



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

SABRINA TORRES LEITE

**IOGURTE SIMBIÓTICO DE AÇAÍ (*Euterpe edulis* Mart.): CARACTERIZAÇÃO
FÍSICO-QUÍMICA E VIABILIDADE DE BACTÉRIAS LÁTICAS E PROBIÓTICA**

ALEGRE-ES

2015

SABRINA TORRES LEITE

IOGURTE SIMBIÓTICO DE AÇAÍ (*Euterpe edulis* Mart.): CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E VIABILIDADE DE BACTÉRIAS LÁTICAS E PROBIÓTICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora Prof^a. DSc Consuelo Domenici Roberto.
Coorientadora: Prof^a. DSc Mirela Guedes Bosi e Prof^a. DSc Elisabete Fantuzzi.

ALEGRE-ES

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

L533i Leite, Sabrina Torres, 1988-
Iogurte simbiótico de açaí (*Euterpe edulis* Mart.): caracterização físico-química e viabilidade de bactérias lácticas e probióticas / Sabrina Torres Leite. – 2015.
90 f. : il.

Orientadora: Consuelo Domenici Roberto.

Coorientador: Mirela Guedes Bosi; Elisabete Fantuzzi.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Açaí. 2. Iogurte. 3. Simbióticos. 4. Prebióticos. 5. Probióticos. I. Roberto, Consuelo Domenici. II. Bosi, Mirela Guedes. III. Fantuzzi, Elisabete. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. V. Título.

CDU: 664

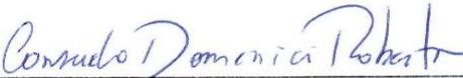
SABRINA TORRES LEITE

**“ IOGURTE SIMBIÓTICO DE AÇAÍ (*EUTERPE EDULIS* MART.):
CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, E VIABILIDADE DE BACTÉRIAS
LÁTICAS E PROBIÓTICAS ”**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovado em 08 de abril de 2015.

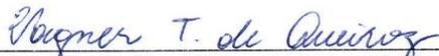
COMISSÃO EXAMINADORA:



Prof^ª. Dr^ª. Consuelo Domenici Roberto
Universidade Federal do Espírito Santo – UFES
Orientadora



Prof^ª. Dr^ª. Patrícia Campos Bernardes
Universidade Federal do Espírito Santo- UFES
Examinadora



Prof. Dr. Vagner Tebaldi Queiroz
Universidade Federal do Espírito Santo- UFES
Examinador



Prof^ª. Dr^ª. Ana Clarissa dos Santos Pires
Universidade Federal de Viçosa - UFV
Examinadora

Aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal do Espírito Santo pelo apoio logístico na execução deste trabalho.

A CAPES pela bolsa de mestrado concedida para a realização deste estudo e à FAPES pelo apoio financeiro ao projeto em que este trabalho está inserido.

Às empresas Clariant S.A. pela doação de inulina e Gemacom Tech pela doação de preparado de açaí com guaraná, utilizados na elaboração do iogurte.

À minha Orientadora e Professora DSc Consuelo Domenici Roberto, pela confiança depositada e todos os ensinamentos durante esses dois anos em que me orientou.

À banca examinadora desta defesa de Dissertação, DSc Patrícia Campos Bernardes, DSc Ana Clarissa dos Santos Pires e DSc Vagner Tebaldi de Queiroz por terem aceitado contribuir para o enriquecimento deste trabalho.

Aos Docentes do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo pelo auxílio na execução deste trabalho, em especial Adilson Vidal Costa, André Gustavo Vasconcelos Costa, Elisabete Fantuzzi, Maristela de Oliveira Bauer, Mirela Guedes Bosi, Patrícia Campos Bernardes, Pollyanna Ibrahim Silva, Suzana Della Lúcia, Sérgio Saraiva e Vagner Tebaldi de Queiroz.

Às funcionárias, Amanda, Mariza, Letícia e Edvana, pela disponibilidade em ajudar sempre que solicitadas.

À Marcela, Priscila, Sinara e Letícia, pela ajuda na execução das análises, sem vocês esse trabalho não seria possível.

Às minhas amigas do PCTA pelo companheirismo, aprendizado e momentos de distração em Alegre, em especial, Alessandra, Ana Paula, Ariane, Bárbara, Carla, Carmelita, Gisela, Manuela, Marcela, Paula e Priscila.

Às minhas amigas, Anelise, Amanda, Bruna, Carol e Izabella pelo incentivo sempre. Adoro vocês.

Ao Miguel que nessa reta final me ajudou muito com os gráficos e formatação. Além do todo apoio e incentivo.

Agradeço aos meus pais, Neto e Eliani, por acreditarem e confiarem que este é o melhor caminho que tenho a seguir e por permitirem que este momento fosse possível, obrigado pelo apoio sempre. Amo vocês!

À Cristiana e Filipe, que além de irmãos são meus companheiros e me ajudam em tudo que preciso. Junto com minhas primas Marcela e Camila fizeram com que os meus dias em Alegre fossem muito melhores. Foram muitas risadas, conselhos e cuidados, sempre me ajudando a superar todos os desafios.

À minha família, em especial minha vó e tias por todo apoio e incentivo sempre. Amo vocês.

À Deus.

Por fim, não menos importantes, aos amigos de Alegre que fiz durante o mestrado. Os momentos de estudo e diversão foram mais agradáveis com a presença de vocês.

A todos vocês, meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

LEITE, Sabrina Torres. **Iogurte simbiótico de açaí (*Euterpe edulis* Mart.): caracterização físico-química e viabilidade de bactérias lácticas e probiótica.** 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES. Orientadora Prof^a. DSc Consuelo Domenici Roberto. Coorientadoras: Prof^a. DSc Mirela Guedes Bosi e Prof^a. DSc Elisabete Fantuzzi.

Os iogurtes simbióticos, que combinam microrganismos probióticos e substâncias prebióticas, adicionados de polpa de frutas são uma tendência crescente no mercado. O fruto açaí (*Euterpe edulis*) se destaca pela presença de compostos bioativos, como as antocianinas. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar e avaliar os parâmetros físico-químicos e a viabilidade microbiológica de iogurte simbiótico de açaí enriquecido com inulina e adicionado de cultura probiótica de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12. As formulações de iogurte atenderam aos requisitos físico-químicos exigidos pela IN nº 46/2007 do MAPA apresentando teor de cinzas de 0,86 % ± 0,10, extrato seco total de 23,18 % ± 2,59, teor de gordura de 4,16 % ± 0,31, acidez de 0,70 % ± 0,05 e pH de 4,45 ± 0,10. Entre as formulações o conteúdo fenólico total variou de 18,17 a 117,84 mg de AGE/100 g, teor de antocianinas de 1,92 a 47,88 mg/100 g e atividade antioxidante de 0,71 a 6,95 µmol Trolox/g, observando-se um aumento de acordo com o aumento do teor de polpa de açaí adicionada. Ao final de 28 dias de armazenamento a 5 °C, observou-se uma redução no teor de antocianinas e da atividade antioxidante. Verificou-se a contribuição positiva da polpa de açaí na viabilidade das bactérias lácticas totais, cujas contagens variaram de 4,56 a 7,04 log UFC.g⁻¹ e de *B. lactis* BB-12 que variou de 3,17 a 6,34 log UFC.g⁻¹, favorecendo a multiplicação dessas bactérias nos iogurtes. Nas formulações com 20 e 25 % de polpa de açaí as contagens das bactérias lácticas totais e probiótica mantiveram-se viáveis de acordo com a IN nº 46/2007 do MAPA e a Lista de Alegação de Propriedade Funcional (Anvisa), durante os 28 dias de armazenamento a 5 °C. Concluiu-se que a adição de polpa de açaí *E. edulis*, inulina e *B. lactis* BB-12 foi tecnologicamente viável na elaboração de iogurte simbiótico de açaí, sendo uma excelente alternativa de diversificação do produto no mercado.

Palavras-chave: açaí *Euterpe edulis*, bioativos, inulina, iogurte, probiótico.

ABSTRACT

LEITE, Sabrina Torres. **Symbiotic acai yogurt (*Euterpe edulis* Mart.): physical and chemical characterization and viability of lactic and probiotic bacteria.** 2015. Dissertation (Master of Science and Food Technology) - Federal University of Espírito Santo, Alegre, ES. Advisor Prof^a. DSc Consuelo Domenici Roberto. Coorientadora: Prof^a. DSc Mirela Guedes Bosi and Prof^a. DSc Elisabete Fantuzzi.

The symbiotic yogurt, which combine probiotic microorganisms and prebiotic substances, added with fruit pulp are a growing trend in the market. The acai fruit (*Euterpe edulis*) stands out by the presence of bioactive compounds, such as anthocyanins. In this context, this study aimed to characterize and evaluate the physical and chemical parameters and microbiological feasibility of the symbiotic acai yogurt enriched with inulin and added with probiotic culture of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12. The yogurt formulations met the physicochemical requirements of the IN n° 46/2007 by MAPA, presenting ash content of $0,86\% \pm 0,10$, total dry extract $23,18\% \pm 2,59$, fat content $4,16 \pm 0,31\%$, $0,70\% \pm 0,05$ of acidity and $4,45 \pm 0,10$ pH. Among the formulations, the total phenolic content ranged from 18,17 to 117,84 mg AGE / 100g, anthocyanins from 1,92 to 47,88 mg /100 g and antioxidant activity from 0,71 to 6,95 $\mu\text{mol Trolox} / \text{g}$, observing an increase according to the increase of the added acai pulp content. After 28 days of storage at 5° C, there was a decrease in anthocyanin content and antioxidant activity. There was a positive contribution of acai pulp in viability of the lactic bacteria total whose scores ranged from 4,56 to 7,04 log CFU.g⁻¹) and *B. lactis* BB-12 ranged from 3,17 to 6,34 log CFU.g⁻¹, favoring the multiplication of these bacteria in the yogurts. In the formulations, added with 20 and 25% of acai pulp, the counting of the lactic bacteria total and probiotic bacteria, remained viable according to the IN n° 46/2007 by MAPA and the Functional Property Claim List (Anvisa), during 28 days of storage at 5 °C. It was concluded that the addition of acai pulp *E. edulis*, inulin and *B. lactis* BB-12 it was technologically feasible in the elaboration of symbiotic acai yogurt, and a great alternative to diversify the product on the market.

Keywords: acai *Euterpe edulis*, bioactive, inulin, yogurt, probiotic.

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS- Ácido 2, 2' azinobis-3-etil-benzotiazolin-6-sulfônico.

AGE- Ácido Gálico Equivalente.

ALA- Ácido α -linolênico.

ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists.

CCA-UFES- Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo.

CLA- Ácido Linolênico Conjugado.

DIC- Delineamento Inteiramente Casualizado.

EST- Extrato Seco Total.

EUA –Estados Unidos da América.

FOS- Frutooligossacarídeo.

HCl- Ácido Clorídrico.

MAPA –Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

MRS- Meio de Cultura de Man, Rogosa e Sharpe.

NNLP- Mistura dos Antibióticos Sulfato de Neomicina, Ácido Nalidíxico e Sulfato de Paromicina.

TEAC- Capacidade Antioxidante de Equivalente de Trolox.

TROLOX- Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico.

UFC- Unidade Formadora de Colônia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura básica dos flavonóides -----	24
Figura 2- (A) Estrutura química dos ácidos benzoicos, (B) Estrutura química dos ácidos cinâmicos, (C) e (D) Estrutura química das cumarinas -----	25
Figura 3 - Estrutura química da antocianina -----	26
Figura 4 - Ficha apresentada aos julgadores no teste de ordenação-preferência ---	39
Figura 5 - Ficha apresentada aos julgadores no teste de aceitação -----	40
Figura 6 - Modelo linear ajustado do teor de proteína (%) em função do teor de polpa de açaí (%)-----	45
Figura 7- Teor de fibra alimentar, fibra insolúvel e fibra solúvel dos iogurtes -----	46
Figura 8 - Modelo sigmoidal função logística ajustado do valor de pH em função do tempo de fermentação (horas) dos iogurtes -----	50
Figura 10 - Modelo linear ajustado da acidez (%) em função do tempo (dias) -----	52
Figura 11- Modelo linear ajustado dos valores médios de pH dos iogurtes em função do teor de polpa de açaí (%)-----	53
Figura 12- Modelo quadrático ajustado da contagem de bactérias lácticas totais (log UFC.g ⁻¹) em função do teor de polpa de açaí (%) -----	55
Figura 13 - Modelo quadrático ajustado da contagem de <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> (log UFC.g ⁻¹) em função do teor de polpa de açaí (%) -----	56
Figura 14 - Frequência das notas hedônicas dos julgadores (%) das formulações F ₀ e F ₃ para os atributos cor, aroma, sabor, consistência e impressão global -----	60
Figura 15 - Frequência das notas hedônicas dos julgadores (%) das formulações F ₀ (sem polpa de açaí) e F ₃ (15% de polpa de açaí) quanto a intenção de compra dos iogurtes -----	62
Figura 16 - Fluxograma das etapas de processamento do iogurte-----	68
Figura 17- Modelo linear ajustado do conteúdo fenólico total (mg AGE/100g) do iogurte em função do teor de polpa de açaí (%)-----	73
Figura 18 - Modelo quadrático ajustado do teor de antocianinas (mg/100g) em função do teor de polpa de açaí (%) e do tempo de armazenamento (dias) -----	74
Figura 19 - Modelo linear ajustado da atividade antioxidante (µmol Trolox/g) em função do teor de polpa de açaí (%)-----	75
Figura 20 - Modelo linear ajustado da atividade antioxidante (µmol Trolox/g) em função tempo de armazenamento (dias) a 5°C-----	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Médias \pm desvio-padrão dos resultados da composição físico-química da polpa de açaí <i>Euterpe edulis</i>	41
Tabela 2 - Teor de fibra alimentar total, fibra insolúvel e fibra solúvel da polpa de açaí <i>Euterpe edulis</i>	43
Tabela 3 - Valores das médias \pm desvio-padrão e níveis de probabilidade (p) do teor de cinzas, extrato seco total, gordura, acidez e pH das formulações de iogurte simbiótico de açaí.....	43
Tabela 4 - Parâmetros de cor dos iogurtes simbióticos de açaí nos tempos t_0 e t_{28} de armazenamento a 5°C	47
Tabela 5 - Parâmetros, coeficiente de determinação (R^2), nível de probabilidade (p) e tempo de fermentação estimado do modelo sigmoidal função logística ajustado para cada formulação (F)	51
Tabela 6 - Resultado do teste de ordenação-preferência das cinco formulações de iogurte apresentadas aos julgadores	58
Tabela 7- Médias das notas hedônicas das amostras avaliadas no teste de aceitação e seus respectivos níveis de probabilidade para cada atributo	59
Tabela 8 - Médias hedônicas das formulações sem polpa de açaí (F_0) e com adição de 15% de polpa de açaí (F_3) avaliadas para intenção de compra dos julgadores e seus respectivos níveis de probabilidade (p).....	61
Tabela 9 - Média \pm desvio-padrão dos resultados de conteúdo fenólico total, teor de antocianinas e atividade antioxidante da polpa de açaí (<i>Euterpe edulis</i>)	71

