



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

**FELIPE PEREIRA RAMOS**

**INFLUÊNCIA DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO SOBRE OS PARÂMETROS DE  
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM SOBREMESA LÁCTEA COM PRODUTOS DA  
CASCA DE JABUTICABA E CULTURA NATIVA POTENCIALMENTE  
PROBIÓTICA DE *Lactobacillus mucosae***

**CAMPINA GRANDE**

**2018**

FELIPE PEREIRA RAMOS

**INFLUÊNCIA DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO SOBRE OS PARÂMETROS DE  
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM SOBREMESA LÁCTEA COM PRODUTOS DA  
CASCA DE JABUTICABA E CULTURA NATIVA POTENCIALMENTE  
PROBIÓTICA DE *Lactobacillus mucosae***

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

Área de concentração: Química Industrial.

Orientadora:

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

**CAMPINA GRANDE**

**2018**

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

R175i Ramos, Felipe Pereira.  
Influência do tempo de armazenamento sobre os parâmetros de atividade antioxidante em sobremesa láctea com produtos da casca de jabuticaba e cultura nativa potencialmente probiótica de *Lactobacillus mucosae* [manuscrito] : / Felipe Pereira Ramos. - 2018.  
40 p.

Digitado.

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

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

1. Lácteos funcionais. 2. Lactobacilos. 3. Sobremesas lácteas. 4. Myrciaria cauliflora.

21. ed. CDD 664



FELIPE PEREIRA RAMOS

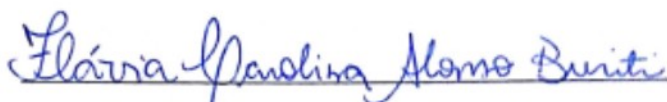
**INFLUÊNCIA DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO SOBRE OS PARÂMETROS DE  
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM SOBREMESA LÁCTEA COM PRODUTOS DA  
CASCA DE JABUTICABA E CULTURA NATIVA POTENCIALMENTE  
PROBIÓTICA DE *Lactobacillus mucosae***

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

Área de concentração: Química Industrial.

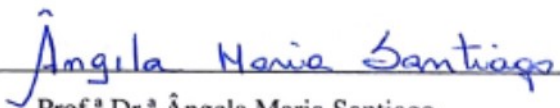
Aprovada em: 26/06/2018.

BANCA EXAMINADORA



Prof.ª Dr.ª Flávia Carolina Alonso Buriti (Orientadora)

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.ª Dr.ª Ângela Maria Santiago

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.ª Dr.ª Pablícia Oliveira Galdino

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

*Dedico este trabalho a Deus por ter me dado  
força durante a caminhada até aqui, e a minha mãe  
pelo suporte e aos meus companheiros de curso.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela força durante toda a minha caminhada acadêmica, pois não foi fácil acreditar num sonho e lutar por ele, ouvindo críticas, cobranças e manter o foco no meu sonho.

Tenho muito que agradecer a minha mãe Mônica, pelo seu apoio incondicional mesmo que não tenha tido a oportunidade de estudar na sua vida, sempre quis o melhor para mim. O homem que sou hoje devo tudo a ela, minha base, meu tudo.

Aos meus amigos de ensino médio que até hoje estão presentes na minha vida, e todos tiveram um papel fundamental nessa minha jornada, em especial minhas amigas de sempre Elilde e Aluska.

Aos meus companheiros de curso pela sua amizade e companheirismo, por sempre me ajudar nas dificuldades e por dividir os seus conhecimentos comigo, em especial a Ewellyn que esteve comigo presente desde o início do curso. Também ao casal de amigos Raquel e Gutemberg, hoje noivos, por sempre estarem presentes, a Renan por sempre está disposto a ajudar, a Ivyna que nos acompanhou nessa jornada e sempre estava alegre e nos contagiava, a Esdras que sempre tinha algo interessante para compartilhar conosco.

Aos professores da graduação que nos repassaram todos os seus conhecimentos, e em especial aqueles que sempre nos motivaram a ser cada vez melhores.

À minha orientadora, Dr.<sup>a</sup> Flávia Carolina Alonso Buriti, pela oportunidade de aprendizado, pela paciência e comprometimento comigo durante a elaboração do Trabalho de Conclusão de Curso e a toda a equipe do Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos (NUPEA) pelo suporte à pesquisa.

Às empresas Usina-Giasa/Biosev, DuPont/Danisco, e Embrapa Caprinos e Ovinos pelo fornecimento de parte do material utilizado na pesquisa.

À banca examinadora, Dr.<sup>a</sup> Pablícia e Dr.<sup>a</sup> Ângela, com as quais tive prazer de ser aluno e pelas quais tenho muita admiração e respeito.

## RESUMO

O uso de frutas e seus subprodutos no desenvolvimento de produtos de base láctea com a incorporação de culturas potencialmente probióticas tem mostrado um crescimento nos últimos tempos. Dessa forma, a casca da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), rica em compostos fenólicos, é uma interessante opção juntamente com a cepa nativa com potencial probiótico *Lactobacillus mucosae* CNPC 007 na composição de uma nova sobremesa láctea. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do tempo de armazenamento sobre os parâmetros de atividade antioxidante de uma sobremesa láctea contendo produtos da casca da jabuticaba (calda e extrato hidroalcoólico) e a cultura CNPC 007. Foram utilizadas metodologias adaptadas de outros autores para a determinação de compostos fenólicos totais, porcentagem do sequestro de radical DPPH, EC<sub>50</sub> e capacidade antioxidante total. Os resultados obtidos demonstram que ao longo do armazenamento a quantidade de compostos fenólicos totais apresentou uma tendência de redução, uma vez que os valores iniciais foram próximos de ±50 mg Eq AG/100g e ao final de 21 dias foram aproximadamente ±45 mg Eq AG/100g. Em relação ao sequestro de radical DPPH, houve uma tendência de aumento partindo de valores de aproximadamente ±32% para ±44% de captura do radical livre ao final da estocagem. No entanto, as diferenças observadas não foram significativas estatisticamente tanto para o teor de fenólicos como para o percentual de DPPH captado ( $p > 0,05$ ). Já em relação aos valores de EC<sub>50</sub>, estes sofreram uma redução significativa no decorrer do período ( $p < 0,05$ ), iniciando em ±6 g de sobremesa/L de solução µM de DPPH, resultando em um valor final de 3,93 g de sobremesa/L de solução µM de DPPH, sendo necessária uma menor porção do produto para reduzir a absorvância da solução µM DPPH pela metade ao fim do armazenamento. A capacidade antioxidante total obtida aos 21 dias foi de, aproximadamente, ±211 g de sobremesa para captação de 1 g de radical livre de DPPH, quantidade de sobremesa significativamente menor ( $p < 0,05$ ) para promover o mesmo benefício que nas primeiras semanas de armazenamento, com valores próximos de ±290 g de sobremesa/g de DPPH. A provável justificativa para os dados obtidos nesse estudo é que a cultura nativa de *L. mucosae* contida na sobremesa láctea metabolizou os polifenóis da jabuticaba para manter-se viável durante o período de estocagem, diminuindo estas moléculas em tamanho, aumentando a exposição de seus grupos funcionais, colaborando, dessa forma, para a maior captação de radical livres. Tais resultados demonstraram, portanto, uma resposta positiva do efeito do tempo sobre a capacidade antioxidante da sobremesa.

**Palavras-Chave:** Lácteos funcionais. Lactobacilos. *Myrciaria cauliflora*. Polifenóis.



## ABSTRACT

The use of fruits and their byproducts in the development of dairy products with the incorporation of potentially probiotic cultures has increased in recent times. In this way, the jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) peels, a fruit derived product rich in phenolic compounds, is an interesting option together with the indigenous probiotic strain *Lactobacillus mucosae* CNPC 007 for the composition of a new dairy dessert. The objective of this study was to evaluate the influence of the storage time on the parameters of antioxidant activity of a dairy dessert containing products of the jaboticaba peel (syrup and hydroalcoholic extract) and the CNPC 007 culture. Methodologies adapted from other authors were used to determine the total phenolic compounds, percentage of DPPH radical sequestration, EC<sub>50</sub> and total antioxidant capacity. The results show that the total phenolic compounds presented a tendency to reduce throughout the storage, since the initial values were close to  $\pm 50$  mg GAE / 100g and at the end of 21 days they were to be close to  $\pm 45$  mg GAE / 100g. Regarding the DPPH radical scavenging, there was a tendency of increasing the capture of the free radicals, starting from values of approximately  $\pm 32\%$  to  $\pm 44\%$  at the end of storage. However, the observed differences were not statistically significant for both the phenolic content and the percentage of scavenged DPPH ( $p > 0.05$ ). In relation to the EC<sub>50</sub> values, they showed a significant reduction over the period ( $p < 0.05$ ), starting at  $\pm 6$  g dessert/L of  $\mu\text{M}$  DPPH solution, resulting in a final value of 3.93 g dessert/L of  $\mu\text{M}$  DPPH solution, and, therefore, a smaller portion of the product was required to reduce the absorbance of the  $\mu\text{M}$  DPPH solution by a half at the end of storage. The total antioxidant capacity obtained at 21 days was approximately  $\pm 211$  g dessert to capture 1 g DPPH free radicals, a significantly lower amount of dessert ( $p < 0.05$ ) to promote the same benefit when compared to the first weeks of storage, in which the values were close to  $\pm 290$  g dessert / g DPPH. The probable explanation for these results is that the indigenous *L. mucosae* culture, added to the dairy dessert, metabolized the jaboticaba polyphenols to remain viable during the storage period, reducing these molecules in size, increasing the exposure of their functional groups, thus contributing to the higher free radical scavenging. These results, therefore, demonstrated a positive response of the time effect on the antioxidant capacity of the dessert.

**Key words:** Functional dairy products. Lactobacilli. *Myrciaria cauliflora*. Polyphenols.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
1.1 OBJETIVOS .....	10
1.1.1 GERAL .....	10
1.1.2 ESPECÍFICO .....	10
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>12</b>
2.1 PROBIÓTICOS .....	12
2.2 ALIMENTOS FUNCIONAIS .....	14
2.3 BACTÉRIAS LÁCTICAS COM POTENCIAL PROBIÓTICO .....	16
2.4 SOBREMESAS LÁCTEAS .....	17
2.5 JABUTICABA .....	19
2.6 COMPOSTOS FENÓLICOS COMO OXIDANTES NATURAIS .....	21
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>23</b>
3.1 PRODUTOS DA CASCA DA JABUTICABA .....	23
3.2 SOBREMESA .....	24
3.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO FENÓLICO .....	25
3.4 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	26
3.5 ATIVIDADE DE SEQUESTRO DE RADICAL LIVRE DPPH.....	26
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>29</b>
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>32</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>33</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os alimentos funcionais têm potencial para o estímulo da saúde através de mecanismos não convencionais da nutrição. No entanto, tal efeito se restringe à melhoria da condição de saúde e não à cura de doenças (SAAD et al., 2011).

