**. [S.l.: s.n.], 2002.

\_\_\_\_\_. Tendências mercadológicas de produtos lácteos fermentados e bebidas lácteas. In: LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G. (coords.). *Leites fermentados e bebidas lácticas*. Campinas: ITAL, p. 721-740, 1997.

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

FLORENTINO, E. R. **Produção de queijo coalho com leite pasteurizado**. Campina Grande: [s.n.], 1997.

FOLIN, O.; CIOCALTEU, V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 63, n. 2, 1927.

FRANCO, B. D, G, de M.; LANDGRAF M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2004.

FRUTOS, P. et al. Is there any detrimental effect when a chestnut hydrolysable tannin extract is included in the diet of finishing lambs. **Animal Research**, v. 53, p. 127-136, 2004.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 66, n. 5, p. 365-378, 1989.

GANDHI, D. N.; PATEL, R. S. Tcnology and Keepingquality of fermented whey concentrate. **Cultured Dairy Products Journal**, v. 29, n. 1, p. 25-27, 1994.

GENOVESE, M.I. et al. Determinação do conteúdo de fenólicos totais em frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 3, p. 67-69, 2003.

GOMES, R. P. **Fruticultura brasileira**. 11. ed. São Paulo: Nobel, 1987.

\_\_\_\_\_. **Fruticultura brasileira**. 9. ed. São Paulo: Nobel, 1983.

\_\_\_\_\_. **Fruticultura brasileira**. São Paulo: Nobel, 1980.

GONÇALVES, A. E. S. S. **Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonóides e vitamina C**. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2008.

GOULART, M. O. F. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

GRAJEK, W.; OLEJNIK, A.; SIP, A. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. **Acta Biochimica Polonica**, Poznań, v. 52, n. 3, p. 665-671, 2005.

GUEDES, M. N. S. **Diversidade de acessos de jaboticabeira Sabará em Diamantina/MG por meio da caracterização biométrica e físico-química dos frutos e fisiológica das sementes**. 2009. 70 f. Dissertação (Curso de Pós Graduação Stricto Sensu em Produção Vegetal), Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2009.

HAFEZ, Y. S. Nutrient composition of different varieties and strains of soybean. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v. 28, n. 3, p. 1197-1206, 1983.

HALLIWELL, B. Dietary polyphenols: good, bad, or indifferent for your health? **Cardiovascular Research**. v. 73, p. 341-347, 2007.

\_\_\_\_\_. Free radical and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, v. 52, n. 8, p. 253-265, 1994.

\_\_\_\_\_. Free radicals and other reactive species in disease. In: **ENCYCLOPEDIA of life sciences**. Coimbra: Nature Publishing Group, 2001.

\_\_\_\_\_; GUTTERIDGE, J. M. C. In: **FREE Radicals in Biology and Medicine**. Oxford: Oxford University Press, 1998.

HARBORNE, J. B. **Phytochemical methods**. London: Chapman and Hall, 1973.

HELANDER, I. M.; Von WRIGHT, A.; MATTILA-SANDHOLM, T. M. Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gram negative bacteria. **Trends in Food Science and Technology**, v. 8, p. 146-150, 1997.

HERBÁRIO. Jaboticaba. [S.l.: s.n.], 2017. Disponível em: <<http://www.herbario.com.br/dataherb16/jaboticaba.htm>>. Acesso em: 20 nov. 2017.

HERCBERG, S. et al. Background and rationale behind the SU.VI. MAX study, a prevention trial using nutritional doses of a combination of antioxidant vitamins and minerals to reduce cardiovascular diseases and cancers. **International Journal for Vitamins and Nutrition Research**, Bern, v. 68, n. 1, p. 3-20, 1998.

HILL, C. et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Consensus Statements**, v. 11, 2014.

HUANG, D.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

JACOB, R. A. The integrated antioxidant system. **Nutrition Research**, New York, v. 15, n. 5, p. 755-766, 1995.

JARDIM, F. B. B. **Desenvolvimento de bebida láctea probiótica carbonatada: características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais**. 128 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição. Araraquara, 2012.

JESUS, N. et al. Caracterização de quatro grupos de jaboticabeira, nas condições de Jaboticabal-SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 482-485, dez. 2004.

JONES, P. J. Clinical nutrition: 7. Functional foods - more than just nutrition. **Clinical Basics**, Montreal, v. 166, n. 12, p. 1555-1563, 2002.

JOSHIPURA, K. J. et al. Fruit and vegetable intake in relation to risk of ischemic stroke. **Journal of American Medical Association**, v. 282, p. 1233-1239, 1999.