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	INGREDIENTES PARA ENRIQUECIMENTO DO IOGURTE	16
2.1.1	MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS	17
2.1.2	SUBSTÂNCIAS PREBIÓTICAS	19
2.1.3	AÇAI	21
2.1.3.1	COMPOSTOS FENÓLICOS DO AÇAI	24
3	OBJETIVOS	28
3.1	OBJETIVO GERAL	28
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
CAPÍTULO I- Caracterização físico-química, viabilidade de bactérias lácticas e probiótica e avaliação sensorial de iogurte simbiótico adicionado de polpa de açaí <i>Euterpe edulis</i> inulina e cultura probiótica		
1	INTRODUÇÃO	32
2	MATERIAL E MÉTODOS	33
2.1	ELABORAÇÃO DO IOGURTE	33
2.2	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	34
2.2.1	pH	34
2.2.2	TEOR DE PROTEÍNA	35
2.2.3	ACIDEZ	35
2.2.4	TEOR DE GORDURA	35
2.2.5	EXTRATO SECO TOTAL	35
2.2.6	TEOR DE CINZAS	35
2.2.7	UMIDADE	36
2.2.8	TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS	36
2.2.9	TEOR DE SÓLIDOS TOTAIS	36
2.2.10	FIBRA ALIMENTAR	36
2.2.11	ANÁLISE COLORIMÉTRICA	36
2.2.12	TEMPO DE FERMENTAÇÃO	37
2.3	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	37
2.3.1	QUANTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS LÁCTICAS TOTAIS (<i>Streptococcus salivarius thermophilus</i> E <i>Lactobacillus delbrueckii bulgaricus</i>)	37
2.3.2	QUANTIFICAÇÃO DE BACTÉRIA PROBIÓTICA	38

2.4	AVALIAÇÃO SENSORIAL.....	38
2.5	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	40
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
3.1	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA POLPA DE AÇAÍ	41
3.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO IOGURTE	43
3.3	ANÁLISES COLORIMÉTRICAS DO IOGURTE	46
3.4	TEMPO DE FERMENTAÇÃO DO IOGURTE.....	49
3.5	ANÁLISES DE pH E ACIDEZ DO IOGURTE	51
3.6	AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE MICROBIOLÓGICA.....	54
3.6.1	BACTÉRIAS LÁTICAS TOTAIS.....	54
3.6.2	BACTÉRIA PROBIÓTICA.....	56
3.7	AVALIAÇÃO SENSORIAL.....	58
4	CONCLUSÃO.....	62
CAPÍTULO II- Polpa de açaí <i>Euterpe edulis</i> como fonte de compostos bioativos em iogurte simbiótico adicionado de inulina e cultura probiótica		
1	INTRODUÇÃO	66
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	67
2.1	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	69
2.1.1	TEOR DE ANTOCIANINAS.....	69
2.1.2	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	69
2.1.3	CONTEÚDO FENÓLICO TOTAL	70
2.2	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	70
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
3.1	QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E TEOR DE ANTOCIANINAS E SUA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NA POLPA DE AÇAÍ <i>Euterpe edulis</i>	71
3.2	QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E TEOR DE ANTOCIANINAS E SUA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NOS IOGURTES.....	72
4	CONCLUSÃO.....	77
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	78
5	REFERÊNCIAS	79

1 INTRODUÇÃO GERAL

A dieta e estilo de vida da população bem como a demanda dos consumidores por uma alimentação equilibrada estimulam a indústria a desenvolver e processar alimentos mais saudáveis, sendo a adição de ingredientes naturais uma tendência para o enriquecimento de alimentos processados.

O mercado de produtos lácteos busca desenvolver produtos inovadores que possam trazer benefícios à saúde do indivíduo e contribuir para uma vida mais saudável. Dentre eles, os leites fermentados são os principais representantes desta inovação, com destaque para o iogurte (GALLINDA, 2010).

Costa et al. (2012) afirmam que ocorreu um aumento significativo da adição de frutas em bebidas lácteas e do consumo desse tipo de produto, devido à presença de compostos com propriedades funcionais comprovadas em algumas frutas, que podem proporcionar efeitos benéficos à saúde do indivíduo. Conseqüentemente, resultou em um maior estímulo e o surgimento de várias pesquisas no setor lácteo.

A adição de polpa de frutas ao iogurte já é uma prática realizada que visa atenuar seu gosto ácido e melhorar o sabor e suas propriedades. Em virtude da presença de compostos bioativos, atualmente, há um interesse na utilização de frutas que possam ser fontes desses compostos. Tem-se observado um grande interesse e investimentos em pesquisas na utilização do açaí *Euterpe edulis* como ingrediente em alimentos processados (RUFINO, 2008). O fruto apresenta propriedades nutricionais como alto valor energético, além de teores significativos de ácido graxos insaturados e compostos fenólicos quando comparados a outras frutas tradicionalmente utilizadas (ROGEZ, 2000).

O desenvolvimento de iogurtes simbióticos é outra tendência no mercado. No processamento desses iogurtes, faz-se a combinação de microrganismos probióticos (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* e outras espécies), com substâncias prebióticas (inulina, frutooligossacarídeos (FOS), lactulose e outras).

Em termos tecnológicos para produtos lácteos, a interação entre o probiótico e o prebiótico, em geral, favorece a adaptação do probiótico ao substrato prebiótico, resultando em uma vantagem competitiva de multiplicação para o probiótico (SAAD, 2006). Assim como, a adição de prebióticos como inulina propicia a melhoria da

textura com aumento da viscosidade do produto (MONTANUCI; GARCIA; PRUDENCIO, 2010; PIMENTEL; GARCIA; PRUDENCIO, 2012).

Neste contexto, a utilização de microrganismos probióticos e de substâncias prebióticas associada à adição da polpa de açaí *Euterpe edulis* em iogurte pode representar uma alternativa para enriquecimento e diversificação do produto.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 INGREDIENTES PARA ENRIQUECIMENTO DO IOGURTE

A adição de frutas vem como uma alternativa de enriquecimento das propriedades nutricionais do iogurte já que muitas frutas apresentam compostos bioativos como os compostos fenólicos e os ácidos graxos insaturados. A suplementação de iogurtes com prebióticos como a inulina e com bactérias probióticas também constitui uma maneira de agregar valor a um produto que já possui benefícios intrínsecos à saúde humana (RUFINO, 2008; GALLINDA, 2010; SAAD et al., 2011).

O iogurte é classificado como leite fermentado, obtido da coagulação do leite pela ação protosimbiótica dos cultivos de *Streptococcus salivarius thermophilus*, de *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* e de outras bactérias lácticas que podem ser adicionadas para contribuir com as características do produto final (BRASIL, 2007).

Em geral, o processamento do iogurte se inicia com correção do leite ou leite em pó reconstituído para 15% de extrato seco total, cuja finalidade é ajustar o teor de sólidos não gordurosos em 15% (m/m) aproximadamente. A etapa de padronização, com posterior homogeneização do leite, são etapas necessárias devido, principalmente, à variação do teor de gordura do leite de 0,1 a 5% (m/m) e à influência na textura do iogurte, aumentando sua estabilidade, consistência e evitando a ocorrência da sinérese no produto durante o armazenamento (CHANDAN et al., 2006; BRASIL, 2007).

Posteriormente, o leite padronizado e homogeneizado é pasteurizado a 83 °C por 30 minutos e resfriado até 43 °C para a inoculação das bactérias do iogurte *Streptococcus salivarius thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* e bactéria probiótica, quando for o objetivo fabricar um iogurte com característica de probiótico (CHANDAN et al., 2006; BRASIL, 2006).

Para o iogurte batido, a fermentação, geralmente, é realizada em tanque de aço inoxidável, com adição das culturas lácticas que varia de 2 a 3% (m/v). Recomendam-se no mínimo 10^7 UFC/g de bactérias lácticas viáveis durante toda a vida de prateleira do produto final e, ainda, que as temperaturas de armazenamento e comercialização do produto não ultrapassem a temperatura de 10 °C para garantir a viabilidade celular (BRASIL 2007). Normalmente, a fermentação ocorre por 4 a 5 horas até pH de 4,6 a

4,7. O gel formado é resfriado rapidamente por imersão em água a 10 °C, aproximadamente, até a temperatura de 25 °C evitando-se a superacidificação do iogurte e, depois de forma lenta até que se alcance 5 °C (CHANDAN et al., 2006).

No processamento do iogurte batido, há a quebra do gel e, posteriormente a adição dos demais ingredientes. Em seguida, são envasados e acondicionados sob refrigeração a temperaturas inferiores a 10 °C (CHANDAN et al., 2006).

O uso de polpas de frutas frescas ou congeladas, sucos de frutas, preparados à base de frutas, frutas secas, caldas ou compotas, cereais, mel, entre outros ingredientes são permitidos nos iogurtes batidos e líquidos na proporção máxima de 30% (m/m), adicionadas como substâncias opcionais não lácteas. Não é admitido o uso de aditivos na elaboração do iogurte, sendo estes exclusivamente utilizados nos iogurtes classificados como desnatados, no qual é permitido espessantes e estabilizantes contidos na legislação (FERREIRA et al., 2001; BRASIL, 2007).

2.1.1 MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS

Nos últimos anos, a produção de iogurtes vem adquirindo maior relevância, principalmente, com adição de microrganismos probióticos. De acordo com Fuller (1989), os probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades regulares, conferem benefícios à saúde do indivíduo que os consome diariamente, promovendo o balanço de sua microbiota intestinal.

Para ser classificado como probiótico, o microrganismo deve apresentar como características: identificação taxonômica exata; ser geneticamente estável; ser habitante normal da espécie alvo (origem humana); ser atóxico e não patógeno; aderir e colonizar o cólon; sobreviver, proliferar e estimular as atividades metabólicas no trato gastrointestinal; resistir ao suco gástrico e à bile; ser antagonista a patógenos; competir no trato gastrointestinal; resistir a bactericidas, ácidos e outras substâncias antimicrobianas produzidas pela microbiota já existente e exercer efeitos benéficos à saúde (documentados e validados clinicamente) (SUSKOVIC et al., 2001).

Ao serem ingeridas por meio dos alimentos, as culturas probióticas vão para o intestino e ali se somam à microbiota já existente aumentando a população de bactérias benéficas em detrimento à proliferação de bactérias prejudiciais reforçando, assim, os mecanismos de defesa do hospedeiro e auxiliando a absorção dos nutrientes (PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2002). Portanto, a cultura probiótica deve ser

capaz de causar melhorias no equilíbrio intestinal, inibindo bactérias intestinais indesejáveis, facilitando a digestibilidade da lactose, aumentando a absorção de vitaminas e minerais, entre outros benefícios (PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2002; PIMENTEL et al., 2005).

Os principais microrganismos probióticos empregados na indústria de alimentos são os dos gêneros lactobacilos e bifidobactérias. No total são dez, os microrganismos registrados com alegação de funcional pela legislação brasileira como probióticos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei* variedade *ramnosus*, *Lactobacillus casei* variedade *defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, e *Bifidobacterium faecium*. Devem ser capazes de se manterem em quantidades viáveis, geralmente, em contagens superiores a 10^6 UFC.mL⁻¹ (ou 10^6 UFC.g⁻¹) no produto fermentado e resistir à passagem no trato gastrointestinal, previsto pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2007).

Nos leites fermentados, as culturas convencionais associadas às culturas probióticas, resultam em uma melhor conservação do leite, decorrente da produção de ácido láctico e compostos antimicrobianos. Os microrganismos adicionados intencionalmente, em sua maioria, contribuem com a produção de compostos aromáticos, como o acetaldeído e outros metabólitos, como os polissacarídeos extracelulares que são polímeros de elevado peso molecular que agem como agentes espessantes, gelificantes, estabilizantes e encapsuladores, responsáveis pela textura (corpo, viscosidade, consistência) dos alimentos processados. Esses compostos produzidos melhoram as propriedades sensoriais desejadas pelo consumidor. Além de contribuir na melhoria do valor nutricional do produto através, por exemplo, da liberação de aminoácidos livres ou provenientes da síntese de vitaminas e no fornecimento de propriedades terapêuticas ou profiláticas (PARVEZ et al., 2006).

Nos leites fermentados, a multiplicação de cepas probióticas pode resultar em características indesejáveis no produto final, como a maior produção de ácido acético (SAAD et al., 2011).

Um grande desafio tecnológico para indústria de alimentos é manter ou garantir a viabilidade de culturas probióticas no produto durante sua vida de prateleira do produto. Não devem também promoverem alterações indesejáveis nas características

sensoriais e físicas, já que muitas bactérias probióticas são sensíveis à exposição a oxigênio, altas temperaturas e meios ácidos (OLIVEIRA; DAMIN, 2003).

Dentre os fatores que podem prejudicar a multiplicação das bactérias probióticas durante a elaboração do produto, podem ser destacadas a composição química centesimal do meio de fermentação, a presença de oxigênio, bem como o período de armazenamento do produto (OLIVEIRA; DAMIN, 2003; SAAD et al., 2011). A queda do pH durante o armazenamento pode resultar em uma multiplicação mais lenta das bactérias probióticas. Além disso, o leite não é um meio de cultivo adequado, principalmente, devido à ausência de atividade proteolítica no leite na qual torna mais lenta a multiplicação das bactérias nesse meio (VINDEROLA et al., 2000; OLIVEIRA; DAMIN, 2003).

Uma das alternativas para se aumentar a multiplicação das bactérias probióticas em leites é a suplementação com fatores de crescimento, adição de fatores bifidogênicos ou prebióticos como inulina e os frutooligossacarídeos (FOS), uma vez que as bifidobactérias fermentam esses oligossacarídeos, preferencialmente, a outras fontes de carboidrato (OLIVEIRA, 2014).