De acordo com Roberfroid (2007), um alimento funcional deve demonstrar seus efeitos a partir do consumo de quantidades normalmente presentes na dieta usual. Portanto, não é um medicamento, mas parte do padrão alimentar normal. Quando ingeridos em dietas convencionais, podem demonstrar capacidade de regulação de funções corporais de modo a auxiliar na proteção contra doenças crônicas.

Um alimento funcional pode ser classificado de acordo com os componentes bioativos presentes, como por exemplo, os probióticos, as fibras, os fitoquímicos, as vitaminas, os minerais, as ervas, os ácidos graxos ômega 3 ( $\omega$ -3), além de determinados peptídeos e proteínas (ARVANITTOYANNIS; HOUWELINGEN-KOUKALIAROGLOU, 2007).

Especificamente o desenvolvimento de alimentos que possuem propriedades probióticas é um desafio, pois os consumidores estão cada vez mais exigentes e optando por uma melhor alimentação e conseqüente qualidade de vida. Os probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício para a saúde do hospedeiro (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001; HILL et al., 2014).

Um conjunto crescente de estudos científicos aponta que os probióticos podem beneficiar a saúde humana, apoiar a saúde digestiva e a função imune (INTERNATIONAL SCIENTIFIC ASSOCIATION OF PROBIOTICS AND PREBIOTICS, 2016). O propósito da administração de produtos probióticos é resultar em uma microbiota intestinal balanceada, a qual, por sua vez, terá um impacto favorável sobre a saúde do consumidor (KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008).

Os lactobacilos são optativamente anaeróbicos e produtores de ácido láctico, possuem afinidade com o muco gastrointestinal, devido à sua origem, são catalase negativos e não formadores de esporos, além de possuírem forma de bastonetes. Várias cepas do gênero *Lactobacillus* são usadas como probióticos e, devido a estas características, atuam no sistema imunológico do intestino podendo inibir bactérias patogênicas (BILKOVÁ et al., 2011).

A jabuticaba, uma fruta tropical que tem sua origem no centro sul do Brasil (ZARGO, 2014), possui grande valor nutricional e tem sido estudada como candidata a alimento funcional (LAMOUNIER et al., 2015). Dentre os tipos de espécies, a *Myrciaria cauliflora* é a

mais conhecida, possuindo formas arredondadas e cor preta quando atinge o índice de maturação. Também apresenta uma polpa branca, geralmente com uma a duas sementes, e teores elevados de carboidratos, água, vitaminas, fibras e sais minerais (ZARGO, 2014).

A jabuticaba não possui uma comercialização igual às demais frutas tropicais, embora seja abundante em seu curto período de safra. Após colhida, possui uma vida útil de até 3 dias, devido à grande quantidade de açúcares e água em sua composição, além das enzimas, causando a deterioração e fermentação da polpa, impossibilitando a sua comercialização. Devido à presença de microrganismos e atividades enzimáticas, sofrem reações químicas que acarretam uma perda bastante elevada depois de colhidas. Sendo assim, a alternativa seria a industrialização desse fruto tropical, como a produção de sucos, vinhos, licores, compotas e geleias (GARCIA, 2014). Outra possibilidade seria a incorporação em alimentos lácteos (ALMEIDA, 2016).

Nesse sentido, o uso da casca da jabuticaba na elaboração de novos produtos de base láctea em conjunto com probióticos surge como uma opção inovadora propiciando benefícios à saúde através dos compostos fenólicos presentes atuando como antioxidantes naturais (LIMA et al., 2008; ALMEIDA, 2016) que pode, por exemplo, ser utilizado na elaboração de uma sobremesa láctea probiótica.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 GERAL

Avaliar a influência do tempo de armazenamento sobre os parâmetros de atividade antioxidante em sobremesa láctea elaborada com produtos da casca da jabuticaba (calda e extrato hidroalcoólico) e cultura nativa potencialmente probiótica de *Lactobacillus mucosae* CNPC 007.

### 1.1.2 ESPECÍFICO

Os objetivos específicos desse estudo foram:

- a) avaliar a concentração de compostos fenólicos totais da sobremesa láctea armazenada sob refrigeração durante 21 dias e posteriormente congelada;
- b) avaliar o efeito do tempo de armazenamento sobre o sequestro de radical DPPH;

- c) quantificar a concentração de sobremesa láctea necessária para reduzir pela metade a absorvância da solução  $\mu\text{M}$  de DPPH ( $\text{EC}_{50}$ );
- d) obter a capacidade antioxidante total em gramas de sobremesa necessária para capturar 1 g de DPPH.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 PROBIÓTICOS

O conceito de que as bactérias contidas nos alimentos podem beneficiar a saúde surgiu no começo do século 20 e é frequentemente atribuído ao cientista russo Ilya Metchnikoff, ganhador do Prêmio Nobel. Ele criou a hipótese de que o consumo de grandes quantidades de leites fermentados contendo bactérias do tipo *Lactobacillus* (por exemplo, no “leite azedo”) poderia proporcionar maior longevidade e qualidade de vida, já que essas bactérias chegavam ao cólon e limitavam as atividades de micro-organismos indesejáveis. A palavra “probiótico” – origem do latim *pro* (“a favor”) e do grego *bios* (“vida”) – foi usada pela primeira vez em 1954 para descrever substâncias necessárias para uma vida saudável (BINNS, 2013), e é usada para nomear bactérias associadas com efeitos benéficos para seres humanos e animais. Metchnikoff sugeriu que “a dependência dos micróbios do intestino na comida torna possível adotar medidas para modificar a flora intestinal e substituir os micróbios nocivos por micróbios úteis”. As pesquisas com probióticos nas duas últimas décadas do século XX apresentaram um grande progresso para a época e trouxeram avanços expressivos na seleção e caracterização de culturas probióticas, com suas especificidades e argumentações relacionadas aos benefícios à saúde através do seu consumo (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001).

Um dos principais pontos observados é que os probióticos podem trazer benefícios básicos de acordo com a cultura administrada. É aceitável que uma classe de micróbios vivos possa trazer resultados benéficos à saúde; porém, cada cepa probiótica é diferente e, sendo assim, acarreta um resultado distinto em determinados indivíduos. Quando a suposição sobre as cepas probióticas investigadas for correta “culturas bacterianas seguras administradas em altas doses apresentarão um resultado benéfico em doenças gastrointestinais” (HILL et al., 2014). Membros dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são os mais usados como microrganismos probióticos, porém, não exclusivamente, seja como suplementos ou em alimentos probióticos disponíveis ao consumidor (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001).

No Brasil, para que o fabricante possa alegar que o alimento que contém probióticos contribui para alguma propriedade funcional ou de saúde para o organismo, é necessário

avaliar estes microrganismos quanto à possível produção de toxinas e bacteriocinas, assim como o perfil de resistência a antibióticos, entre outros. Em todo o caso, as alegações são avaliadas caso a caso (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2016), uma vez que diferentes tipos de probióticos têm apresentado eficácia em diversos níveis de concentração (INTERNATIONAL SCIENTIFIC ASSOCIATION OF PROBIOTICS AND PREBIOTICS, 2016). Para que o probiótico possa trazer benefícios com o consumo diário do produto no qual está contido, este normalmente deverá conter uma quantidade mínima factível na faixa de  $10^8$  a  $10^9$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC) em sua porção, considerando 100 g ou 100 mL do alimento ingerido contendo entre  $10^6$  e  $10^8$  UFC/g (GALLINA et al., 2011; MARTINEZ; BEDANI; SAAD, 2015). No entanto, os estudos apontam que mesmo um alimento contendo uma dose elevada de probióticos pode não ser eficaz. A dose efetiva pode chegar a mais de  $10^{10}$  de UFC diárias, dependendo do probiótico, em particular, e do benefício desejado (INTERNATIONAL SCIENTIFIC ASSOCIATION OF PROBIOTICS AND PREBIOTICS, 2016).

De modo geral, para que um microrganismo seja classificado como probiótico, é necessário apresentar alguns critérios: apesar de certas cepas probióticas não serem de origem humana, supõe-se que um probiótico isolado de ser humano possa ser mais seguro e eficaz para a microbiota intestinal; para que uma cultura probiótica possa ser administrada, esta deve ser declarada como segura para o consumo humano com base em evidências e experimentos científicos; a elaboração de probióticos deve ser possível em grande escala e os microrganismos devem estar ativos e viáveis nos meios aos quais vierem a ser incorporados; uma vez que o estômago e o suco gástrico possuem pH baixo como mecanismo de defesa contra microrganismos, os probióticos devem ser resistentes nessas condições (MARTINEZ; BEDANI; SAAD, 2015). Os probióticos resultam na melhora da barreira epitelial (BRITO et al. 2012).

Os probióticos possuem efeitos positivos relacionados à saúde humana, produzem substâncias antimicrobianas com a capacidade de aderir às paredes celulares intestinais permitindo sua multiplicação. Têm funções úteis ajudando a hidrólise de carboidratos promovendo uma boa digestão, estimulando o sistema imunológico com o aumento da produção de anticorpos, mantendo o pH do intestino adequado e atuando contra microrganismos patogênicos de forma a eliminá-los (ANADÓN et al., 2016).

Também atuam contra fungos e vírus pela produção de anticorpos e, conseqüentemente, resultam na melhora do sistema imunológico (BRITO et al. 2012).

Os probióticos devem ser seguros quando ingeridos através de alimentos ou mesmo para uso clínico por consumidores que estejam com a imunidade comprometida (MARTINEZ; BEDANI; SAAD, 2015).