KAILASAPATHY, K.; CHIN, J. Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. **Immunology And Cell Biology**, v. 78, n. 1, p. 80-88, 2000.

KARAASLAN, M. et al. Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44, p. 1065–1072, 2011.

LAGE, F. F. **Casca de jaboticaba: inibição de enzimas digestivas, antioxidante, efeitos biológicos sobre o fígado e perfil lipídico**. Lavras: UFLA, 2014.

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

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

LEKHA, P. K.; LONSANE, B. K. Production and application of Tannic Acyl Hydrolase: State of the art. **Advances in Applied Microbiology**, v. 44, 1997.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense Cambi*)**. 2008. 219 f. Tese (Doutorado), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2008.

\_\_\_\_\_. **Caracterização e atividade antioxidante da jaboticaba, [*Myrciaria cauliflora* (Mart.)**. Lavras: UFLA, 2009.

\_\_\_\_\_. Caracterização do fruto jaboticaba (*Myrciariacauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latino Americanos de Nutricion**, v. 58, n. 4, p. 416-421, 2008.

LIMA, H. C. **Modificações de carboidratos estruturais e de enzimas pécticas em jabuticaba [Pliniatrunciflora (Berg) Kausel - MYRTACEAE]**. 2002, 61 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). Departamento de Ciência de Alimentos da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2002.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. São Paulo: Plantarum Ltda, 1992.

\_\_\_\_\_. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo in natura)**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.

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

LUNA, J. V. U.; ROCHA JUNIOR, D. S. R. Banco de germoplasma de fruteiras nativas e exóticas. **Revista Bahia Agrícola**, Salvador, v. 7, n. 1, 2005.

MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MARTEAU, P. E.; RAMBAUD, J. C. Potential of using lactic acid bacteria for therapy and immunomodulation in man. **FEMS Microbiology. Reviews**, v. 12, p. 207-220, 1993.

MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C. et al. Influence of addition of raffinose family oligosaccharides on probiotic survival in fermented milk during refrigerated storage. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 7, p. 768-774, 2006.

MATTILA-SANDHOLM, T. et al. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dairy Journal**, Barking, v. 12, p. 173-182, 2002.

MELLO, J. C. P.; SANTOS, S. C. Taninos. In: SIMÕES, C.M. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre: Ed.UFGRS/Ed.UFSC, 2001.

MELO, A. G. **Purificação e caracterização da tanase de *Aspergillus sp. GM4* em fermentação submersa**. 2012. 66 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Bol. SBCTA**, Campinas, v. 36, n. 1, p. 1-11, 2002.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAUJO, E. L. Tannis: from chemistry to ecology. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

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

\_\_\_\_\_. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 2, p. 109-122, 2006.

- MORAIS, M. B.; JACOB, C. M. A. O papel dos probióticos e prebióticos na prática pediátrica. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n. 5, p. S189-S197, 2006.
- MOREIRA, A. V. B.; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 4, p. 411-424, 2004.
- MORTON, J. F. **Fruits of warm climates**: creative resources system. [S.l.: s.n.], 1987.
- MOURA, C. A. **Caracterização e aplicação da casca residual do processamento da jabuticaba**. Campus de Cascavel: Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2016.
- MOURA, L. C. **Desenvolvimento de bebidas lácteas com polpa de goiaba e farinha da casca de jabuticaba e cinética da secagem e composição físico-química dos resíduos**. 2016. 73 f. Dissertação (Mestrado), Instituto Federal Goiano, Câmpus Rio Verde, 2016.
- MUELLER-HARVEY, I. Analysis of hydrolysable tannins. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 91, n. 1, p. 3-20, Feb. 2001.
- NAKAMURA, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Method for analysis of tannic acid and its metabolites in biological samples: Application to tannic acid metabolism in the rat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 1, p. 331-339, 2003.
- NIELSEN, A. C. Tendência do mercado de iogurtes e bebidas lácteas: evolução dos segmentos. In: LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G. (coords.). **Leites fermentados e bebidas lácteas**. Campinas: ITAL, 1997.
- NIKI, E. et al. Interaction among vitamin C, vitamin E, and b-carotene. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 62, n. 6, p. 1322-1326, 1995.
- O'MAY, G. A.; MACFARLANE, G. T. Health claims associated with probiotics. In: TAMIME, A. Y. (ed.). **Probiotic Dairy Products**. Ames: Blackwell Publishing, 2005.
- OLIVEIRA, A. L. et al. Caracterização tecnológica de jabuticabas 'Sabará' provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, Dec. 2003.
- OLIVEIRA, A. M. **Desenvolvimento de bebida láctea sabor graviola com potencial atividade funcional**. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2012.
- OLIVEIRA, F. C. de. **Extratos de casca de jabuticaba**: compostos fenólicos e atividade antibacteriana. 2016. 70 f. Dissertação (mestrado acadêmico)— Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.
- OLIVEIRA, M. C. M. **Caracterização do extrato aquoso de alpiste (Phalaris canariensis L.) e avaliação dos efeitos antioxidantes e hipoglicemiantes**. 2015.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos. – Campinas, 2015.