2.1.2 SUBSTÂNCIAS PREBIÓTICAS

A adição de compostos prebióticos representa uma alternativa para enriquecimento dos iogurtes tradicionais (FERREIRA; TESHIMA, 2000). Segundo Gibson e Roberfroid (1995), o prebiótico é definido como substância derivada de fibras alimentares não digeríveis pela maioria dos microrganismos do intestino. Exercem influência sobre processos fisiológicos no organismo, afetando de forma benéfica o hospedeiro ao estimular seletivamente a multiplicação ou atividade de bactérias desejáveis no cólon, reduzindo riscos de doenças como o câncer de cólon.

Dentre os critérios para serem classificados como prebiótico estão: ausência de hidrólise ou absorção no intestino; capacidade de ser metabolizado seletivamente por bactérias benéficas; capacidade de alterar benéficamente a microbiota intestinal e; indução do efeito fisiológico que seja importante para saúde (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

O consumo regular de prebiótico pode suprimir a proliferação de microrganismos patógenos no intestino, pois como é fermentado no intestino grosso, é convertido em nutrientes que serão utilizados pelas bactérias benéficas, estimulando o aumento da

microbiota bacteriana e garantindo assim benefícios adicionais à saúde do hospedeiro. Proporcionar também maior absorção de cálcio e, possivelmente, aumento do metabolismo lipídico com redução do risco de câncer do cólon (GIBSON; ROBERFROID, 1995; SAAD, 2006).

Os prebióticos podem incluir féculas, fibras dietéticas, outros açúcares não-absorvíveis e oligossacarídeos, sendo o último encontrado como componente natural de vários alimentos, como frutas, vegetais, leite e mel. Alguns oligossacarídeos como lactulose, frutooligossacarídeo (FOS), rafinose e polissacarídeos como a inulina e o amido resistente são exemplos de substâncias prebióticas (FERREIRA; TESHIMA, 2000).

Segundo Nitschke e Umbelino (2002), a inulina é o prebiótico mais utilizado nos alimentos. Consiste em um carboidrato do grupo de polissacarídeos classificados como frutanas, composto por uma cadeia principal de unidades de frutose com uma unidade de glicose terminal (GIBSON; ROBERFROID, 1995) e extraída, principalmente, da raiz de chicória. O grau de polimerização da inulina varia de 11 a 60 unidades monoméricas e sua hidrólise por ação enzimática da inulase resulta no FOS (FERREIRA; TESHIMA, 2000).

Os frutanos tipo inulina além da alegação de propriedade funcional ou de saúde por apresentar um efeito bifidogênico ao estimular o crescimento das bactérias presente no cólon, podem ser usados tanto como suplemento em alimentos quanto como substitutos de macronutrientes. Como suplemento, são adicionados com objetivo de aumentar o teor de fibra, melhorando o valor nutricional do produto. Como substitutos de macronutrientes, a inulina é utilizada para substituir gordura. Tem a habilidade de formar microcristais na presença de água ou leite, que são não são perceptíveis na boca, e formam uma textura cremosa que promove a mesma sensação da gordura (NINESS, 1999; FRANCK, 2002;). Contribui para a melhoria na capacidade de retenção de água e aumento da viscosidade do alimento ao formar um gel. A adição de inulina em produtos lácteos resulta em uma textura mais cremosa e sabor mais balanceado (MONTANUCI; GARCIA; PRUDENCIO, 2010; PIMENTEL; GARCIA; PRUDENCIO, 2012).

Comercialmente, a inulina está disponível na forma de pó branco, sem odor, de sabor neutro e alta pureza, tornando possível sua utilização em concentrações elevadas sem alterar significativamente aparência e sabor e aumentando a concentração de fibras do produto (COUSSEMENT, 1999; NINESS, 1999). Por ser

um carboidrato e conter frutose, glicose e sacarose, a inulina é ligeiramente doce, apresenta em torno de 10% da doçura da sacarose. O baixo poder adoçante permite ser combinada com outros ingredientes sem alterar o sabor dos produtos. Quanto a solubilidade é relativamente solúvel em água e apresenta baixa viscosidade (FRANCK, 2002).

No estudo de Fuchs, Prudêncio e Haully (2005) foi observado um aumento nos valores de viscosidade, coesividade e adesividade e uma redução nos valores de dureza em iogurtes de soja suplementados com 4,43% de inulina e 14,24% oligofrutose. Por sua vez, Pimentel, Garcia e Prudêncio (2010), suplementaram iogurtes naturais desnatados com oligofrutose e inulina e observaram que a adição desses componentes não influenciou os valores de pH, acidez titulável, sinérese e firmeza dos iogurtes.

Embora de ampla aplicação na indústria de alimentos, a inulina não é adequada a qualquer produto. Quanto aos aspectos tecnológicos, a acidez, altas temperaturas e longos períodos de armazenamento à temperatura ambiente provoca a hidrólise dos frutanos em monossacarídeos com perda das propriedades físico-químicas e funcionais da inulina. Os frutanos tipo inulina também são estáveis em alimentos com pH superior a 4, o que limita sua utilização em alguns produtos mais ácidos (VORAGEN, 1998).

A combinação do probiótico como as bifidobactérias com um prebiótico como a inulina dá origem aos chamados simbióticos. Essa nova categoria de produtos funcionais além de nutrir, assumem uma outra função específica, constituindo um potente recurso na prevenção de problemas do trato gastrointestinal advindos de desbalanceamento da microbiota normal do hospedeiro (FERREIRA; TESHIMA, 2000).

2.1.3 AÇAÍ

O açaí da Mata Atlântica provém da palmeira *Euterpe edulis* Mart., também conhecida como palmito, juçara ou juçaiá. A palmeira é nativa e endêmica da Floresta Atlântica, encontrada ao longo de toda costa litorânea brasileira (LEITMAN et al., 2013). Sua distribuição geográfica vai desde o Rio Grande do Norte, Paraíba, Alagoas, Pernambuco, Sergipe, Bahia, Distrito Federal, Goiás, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, no

Nordeste da Argentina e Sudeste do Paraguai, até florestas tropicais entre o nível do mar e até 1.000 metros de altitude, com ocorrência natural em toda Floresta Tropical Atlântica (MACEDO et al., 1975; HENDERSON, 2000).

Os frutos do açazeiro são esféricos com tamanhos variando entre 1-1,5 cm. Sua coloração varia do verde ao roxo negro durante a maturação. A frutificação ocorre de maio a junho se estendendo até novembro (MANTOVANI; MORELLATO, 2015). Quando maduros são constituídos pela casca de cor quase preta ou violáceo-púrpura (epicarpo); pela polpa de coloração violácea (mesocarpo); semente ou caroço (endocarpo); endosperma sólido ligado ao tegumento e embrião pequeno (pericarpo) bastante fibroso e que possui baixo teor de lipídios e proteínas. A polpa do fruto é composta por cerca de 80 a 90% de água e pelas partes comestíveis (epicarpo e mesocarpo) caracterizada pelo elevado teor de lipídios e pigmentos antocianicos (HENDERSON, 2000; ROGEZ, 2000).

A espécie produz um palmito de excelente qualidade, com valor econômico elevado e amplamente consumido na alimentação humana. Porém, é característica da espécie apresentar estirpe única e, ainda, é uma prática comum o corte de todos os indivíduos das populações nativas de palmitreiro, incluindo as plantas que produzem semente, para extração do palmito. Devido ao intenso extrativismo do palmito, principalmente a partir da década de 70, sua regeneração natural ficou comprometida. Atualmente, o *Euterpe edulis* encontra-se na categoria vulnerável de acordo com a lista de espécie ameaças de extinção (REIS; KAGEYAMA, 2000; MARTINELLI; MORAES, 2013). A possibilidade de recuperar as populações desta espécie para produção de frutos vem como uma alternativa de renda para o produtor, além de gerar uma atividade que contribuam para a preservação da palmeira Juçara, pois a utilização dos frutos não implica na morte da palmeira (CARDOSO; LEITE, 2009).

No contexto ecológico, a espécie é de grande importância para a Mata Atlântica por desempenhar um papel fundamental na dieta alimentar de herbívoros vertebrados e invertebrados. Seus frutos atingem a maturação na época de escassez geral de alimentos o que ao leva a ser considerada como espécie-chave (REIS; KAGEYAMA, 2000).

O açaí é obtido da extração da polpa dos frutos das palmeiras do gênero *Euterpe*, da família Arecaceae, após amolecimento por processos tecnológicos adequados (ROGEZ, 2000; COHEN; ALVES, 2006). Atualmente, a utilização do açaí da Mata Atlântica é crescente e já se observa grande aceitação do consumo da polpa nas

regiões Sudeste e Sul do Brasil, principalmente, no verão. O processamento do fruto já acontece em diversos estados brasileiros, sobretudo na Bahia (OLIVEIRA, NETO; PENA, 2007; SILVA, 2012).

No mercado nacional um dos grandes atrativos do fruto que estimula não só sua comercialização, mas o interesse em pesquisas e investimentos no seu uso como alimento são suas propriedades nutricionais, seu valor energético e funcionais.

O açaí contém vários compostos bioativos como os ácidos benzóico, cafeíco, clorogênico, ferúlico, protocatecuíco, *p*-cumárico, siríngico, vanílico e flavonoides como quercetina e rutina, principalmente, de antocianinas e compostos fenólicos com comprovada atividade antioxidante. São ricos em minerais como potássio e cálcio e, dentre as vitaminas, pode ser destacada a vitamina E (ROGEZ, 2000; DE PAULA, 2007; BORGES, 2013).

De acordo com Novello (2011), são poucos os trabalhos que relatam os efeitos benéficos do consumo do açaí da espécie *Euterpe edulis* e de sua composição química. Tem-se discutido sobre a presença de ácidos graxos insaturados, minerais e compostos fenólicos, como as antocianinas, relacionando-os a benefícios à saúde. A quantificação desses compostos e sua caracterização físico-química são importantes para o conhecimento das propriedades nutricionais e agregação de valor ao produto final (YAHIA, 2010).

O açaí da espécie *Euterpe edulis* constitui um alimento altamente energético e nutritivo com propriedades e potencial para produção de polpa similares às do açaí *Euterpe oleracea* Mart. (açaí da Amazônia). Ao se comparar as características químicas do açaí extraído da palmeira *E. oleracea*, suas características são superiores em relação à quantidade de açúcares totais, lipídios e valor calórico. Além de apresentar teor no mínimo duas vezes maior de atividade antioxidante, principalmente, devido à presença de antocianinas (COSTA et al., 2008). O teor de antocianinas presentes no *E. edulis* é cerca de quatro vezes maior (1347mg/100g) que as quantidades encontradas no *E. oleracea* (336 mg/100 g) (IADEROZA et al., 1992).

Além dos compostos bioativos antociânicos, a polpa do *E. edulis* apresenta alto conteúdo de lipídios, sendo 40-50% de sua composição representados, principalmente, pelos ácidos graxos palmítico, palmitoléico, esteárico, oleico, linolêico e linolênico, com a predominância de mais de 70% de ácidos graxos insaturados (ROGEZ, 2000; DO NASCIMENTO, 2008; VAZ et al., 2009; BORGES, 2013).

2.1.3.1 COMPOSTOS FENÓLICOS DO AÇAÍ

Os compostos fenólicos são substâncias que possuem em sua estrutura um anel aromático ligado diretamente a uma ou mais hidroxila que pode ser substituída por ésteres, ésteres metílicos e glicosídeos, formando um grupo quimicamente heterogêneo com 10.000 compostos (SHAHIDI; NACZK, 1995; SOUZA, 2007; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Largamente encontrados no reino vegetal, os compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário das plantas, sendo divididos nos grupos dos flavonóides e derivados (polifenóis) e os não-flavonoides. Os flavonóides consistem de 15 carbonos ($C_6 - C_3 - C_6$) distribuídos em dois anéis aromáticos interligados via carbono heterocíclico do pirano, tais como flavanol, antocianidina, flavanona, flavanonol, flavonas, isoflavanona e flavonol (Figura 1) (SOARES, 2002).

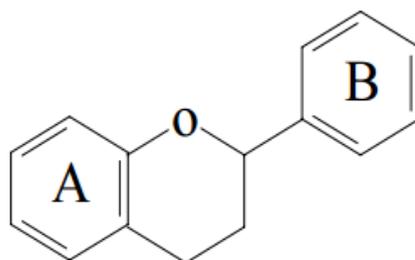


Figura 1– Estrutura básica dos flavonóides.

Fonte: Soares, 2002.

Os flavonoides foram considerados os principais polifenóis, seu mecanismo de ação antioxidante envolve a eliminação direta ou extinção de radicais livres de oxigênio ou de espécies de oxigênio excitadas, bem como a inibição de enzimas oxidativas que geram estas espécies reativas de oxigênio (PIETTA, 2000).

Já os não-flavonóides (fenóis simples ou ácidos fenólicos) são ainda divididos em três grupos. O primeiro é composto pelos ácidos benzóicos, que possuem sete átomos de carbono ($C_6 - C_1$) e são os ácidos fenólicos mais simples encontrados na natureza (Figura 2A). O segundo é formado pelos ácidos cinâmicos que possuem nove átomos de carbono ($C_6 - C_3$), sendo os mais comumente encontrados no reino vegetal (Figura 2B). Por último, as cumarinas derivadas do ácido cinâmico por ciclização da cadeia lateral do ácido o-cumárico (Figuras 2C e D) (SOARES, 2002).