Os probióticos, portanto, exercem influência sobre a imunidade da mucosa intestinal, atuando de forma a aumentar a quantidade de células produtoras de anticorpos, imunoglobulina (IgA), que limita a proliferação de bactérias. No entanto, nem todos os probióticos são capazes de atuarem como anti-inflamatórios; isso está relacionado aos efeitos dos probióticos serem complexos sobre as reações imunológicas do hospedeiro e serem específicos de acordo com a cepa probiótica, a qual depende do estado de saúde do indivíduo ou doença (RINGEL; QUIGLEY; LIN, 2012).

O consumo em doses adequadas de probióticos do gênero *Lactobacillus* resulta em um aumento apreciável dessas bactérias nas fezes, e que, em alguns casos, resulta numa redução dos microrganismos indesejáveis, como *Staphylococcus* (BINNS, 2013).

No entanto, determinados produtos classificados incorretamente como probióticos podem conter cepas não comprovadamente eficazes ou não fornecer níveis adequados de probióticos viáveis até o final do prazo de validade (*shelf life*) (INTERNATIONAL SCIENTIFIC ASSOCIATION OF PROBIOTICS AND PREBIOTICS, 2016). Dessa forma, na pesquisa envolvendo o uso de novas culturas, como os microrganismos nativos, é necessária a comprovação da eficácia e a garantia da viabilidade durante todo o período de armazenamento do produto no qual o candidato a probiótico é adicionado (DE MORAES et al., 2017).

## 2.2 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Tem crescido cada vez mais o entendimento pelos consumidores de que a dieta exerce um papel importante que vai além do fornecimento dos nutrientes necessários para o desenvolvimento do ser humano. A alimentação assume uma importância tão quanto a linguagem ou a escrita de um povo, o que possibilita uma análise das características de uma determinada população, podendo ser uma consequência ou um elemento que possa vir a gerar mudanças nos âmbitos sociais e comportamentais (NITZKE, 2012).

O termo "alimento fisiologicamente funcional", que primeiro apareceu na seção de notícias do periódico *Nature* com a manchete "O Japão explora a fronteira entre alimentos e remédios", de Swinbanks e O'Brien (1993), acarretou em um importante impacto internacional ao se pensar em alimentos como uma fonte alternativa no auxílio contra doenças



(ARAI, 2002). São definidos “alimentos funcionais” aqueles que oferecem ao consumidor benefícios suplementares aos da alimentação convencional, podendo reduzir o risco de doenças. Porém, não podem ser usados como tratamento de doenças que se agravam de forma acelerada (BALDISSERA et al., 2011). De acordo com a Biblioteca Virtual de Saúde (2015), define-se “alimento funcional” como aqueles “que produzem efeitos benéficos à saúde, além de suas funções nutricionais básicas”. Estes se caracterizam, portanto, por oferecer vários benefícios à saúde do consumidor, pois além de desempenharem um valor nutritivo próprio de acordo com a sua composição, podem também exercer um papel potencial benéfico à redução do risco de doenças crônicas.

Para que um alimento seja considerado funcional o mesmo deve apresentar algumas características adicionais: precisam ser do tipo convencional e que possam ser consumidos em uma dieta normal; necessitam ser constituídos por componentes naturais, ocasionalmente podendo possuir elevada concentração; devem ter efeitos positivos, além do valor nutritivo básico, e que assim possam aumentar a qualidade de vida, o bem-estar, e influenciar diretamente os âmbitos físicos, psicológicos e comportamentais do consumidor, diminuindo o risco de doenças. A comprovação dos seus efeitos benéficos deve ter fundamentos científicos. Também pode ser um alimento: de origem natural; um alimento que tenha tido um dos seus componentes removidos; um alimento que tenha o caráter natural de um ou mais componentes modificados; um alimento no qual a atividade biológica ou farmacológica de um ou mais componentes tenha sido modificada (MORAES; COLLA, 2006).

Estudos demonstrando os efeitos positivos dos alimentos funcionais têm resultado em recentes publicações de regulamentos e orientações para o uso das alegações de propriedades funcionais e ou de saúde. Esses tipos de alegações só podem ser realizados apenas se o alimento se enquadra em uma das determinadas categorias de nutrientes e não nutrientes (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2016).

A legislação brasileira não tem uma definição clara sobre os alimentos funcionais, porém, declara que a propriedade funcional consiste “aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano” (CASEMIRO; RAMOS, 2014).

Assim como o Brasil, os Estados Unidos também não possuem uma definição específica ou regulamentos para alimentos funcionais (U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2018). No entanto, o Food and Drug Administration (FDA) estabelece três categorias de considerações relacionadas às propriedades funcionais dos alimentos, as quais são: (1) relacionados à saúde – apresentam uma relação entre o alimento, um componente ou mesmo

um ingrediente com suplemento para uma dieta e a diminuição do risco de uma doença ou uma condição a boa saúde (para isso é necessária uma fundamentação genética que explique essas condições de controle de doença); (2) conteúdo de nutrientes – oferecer nutrientes de um produto ou comparado com outro alimento (tal alegação só pode ser empregada para aquelas substâncias ou nutrientes que possuam um valor estabelecido para doses diárias); (3) funcionalidade – está relacionada à ação de nutrientes que atuam na estrutura e funcionalidade do indivíduo com ingredientes dietéticos como, por exemplo, o mineral cálcio que é importante para o desenvolvimento e manutenção dos ossos, sendo que também tais considerações também podem ser assimiladas como um componente que atua sobre uma determinada função, como os antioxidantes que atuam mantendo a integridade celular do corpo. Estas considerações podem auxiliar na identificação de uma possível doença de acordo com a deficiência de determinado nutriente e, assim, permitir agregar um determinado tipo de alimento funcional à dieta de modo que venha a trazer o benefício desejado (NITZKE, 2012).

Dúvidas com relação à eficácia do uso de alimentos funcionais a longo prazo levantam questões quanto à sua segurança, devido a condições que podem interferir com medicamentos que são utilizados para uma mesma função. Outro ponto é que, devido à sua composição ser provinda de organismos vivos frágeis, dependem de cuidados de transporte e conservação para garantir a preservação de suas propriedades funcionais. Além disso, nos casos em que já se possui alegações aprovadas, os novos alimentos funcionais produzidos são analisados novamente, levando-se em consideração que podem ocorrer variações na atividade de um nutriente em função de sua origem ou do processo usado para a sua fabricação (SALLES, 2013).

### 2.3 BACTÉRIAS LÁCTICAS COM POTENCIAL PROBIÓTICO

As bactérias lácticas estão presentes em alimentos ricos em nutriente como vegetais, produtos laticínios e na microbiota intestinal humano e animal. Alguns tipos de bactérias isoladas do intestino humano ou animal compõem atualmente o grupo de bactérias probióticas, as quais se consumidas de maneira adequada oferecem benefícios a quem as consomem (FERREIRA, 2012).

As bactérias lácticas constituem um grupo diverso, são bactérias gram-positivas, não esporuladas, anaeróbicas, em formas de cocos ou bacilos, produtoras de ácido láctico pela fermentação de açúcares. Essas bactérias são responsáveis pela melhoria das propriedades

sensoriais, assim como a conservação de um grande número de produtos fermentados (NOGUEIRA, 2010).

Faz parte das bactérias lácticas o gênero *Lactobacillus*, o qual está presente em vários tipos de alimentos como: cereais, bebidas fermentadas, queijos e produtos lácteos, carnes, etc. São considerados fermentadores de glicose, obtendo como um dos produtos finais o ácido láctico, e produzindo em paralelo CO<sub>2</sub> e etanol em quantidades menores. Os lactobacilos têm-se apresentado eficazes por exercer efeitos benéficos à saúde, principalmente infecções intestinais. Determinadas famílias de lactobacilos demonstram diversas propriedades como a resistência a ácidos e sais, a constância no trato gastrointestinal e modulação imunológica essencial, o que os tornam ótimos organismos vivos com potencial benéfico à saúde do hospedeiro (SILVA, 2011).

O leite fermentado mais conhecido no Brasil é o iogurte, utilizando cultivos do tipo *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. A utilização de bactérias probióticas em produtos lácteos fermentados tem sido largamente estudada devido aos obstáculos da conservação da viabilidade de tais microrganismos ao longo do período de estocagem de refrigeração. Determinados fatores como acidez, oxigênio dissolvido, interações das espécies entre si, métodos de inoculação e as condições de estocagem podem agir na sobrevivência da microbiota probiótica em produtos lácteos fermentados (GALLINA et al., 2011).

Por sua vez, as bebidas lácteas são compostas de soro lácteo, proteínas, gorduras, vitaminas, lactose e minerais, sendo assim consideradas como nutritivas. Neste caso, o desenvolvimento de bebidas lácteas com poder funcional, fermentadas com culturas de caráter probiótico, é um caminho bastante inovador para os investimentos ou mudanças significativas no processo de fabricação. Sendo assim, as indústrias ainda diminuem os desperdícios, a poluição, ao passo de que gera novos recursos e, sobretudo, melhora a importância nutritiva do produto (THAMER; PENNA, 2006).

## 2.4 SOBREMESAS LÁCTEAS

As sobremesas lácteas demonstraram um crescimento nas últimas duas décadas. Caracterizam-se por serem armazenadas sob refrigeração, possuírem um *shelf life* médio de 21 a 28 dias e serem dispostas para o seu consumo imediato. Com os avanços tecnológicos e uso de ingredientes renovadores, as fábricas de laticínios proporcionam novas opções às sobremesas lácteas, injetando novos sabores, componentes mais fáceis de serem digeridos e

que conferem um maior valor nutritivo (BURITI; BEDANI; SAAD, 2016; NIKAEDO; AMARAL; PENNA, 2004; VIDIGAL et al., 2012).

A composição das sobremesas pode variar de acordo com os ingredientes usados e concentrações empregadas. Podem se enquadrar nos derivados do leite desde que apresentem um desempenho funcional em sua composição. Geralmente são apresentadas com uma consistência semissólida compostas basicamente com leite, hidrocoloides (goma), aromatizantes e corantes. Sua durabilidade depende da tecnologia empregada na fabricação, das características próprias de cada ingrediente e seu armazenamento sob condições refrigeradas (VALENCIA, 2015).