OLIVEIRA, M. N. et al. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 38, n. 1, jan./mar., 2002.

OLIVEIRA, M. N.; DAMIN, M. R. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 172-176, 2003.

PELEGRINE, D. H. G.; CARRASQUEIRA, R. L. Aproveitamento do soro do leite no enriquecimento nutricional de bebidas. **Brazilian Journal of Food Technology**. Dez. 2008

PENNA, A. L. B. **Parâmetros reológicos de gomas para a fabricação de bebidas lácteas à base de soro**. 1997. 128 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia). FCF/USP, São Paulo, 1997.

PESCUMA, M. et al. Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 141, p. 73-81, 2010.

\_\_\_\_\_. Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. **Food Microbiology**, v. 25, p. 442-451, 2008.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

PIRES, M. A. **Avaliação da capacidade antioxidante de extratos comerciais de alecrim e chá verde e sua influência na estabilidade de hambúrgues de frango durante armazenamento congelado**. 2014. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos – Universidade de São Paulo, Departamento de Engenharia de Alimentos, Pirassununga, 2014.

PRADO, F. C. et al. Trends in non- dairy probiotic beverages. **Food Research International**, Barking, v. 41, n. 2, p. 111-123, 2008.

PUPPONEN-PIMIÄ, R. et al. Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 13, p. 3-11, 2002.

RAJALAKSMI, D.; NARASIMHAN, S. Food antioxidants: sources and methods of evaluation. In: MADHAVI, D. L.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. **Food Antioxidants: technological, toxicological and health perspectives**. New York: Marcel Dekker, 1995.

RAMOS, M. C. P. **Crescimento e marcha de absorção de nutrientes em genótipos de jaboticabeira Sabará**. 2016. 62 f. Dissertação (mestrado) -

Universidade Federal de São João Del-Rei, Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, 2016.

RECCHIA, B. R. G. **Desenvolvimento de bebida láctea fermentada a base de soro lácteo ácido: caracterização físico-química e reológica.** 2014. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, [S.l.], 2014.

REED, J. D. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 5, p. 1516-1528, May. 1995.

RIBEIRO, E. M. G. **Atividade antioxidante e polifenóis totais do fruto de cagaita (Eugenia dysenterica DC) com e sem casca.** 2011. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, Rio de Janeiro, 2011.

RIBEIRO, O. A. S. **Bebida láctea fermentada elaborada com camellia sinensis.** Diamantina: UFVJM, 2013.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease.** v. 34, Suppl. 2, p. 105-110, 2002.

RODAS, M. A. B. et al. Caracterização Físico-Química, histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, p. 304-309, 2001.

RODRIGUES, H. G. et al. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rutina na concentração de colesterol – HDL, **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 3, jul./set. 2003.

RUFINO, M. S. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico Online**, Fortaleza, p. 1-4, 2017.

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

SABOYA, L. V.; OETTERER, M.; OLIVEIRA, A. J. Propriedades profiláticas e terapêuticas de leites fermentados – uma revisão. **Bol. Soc. Bras. Ciênc. Tecnol. Alim.**, v. 31, n. 2, p. 176-185, 1997.

SAMONA, A.; ROBINSON, R. K. Effect of yogurt cultures on the survival of bifidobacteria in fermented milks. **Journal of the Society of Dairy Technology.**, v. 47, n. 2, p. 58-60, 1994.

SANCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A. Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 76, n. 2, p. 270-276, 1998.

SANDERS, M. E. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 8, p. 341- 347, 1998.

SANTOS, F. O. **Atividades Biológicas de Anacardium Occidentale (Linn)**. Patos: Universidade Federal de Campina Grande, 2011.

SANTOS, J. P. V.; FERREIRA, C. L. L. F. Alternativas para o aproveitamento de soro de queijo nos pequenos e médios laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 56, n. 3, p. 44-50, 2001.