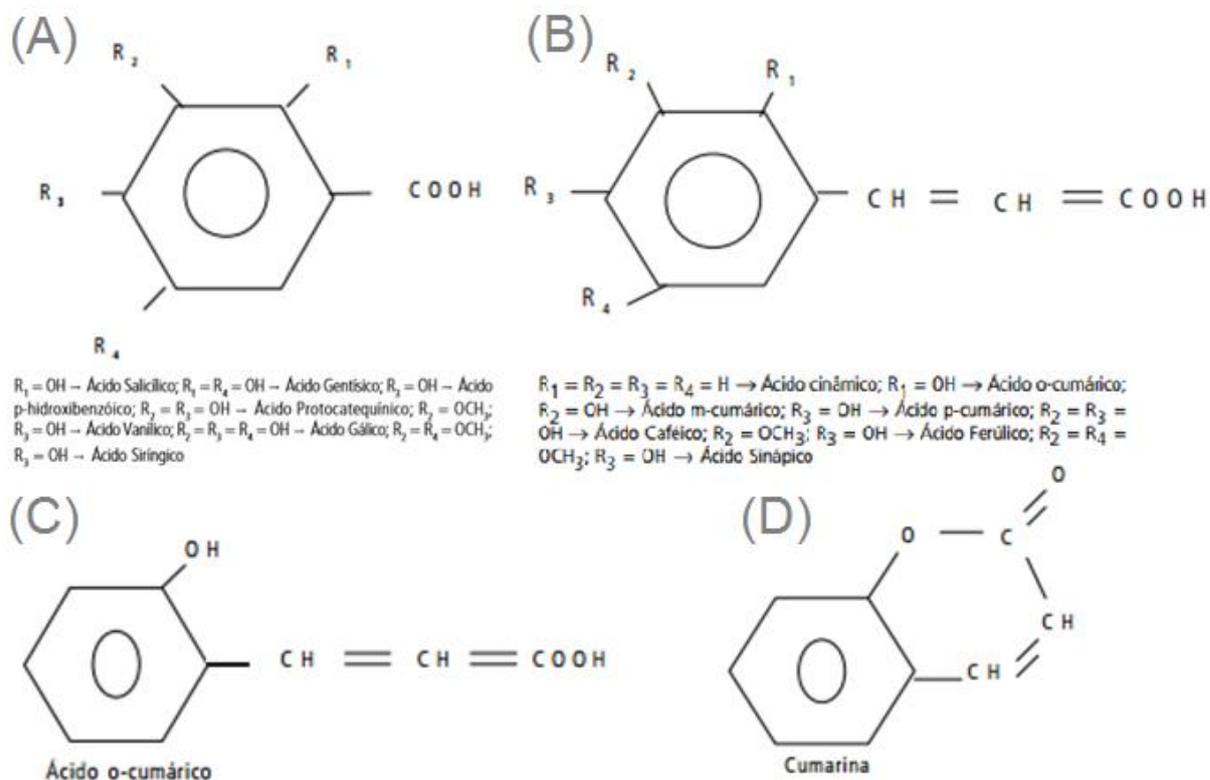


Figura 2– (A) Estrutura química dos ácidos benzoicos, (B) Estrutura química dos ácidos cinâmicos, (C) e (D) Estrutura química das cumarinas.

Fonte: Soares, 2002.

As frutas são as principais fontes de compostos fenólicos, em termos qualitativos e quantitativos, sendo variada a constituição destes de acordo com a fruta. Entretanto, a ação antioxidante dependerá da concentração e estrutura química nos alimentos (SHAHIDI; NACZK, 1995; MELO et al., 2008).

Nos frutos de açaí, os principais componentes polifenólicos incluem antocianinas, proantocianidinas, outros flavonóides e lignanas. Em relação ao conteúdo de compostos fenólicos foram encontrados valores de até 2610,86 mg AGE/100 g nos frutos, além da presença dos ácidos ferúlico, gálico, protocatecuico e p-cumárico e dos flavonoides catequina, epicatequina e quercetina (IADEROZA et al., 1992).

Dentre os compostos fenólicos presentes no açaí, destacam-se as antocianinas (das palavras gregas *kyanos*, azul escuro e *anthos*, uma flor), representadas na Figura 3. São pigmentos vegetais responsáveis por várias tonalidades que variam entre vermelho, roxo e azul, amplamente distribuídas na natureza (MARKAKIS, 1982). Encontram-se na categoria de metabólitos secundários, pertencentes à classe de compostos fenólicos que compreendem o grupo dos flavonóides caracterizados por

núcleo básico flavílio (dois anéis aromáticos ligado a três carbonos e condensados por um oxigênio) (FRANCIS, 1989).

As antocianinas são compostos hidrossolúveis altamente instáveis em altas temperaturas. A presença de oxigênio, luz, pH, estrutura química e tipo de processamento são outros fatores que afetam sua estabilidade (FRANCIS, 1989; SHAHIDI; NACZK, 1995). Segundo Lima, Mélo e Lima (2005), as antocianinas são corantes naturais que podem ser uma alternativa viável em substituição aos corantes sintéticos. Porém, sua baixa estabilidade é o principal fator que dificulta sua aplicação como corante em produtos alimentícios.

A importância das antocianinas nos alimentos decorre também dos benefícios que podem trazer a saúde. Sua estrutura fenólica confere atividade antioxidante por meio da doação ou transferência de elétrons dos átomos de hidrogênio (ESPÍN et al., 2000). Novello (2011) afirma que a atividade antioxidante das antocianinas tem efeito protetor contra a formação dos radicais livres, que quando atingem as células e tecidos do organismo causam danos oxidativos relacionados com algumas doenças como a arteriosclerose.

Na polpa de açaí, as principais antocianinas identificadas foram cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3-rutinosídeo, perlagonidina-3-glucosídeo, cianindina-3-sambiosídeo, peonidina-3-rutinosídeo e peonidina-3-glucosídeo (IADEROZA et al., 1992).

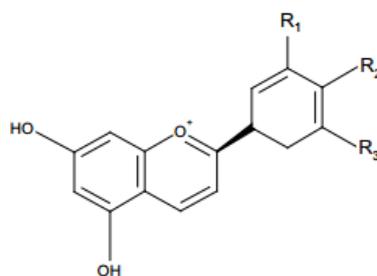


Figura 3- Estrutura química da antocianina.

Fonte: Soares, 2002.

Kuskoski et al. (2006) determinaram a atividade antioxidante, conteúdo fenólico e teor de antocianinas das frutas amora, uva, açaí, goiaba, morango, acerola, abacaxi, manga, graviola, cupuaçu e maracujá *in natura*. As polpas das frutas analisados no experimento demonstraram correlação positiva entre o conteúdo fenólico e atividade antioxidante e, portanto, quanto maior o conteúdo de compostos fenólicos maior foi a

atividade antioxidante das frutas. Foi observado que mesmo congeladas, as polpas de frutas mantiveram suas propriedades, podendo ser excelentes fontes de compostos fenólicos com capacidade antioxidante.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Elaborar iogurte simbiótico com adição de polpa de açaí da espécie *Euterpe edulis* adicionado de inulina (prebiótico) como fonte de fibra e cultura probiótica *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12, bem como caracterizar os parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensoriais dos iogurtes.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar os parâmetros físico-químicos da polpa do açaí *Euterpe edulis*.
- Elaborar seis formulações de iogurte adicionado de inulina (prebiótico) e cultura probiótica *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 (Christian Hansen) e polpa de açaí nas concentrações de: 0% (F₀), 5% (F₁), 10% (F₂), 15% (F₃), 20% (F₄) e 25% (F₅).
- Avaliar o tempo de fermentação dos iogurtes.
- Caracterizar os parâmetros físico-químicos dos iogurtes após processamento (t₀).
- Determinar a acidez e pH dos iogurtes durante o armazenamento do produto a 5°C por 28 dias (t₀, t₇, t₁₄, t₂₁, t₂₈).
- Quantificar o conteúdo fenólico total, atividade antioxidante e teor de antocianinas dos iogurtes durante o armazenamento a 5°C por 28 dias (t₀, t₇, t₁₄, t₂₁, t₂₈).
- Avaliar a viabilidade microbiológica durante o armazenamento a 5°C no tempo t₀, t₇, t₁₄, t₂₁ e t₂₈ dias: contagem das bactérias lácticas totais (*Streptococcus*

salivarius thermophilus e *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*) e da bactéria probiótica (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12).

- Avaliar a cor dos iogurtes nos tempos t_0 (logo após o processamento) e t_{28} (após 28 dias de armazenamento a 5°C).
- Avaliar os atributos sensoriais dos iogurtes.

CAPÍTULO I- Caracterização físico-química, viabilidade de bactérias lácticas e probiótica e avaliação sensorial de iogurte simbiótico adicionado de polpa de açaí *Euterpe edulis*, inulina e cultura probiótica

Resumo: A adição de polpa de frutas, de ingredientes prebióticos e culturas probióticas são alternativas para o enriquecimento e diferenciação dos iogurtes. A incorporação desses ingredientes pode promover alterações tecnológicas no produto, influenciar sua aceitação pelo consumidor e interferir na multiplicação das bactérias lácticas durante a etapa de fermentação e durante sua vida de prateleira. Para verificar os efeitos da adição de 0, 5, 10, 15, 20 e 25% de polpa de açaí *Euterpe edulis* ao iogurte batido adicionado de inulina e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12, foram determinados os teores de gordura, cinzas, proteína, extrato seco total, acidez, pH, os parâmetros de cor e tempo de fermentação. Nos iogurtes armazenados por 28 dias a 5 °C foram determinadas as contagens de bactérias lácticas totais e do probiótico, pH e a acidez. Os iogurtes apresentaram teores de 4,1 % ± 0,3 de gordura, 0,8 % ± 0,1 de cinzas, 23,2 % ± 2,6 de extrato seco total, 0,7 % ± 0,05 de acidez, e pH de 4,5 ± 0,1. Quanto ao teor de proteína, observou-se uma tendência de redução com aumento do teor de polpa de açaí adicionada, variando de 4,07 (sem adição de polpa) a 2,9 % (com adição de 25 % de polpa). As bactérias lácticas variaram de 4,56 a 7,04 log UFC.g⁻¹ e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 de 3,17 a 6,34 log UFC.g⁻¹. Durante os 28 dias de armazenamento a 5 °C apenas nos iogurtes adicionados de 20 e 25 % de polpa de açaí as contagens de bactérias lácticas e probiótica mantiveram-se viáveis de acordo com a IN nº 46/2007 do MAPA e a Lista de Alegação de Propriedade Funcional da Anvisa, respectivamente. Portanto, foi possível o desenvolvimento de um iogurte simbiótico (inulina e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12) de açaí *Euterpe edulis*, sendo uma excelente alternativa de diversificação do iogurte no mercado.

Palavras-chave: açaí, *Euterpe edulis*, inulina, iogurte simbiótico, probióticos.

CHAPTER I- Physico-chemical characterization, viability of probiotic and lactic bacteria and sensory evaluation of symbiotic *Euterpe edulis* acai yoghurt added with inulin and probiotic culture

Abstract: The addition of fruit pulp, prebiotics ingredients and probiotic cultures are alternatives to the enrichment and differentiation of yogurt. The incorporation of these ingredients can promote technological change in the product, influence consumer acceptance and interfere with the multiplication of lactic bacteria during the fermentation stage and during its shelf life. To check the effects of adding 0, 5, 10, 15, 20 and 25 % of acai *Euterpe edulis* pulp to mixed yogurt added with inulin and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12, were determined the contents of fat, ash, protein, total solids, acidity, pH, color parameters and fermentation time. In yoghurt stored for 28 days at 5 °C, it was determined the counts of lactic bacteria total and probiotic bacteria, pH and acidity. The yoghurts showed contents of: 4,1 % ± 0,3 fat, 0,8 % ± 0,1 ashes, 23,2 ± 2,6 % of total dry extract, 0,7 % ± 0,05 of acidity and pH of 4,5 ± 0,1. Regarding the protein content, there was a tendency to decrease with the increasing of the acai pulp content added, ranging from 4,07 (without adding pulp) to 2,9 % (with addition of 25 % pulp) in the formulations. Lactic bacteria ranged from 4,56 to 7,04 log CFU.g⁻¹ and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 from 3,17 to 6,34 log CFU.g⁻¹. During the 28 days of storage at 5 °C, only in the yogurts added with 20 and 25 % acai pulp, the counts of lactic and probiotic bacteria remained viable according to IN n° 46/2007 by MAPA and the Claim List of Functional Property by Anvisa, respectively. Therefore, the development of a symbiotic yogurt (inulin and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12) of acai *Euterpe edulis* was possible, representing an excellent alternative to the diversification of yogurt in market.

Keywords: acai, *Euterpe edulis*, inulin, symbiotic yogurt, probiotics

1 INTRODUÇÃO

O iogurte é obtido da coagulação do leite pela ação protosimbiótica dos cultivos de *Streptococcus salivarius thermophilus* e de *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* e de outras bactérias lácticas que podem ser adicionadas para contribuir com as características do produto final (BRASIL, 2007). Constitui uma fonte rica em proteínas, cálcio, fósforo, vitaminas e carboidratos (TEIXEIRA et al., 2000).

A incorporação de fibras alimentares como a inulina, considerada prebiótico, juntamente com adição de culturas probióticas dá origem aos chamados iogurtes simbióticos. Em termos tecnológicos, a associação do prebiótico com o probiótico pode resultar em uma vantagem competitiva para o microrganismo probiótico, além da inulina contribuir para melhoria da textura dos iogurtes (SAAD et al., 2011; MONTANUCI; GARCIA; PRUDENCIO, 2010; PIMENTEL; GARCIA; PRUDENCIO, 2012).

A adição de polpa de frutas ao iogurte já é uma prática realizada que visa atenuar seu gosto ácido e melhorar o sabor e suas propriedades. A possibilidade da adição de frutas tropicais com propriedades nutricionais e funcionais também representa uma alternativa para o desenvolvimento de alimentos processados mais saudáveis (COSTA et al. 2012).

Em virtude da presença de compostos bioativos, atualmente, há um interesse na utilização de frutas que possam ser fontes desses compostos. Tem-se observado um grande interesse e investimentos em pesquisas na utilização do açaí *Euterpe edulis* como ingrediente em alimentos processados (RUFINO, 2008). O fruto apresenta propriedades nutricionais como alto valor energético, além de teores significativos de ácido graxos insaturados e compostos fenólicos quando comparados a outras frutas tradicionalmente utilizadas (ROGEZ, 2002).

Segundo Oliveira (2014) os prebióticos, probióticos e as frutas quando adicionados em conjunto ao iogurte podem apresentar efeito sinérgico e melhorar as características de qualidade do produto. Porém, existe uma preocupação em relação a alterações físico-químicas, na multiplicação dos microrganismos durante a etapa de fermentação e na sua viabilidade durante a vida de prateleira do iogurte.

Desta forma, os objetivos deste presente trabalho foram avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de polpa de açaí *E. edulis* adicionados de inulina e cultura

probiótica sobre as características físico-químicas dos iogurtes, na multiplicação de *Streptococcus salivarius thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 e na viabilidade dessas bactérias durante o armazenamento a 5 °C por 28 dias, bem como a aceitação sensorial e o intenção de compra dos consumidores.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido nos laboratórios de Tecnologia de Produtos Agrícolas, Química de Alimentos, Operações Unitárias, Microbiologia, Microbiologia de Alimentos e de Análise Sensorial do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Espírito Santo em Alegre, ES.