Portanto, a ingestão de sobremesas lácteas tem se tornado mais habitual em todo mundo. Porém, no Brasil ainda não se dispõe de uma regulamentação específica que defina padrões de identidade e qualidade para sobremesas lácteas. As exigências sobre o preparo da sobremesa têm uma importância essencial e precisam ser seguidas de acordo com a formulação. O processo em si é composto basicamente de recomendações no preparo da mistura, um tratamento térmico (aquecimento), homogeneização, resfriamento parcial e o armazenamento sob refrigeração (RINCÃO; PEDRO, 2016). Para que auxilie na conservação do produto, podem ser empregados os tratamentos térmicos de pasteurização ou esterilização, com o objetivo de não só garantir a segurança do produto. Estes tratamentos conseguem também prolongar o *shelf life* das sobremesas lácteas através da redução e destruição de microrganismos, pela inativação das enzimas, pela conservação das propriedades sensoriais, bem como a manutenção máxima possível do seu valor nutricional (NIKAEDO; AMARAL; PENNA, 2004).

Especificamente para as sobremesas probióticas, submetidas aos processos de congelamento e descongelamento, podem acarretar às células agravantes como a morte do microrganismo, a inibição, diminuição ou mesmo a interrupção das atividades metabólicas celulares nesse tipo de produto (SAAD et al., 2011). No entanto, vários estudos demonstraram que a aplicação de temperaturas mais baixas pode garantir um maior percentual de sobrevivência do probiótico às etapas de processamento e a mortalidade desses microrganismos apenas aumentará com o tempo de armazenamento (ALAMPRESE et al., 2002; BURITI; CASTRO; SAAD, 2010; KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008; MAUS; INGHAM, 2003).

Alguns outros fatores, como acidez do produto ( $\text{pH} \leq 4,5$ ) e a interação do oxigênio podem interferir na viabilidade do probiótico ou prebiótico utilizado, e sendo assim, ser necessário utilizar outras técnicas como, por exemplo, microencapsulação. Uma variedade de

produtos pode ser desenvolvida substituindo ingredientes menos interessantes por outros que proporcionam maior benefício sem que afete a sua qualidade. Na década passada, os consumidores passaram a procurar sobremesas com baixas calorias e que demonstrassem justificativas de benefícios à saúde. Igualmente, diversas sobremesas, que possuem base láctea, podem ser acrescidas de ingredientes funcionais como probióticos e prebióticos (SAAD et al., 2011).

O consumo de bebidas e alimentos que não possuem matriz láctea teve uma tendência de crescimento mundial, visto que houve uma crescente adoção pelo vegetarianismo e pelas dietas com teores baixos de gordura. As sobremesas industriais são basicamente à base láctea, o que pode acarretar certos inconvenientes por conter teores de lactose. Contudo, com os avanços tecnológicos foi possível utilizar novas matrizes substituindo o leite por outros produtos como aveia, soja, frutas ou mesmo outros vegetais (GRANATO; MASSON; RIBEIRO, 2012).

As frutas possuem nutrientes essenciais para o bom funcionamento do organismo, dentre os quais podem se destacar carboidratos, vitaminas, fibras, proteínas, minerais solúveis e insolúveis e água. Além do mais, as frutas e hortaliças também pode ser encontrada substâncias antioxidantes, tais como vitamina E, vitamina C, pigmentos carotenoides, flavonoides e outros compostos fenólicos os quais estão associados a elevados benefícios (SILVA; SPINELLI, 2015).

## 2.5 JABUTICABA

O cultivo de frutos é um dos setores que mais cresce na agricultura brasileira, o qual está em constante desenvolvimento tanto por parte de alternativas de cultivo como também por parte dos produtores que colaboram para a expansão de sua produção e introduzem produtos no mercado (CAVALVANTI, VEGGI; MEIRELES, 2011; MARQUETI, 2014). As frutas, principalmente as tropicais, são compostas principalmente de vitaminas C, E, compostos fenólicos, carotenoides e fibras (INFANTE et al., 2013). No entanto, embora o Brasil seja considerado um país com a maior biodiversidade do mundo, ainda utiliza seus recursos naturais de forma ineficiente (CAVALVANTI, VEGGI; MEIRELES, 2011; MARQUETI, 2014).

As indústrias de alimentos normalmente geram uma grande quantidade de resíduos agroindustriais, sendo que as cascas e as sementes representam grande parte da totalidade final, podendo variar entre 30% a 40% dos resíduos gerados. Casca e pele que são descartados

podem representar aproximadamente 50% da fruta. Pesquisas apontaram que os resíduos de frutas contêm vitaminas, minerais, fibras, proteínas e compostos com propriedades antioxidantes em sua composição (HACKE, 2016; SOUZA et al., 2011). Na extração de alguns componentes das frutas, como a casca, a polpa e a semente, verifica-se que podem apresentar atividades antioxidantes, anticancerígena e anti-inflamatória (CAVALVANTI, VEGGI; MEIRELES, 2011; MARQUETI, 2014).

Assim sendo, são elaboradas estratégias que visam à utilização desses resíduos para o desenvolvimento de novos produtos ou mesmo para a extração de compostos bioativos que podem se tornar altamente almejavéis e interessantes no cenário atual (HACKE, 2016; SOUZA et al., 2011).

A jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora*), incorporada à cultura popular pelos indígenas tupis que a chamaram de “fruta botão” devido a sua forma arredondada, destaca-se como uma espécie nativa de importância no Brasil. É originária da região Centro-Sul, em Minas Gerais; contudo, pode ser encontrada em quase todas as regiões brasileiras (GARCIA, 2014).

A jabuticabeira é considerada uma planta frutífera doméstica de sítios ou fazendas (ZICKER, 2011). A jabuticaba é uma fruta que tem despertado um amplo interesse por parte dos produtores rurais devido à sua grande produção e aproveitamento dos seus frutos em diferentes formas. É tipicamente brasileira, embora seja considerada apropriada. No entanto, tanto para seu consumo *in natura*, como para a indústria, apresenta comércio limitado devido ao fato de ser bastante perecível, o que impacta na quantidade de produção e também na qualidade, principalmente para o mercado externo. Dentre os fatores que afetam a qualidade dos frutos, pode-se destacar a perda de água, resultando em um murchamento que deixa as cascas enrugadas e acarreta a perda de peso, fator este importante na comercialização (BRUNINI et al., 2004). Dados do início da década apontavam que, apesar de uma tendência de crescimento, a produção comercial ainda era considerada pequena e limitada em algumas regiões (ZICKER, 2011).

Segundo Zago (2014), a casca da jabuticaba apresenta características imunomoduladoras contra a leucemia e câncer de próstata. Estudo com a farinha da casca de jabuticaba em animais indicou uma diminuição do estresse oxidativo, com prevenção de peroxidação lipídica hepática e cerebral resultante da obesidade, isto devido ao fato da casca possuir altos teores de compostos oxidantes como ácido gálico, cianidina 3-glicosídeo, ácido elágico e quercetina (BATISTA et al., 2014).

O consumo mais comum da jabuticaba é ao natural ou em forma de geleias. A partir da polpa fermentada pode se obter licores, vinhos e vinagres. As pesquisas de frutas típicas do

Brasil proporcionam uma contribuição importante, uma vez que colaboram para uma melhor exploração das espécies nacionais que podem incentivar as novas atividades econômicas (LIMA, 2009).

## 2.6 COMPOSTOS FENÓLICOS COMO OXIDANTES NATURAIS

A ingestão de frutas proporciona efeitos à saúde, como a redução de doenças crônicas, atribuídos às propriedades antioxidantes dos compostos bioativos, que atuam inibindo a oxidação das moléculas reduzindo o início ou propagação das reações de oxidação em cadeia (INFANTE et al., 2013).

Compostos fenólicos exercem uma enorme função na proteção da célula, sequestrando ou inibindo oxigênio reativo, transferindo elétrons para radicais livres, ativando enzimas que atuam como antioxidantes e inibindo as que atuam nas reações de oxirredução das células. Sendo assim, estes compostos atuam na prevenção do estresse oxidativo, principal responsável por algumas doenças (SOUZA; VIEIRA; PUTTI, 2018).

Segundo Santos et al. (2016), o processo de oxidação é necessário para a conservação da vida. A formação de radicais livres no organismo é um processo natural, uma vez que são fundamentais para inúmeras funções como a produção de energia, regulação do crescimento celular, síntese de substâncias biológicas, entre outras. Contudo, o excesso de radicais livres pode acarretar danos ao organismo, como o envelhecimento e a ocorrência de doenças de caráter degenerativo.

Nas últimas duas décadas houve o aumento do interesse em se encontrar fontes adequadas de compostos fenólicos que atuam como antioxidantes naturais para o uso em produtos alimentícios ou para uso farmacêutico, com o objetivo de substituir os antioxidantes sintéticos. Esses tipos de antioxidantes utilizados pela indústria alimentícia despertaram a preocupação quanto as doses de segurança e a toxicidade (MELO et al., 2011). Estes produtos sintéticos também seriam responsáveis por outros males como aumento do peso do fígado e expressiva proliferação do retículo endoplasmático (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; SOUZA; VIEIRA; PUTTI, 2018).

De modo geral, a atividade antioxidante dos extratos vegetais é conferida, sobretudo, à presença de compostos fenólicos, compostos voláteis e não voláteis como, por exemplo, os flavonoides, ácidos fenólicos e diterpenos fenólicos. A busca pelo uso de vegetais e frutas em pesquisas para a extração de tais compostos e obtenção de tecnologias para o seu emprego

pode colaborar com o tratamento de distúrbios comuns ou até auxiliar na cura de muitas doenças (CAVALCANTI; VEGGI; MEIRELES, 2011).

A atividade antioxidante não se pode ser medida diretamente, mas pelo efeito que os compostos antioxidantes proporcionam no controle da oxidação. Os métodos empregados para a medida da atividade são muito diversificados. Um dos métodos que podem ser utilizados é o sequestro do radical livre do DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil), que é um radical de nitrogênio orgânico, estável, de cor violeta escuro e a sua absorção máxima está situada no comprimento de onda na faixa de 515-520 nm. A redução do radical DPPH é acompanhada pelo decréscimo da absorbância durante o tempo de reação. O método de sequestro do radical livre DPPH é utilizado para avaliar a atividade antioxidante de compostos específicos ou de um extrato em um curto período de tempo. A presença de um doador de hidrogênio ou elétron faz com que a amplitude de absorção vá diminuindo e a solução com o radical perde a cor, variando de acordo com o número de elétrons capturados. Em resumo, quando o elétron desemparelhado do átomo de nitrogênio do DPPH recebe átomo de hidrogênio vindo dos compostos fenólicos, ocorre a mudança de coloração (PRADO, 2009).