SANTOS, K. M. O. et al. Addition of grape pomace extract to probiotic fermented goatmilk: the effect on phenolic content, probiotic viability and sensory acceptability. **Journal of the Science of Food and Agriculture** v. 97, p. 1108–1115, 2016.

SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. Taninos. [S.l.: s.n.], 2004. In: SIMÕES, C. M. O.; GUERRA, M. P. et al (orgs). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 2004.

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

SCALABRINI, P. et al. Characterization of Bifidobacterium strains for use in soymilk fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 39, p. 213-219, 1998.

\_\_\_\_\_. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 45, p. 287-306, 2005.

SCHOFIELD, P.; MIBUGUA, D. M.; PELL, A. N. Analyses of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 91, n. 1, p. 21-40, jan. 2001.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects, application**. Lancaster: Technomic, 1995.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence: review. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v. 215, n. 2, p. 213-219, 1993.

SILVA, L. M. R. **Compostos bioativos em polpa e subprodutos de frutas tropicais: quantificação, atividade antimicrobiana e encapsulamento**. 2014. 109 f. Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2014.

SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010.

SILVEIRA, F. T. Caracterização citogenética em duas espécies do gênero Myrciaria. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**; v. 6, n. 2, 2006.

- SIMÃO, A. A. **Antioxidantes, clorofila e perfil de ácidos graxos em folhas de mandioca**. 2010. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras, 2010.
- SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Florianópolis: Ed. da UFSC; Porto Alegre: Ed. da UFRGS, 2000.
- SINGH, K. et al. Probiotics: a review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, Beijing, v. 1, n. 2, p. 287-290, 2011.
- SIVIERI, K.; OLIVEIRA, M. N. Avaliação da vida-de-prateleira de bebidas lácteas preparadas com "fat replacers" (Litesse e Dairy-lo). **Ciência Tecnologia Alimentos**, v. 22, 2002.
- SMITH, L. L. Overtraining, excessive exercise and altered immunity: Is This a T Helper-1 Versus T Helper-2 Lymphocyte Response? **Sports Medicine**, Texas, v. 33, n. 5, p. 347-364, 2003.
- SOUZA, D. G. **Caracterização da farinha da casca de jaboticaba e uso em bebidas lácteas saborizada com mamão**. 2016. 69 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde, 2016.
- SOUZA, P. B. A. **Avaliação de Listeria monocytogenes em melão e jaboticaba**. Viçosa: [S.I.], 2014.
- 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.
- STEFE, C. A.; ALVES, M. A. R.; RIBEIRO, R. L. Probióticos, Prebióticos e Simbióticos – Artigo de Revisão. **Saúde e Ambiente em Revista**, v. 3, n. 1, p. 16-33, 2008.
- STURMER, E. S. et al. A importância dos probióticos na microbiota intestinal humana. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 27, n. 4, p. 264-272, 2012.
- TEBALDI, V. M. R. **Elaboração de bebida láctea de soro de ricota e extrato solúvel de soja**. 2005. 79 f. Dissertação (Magister Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.
- TEIXEIRA, G. H. A. et al. Changes in the quality of jaboticaba fruit (*Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg. cv. Sabara) stored under different oxygen concentrations. **Journal of Food Science**, p. 2844–2849, 2011.
- TEIXEIRA, L. V.; FONSECA, L. M. Perfil físico-químico de soro de queijo mozzarella e minas-padrão produzidos em várias regiões do Estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p. 243-250, 2008.
- TEIXEIRA, Natália de Carvalho. **Desenvolvimento, caracterização físico-química e avaliação sensorial de suco de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*(Vell) Berg)**, Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da UFMG, 2011.

**TEMPORADA das jaboticabas.** Goiânia: Aldeia Acabamento e Complementos, 2012.

UNITED STATES DAIRY EXPORT COUNCIL. Características, funções e novas aplicações das proteínas de soro e suas novas frações. **Food Ingredients**, n. 17, p. 50-56, 2002.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO**, Campinas, n. 4, p. 164, 2011.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 39, p. 44-84, 2007.

WALZEM, R. L. Functional Foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, p. 518, 2004.

WANG, X. et al. H<sup>+</sup>-ATPase-Defective Variants of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Contribute to Inhibition of Postacidification of Yogurt during Chilled Storage. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 2, p. 297-302, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Probiotics in food: health and nutritional properties and guidelines for evaluation.** Rome: [s.n.], 2006.

YAESHIMA, T. Benefits of bifidobacteria to human health. **Bulletin of the International Dairy Federation.**, v. 313, p. 36-42, 1996.