A polpa de açaí *Euterpe edulis* foi adquirida de um fornecedor do município de Rio Novo do Sul - ES. O preparado de açaí com guaraná foi fornecido pela empresa Gemacon Tech de Juiz de Fora -MG e a inulina pela Clariant S/A de São Paulo - SP. A cultura liofilizada de bactérias lácticas e probiótica (ABY-10 Probiotic culture contains BB-12 - Christian Hansen) foi adquirida da empresa Macalé. Os demais ingredientes foram adquiridos em supermercados do município de Alegre - ES.

2.1 ELABORAÇÃO DO IOGURTE

O processamento dos iogurtes foi realizado no Laboratório Tecnologia de Produtos Agrícolas do CCA-UFES. Foi utilizado o leite em pó integral reconstituído para 15% de extrato seco total, pasteurizado a temperatura de 83 °C por 30 minutos e resfriado até 43 °C. Em seguida, foi inoculada a cultura liofilizada de *Streptococcus salivarius thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 (Christian Hansen) de acordo com as recomendações do fabricante e adicionada a polpa de açaí nas concentrações de 0% (F₀), 5% (F₁), 10% (F₂), 15% (F₃), 20% (F₄) e 25% (F₅).

Durante a fermentação o leite foi mantido em estufa a 43 °C por 4 a 5 horas até atingir pH entre 4,6 e 4,7. Por imersão em água a 10 °C, o gel formado foi resfriado

rapidamente até 25 °C, seguido do batimento e posterior adição de 9% (m/m) de açúcar e 2% (m/m) de preparado de açaí com guaraná, cujas concentrações foram definidas baseando-se em resultados de testes preliminares.

A inulina foi adicionada na concentração de 2,5% (m/m) em relação ao produto final, que equivale à quantidade necessária para que a porção de 120 g do iogurte pronto contenha 3 g de inulina. Este valor foi baseado na Lista de Alegações de Propriedade Funcional Aprovadas, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que determina que alimentos sólidos devem conter no mínimo 3 g de inulina por porção de alimento pronto para o consumo para receber a alegação de alimento funcional (ANVISA, 2007). Os iogurtes foram envasados em embalagens plásticas opacas de 150 mL e armazenados por 28 dias a 5 °C.

2.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas foram conduzidas no Laboratório de Química de Alimentos e Operações Unitárias do Departamento de Engenharia de Alimentos do CCA-UFES.

Na polpa de açaí, foram realizadas as seguintes análises: pH, umidade, cinzas, proteínas, gordura, teor de fibra alimentar e teor de sólidos solúveis. Para a caracterização físico-química dos iogurtes, foram determinados: acidez, pH, teor de gordura, teor de proteína, extrato seco total, teor de fibra alimentar, teor de cinza e cor. A acidificação dos iogurtes foi determinada pelas análises de acidez e pH, realizadas a cada sete dias durante o período de 28 dias de armazenamento a 5 °C.

2.2.1 pH

Os valores de pH foram determinados utilizando o método potenciométrico com leitura direta em pHmetro digital, de acordo com as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008).

2.2.2 TEOR DE PROTEÍNA

A determinação do teor de nitrogênio total foi realizada segundo o método de Kjeldahl modificado, de acordo com os procedimentos analíticos adotados pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). O teor de proteínas do iogurte foi calculado pela quantidade de nitrogênio total (g) do produto multiplicado pelo fator de conversão 6,38. Já para a polpa de açaí a concentração de proteína bruta foi calculada usando o fator 6,25.

2.2.3 ACIDEZ

A acidez foi determinada conforme as normas analíticas adotadas pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). Utilizou-se a solução de hidróxido de sódio 0,1 M até pH 8,3 com o auxílio de um potenciômetro digital durante a titulação das amostras.

2.2.4 TEOR DE GORDURA

Para a extração da gordura do iogurte, foi utilizado o método de Mojonier, que consiste na hidrólise das ligações proteína-gordura, utilizando o ácido clorídrico, seguida da extração da gordura por éteres, de acordo com metodologia descrita pela Association of Official Analytical Chemists (1997). Os teores de lipídeos totais da polpa de açaí foram determinados em extrator de *Soxhlet*, segundo AOAC (2000).

2.2.5 EXTRATO SECO TOTAL

O extrato seco total (EST) foi determinado pelo método de secagem das amostras com areia tratada em estufa à temperatura 102-104 °C, conforme AOAC (1995).

2.2.6 TEOR DE CINZAS

No procedimento para determinação do teor de cinzas, foram incineradas as amostras em uma chapa aquecedora na capela por 1h a 200 °C. Em seguida, as amostras foram colocadas na mufla a 550 °C de acordo com método analítico do Instituto Adolfo Lutz (2008).

2.2.7 UMIDADE

A umidade da polpa de açaí foi determinada pelo método de secagem direta em estufa a 105 °C até massa constante conforme as normas analíticas descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

2.2.8 TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS

O teor de sólidos solúveis da polpa de açaí foi determinado utilizando o refratômetro de bancada para a leitura direta, sendo o resultado expresso em ° Brix, de acordo com metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

2.2.9 TEOR DE SÓLIDOS TOTAIS

O teor de sólidos totais da polpa de açaí foi obtido por diferença de acordo com Instituto Adolfo Lutz (2008).

2.2.10 FIBRA ALIMENTAR

As análises dos teores de fibras alimentares foram feitas de acordo com os métodos 32-05 da AOAC (1986) e método 985.29 da AOAC (1985), que determina o conteúdo de fibra solúvel e insolúvel dos alimentos usando uma combinação dos métodos enzimáticos e gravimétricos. As amostras secas e desengorduradas foram tratadas com α -amilase estável à temperatura e, então, digeridas com pepsina e pancreatina (INLAB). O etanol foi adicionado para precipitar a fibra solúvel e o resíduo foi filtrado e lavado com etanol e acetona. Após secagem, os resíduos foram pesados e realizadas análises de proteína e cinzas. O total de fibra alimentar foi obtido da soma de fibra solúvel com a fibra insolúvel calculadas a partir do peso do resíduo menos o peso da proteína e das cinzas do resíduo da fibra.

2.2.11 ANÁLISE COLORIMÉTRICA

A análise colorimétrica dos iogurtes foi realizada após o processamento (t_0) e após 28 dias de armazenamento a 5°C pela leitura direta de reflectância do sistema de

coordenadas retangulares “L” (luminosidade), “a” (intensidade de vermelho e verde) e “b” (intensidade de amarelo e azul), C* (cromaticidade ou saturação de cor) e h (ângulo de tonalidade cromatográfica) empregando a escala de cor CIELAB, com iluminante D₆₅ e ângulo de observação de 10°. Foi utilizado o equipamento Spectrophotometer CM-5 (Konica Minolta).

2.2.12 TEMPO DE FERMENTAÇÃO

Durante a fermentação foram retiradas amostras de cada formulação, nas quais foi medido o pH em intervalos de 30 minutos até pH final entre 4,6 e 4,7.

2.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

As análises microbiológicas foram conduzidas nos Laboratórios de Microbiologia do Departamento de Produção Vegetal e de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos. As formulações F₀: 0%, F₁: 5%, F₂: 10%, F₃: 15%, F₄: 20% e F₅: 25% foram armazenadas a 5 °C por 28 dias. A cada sete dias nos tempos t₀, t₇, t₁₄, t₂₁ e t₂₈, foram realizadas contagens de *Streptococcus salivarius thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* e de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 assim como determinação de acidez e pH dos iogurtes.

2.3.1 QUANTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS LÁTICAS TOTAIS (*Streptococcus salivarius thermophilus* E *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*)

Para contagem de *Streptococcus salivarius thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* foi utilizado a metodologia descrita por Silva et al. (2013) em que as amostras são plaqueadas por profundidade, em ágar MRS para crescimento e incubadas a 35 ± 2 °C durante 72 horas em aerobiose. Para melhoria das condições de multiplicação foi adicionado uma sobrecamada de ágar.

2.3.2 QUANTIFICAÇÃO DE BACTÉRIA PROBIÓTICA

A contagem de *Bifidobacterium animalis* sbsp. *lactis* BB-12 foi realizada de acordo com método descrito por Laroia e Martin (1991) e Tharmaraj e Shah (2003). Foi empregada a técnica de plaqueamento por profundidade em ágar MRS suplementado com 0,05% de cisteína e 5% de uma mistura de antibióticos com cloreto de lítio (NNLP). A solução que continha 2 g/L de sulfato de neomicina, 3 g/L de ácido nalidíxico, 4 g/L de sulfato de paromicina e 60 g/L de cloreto de lítio foi esterilizada em membrana de filtração com poros de 0,22 µm. As placas foram incubadas invertidas em anaerobiose a 37 ± 2 °C por 72 horas, utilizando jarras de anaerobiose (BBL GASPAC 100 ANAEROBIC SYSTEM).

2.4 AVALIAÇÃO SENSORIAL

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Espírito Santo e aprovado com número do protocolo de 282.877 em 22/05/2013.

A avaliação sensorial dos iogurtes foi realizada pelos testes de ordenação-preferência, aceitação e intenção de compra e conduzida no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Engenharia de Alimentos do CCA-UFES.

O teste de ordenação-preferência foi utilizado para determinar a preferência entre os iogurtes adicionados de polpa de açaí (F₁: 5%, F₂: 10%, F₃: 15%, F₄: 20% e F₅: 25%). O julgador ordenou as amostras de acordo com a preferência da mais preferida a menos preferida, marcando sua resposta na ficha de avaliação apresentada na Figura 4 (MINIM, 2006).

NOME: _____ DATA: ____/____/____ SEXO: F () M ()

Por favor, prove as amostras codificadas da esquerda para a direita. Ordene-as de acordo com a sua preferência, colocando o número 1 para a preferida, o número 2 para a segunda preferida etc., em frente ao código da amostra. Após experimentar cada amostra coma um pedaço de biscoito e enxágue a boca com água. Espere trinta segundos entre cada avaliação.

Código da amostra	Ordem de preferência
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Comentários: _____

Figura 4-Ficha apresentada aos julgadores no teste de ordenação-preferência.

Fonte: MINIM (2006).

Os julgadores recrutados avaliaram 10 g de iogurte simbiótico de açaí elaborado servidos de forma aleatória e monádica em copos descartáveis de 50 mL codificadas com números aleatórios de três dígitos (MINIM, 2006).

Para a amostra pré-selecionada no teste de ordenação-preferência, foi aplicado o teste de aceitação juntamente com a formulação controle (F_0) sem adição de polpa.

Os julgadores utilizaram uma escala hedônica de nove pontos para avaliar as amostras, sendo atribuídas notas 9 para o termo “gostei extremamente” e nota 1 para “desgostei extremamente”. No teste de aceitação, foram avaliados os atributos impressão global, aroma, sabor, cor e consistência, juntamente com a avaliação da intenção de compra do consumidor. A ficha usada é apresentada na Figura 5 (DELLA LUCIA, 2008).

Foi avaliado também a intenção de compra do produto elaborado. Os julgadores responderam à pergunta “Você compraria este produto?”. As cinco opções de resposta variavam de “certamente compraria” a “certamente não compraria” (Figura 5).

Nome: _____ Data: _____ SEXO: () F () M

Por favor, avalie a amostra servida e indique o quanto você gostou ou desgostou de cada um dos atributos sensoriais do produto, dando notas de acordo com a escala abaixo.

Código da Amostra: _____

	Atributos Sensoriais	Notas
9 - Gostei extremamente		
8 - Gostei muito	COR	_____
7 - Gostei moderadamente	AROMA	_____
6 - Gostei ligeiramente	SABOR	_____
5 - Indiferente	CONSISTÊNCIA	_____
4 - Desgostei ligeiramente		
3 - Desgostei moderadamente	IMPRESSÃO GLOBAL	_____
2 - Desgostei muito		
1 - Desgostei extremamente		

Você compraria este produto?

- () Certamente compraria
- () Provavelmente compraria
- () Tenho dúvidas se compraria
- () Provavelmente não compraria
- () Certamente não compraria

Comentários: _____

Figura 5- Ficha apresentada aos julgadores no teste de aceitação.

Fonte: DELLA LUCIA (2008).

2.5 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado em parcelas subdivididas. O fator principal foi o teor de polpa de açaí com seis níveis (0%, 5%, 10%, 15%, 20% e 25%) e como subparcela o tempo de armazenamento com cinco níveis (1, 7, 14, 21 e 28 dias). O experimento foi realizado com três repetições e as análises foram realizadas em duplicatas.

Para a caracterização da polpa de açaí foi utilizada a estatística descritiva analisando-se os valores das médias e desvio-padrão das variáveis.

Nos dados da caracterização físico-química dos iogurtes após processamento (t_0) foram realizadas análise de variância (ANOVA) e a análise de regressão, a 5% de significância para avaliar o efeito da concentração da polpa de açaí.

Para análise dos dados de cor dos iogurtes empregou-se a análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey a 5% de significância em casos de diferença estatística pelo teste F.

Os dados das contagens de *Streptococcus salivarius thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* e de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 expressos em log UFC.g⁻¹ foram analisados por análise de variância (ANOVA) e análise de regressão a 5% de significância.

Os dados do teste de ordenação-preferência foram avaliados com base no teste de soma de ordens de Friedman, conforme descrito por Minim (2006). Para avaliação dos dados do teste de aceitação e a intenção de compra foi utilizada análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey com nível de significância de 5% (DELLA LUCIA, 2008).

Foram utilizados o software Microsoft Office Excel® e software R para realização das análises estatísticas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA POLPA DE AÇAÍ

Os resultados da caracterização físico-química da polpa de açaí *Euterpe edulis* com os valores médios e desvios-padrão estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1- Médias ± desvio-padrão dos resultados da composição físico-química da polpa de açaí *Euterpe edulis*

Análises	Polpa de açaí
Umidade (%)	92,59 ± 0,29
pH	5,26 ± 0,03
Teor de lipídios (%)*	27,36 ± 0,08
Teor de proteínas (%)*	14,64 ± 0,04
Teor de sólidos solúveis (%)	3,67 ± 0,03
Teor de sólidos totais (%)	7,41 ± 0,29
Teor de cinzas (%)*	5,62 ± 0,01
Teor de acidez (% ácido cítrico)	0,21 ± 0,01

* Matéria seca.