As análises envolvendo a captura do radical DPPH são normalmente expressos utilizando o valor de  $EC_{50}$ , que é a concentração de antioxidantes necessária para causar uma diminuição de 50% na absorbância do DPPH (CHEN; BERTIN; FROLDI, 2013; POLAK; BARTOSZEK, 2018)

Os compostos fenólicos são os principais constituintes de várias frutas e vegetais, em que a quantificação desses compostos mostra informações importantes a respeito da atividade antioxidante, da qualidade do alimento, bem como do seu potencial nutritivo, acarretando, dessa forma, em benefícios à saúde. A composição fenólica em frutas e seus derivados, como sucos, bebidas fermentadas, sobremesas, além da vitamina C, é responsável pela atividade antioxidante desses alimentos (PRADO, 2009).

Os compostos fenólicos constituem um grupo de espécies variadas, presentes de maneira significativa em alimentos de origem vegetal, os quais, pela presença de grupos hidroxila ligados a anéis aromáticos, têm a capacidade de capturar radicais tóxicos. Em plantas desempenham funções importantes de proteção contra a radiação UV ou ataques de agentes patogênicos. Contribuem também, de maneira significativa, nas características sensoriais como aroma e cor das flores e frutos (FRONTELA; CANALI; VIRGILI, 2009).



### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 PRODUTOS DA CASCA DA JABUTICABA

Os produtos da casca de jabuticaba foram preparados por Souza (2016) no Núcleo de Pesquisa e Extensão e Alimentos (NUPEA), Departamento de Química, Centro de Ciências e Tecnologia (CCT) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) do Campus I.

As jabuticabas foram obtidas em seu período de safra. A princípio foram selecionados e em seguida foram sanitizadas durante 30 min com água clorada a 200 ppm. Em seguida foram lavadas com água corrente, e posteriormente houve a separação manual da casca, polpa e semente.

As cascas, as quais foram utilizadas para a obtenção dos ingredientes utilizados na sobremesa, extrato hidroalcoólico e calda, foram acidificadas com suco de limão, na proporção 1: 2: 0,15 (casca: água: suco de limão). As cascas foram trituradas, utilizando 90,5 g de casca em 170 mL de água, e filtradas. Com o extrato aquoso dessa etapa foi realizada uma nova trituração utilizando 170 mL do filtrado para a mesma quantidade de casca. O processo foi repetido até que o extrato aquoso obtivesse um total de 25% de sólidos solúveis. O extrato aquoso obtido foi utilizado para a produção da calda, a qual foi utilizada tanto para a cobertura como para incorporação à base láctea da sobremesa. O resíduo das filtrações do extrato aquoso foi utilizado para a obtenção do extrato hidroalcoólico, este último também incorporado à base láctea.

No preparo da calda, foi utilizado 240 mL do extrato aquoso, adicionado de açúcar (27 g/100 g) e pectina (YF310, DuPont, 0,4 g/100 g, a qual foi previamente dissolvida em 37 mL água) e esta mistura foi aquecida até a calda formada conter 40,5 g/100 g de sólidos solúveis.

Para a obtenção do extrato hidroalcoólico o resíduo foi hidratado com água destilada estéril por 1h em temperatura ambiente, na proporção 2:1 (resíduo: água). Em seguida 10 g do resíduo foram distribuídos em frasco de Erlenmeyer de 125 mL e adicionado 90 mL de álcool potável (etanol extra neutro, Usina Giasa, Biosev) e hidratados até a concentração de 30% utilizando o ácido cítrico para ajustar o pH para 4,0. O resíduo suspenso em etanol foi levado para o banho de ultrassom (50 rpm) durante 2 h em uma temperatura de 50 °C. Finalizado esse procedimento, a suspensão foi secada em estufa de circulação na mesma temperatura, para a evaporação do etanol e a concentração atingir o volume de 15 mL. Foi utilizado esse método de extração para aumentar a concentração de compostos fenólicos, uma vez que

alguns deles não são extraídos somente com a água, e assim obtendo uma sobremesa rica em polifenóis.

### 3.2 SOBREMESA

As amostras de sobremesa analisadas foram preparadas por Souza (2016) no Núcleo de Pesquisa e Extensão e Alimentos (NUPEA), Departamento de Química, Centro de Ciências e Tecnologia (CCT) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) do Campus I, em três lotes (replicatas independentes). A sobremesa foi preparada em etapas, desde a elaboração da calda para a cobertura da sobremesa, utilizando o extrato aquoso da casca da jabuticaba (conforme descrito anteriormente), passando pela formulação da base láctea utilizando água, leite em pó e amido, seguido da adição de ácido cítrico e extrato hidroalcoólico, este também preparado a partir da casca de jabuticaba (conforme descrito anteriormente). Também se utilizou ácido láctico na formulação da base láctea com o objetivo de corrigir a instabilidade de cor uma vez que se tornava escura pelo processo de aquecimento. Também foi utilizado o corante carmim de cochonilha para deixar a coloração da sobremesa rosácea, característica da casca da jabuticaba.

A cepa nativa utilizada de *Lactobacillus mocosae* CNPC 007 foi fornecida na forma liofilizada pela Embrapa Caprinos e Ovinos (Sobral – CE). A cepa foi previamente isolada do leite de cabra do rebanho experimental daquela instituição e avaliada por De Moraes (2017) quanto ao seu potencial probiótico, por apresentar resistência às condições gastrointestinais, desconjugação de sais biliares, sensibilidade a antibiótico e multiplicação da espécie no leite.

Antes de ter sido empregada na formulação dos três lotes da sobremesa, a cultura foi multiplicada utilizando 10 mL de caldo de Man Rogosa Sharpe (MRS), utilizando tubos de ensaio estéreis a uma temperatura de 36 °C por 24h. Finalizado o período, a cultura foi distribuída em 7 a 8 microtubos de 1,5 mL e centrifugada para separá-la do meio de cultura. A cultura foi recuperada lavando o precipitado com solução salina a 0,85% (m/v) para a remoção dos componentes utilizados na liofilização e do caldo MRS. O pré-inóculo (todo o conteúdo de cultura pura obtida dos microtubos separada do meio de cultura por centrifugação) foi armazenado sob refrigeração a 4 °C para que posteriormente fosse ativado no leite. O inóculo foi preparado a partir do pré-inóculo oriundo dos microtubos, o qual foi ativado em leite desnatado reconstituído conforme as instruções do fabricante (Molico<sup>®</sup>, Nestlé<sup>®</sup>). Antes da adição do pré-inóculo, o leite reconstituído foi tratado a uma temperatura

de 85 °C durante 30 min. Após resfriamento, o pré inóculo foi adicionado ao leite reconstituído e incubado a 37°C por 2,5 horas, resultando, após esse período no inóculo. Para a fabricação da sobremesa foi utilizado 10 mL do inóculo contendo de 8,99 a 9,34 log UFC/mL (SOUSA, 2016).

A base láctea, constituída de amido de milho (Maisena, Unilever, 2,1 g/100 g), leite em pó desnatado (Molico, Nestlé, 8,0 g/100 g), açúcar (6,78 g/100 g), água (78,8 g/100 g), calda (1,8 g/100 g), pectina (YF310, DuPont, 0,9 g/100 g), extrato hidroalcoólico, ácido láctico (solução a 85%, Purac Sínteses, 0,58 g/100 g) e corante carmim de cochonilha (0,04 g/100 g), foi aquecida a 85 °C com a finalidade do aumento da consistência, por tempo arbitrário. Antes da finalização do aquecimento foi incorporada a calda.

A base láctea foi resfriada até atingir a temperatura de 40 °C para a adição do corante carmim de cochonilha e do extrato hidroalcoólico. E finalmente, ao atingir a temperatura de 37 °C foi adicionado o inóculo da cultura de *Lactobacillus mucosae*, preparado conforme descrito anteriormente.

Os três lotes de sobremesa foram armazenados sob refrigeração a  $4 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento (D1, D7, D14, D21, respectivamente). Em cada período de amostragem (D1, D7, D14 e D21) os três lotes de sobremesa foram transferidos para *freezer* a  $-18^\circ\text{C}$  para as análises de compostos fenólicos e demais parâmetros de atividade antioxidante.

### 3.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO FENÓLICO

Todas as análises foram realizadas no CCT/UEPB (laboratórios do NUPEA e de Química Aplicada) do Campus I e no Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – CCBS/UEPB (Laboratório de Genética no complexo de pesquisa Três Marias), também localizado no Campus I, no município de Campina Grande-PB.

Os extratos fenólicos dos três lotes de sobremesa láctea foram preparados de acordo com a metodologia apresentada por Santos et al. (2017), com adaptações. Em microtubos tipo Eppendorf, as amostras foram pesadas em balança analítica. Foram utilizadas 5 alíquotas de, aproximadamente, 0,2500 g, o que totalizou uma média de  $\pm 1,2500$  g por amostra de cada lote, em cada período de amostragem. Em seguida, foi adicionado 1 mL de uma solução de metanol-HCl em cada microtubo de com as amostras, deixando, em repouso, em ambiente escuro, à temperatura de 4 °C por um tempo mínimo de 12 h. As amostras refrigeradas foram centrifugadas (equipamento 5810R V.8.2, Eppendorf), sob uma rotação de 13500 rcf durante

5 min na mesma temperatura de refrigeração. Para o esgotamento total dos compostos fenólicos foram efetuadas mais 5 lavagens com 500 µL da solução de metanol acidificado. A cada centrifugação, o sobrenadante foi armazenado em um balão volumétrico de 25 mL e o menisco foi aferido com metanol acidificado ao final da extração. Do extrato obtido no balão aferido, uma alíquota de 1,5 mL foi retirada para um microtubo e, em seguida, centrifugada durante 1 min a 4 °C com o objetivo de obter o sobrenadante livre de proteínas e carboidratos complexos, que pudessem interferir nas reações que foram realizadas, oriundos da sobremesa.