Segundo a Instrução Normativa Nº 1 de 7 de janeiro de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que estabelece o Regulamento Técnico Geral para fixação dos padrões de Identidade e Qualidade da Polpa de Frutas, a polpa pode ser classificada segundo a adição ou não de água ao produto em: polpa de açaí (sem adição de água); açaí grosso ou especial (14% de sólidos totais); açaí médio ou regular (sólidos totais variando de 11 a 14%); açaí fino ou popular (8 a 11% sólidos totais).

As polpas de açaí *Euterpe edulis* utilizadas no presente trabalho apresentaram teores de sólidos totais inferiores àqueles estabelecidos pela IN nº 1 de 7 de janeiro de 2000 do MAPA, que foram em média, de $7,41 \pm 0,29$ % (Tabela 1). O valor de umidade (%) de $92,59 \pm 0,29$ (Tabela 1) foi superior ao encontrado por Canuto et al. (2010) de 83,3% na polpa de açaí *E. oleracea*. Guimarães e Mascigrande (2011) encontraram valores de 90,22% de umidade para a polpa de açaí *E. edulis* Mart..

De acordo com os dados da Tabela 1, o valor médio de pH na polpa ($5,26 \pm 0,03$) encontra-se em acordo com a IN nº 1 de 7 de janeiro de 2000 do MAPA, que estabelece um valor mínimo de 4,0 e máximo de 6,2. Silva, Barretto e Serôdio (2004) encontraram valores de pH 4,8 para a polpa da espécie *E. edulis*.

Segundo a legislação brasileira, as polpas de açaí devem apresentar teor de lipídios de 20 - 60% e no mínimo 5% de proteínas em matéria seca (BRASIL, 2000). O teor de lipídios encontrado no presente estudo foi de 27,36% em matéria seca (Tabela 1). Segundo Borges (2013), em um estudo realizado com frutos de juçara cultivados em diferentes regiões do estado de Santa Catarina, os valores encontrados variaram de 18,5 a 44,1% de lipídios em matéria seca.

De acordo com a Figura 1 o valor de proteína encontrado foi de 14,64% e de cinzas foram encontrados valores de 5,62%. Resultados dos teores de proteína e cinzas (Tabela 1) foram superiores àqueles encontrados por Borges (2013), entre 5,1 e 8,2% para proteína e 1,5 e 3,3% para cinzas, em matéria seca. No estudo de Rogez (2000), o teor de proteína em matéria seca foi de até 13% e o de cinzas 3,5%.

O teor de fibra alimentar total, solúvel e insolúvel da polpa de açaí *Euterpe edulis* estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2- Teor de fibra alimentar total, fibra insolúvel e fibra solúvel da polpa de açaí *Euterpe edulis*

Teor de fibra alimentar total	Teor de fibra insolúvel	Teor de fibra solúvel
5,40%	3,63%	1,77%

Segundo Alexandre, Cunha e Hubinger (2004), a polpa de açaí *E. edulis* apresenta elevado teor de fibra com 4,37%. No estudo de Lima (2012), foi encontrado um teor de 4,06% de fibras totais em polpa de açaí *E. edulis*.

As variações dos resultados obtidos no presente estudo com a literatura, podem ser explicadas por fatores externos como local de cultivo, clima e maturação, segundo Rogez (2000).

3.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO IOGURTE

De acordo com a estatística aplicada, os resultados de gordura, extrato seco total, cinzas, acidez e pH não apresentaram diferença estatística entre as formulações testadas ao nível de 5% de significância pelo teste F. Apenas para o teor de proteína houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as formulações. Os valores das médias \pm desvio-padrão e seus respectivos níveis de probabilidade (valor-p) estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3- Valores das médias \pm desvio-padrão e níveis de probabilidade (p) do teor de cinzas, extrato seco total, gordura, acidez e pH das formulações de iogurte simbiótico de açaí

Análises	Média \pm Desvio-padrão	Valor-p
Cinzas (%)	0,86 \pm 0,10	0,292 ^{ns}
Extrato Seco Total (%)	23,18 \pm 2,59	0,225 ^{ns}
Gordura (%)	4,16 \pm 0,31	0,579 ^{ns}
Acidez (% em ácido láctico)	0,70 \pm 0,05	0,525 ^{ns}
pH	4,45 \pm 0,10	0,403 ^{ns}

^{ns}não significativo ($p \geq 0,05$) ao nível de 5% de probabilidade de acordo com o teste F da análise de variância.

Baseado na Instrução Normativa Nº 46 de 23 de outubro de 2007 (MAPA), que estabelece os “Padrões de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados” e de acordo com os resultados apresentado na Tabela 3, em relação ao teor de gordura os iogurtes elaborados podem ser classificados como integrais por apresentarem um teor de gordura superior ao mínimo de 3% estabelecido pela legislação.

Quanto à acidez no presente estudo foi encontrado um valor médio (% ou g/100 g em ácido láctico) de $0,70 \% \pm 0,05$ (Tabela 3) em acordo com os padrões estabelecidos pela IN nº 46 de 2007 do MAPA entre 0,6 a 1,5 g/100 g do produto (BRASIL, 2007).

Em relação ao teor de cinzas (Tabela 3), a adição de polpa de açaí não alterou significativamente o teor de cinzas entre as formulações ($p \geq 0,05$), mesmo variando-se as concentrações até 25%. Porém, aumentou em até cerca de 23,26% o teor de cinza dos iogurtes em relação àqueles desenvolvido por Costa et al. (2012), cuja maior concentração de polpa adicionada ao iogurte foi de 7%, sendo seu teor de cinzas de 0,66%.

Para extrato seco total, o resultado médio de $23,18 \pm 2,59 \%$ (Tabela 3) foi superior àquele encontrado por Silva (2007) de 21,8% em iogurte aromatizado de morango adicionado de cultura probiótica e um prebiótico, elaborado com leite de vaca. Ressalta-se que em iogurtes adicionados de leite em pó, o extrato seco total tende a ser maior, corroborando com os resultados do presente estudo.

O valor médio de pH no iogurte encontrado foi de $4,45 \pm 0,10$ (Tabela 3) atendendo ao valor estabelecido pela IN nº 46 do MAPA (BRASIL, 2007), que deve ser maior que 4,0. De acordo com Vinderola et al. (2000), o controle rigoroso do pH do iogurte se faz necessário para que não ocorra a separação macroscópica de fases e elevada acidificação influenciada pelo período de fermentação, além de alterações nas características sensoriais do iogurte, o que pode levar à rejeição do produto por partes dos consumidores.

Quanto ao teor de proteína foi encontrada diferença significativa entre as formulações elaboradas de acordo com teste F a 5% de significância, mostrando a influência da concentração de polpa de açaí no teor de proteína dos iogurtes. A Figura 6 apresenta o modelo linear significativo ($p < 0,05$) e a equação obtidos pela análise de regressão. Na equação x, é a concentração de polpa de açaí (%) (Figura 6).

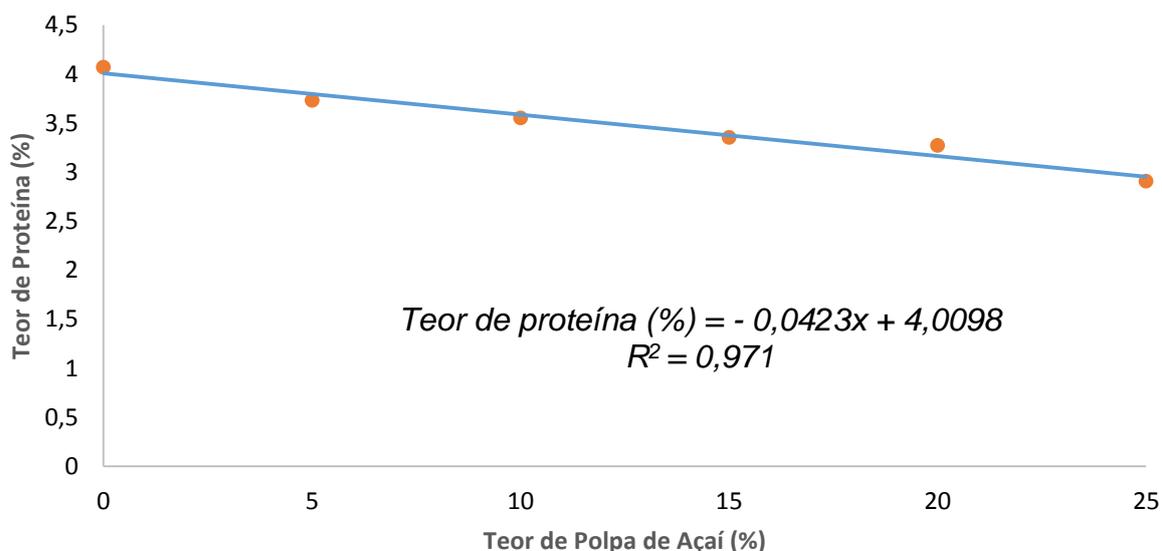


Figura 6 - Modelo linear ajustado do teor de proteína (%) em função do teor de polpa de açaí (%).

Observou-se uma tendência de redução do teor de proteína dos iogurtes com o aumento da concentração de polpa de açaí (Figura 9). Pela equação, as formulações apresentaram valores estimados de 4,07% (F₀); 3,73 % (F₁); 3,55% (F₂); 3,35% (F₃); 3,27% (F₄) e; 2,9% (F₅). Os teores de proteína encontrados no estudo de Costa et al. (2012) em iogurtes adicionados de 3 a 7% de polpa de açaí variaram de 2,31 a 2,59%.

Segundo a legislação, para o produto ser incluído na classificação de iogurte é necessário atingir um mínimo de 2,9% de proteínas lácteas, o que foi obtido no presente estudo para todas as formulações (BRASIL, 2007).

A redução no teor de proteína com o aumento do teor de polpa adicionada pode ser explicada pela elevada umidade da polpa de açaí adicionada no iogurte (92,59% ± 0,29) apresentada na Tabela 1. O mesmo não ocorreu com o teor de gordura, em que não houve alteração significativa (p ≥ 0,05) com a variação do teor de polpa adicionado (Tabela 3), cujo valor médio foi de 4,16 ± 0,31 %.

O teor de fibra alimentar, fibra solúvel e insolúvel das formulações dos iogurtes estão apresentados na Figura 7.

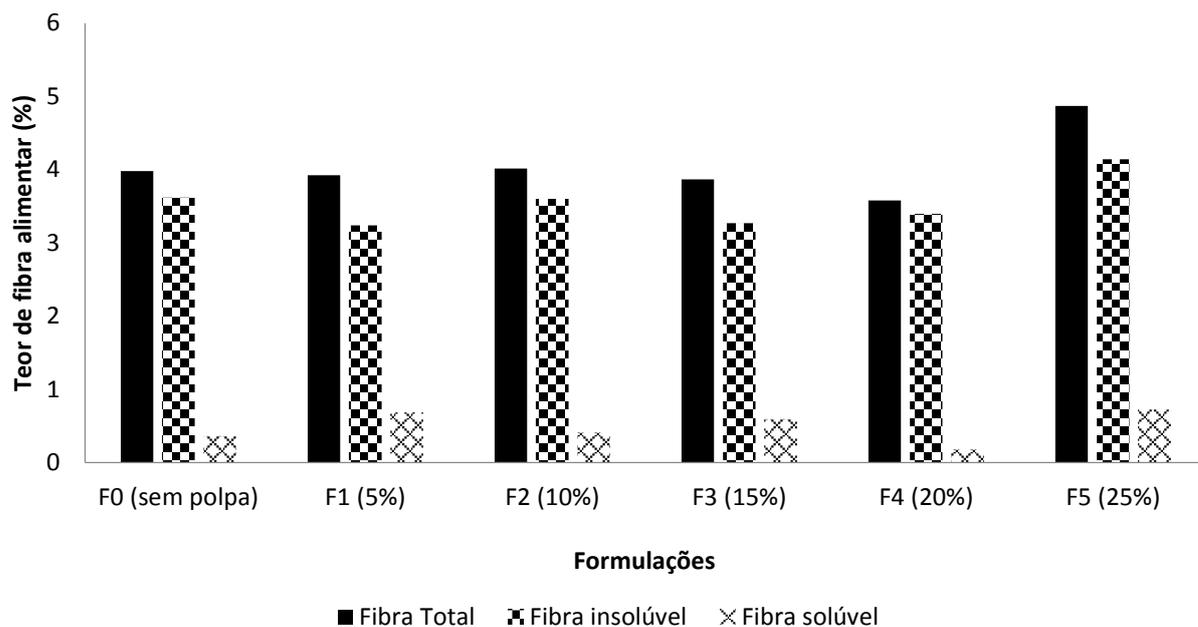


Figura 7- Teor de fibra alimentar, fibra insolúvel e fibra solúvel dos iogurtes.

Os teores de fibras alimentares totais encontrados foram de: 3,98% (F₀); 3,93% (F₁); 4,01% (F₂); 3,86% (F₃); 3,57% (F₄) e 4,86% (F₅). Além da adição de polpa de açaí, foram adicionados inulina como prebiótico em todas as formulações, o que também contribuiu para os teores de fibras alimentares totais encontrados nos iogurtes.

3.3 ANÁLISES COLORIMÉTRICAS DO IOGURTE

Foram avaliados os parâmetros de luminosidade (L*), coordenadas de cromaticidade (a* e b*), saturação da cor (C*) e ângulo de tonalidade (h*) logo após processamento (t₀) e com 28 dias de armazenamento (t₂₈) a 5 °C. A Tabela 4 apresenta os resultados dos parâmetros colorimétricos avaliados para os iogurtes nos tempos t₀ e t₂₈.

Tabela 4- Parâmetros de cor dos iogurtes simbióticos de açaí nos tempos t_0 e t_{28} de armazenamento a 5°C

Tempo de armazenamento	Parâmetro	F ₀ (0 %)	F ₁ (5 %)	F ₂ (10 %)	F ₃ (15 %)	F ₄ (20 %)	F ₅ (25 %)
t_0	L*	66,4 ^a	56,2 ^b	46,8 ^c	42,9 ^c	36,8 ^d	30,8 ^e
	a*	14,7 ^a	12,8 ^a	14,0 ^a	14,2 ^a	14,9 ^a	15,7 ^a
	b*	-2,1 ^a	1,5 ^a	1,5 ^a	1,9 ^a	1,2 ^a	1,4 ^a
	C*	14,8 ^a	13,0 ^a	14,2 ^a	15,5 ^a	15,1 ^a	15,8 ^a
	h*	352,2 ^a	8,0 ^b	6,8 ^b	8,4 ^b	5,4 ^b	5,5 ^b
t_{28}	L*	67,9 ^A	57,8 ^{AB}	52,2 ^{BC}	48,0 ^{BC}	41,1 ^C	36,8 ^C
	a*	14,8 ^A	12,1 ^A	12,0 ^A	11,9 ^A	12,9 ^A	13,4 ^A
	b*	-2,0 ^B	5,3 ^{AB}	6,9 ^A	7,6 ^A	6,5 ^{AB}	5,5 ^{AB}
	C*	14,8 ^A	13,2 ^A	15,2 ^A	15,7 ^A	15,4 ^A	15,0 ^A
	h*	350,9 ^A	35,5 ^B	36,6 ^B	37,9 ^B	31,8 ^B	28,0 ^B

Médias com a mesma letra minúscula na linha, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey. Médias com a mesma letra maiúscula na linha, não diferem significativamente ($p \geq 0,05$). L* luminosidade; a* e b* coordenadas de cromaticidade; C* saturação da cor e; h* ângulo de tonalidade; t_0 tempo após o processamento; t_{28} tempo de 28 dias de armazenamento do iogurte.

A variação do parâmetro de luminosidade L* foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando se avaliou o fator teor de polpa de açaí, porém em relação ao fator tempo de armazenamento o aumento do valor de L* não foi significativo ($p \geq 0,05$) para nenhuma das formulações de iogurte.

A polpa de açaí adicionada nas formulações de iogurte contém antocianinas, pigmentos naturais, que apresentam coloração roxo negro (MANTOVANI; MORELLATO, 2000). De acordo com a escala CIELab de Hunterlab (2008), a luminosidade L* varia de 0 (preta) a 100 (branca). Pelos dados da Tabela 4, pode-se observar que quanto maior a concentração de polpa de açaí adicionada menores foram os valores encontrados para L*, indicando que as formulações adicionadas de 20 e 25 % de polpa de açaí apresentaram coloração mais escuras.

As coordenadas de cromaticidade indicam as direções das cores. O valor de b* positivo corresponde ao amarelo e negativo ao azul (HUNTERLAB, 2008). A adição de polpa de açaí influenciou apenas o valor da coordenada de b* no final do período de armazenamento (t_{28}), sendo negativo apenas para a formulação controle (sem polpa) e positivo para as demais (Tabela 4). Entretanto os valores de b* foram bem próximos a origem (zero), tendo em vista que a escala de b* pode variar de -50 a 70

(ALVES et al., 2008), não caracterizando em exatamente amarela ou azul as formulações elaboradas no presente estudo.

Os valores de a^* encontrados não foram significativos para os fatores concentração de polpa e tempo de armazenamento ($p \geq 0,05$). De acordo com a escala o valor de a^* positivo indica vermelho e negativo indica verde (HUNTERLAB, 2008). Os valores encontrados foram sempre positivos (Tabela 4), indicando variação de cor, em direção ao vermelho.

A saturação da cor é representada pelo parâmetro C^* que indica a pureza ou intensidade da cor com relação ao branco determinadas pelas coordenadas a^* e b^* . Tanto a concentração de polpa de açaí quanto o tempo de armazenamento não foram significativos ($p \geq 0,05$) para o parâmetro C^* . Os resultados encontrados para C^* no presente estudo (Tabela 4) foram próximos ao encontrado por Rocha (2013) com bebidas protéicas adicionadas de extratos de antocianinas, nas quais os valores médios de C^* variaram de 10,5 a 13,69.

O outro conceito de cor analisado foi o ângulo de tonalidade h^* . O sólido de cor é dividido em quadrantes iniciando no eixo $+a^*$, em graus, em que 0° é $+a^*$ (vermelho), 90° é $+b^*$ (amarelo), 180° é $-a^*$ (verde), e 270° é $-b^*$ (azul) (HUNTERLAB, 2008).

O fator teor de polpa de açaí foi significativo ($p < 0,05$) para o parâmetro h^* . A formulação sem adição de polpa (F_0) foi muito superior às demais formulações em que foram adicionadas polpa de açaí, ficando entre as cores amarela e branco para a F_0 e entre branco e vermelho para as formulações com polpa de açaí (Tabela 4). Os valores de tonalidade h^* ficaram próximas a escala que indica o vermelho como observado também na coordenada a^* . O iogurte naturalmente apresenta coloração visível amarelada clara, portanto, a adição de polpa de açaí, que apresenta coloração roxeada, alterou a cor do iogurte, resultando em uma coloração mais próxima da tonalidade vermelha.

O fator tempo de armazenamento foi significativo ($p < 0,05$) para o parâmetro h^* nos iogurtes. Durante os 28 dias de armazenamento o parâmetro h^* aumentou, levando a alterações na cor dos iogurtes, tornando-os mais escuros e próximos do vermelho.

A estabilidade da cor é um parâmetro que sofre com os processos de degradação. As antocianinas, pigmentos naturais presentes na polpa de açaí, são compostos pouco estáveis e diversos mecanismos podem ocorrer durante o processamento e armazenamento de alimentos levando a alterações na cor consequentemente a

perdas de coloração. O pH, temperatura e presença de oxigênio são os principais fatores que afetam a estabilidade das antocianinas (FRANCIS, 1989).

3.4 TEMPO DE FERMENTAÇÃO DO IOGURTE

Para avaliar o efeito da adição de polpa de açaí no tempo de fermentação dos iogurtes, foi ajustado um modelo sigmoidal função logística com quatro parâmetros, apresentado na Equação 1, a partir dos dados medidos.

$$Y = y_0 + \frac{a}{1 + \left(\frac{x}{x_0}\right)^b} \quad (\text{Equação 1})$$

Em que Y é o valor do pH, x é o tempo de fermentação em horas e y_0 , a , x_0 e b são parâmetros do modelo.

Os valores de pH determinados durante o processo de fermentação podem ser observados na Figura 8, que apresenta os modelos matemáticos ajustados para cada formulação.

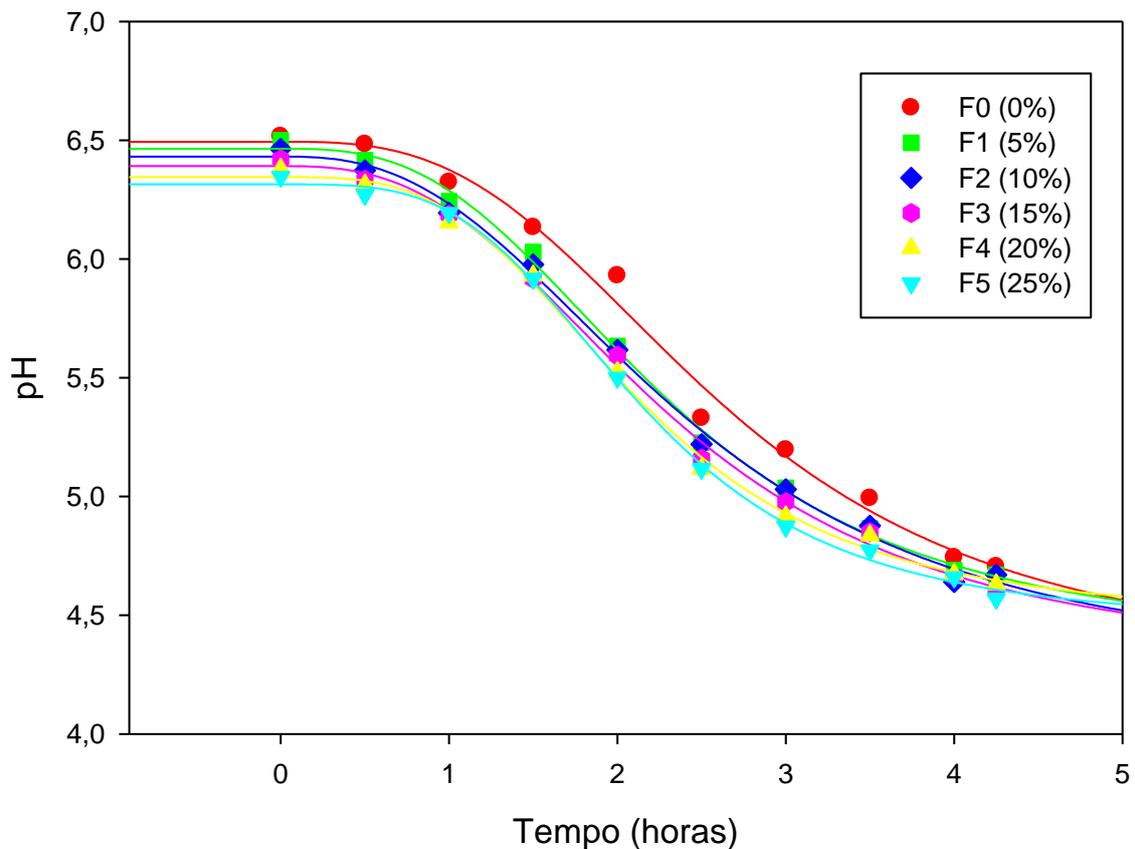


Figura 8– Modelo sigmoidal função logística ajustado do valor de pH em função do tempo de fermentação (horas) dos iogurtes.

De acordo com a Figura 8, é possível observar o comportamento do pH dos iogurtes adicionados de polpa de açaí durante o tempo de fermentação. O pH do iogurte ao final da fermentação, em média, deve ser de 4,6, no qual ocorre a formação do gel. Nas formulações elaboradas, os valores de pH ao final do processo de fermentação foram: $4,71 \pm 0,02$ (F₀); $4,67 \pm 0,08$ (F₁); $4,65 \pm 0,06$ (F₂); $4,63 \pm 0,03$ (F₃); $4,60 \pm 0,01$ (F₄); $4,57 \pm 0,04$ (F₅).

A Tabela 5 apresenta os parâmetros, coeficiente de determinação e nível de probabilidade do modelo sigimoidal função logística ajustado para cada iogurte, considerando um valor de pH de 4,6.

Tabela 5- Parâmetros, coeficiente de determinação (R^2), nível de probabilidade (p) e tempo de fermentação estimado do modelo sigmoidal função logística ajustado para cada formulação (F)

F	y_0	A	b	x_0	R^2	valor-p	Tempo de fermentação estimado* (horas)
F ₀	4,282	2,212	2,982	2,624	0,996	<0,0001	4,773
F ₁	4,361	2,104	2,888	2,292	0,999	<0,0001	4,668
F ₂	4,232	2,201	2,607	2,409	0,999	<0,0001	4,458
F ₃	4,328	2,064	2,822	2,279	0,999	<0,0001	4,445
F ₄	4,403	1,948	3,095	2,174	0,999	<0,0001	4,403
F ₅	4,436	1,880	3,510	2,155	0,999	<0,0001	4,207

* Tempo estimado pelo modelo sigmoidal função logística para atingir o pH de 4,6.

À medida que se aumentou o teor de polpa de açaí adicionada ao iogurte antes da fermentação, observou-se que menor foi o tempo de fermentação estimado pelo modelo matemático (Tabela 5) indicando, provavelmente, que a polpa de açaí *Euterpe edulis* estimulou a produção de ácidos pelas bactérias, acelerando a queda do pH durante a fermentação dos iogurtes. A adição de polpa de açaí aumentou a disponibilidade de nutrientes, substratos para as bactérias fermentarem e produzirem mais ácidos.

O tempo de fermentação encontrado no estudo (Tabela 5) foi de 4 a 5 horas. Costa et al. (2012) encontrou em iogurtes adicionados de 3%, 5% e 7% de polpa açaí *E. edulis*, um tempo de 3,9 horas.

3.5 ANÁLISES DE pH E ACIDEZ DO IOGURTE

Na avaliação da pós-acidificação do iogurte, pela análise de variância dos dados de acidez, o fator teor de polpa e a interação entre os fatores teor de polpa de açaí e tempo de armazenamento não foram significativos ao nível de 5% pelo teste F ($p \geq 0,05$). Portanto, pode-se afirmar que a adição de polpa de açaí *Euterpe edulis* não alterou os valores de acidez entre as formulações elaboradas.

De acordo com Souza (1990) e Brandão (1987) o teor de sólidos está diretamente relacionado com os valores de acidez. A não variação dos valores de acidez ($0,70\% \pm 0,05$) entre os iogurtes pode ser explicado, devido à ação tamponante dos outros constituintes, como proteínas, citratos, fosfatos e lactatos, já que no presente estudo não foi observada variação significativa dos teores de extrato seco entre os iogurtes (Tabela 2).

Como para o fator tempo o resultado da análise de variância foi significativo estatisticamente ($p < 0,05$), foram ajustados modelos de regressão polinomiais para descrever o efeito do fator tempo (dias) no valor de acidez (% ou g/100 g de ácido láctico) dos iogurtes.

A Figura 9 apresenta o ajuste do modelo linear aos dados experimentais da acidez com seu coeficiente de determinação R^2 e a equação obtida em função do tempo de armazenamento. O modelo linear ajustado foi significativo ($p < 0,05$) de acordo com análise de regressão. Na equação, o valor x é referente ao tempo de armazenamento em dias (Figura 9).

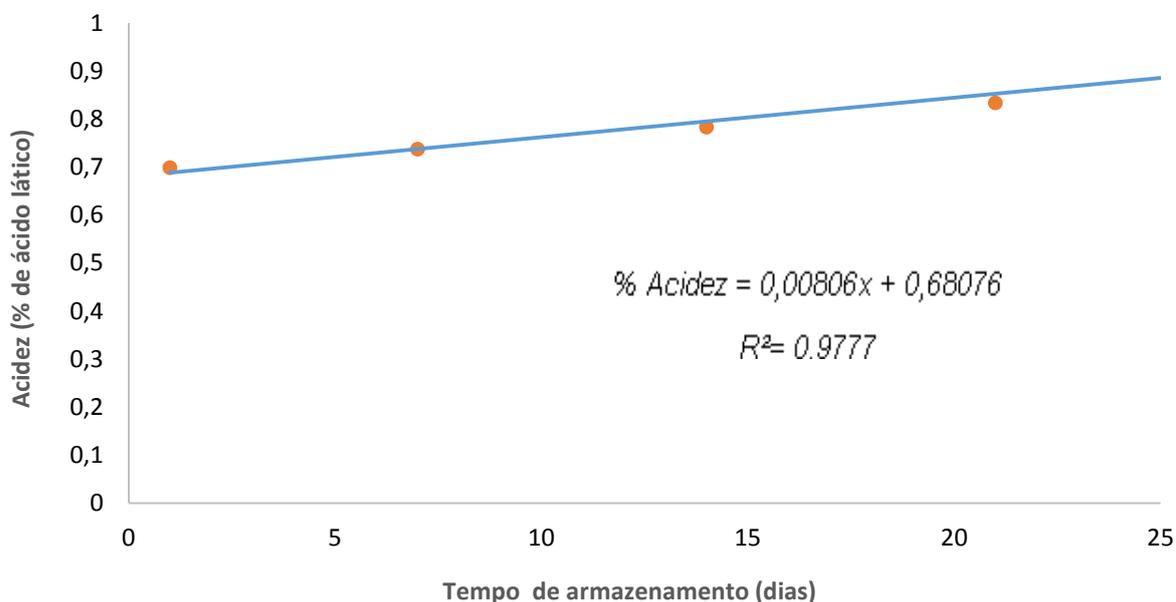


Figura 9- Modelo linear ajustado da acidez (%) em função do tempo (dias).