### 3.3 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Para a análise do teor de fenólicos totais foi utilizada a metodologia descrita por dos Santos et al. (2017), com seguintes adaptações. Utilizando tubos de centrífuga de 15 mL, tipo Falcon, foram adicionados em sequência 60 µL de cada extrato obtido em duplicata para cada período de amostragem de cada lote de sobremesa, 2.340 µL de água destilada e 150 µL do reagente Folin – Ciocalteu (Sigma-Aldrich). Os tubos foram agitados para a completa homogeneização dos componentes e, em seguida, foram deixados em repouso em temperatura ambiente. Após 8 min da adição do reagente Folin – Ciocalteu, a reação foi cessada com a adição de 450 µL de solução de carbonato de sódio a 30% ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  30g/100 mL). Os tubos foram novamente deixados em repouso, em temperatura ambiente, nesta etapa por 30 min. Finalizado este tempo, a absorbância foi lida no espectrofotômetro (Spectrum Meter SP-2000UV) no comprimento de onda 750 nm. O espectrofotômetro foi zerado com metanol acidificado como branco. Foram utilizados dois controles para esta análise, nos quais as amostras foram substituídas por 60 µL de metanol acidificado com HCl a 0,8 mmol/L. Os resultados finais foram expressos em mg equivalente de ácido gálico (mg Eq AG) por 100 g de amostra.

### 3.4 ATIVIDADE DE SEQUESTRO DE RADICAL LIVRE DPPH

O método de avaliação do sequestro de radical livre DPPH foi realizado de acordo com a metodologia de Rufino et al. (2007) com as seguintes modificações. O procedimento foi realizado no escuro e em temperatura ambiente, conforme orientação dos autores. A solução de DPPH a 0,1 mM foi preparada utilizando-se 0,004g do reagente, o qual foi dissolvido quantitativamente em etanol P.A. para 100 mL de volume total. Para cada período de amostragem de cada lote de sobremesa foi utilizada uma série de 3 tubos de centrífuga de 15

mL, tipo Falcon, contendo 2,95 mL, 2,90 mL ou 2,80 mL da solução de DPPH, os quais foram completados as alíquotas do extrato da sobremesa de jabuticaba de 0,05 mL, 0,10 mL e 0,20 mL, respectivamente, totalizando um volume final de 3 mL de solução em cada tubo. Foram utilizados também 3 tubos para o controle com as mesmas medidas de solução de DPPH, substituindo as amostras por igual alíquota de etanol P.A., obtendo-se também um volume total de 3 mL. As leituras foram realizadas no espectrofotômetro (Spectrum Meter SP-2000UV) em um comprimento de onda de 517 nm nos tempos 0 min, 30 min e 60 min (T0', T30' e T60', respectivamente).

Foi utilizado etanol P.A. como branco para zerar o espectrofotômetro. A atividade antioxidante foi expressa em porcentagem de captação de radicais DPPH, conforme a Equação (1):

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

onde:

$ABSC_{60\text{min}}$ : é a absorbância do controle da alíquota de etanol de 0,20 mL no tempo de 60 min;

$ABSA_{60\text{min}}$ : é a absorbância da alíquota de extrato da amostra de 0,20 mL no tempo de 60 min.

Após a leitura, foi utilizada uma equação da reta (2) substituindo  $y$  pela metade da absorbância do controle de DPPH em T60' e assim encontrar o consumo em  $\mu\text{M}$  de DPPH, o qual foi posteriormente convertido para g de DPPH, conforme a Equação (3):

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

onde:

$y$  = metade da absorbância do controle em T60';

$x$  = resultado em  $\mu\text{M}$  DPPH;

$$\text{g DPPH} = (\mu\text{M DPPH} / 1.000.000) \times 394,3 \quad (3)$$

onde:

394,3 = peso molecular do DPPH em g/mol.

Com as absorvâncias obtidas das três diluições do extrato foi plotado um gráfico da absorvância (eixo  $y$ ) *versus* a diluição (mg/L) (eixo  $x$ ) e assim obtida a equação da reta (4). Para o cálculo da atividade antioxidante total foi preciso substituir a absorvância correspondente a 50% da concentração do DPPH, conforme a Equação (1), pelo  $y$  da Equação (4) para obter o resultado que representa a amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH ( $EC_{50}$ ):

$$y = -ax + b \quad (4)$$

onde:

$y$  = metade da absorvância do controle em T60’;

$x$  =  $EC_{50}$  (mg/L).

De acordo com o resultado de  $EC_{50}$  (mg/L) obtido na Equação (4), foi necessário dividir por 1000 para obter o  $EC_{50}$  em g/L. O  $EC_{50}$  em g/L foi posteriormente dividido pela massa de DPPH em g obtida na equação (2) para encontrar o resultado de capacidade antioxidante total que é expresso em g de sobremesa/ g DPPH, Equação (5):

$$Capacidade\ antioxidante\ total = \left[ \frac{EC_{50}\ (mg/L)}{1000} \times \frac{1}{DPPH\ (g)} \right] \quad (5)$$

### 3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram tratados no programa Statistica 8.0 (Statsoft). Os valores foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. A avaliação de um único tratamento contendo múltiplas variáveis dependentes (4 períodos de amostragem, 1, 7, 14 e 21 dias), foi necessária a utilização da análise de variância (ANOVA) não-paramétrica de Friedman, com significância de 5% ( $p < 0,05$ ), para investigar a influência dos diferentes tempos de armazenamento entre os dados. Para casos onde a variação foi significativa no teste Friedman ( $p < 0,05$ ), foi utilizado o teste de Wilcoxon para a comparação de duas variáveis dependentes (D1 *versus* D7, D1 *versus* D14, D1 *versus* D21, D7 *versus* D14, D7 *versus* D21 e D14 *versus* D21) e a investigação dos contrastes, também considerando significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 encontram-se os resultados dos parâmetros de fenólicos totais, sequestro do radical DPPH, EC<sub>50</sub> e da capacidade antioxidante total ao longo do armazenamento da sobremesa láctea com produtos da casca da jabuticaba.

Tabela 1 – Concentração de fenólicos totais e parâmetros de atividade antioxidante da sobremesa com produtos da casca da jabuticaba e *L. mucosae* CNPC 007 ao longo do armazenamento (média ± desvio padrão).

Tempo	Fenólicos Totais (mg Eq AG/100 g)	Sequestro de DPPH (%)	EC <sub>50</sub> (g de sobremesa/L solução µM de DPPH)	Capacidade Antioxidante Total (g sobremesa/g DPPH)
D1	50,17 ± 7,79 <sup>a</sup>	32,75 ± 9,10 <sup>a</sup>	5,84 ± 1,86 <sup>a, b, c</sup>	256,46 ± 100,40 <sup>a, b, c</sup>
D7	50,87 ± 18,15 <sup>a</sup>	32,39 ± 8,71 <sup>a</sup>	6,15 ± 1,10 <sup>c</sup>	290,45 ± 51,50 <sup>c</sup>
D14	50,51 ± 7,23 <sup>a</sup>	41,89 ± 3,84 <sup>a</sup>	4,10 ± 0,92 <sup>b</sup>	219,84 ± 55,93 <sup>b</sup>
D21	45,28 ± 8,38 <sup>a</sup>	44,82 ± 2,98 <sup>a</sup>	3,93 ± 0,85 <sup>a</sup>	211,06 ± 52,77 <sup>a</sup>

D1, D7, D14 e D21 = 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento, respectivamente.

a, b, c, letras sobrescritas iguais na mesma coluna não diferem significativamente ao longo do período de armazenamento para um mesmo parâmetro ( $p > 0,05$ ).

Fonte: Dados de pesquisa.

O teor de compostos fenólicos totais apresentou uma quantidade aproximada de 50 mg Eq AG/100 g, apresentando tendência de decréscimo entre 7 e 21 dias; porém, não houve diferença estatisticamente significativa dos dados ( $p > 0,05$ ). Estes valores foram mais altos que os obtidos por outros autores para produtos lácteos adicionados de resíduos de frutas fontes de antocianinas (DOS SANTOS et al., 2017; KARAASLAN et al., 2011). O fato dos valores de fenólicos totais terem sido superiores aos obtidos pelos outros autores estaria relacionado ao uso conjunto de dois tipos de extrato na composição da sobremesa láctea, sendo estes o extrato aquoso, o qual foi incorporado na calda utilizada simultaneamente como cobertura e como ingrediente da base láctea, e o extrato hidroalcoólico, o qual foi incorporado diretamente na base láctea.

Karaaslan et al. (2011) elaboraram iogurte utilizando o extrato alcoólico de diferentes variedades de uva, obtiveram um total de compostos fenólicos totais próximos de 7,5 mg Eq AG/100g, valores inferiores aos obtidos nesse estudo. Valores um pouco mais próximos aos

do presente estudo foram obtidos por dos Santos et al. (2017), que trabalharam na elaboração de um leite fermentado utilizando o leite de cabra e cultura probiótica com suco de uva acrescido do extrato do bagaço desse fruto, obtendo um resultado de 45 mg Eq AG/100g.

Segundo Silva (2015), o processo de extração é uma etapa de extrema importância na quantificação de compostos fenólicos totais. O tipo de solvente é uma característica imprescindível para a extração em alimentos, uma vez que a solubilidade está relacionada à sua polaridade. Os solventes mais utilizados seguem uma ordem decrescente de polaridade, sendo água, metanol e etanol os mais comuns. Na elaboração da sobremesa, os dois solventes utilizados provavelmente carregaram diferentes classes de compostos fenólicos, ampliando a gama de extração com base na polaridade. Uma das características observadas na jabuticaba é conter altos índices de compostos fenólicos variados, como as antocianinas e taninos, principalmente em sua casca (PORFIRIO et al., 2014).

Uma vez que os diferentes compostos fenólicos apresentam maior eficiência de extração em um ou outro tipo de solvente, a característica de dupla extração (aquosa e hidroalcoólica) utilizada no presente estudo reforça os valores elevados em relação aos estudos anteriores com outros tipos de resíduo e frutas (DOS SANTOS et al., 2017; KARAASLAN et al., 2011).

O sequestro do radical DPPH ao longo do armazenamento apresentou tendência de aumento, chegando ao vigésimo primeiro dia com valor próximo de 45% de captura do radical. Possivelmente, a justificativa para esse aumento se deva à atividade da cultura probiótica de *L. mucosae* que, para se manter viável ao longo do armazenamento, metabolizou os fenólicos de maior massa molar presentes na jabuticaba (como, por exemplo, os taninos) em moléculas menores para o seu uso como substrato e agente protetor contra compostos oxigenados que microrganismos do gênero lactobacilos ocasionalmente produzem durante a estocagem (NG; YEUNG; TONG, 2011.). Ao final do vigésimo primeiro dia de armazenamento a população de *L. mucosae* das sobremesas do presente estudo foi de  $10^6$  UFC/g, a mesma viabilidade encontrada no primeiro dia após a produção, conforme investigação prévia realizada por este grupo de pesquisa (SOUZA, 2016).

Li et al. (2016) desenvolveram uma bebida fermentada utilizando o suco da cebola e cultura probiótica também do gênero *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, cepa NCFM). Os autores verificaram que a atividade metabólica do microrganismo vivo resultou em consumo os compostos antioxidantes da cebola, os quais seriam necessários para a multiplicação e manutenção da viabilidade do probiótico.

É provável que processo semelhante tenha ocorrido no presente estudo, uma vez que houve tendência de redução na quantidade de compostos fenólicos para aproximadamente 45



mg Eq AG/100g no vigésimo primeiro dia de armazenamento. Para o consumo dos polifenóis, o metabolismo de *L. mucosae* necessitaria atuar sobre os fenólicos de maior massa molar e reduzir o seu tamanho de cadeia. (VALERO-CASES; NUNCIO-JAUREGUI; FRUTOS FERNANDEZ, 2017; QUEIRÓS, 2014). Nesse processo, seriam expostos novos grupos funcionais (carbonilas e hidroxilas), assim aumentando o sequestro do radical livre de DPPH que passou de 32% até quase 45%.

Para o outro parâmetro usado para avaliar a propriedade antioxidante, o EC<sub>50</sub>, verificou-se uma redução, o que era esperado, pois a porcentagem de sequestro de DPPH é inversamente proporcional ao EC<sub>50</sub>, indicando que quanto menor o valor de EC<sub>50</sub> maior é a atividade antioxidante na amostra. No primeiro dia de armazenamento apresentou cerca de 5,84 g de sobremesa por L de solução µM de DPPH, e ao final do vigésimo primeiro dia de armazenamento reduziu para 3,93 g de sobremesa por L de solução µM de DPPH, porém sem diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Por outro lado, os resultados de EC<sub>50</sub> diferiram significativamente entre si ( $p < 0,05$ ) no período de 7 a 21 dias de estocagem, conforme o teste não paramétrico de Wilcoxon, representado neste estudo pelas diferentes letras sobrescritas (a, b, c). Essa diferença em relação à porcentagem de sequestro de DPPH que não reduziu significativamente ao longo do armazenamento está relacionada com o conjunto de dados envolvidos na estatística efetuada: para o sequestro do radical DPPH foram utilizados apenas os valores de absorbância resultantes das análises das alíquotas que continham a maior quantidade de extrato (0,20 mL) em T60'. Por outro lado, os valores de EC<sub>50</sub> foram obtidos por uma composição de dados gerados pelas absorbâncias da análise das alíquotas de extrato de 0,05, 0,10 e 0,20 mL.

Já os valores obtidos para a capacidade antioxidante total, estes foram diretamente proporcionais aos resultados de EC<sub>50</sub> e as diferenças significativas encontradas ( $p < 0,05$ ) entre os desse parâmetro ao longo do armazenamento também obedeceram ao verificado para capacidade antioxidante total. Dessa forma, esse parâmetro manteve tendência similar ao do EC<sub>50</sub>, também obedecendo ao mesmo conceito que quanto menor o valor encontrado maior será a capacidade antioxidante da amostra (RUFINO et al., 2007). Ao final do vigésimo primeiro dia de armazenamento a capacidade antioxidante total foi de 211,06 g de sobremesa/g de DPPH, significando que ao final do armazenamento é necessária uma menor quantidade de sobremesa para captura do mesmo 1 g de DPPH, comparado ao início do armazenamento.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os parâmetros analisados (sequestro de DPPH e EC<sub>50</sub>) assim como a capacidade antioxidante total dependem tanto dos fenólicos oriundos da casca da jabuticaba quanto do metabolismo da cultura nativa potencialmente probiótica de *L. mucosae*, o que proporcionaria uma maior captação de radicais livres no organismo e, conseqüentemente, maiores benefícios à saúde.

O tempo de armazenamento contribuiu para o aumento da captura de radicais livres a partir de uma menor quantidade de sobremesa láctea, estando associado ao metabolismo da cultura probiótica adicionada, que não só conferiria uma melhora no equilíbrio da microbiota intestinal do indivíduo, mas também interagiria de forma benéfica com os compostos fenólicos, proporcionando uma maior captura de radicais livres.

A utilização de produtos da casca (calda e extrato hidroalcoólico) da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) incorporada aos demais ingredientes da base láctea juntamente com a cultura nativa potencialmente probiótica *Lactobacillus mucosae* CNPC007 foi eficaz para contribuir com o potencial antioxidante da sobremesa láctea.

## REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde**, 2016. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>>. Acesso em: 16/05/2018.
- ALAMPRESE, C.; FOSCHINO, R.; ROSSI, M.; POMPEI, C.; SAVANI, L. Survival of *Lactobacillus johnsonii* Lal and influence of its addition in retail-manufactured ice cream produced with different sugar and fat concentrations. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 12, n. 2-3, p. 201-208, 2002.
- ALMEIDA, R. L. J. **Análises bromatológicas em bebida láctea potencialmente probiótica com soro de queijo e ingredientes obtidos do aproveitamento da casca da jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*)**. 40 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.
- ANADÓN, A.; MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M. R.; ARÉS, I.; MARTÍNEZ, M. A. Prebiotics and probiotics: an assessment of their safety and health benefits. In: **Probiotics, prebiotics, and synbiotics: bioactive foods in health promotion**. Amsterdam: Academic Press, 2016. cap. 1, p. 34-54.
- ARAI S. Global view on functional foods: asian perspectives. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 88. n. 2, p.139-143, 2002. Disponível em: <<https://10.1079/BJN2002678>> Acesso em: 01/04/18.
- ARVANITOYANNIS, I. S.; HOUWELINGEN-KOUKALIAROGLOU, M. V. Functional foods: a survey of health claims, pros and cons, and current legislation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 45, n. 5, p.385-404, 2007. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408390590967667>>.Acesso em: 19/03/2018.
- BALDISSERA, A. C.; BETTA, F. D.; LINDNER, D. D.; PENNA, A, L. B. Functional foods: a new frontier for developing whey based protein beverages. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, 2011. Disponível em:<<https://10.5433/1679-0359.2011v32n4p1497>>.Acesso em: 01/04/2018.
- BATISTA, A. G.; LENQUISTE, S. A.; CAZARIN, C. B. B.; SILVA, J. K.; LUIZ-FERREIRA, A.; JÚNIOR, S. B.; HANTAO, L. W.; SOUZA, R. N.; AUGUSTO, F.; PRADO, M. A.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. Intake of jaboticaba peel attenuates oxidative stress in tissues and reduces circulating saturated lipids of rats with high-fat diet-induced obesity. **Journal of Functional Foods**, Houston, v. 6, n. 1, p. 450-461, 2014.
- BIBLIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE. **Alimentos funcionais**, Brasília: Ministério da Saúde, Maio 2015. Disponível em:<<http://bvsmis.saude.gov.br/dicas-em-saude/420-alimento-funcionais>>. Acesso em: 10/05/2018.
- BILKOVÁ, A.; KINOVA SEPOVA, H.; BUKOVSKY M.; BEZAKOVA, L. Antibacterial potential of lactobacilli isolated from a lamb. **Veterinarni Medicina**. Brno, v. 56, n .7, p.319-324, 2011. Disponível em:<[https://www.researchgate.net/profile/Hana\\_Kiova\\_Sepova/publication/264080912\\_Antib](https://www.researchgate.net/profile/Hana_Kiova_Sepova/publication/264080912_Antib)

arterial\_potential\_of\_Lactobacilli\_isolated\_from\_a\_lamb/links/547b465e0cf205d16881c404/Antibacterial-potential-of-Lactobacilli-isolated-from-a-lamb.pdf>. Acesso em: 22/03/2018.

BINNS, N. **Probióticos, prebióticos e a microbiota intestinal**, International Life Sciences Institute, Bruelas, p. 2-8, 2013. Disponível em: <<http://ils.org/europe/wp-content/uploads/sites/3/2016/05/Probi%C3%B3ticos.pdf>>. Acesso em: 20/03/218.

BRITO, M. B; DÍAZ, J. P.; QUEZADA, S. M; Probiotic mechanisms of action. **Annals of Nutrition & Metabolism**, Basel, v. 61, n. 2, p. 160-174. 2012. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/Pdf/342079>>. Acesso em: 29/03/2018.

BRUNINI, M. A.; OLIVEIRA, A. L.; SALANDINI, C. L.; BAZZO, F. R. Influência de embalagens e temperatura no armazenamento de jabuticabas (*Myrciaria jabuticaba* (Vell) Berg) cv 'Sabara'. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 378-383, 2004.

BURITI, F. C. A.; BEDANI, R.; SAAD, S. M. I. Probiotic and prebiotic dairy desserts. In: **Probiotics, prebiotics, and synbiotics: bioactive foods in health promotion**. Amsterdam: Academic Press, 2016. cap. 23, p. 345-360.

BURITI, F. C. A.; CASTRO, I. A.; SAAD, S. M. I. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic guava mousses and its survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 137, n. 2-3, p. 121-129, 2010.

CASEMIRO, Í. P.; RAMOS, P. Produção científica sobre alimentos funcionais: uma análise das publicações brasileiras entre 2007 e 2013. **Demetra: Alimentação, Nutrição & Saúde**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 4, p. 925-941, 2014.

CAVALCANTI, R. N.; VEGGI, P. C.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical fluid extraction with a modifier of antioxidant compounds from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) byproducts: economic viability. **Procedia Food Science**, Amsterdam, v. 1, p. 1672-1678, 2011.

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

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

DOS SANTOS, K. M. O.; OLIVEIRA, I. C.; LOPES, M. A. C.; CRUZ, A. P. G.; BURITI, F. C. A.; CABRAL, L. M. Addition of grape pomace extract to probiotic fermented goat milk: the effect on phenolic content, probiotic viability and sensory acceptability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, New York, v. 97, n. 4, p.1108-1115, 2017.

DOS SANTOS, L. O.; REIS, M. R.; OGAVA, L. E.; LEÃO, K. V.; MACHADO, L. L.; LIRA, S. P. de. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos presentes na *Amburana cearensis*. **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, Campo Grande, v 8, n. 1, p. 44-49, 2016.

FERREIRA, C. L. L. F. **Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção**. Editora: Rubio Ltda. Rio de Janeiro, 2012. cap. 1, p. 25. v. 2. Disponível em: <<https://issuu.com/editorarubio/docs/prebioticoseprobioticos>> Acesso em: 06/04/2018.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Health and nutrition properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**: Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba, 2001. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-a0512e.pdf>> Acesso em: 23/03/2018.

FRONTELA, C.; CANALI, R.; VIRGILI, F. Empleo de compuestos fenólicos em la dieta para modular la respuesta inflamatoria intestinal. **Gastroenterología y Hepatología**, Madrid, v. 33, n. 4, p. 307-312, 2010.

GALLINA, D. A.; ALVES, A. T. S.; TRENTO, F. K. H. S.; CARUSI, J. Caracterização de com e sem adição de probióticos e prebióticos e avaliação da viabilidade de bactérias lácticas e probióticas durante a vida-de-prateleira. **UNOPAR Científica: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 13, n. 4, p. 239-244, 2011.

GARCIA, L. G. C. **Aplicabilidade tecnológica da jabuticaba**. 220 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, 2014.

GRANATO, D., MASSON, M. L., RIBEIRO, J. C. B. Aceitação sensorial e avaliação da estabilidade física de uma sobremesa prebiótica à base de soja desenvolvida com suco de maracujá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n.1, p. 119-125, 2012.

HACKE, A. C. M., GRANATO, D., MACIEL, L. G., WEINERT, P. L., SILVA, L. do P., ALVARENGA, V. O., SANT'ANA, A. de S., BATAGLION, G. A., EBERLIN, M. N., ROSSO, N. D. Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) Seeds: Chemical characterization and extraction of antioxidant and antimicrobial compounds. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 81, n. 9, p. 2206-2217, 2016.

HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G.R.; MERENSTEIN, D. J.; POT, B.; MORELLI, L; CANANI, R.B.; FLINT, H. J.; SALMINEN, S.; CALDER, P. C.; SANDERS, M. E. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, London, v. 11, p. 506-514, 2014.

INFANTE, J.; SELANI, M.M.; TOLEDO, N.M.V.; SILVEIRA-DINIZ, M.F.; ALENCAR, S.M.; SPOTO, M.H.F. Atividade antioxidante de resíduos agroindustriais de frutas tropicais. **Alimentos e Nutrição - Brazilian Journal of Food and Nutrition**, Araraquara, v. 24, n. 1, p. 87-91, 2013.

INTERNATIONAL SCIENTIFIC ASSOCIATION OF PROBIOTICS AND PREBIOTICS. **Probiotics: A Consumer Guide for Making Smart Choices**, Sacramento, California, 2016. Disponível em: <<https://4cau4jsaler1zglkq3wnmje1-wpengine.netdna-ssl.com/wp-content/uploads/2016/02/Consumer-Guidelines-probiotic.pdf>>. Acesso em: 14/03/2018.

KARAASLAN, M.; OZDEN, M.; VARDIN, H.; TURKOGLU, H. Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. **LWT: Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 44, n. 4, p. 1065-1072, 2011.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos, **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 329-347, 2008.

LAMOUNIER, M. L.; ANDRADE, F. C; MENDONÇA, C. D.; MAGALHÃES, M. L. Desenvolvimento e caracterização de diferentes formulações de sorvetes enriquecido com farinha da casca da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 70, n. 2, p. 93-104, 2015.

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

LIMA, A. J. B. **Caracterização e atividade antioxidante da jabuticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg]**. 2009. 159 p. Tese (Doutorado em Agroquímica) -Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

LIMA, A. J. B.; CORRÊA, A. D.; ALVES, A. P. C; ABREU, C. M. P.; DANTAS-BARROS, A. M. Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 58, n. 4, p. 416-421, 2008.

MARQUETTI, C. **Desenvolvimento e obtenção de farinha de casca de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) para adição em biscoito tipo cookie**. 2014. 116 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2014.

MARTINEZ, R. C. R.; BEDANI, R.; SAAD, S. M. I. Scientific evidence for health effects attributed to the consumption of probiotics and prebiotics: an update for current perspectives and future challenges. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 114, n. 12, p. 1993-2015, 2015.

MAUS, J. E.; INGHAM, S. C. Employment of stressful conditions during culture production to enhance subsequent cold- and acid-tolerance of bifidobacterial. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 95, n. 1, p. 146-154, 2003.

MELO, P. S.; BERGAMASCHI, K. B.; TIVERON, A. P.; MASSARIOLI, A. P.; OLDONI, T. L. C.; ZANUS, M. C.; PEREIRA, G. E.; ALENCAR, S. M. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 6, p. 1088-1093, 2011.

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

NG, E. W., YEUNG, M., & TONG, P. S. Effects of yogurt starter cultures on the survival of *Lactobacillus acidophilus*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 145, n. 1, p.169-175, 2011.

NIKAEDO, P. H. L.; AMARAL, F. F.; PENNA, A. L. B. Caracterização tecnológica de sobremesas lácteas achocolatadas cremosas elaboradas com concentrado proteico de soro e misturas de gomas carragena e guar. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 40, n. 3, p. 394-404, 2004.

NITZKE, J. A. Alimentos funcionais: uma análise histórica e conceitual. In: Agronegócio: panorama, perspectivas e influência do mercado de alimentos certificados. Curitiba: Appris, 2012. p. 11-23.

NOGUEIRA, V. C. **Culturas de bactérias lácticas com propriedades probióticas e tecnológicas para aplicação como bioconservantes**. 106 f. Dissertação de mestrado (Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

POLAK, J., BARTOSZEK, M. A new equation for converting the parameter EC<sub>50</sub> into the total antioxidant capacity TEAC and vice versa. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 248, p. 46-51, 2018.

PORFIRIO, M. C. P.; SANTANA, R. O.; BARROS, H. E. A.; GONÇALVES, M. S.; SANTOS, I. A.; SANTANA, G. A.; CAPELA, A. P.; OLIVEIRA, J. B.; SILVA, M. V. Contribuição ao estudo de taninos em *Myrciaria cauliflora* ssp. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 54, 2014, Natal. **Química e Sociedade: motores da sustentabilidade**. Natal: SBQ, 2014. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2014/trabalhos/10/5067-18369.html>> Acesso em: 18/06/2018.

PRADO, A. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. 2009. 107 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

QUEIRÓS, L. D. **Biotransformação de compostos fenólicos do extrato de soja para obtenção de produto rico em compostos bioativos**. 2014. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

RINCÃO, H. R.; PEDRO, M. A. M. Desenvolvimento de sobremesa láctea sabor chocolate com adição de chia, sem glúten e lactose. **Revista UNILAGO**, São Jose do Rio Preto, v. 1, p. 1-10, 2016.

RINGEL, Y.; QUIGLEY, E. M. M.; LIN, H. C. Using probiotics in gastrointestinal disorders. **The American Journal of Gastroenterology Supplements**, New York, v. 1, n. 1, p. 34-40, 2012.

ROBERFROID, M. B. Inulin-type fructans: functional food ingredients. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 137, n. 11, p. 2493S-2502S, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jn/137.11.2493S>>. Acesso em: 18/05/2018.

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

SAAD, S. M. I.; KOMATSU, T. R.; GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; BURITI, F. C. A. Probióticos e prebióticos em alimentos: aspectos tecnológicos, legislação e segurança no uso. In: **Fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Varela, 2011 cap. 1.

SALLES, L. G. **Os alimentos funcionais no Brasil: uma análise dos produtos registrados com alegações de propriedade funcional e/ou de saúde entre 1999 e 2013**. 2013. 109 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Sociais) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.

SILVA, B. C. **Seleção de bactérias lácticas com potencial probiótico para uso como veículos vacinais orais contra a leptospirose canina**. [2011]. 90 f. Dissertação (Mestre em Genética). Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

SILVA, M. O. **Atividade antioxidante e composição de oligossacarídeos em subproduto obtido do processamento industrial da goiaba (*Psidium guajava*)**. 2015. 154 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2015.

SILVA, S. B.; SPINELLI, M. G. N. Consumo de frutas em unidade de alimentação e nutrição no município de São Paulo: um estudo de caso. **Revista Univap**, São José dos Campos, v. 21, n. 38, p. 5-14, 2015.

SOUZA, A. V.; VIEIRA, M. R. S.; PUTTI, F. F. Correlações entre compostos fenólicos e atividade antioxidante em casca e polpa de variedades de uva de mesa. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas – SP, v. 21, e2017103, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.10317>> Acesso em: 25/05/2018.

SOUZA, M. C. **Obtenção de sobremesa láctea de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) com potencial funcional utilizando cepas nativas de *Lactobacillus* sp.** 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêutica) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.

SOUZA M. S. B; VIEIRA L. M; DA SILVA M. J. M; DE LIMA A. Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 3, p. 554–559, 2011.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescida de prebióticos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 589-595, 2006.

U. S. FOOD AND FRUG ADMINISTRATION. **Labeling and nutrition**. Silver Spring, 2018. Disponível em: <<https://www.fda.gov/Food/LabelingNutrition/default.htm>>. Acesso em: 13/06/2018.

VALENCIA, M. S. **Desenvolvimento de sobremesa láctea cremosa de chocolate adicionada de fruto-oligossacarídeo e *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LBC 81**. 69 f. Dissertação (Mestre em Nutrição) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

VALERO-CASES, E.; NUNCIO-JAUREGUI, N.; FRUTOS FERNANDEZ, M. J. Influence of fermentation with different lactic acid bacteria and in vitro digestion on the



biotransformation of phenolic compounds in fermented pomegranate juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington. v. 65, n. 31, p. 6488 – 6496, 2017.

VIDIGAL, M. C. T. R., MINIM, V. P. R., BERGER, E.C., RAMOS, A. M., MINIM, L. A. Concentrado protéico do soro melhora a qualidade sensorial de sobremesa láctea *diet*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 12, p. 2272-2279, 2012.

ZAGO, M. F. C. **Aproveitamento de resíduo agroindustrial de jabuticaba no desenvolvimento de formulação de cookie para a alimentação escolar**. 2014. 124 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Goiás, 2014.

ZICKER, M. C. **Obtenção e utilização do extrato aquoso de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba (vell) berg*) em leite fermentado: caracterização físico-química e sensorial**. 2011 139 f. Dissertação (Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