Observa-se uma tendência de aumento dos valores de acidez (% de ácido láctico) dos iogurtes com o tempo de armazenamento (Figura 9), sendo de 0,72% após o processamento (t_0) e atingindo o valor de 0,95% no 28º dia de armazenamento. Durante os 28 dias de armazenamento esses valores atenderam à IN nº 46 de 2007

do MAPA, na qual estabelece que os leites fermentados devem apresentar no mínimo 0,6 % e máximo de 1,5% de acidez expressa em ácido láctico (BRASIL, 2007). Durante o armazenamento, as bactérias presentes no iogurte produzem ácidos que justificam os aumentos nos valores de acidez encontrados no presente estudo.

No estudo de Silva (2007) com iogurtes aromatizados de morango adicionados de 0,5%, 1,0% e 1,5% de culturas lácticas, os valores de acidez logo após o processamento foram de 0,67%, 0,69% e 0,72%, respectivamente, aumentando gradativamente até atingir 0,81%, 0,86% e 0,90% de ácido láctico no 28º dia de armazenamento. Valores próximos aos reportados no presente estudo.

Quanto aos valores de pH apenas o fator teor de polpa de açaí foi significativo a 5% de acordo com teste F ($p < 0,05$). O fator tempo assim como a interação entre os fatores não foram significativos ($p \geq 0,05$). O modelo de regressão linear foi ajustado aos valores de pH e apresentou significância a 5% pela análise de regressão.

A Figura 10 apresenta o ajuste do modelo linear aos dados médios de pH em função do teor de polpa de açaí, sua equação e seu coeficiente de determinação R^2 . Na equação, x é o teor de polpa de açaí (%).

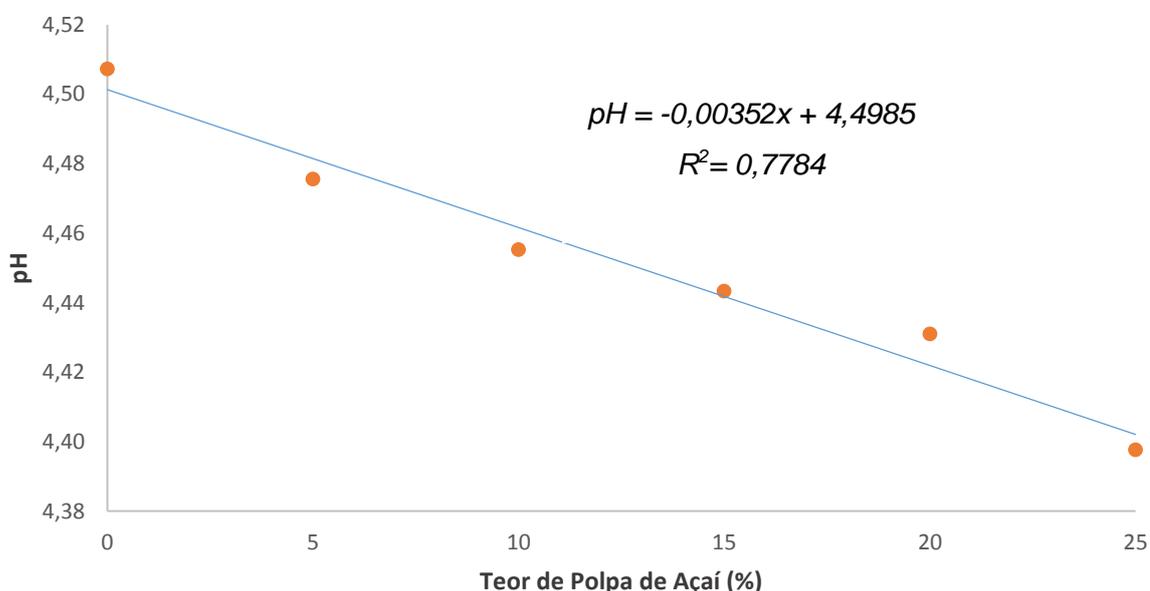


Figura 10- Modelo linear ajustado dos valores médios de pH dos iogurtes em função do teor de polpa de açaí (%).

De acordo com a Figura 10, observa-se que a adição de polpa de açaí reduziu os valores de pH entre as formulações, sendo que para o iogurte sem adição de polpa

de açaí (F₀) o pH foi de $4,51 \pm 0,02$, enquanto o iogurte com adição de 25% de polpa (F₅) o pH foi de $4,4 \pm 0,04$ (Figura 10). A adição de polpa de açaí antes da etapa de fermentação aumentou a disponibilidade de nutrientes e substratos para as bactérias, favorecendo a adaptação dos microrganismos às condições do meio levando a maior produção de ácidos.

Os iogurtes estão sujeitos ao decréscimo do pH durante o período de armazenamento juntamente com aumento de acidez, fenômeno denominado pós-acidificação, devido à continua produção de ácidos pelas bactérias lácticas presente nos iogurtes (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001).

3.6 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE MICROBIOLÓGICA

3.6.1 BACTÉRIAS LÁCTICAS TOTAIS

A contagem de bactérias lácticas totais (*Streptococcus salivarius thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*), de acordo com os resultados da análise de variância, foi significativa ($p < 0,05$) pelo teste F para o fator teor de polpa de açaí. O fator tempo de armazenamento e a interação entre os fatores do tempo versus o teor de polpa foram não significativos ($p \geq 0,05$).

O modelo quadrático ajustado, para descrever o efeito do teor de polpa de açaí *Euterpe edulis* na contagem de bactérias lácticas totais viáveis nos iogurtes, foi significativo ($p < 0,05$) pela análise de variância da regressão.

Os valores médios da contagem de bactérias lácticas em função do teor de polpa de açaí adicionada aos iogurtes e a equação com o coeficiente de determinação R² estão apresentados na Figura 11, em que x representa o teor de polpa de açaí (%) e N é a contagem de bactérias lácticas totais (log UFC.g⁻¹).

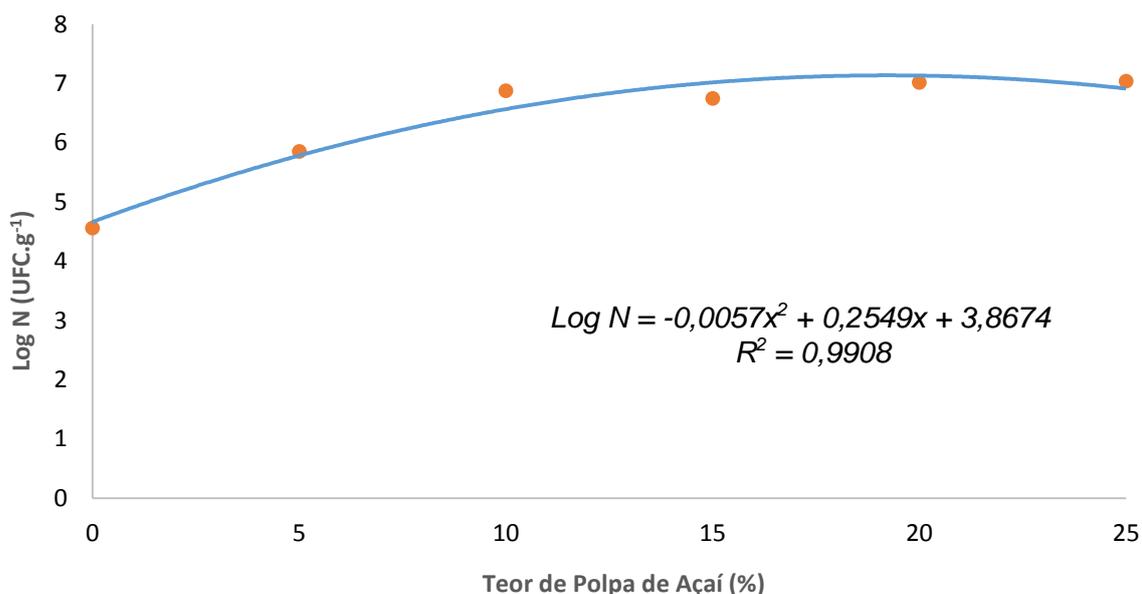


Figura 11– Modelo quadrático ajustado da contagem de bactérias lácticas totais (log UFC.g⁻¹) em função do teor de polpa de açaí (%).

De acordo com a Figura 11, pode-se observar que quanto maior o teor de polpa de açaí maior foi a contagem das bactérias lácticas totais. As contagens médias de bactérias lácticas foram de: F₀: 4,56 log UFC.g⁻¹, F₁: 5,85 log UFC.g⁻¹, F₂: 6,87 log UFC.g⁻¹, F₃: 6,75 log UFC.g⁻¹, F₄: 7,01 log UFC.g⁻¹ e F₅: 7,04 log UFC.g⁻¹. As formulações adicionadas de 20% (F₄) e 25% (F₅) de polpa de açaí apresentaram contagem acima de 7 log UFC.g⁻¹ (10⁷ UFC.g⁻¹), atendendo à IN n^o 46 do MAPA (BRASIL, 2007).

No estudo realizado por Espírito Santo et al. (2010), observou-se o efeito positivo da presença de polpa de açaí *Euterpe edulis* na viabilidade das bactérias lácticas totais em iogurte de açaí também adicionados de probióticos quando comparada a formulação sem adição de açaí. Resultado similar ao encontrado no presente estudo (Figura 11), reforçando a afirmação de que a adição de polpa de açaí *Euterpe edulis* tende a favorecer a multiplicação dos microrganismos no iogurte.

Os resultados encontrados no presente estudo foram menores que os encontrados por Costa et al. (2012) com iogurtes adicionados de 3%, 5% e 7% de polpa de açaí, com médias de 8,5 Log UFC.g⁻¹, 8,4 Log UFC.g⁻¹ e 8,4 Log UFC.g⁻¹, respectivamente.

3.6.2 BACTÉRIA PROBIÓTICA

Para a contagem de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12, apenas o fator teor de polpa de açaí foi significativo ($p < 0,05$) pelo teste F. O modelo quadrático e o coeficiente de determinação R^2 ajustados aos dados experimentais da contagem de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* em função do teor de polpa de açaí foi significativo ($p < 0,05$) pela análise de variância da regressão e estão apresentados na Figura 12. Em que x é o teor de polpa de açaí adicionada (%) e N a contagem de bactéria probiótica (\log de UFC.g^{-1}).

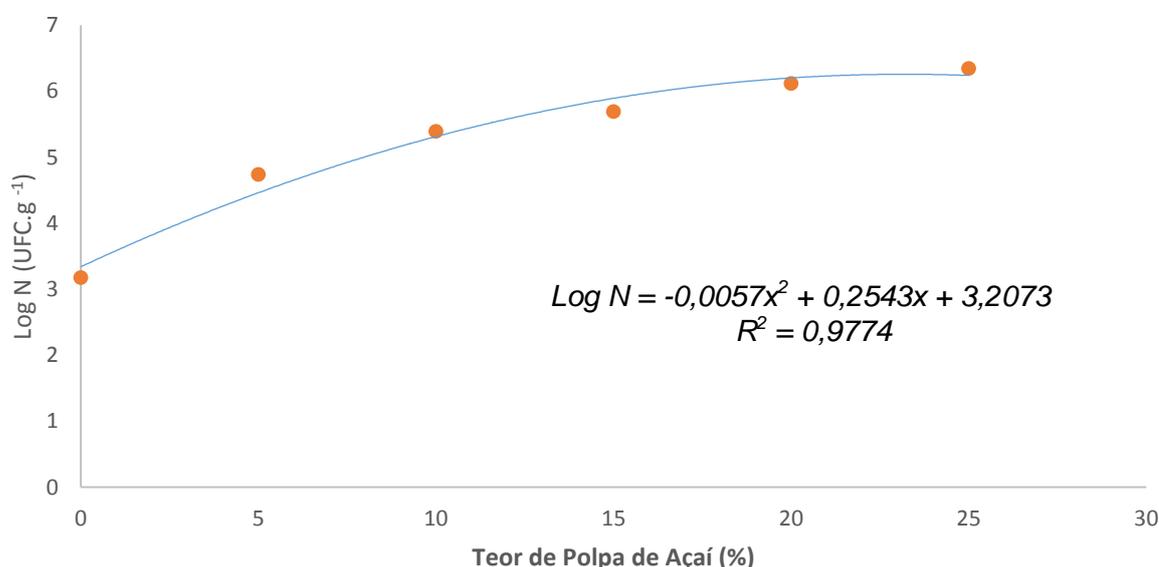


Figura 12– Modelo quadrático ajustado da contagem de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (\log UFC.g⁻¹) em função do teor de polpa de açaí (%).

Os iogurtes com maior adição de polpa de açaí apresentaram maior contagem da bactéria probiótica: F₀: 3,17 \log UFC.g⁻¹, F₁: 4,73 \log UFC.g⁻¹, F₂: 5,39 \log UFC.g⁻¹, F₃: 5,68 \log UFC.g⁻¹, F₄: 6,11 \log UFC.g⁻¹ e F₅: 6,34 \log UFC.g⁻¹ (Figura 12). Entretanto, apenas nos iogurtes adicionados de 20% e 25% de polpa apresentaram contagem de bactéria probiótica superior a 6 \log UFC.g⁻¹, o que atende às especificações exigidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que determina que iogurtes adicionados de probióticos deverão apresentar contagem entre $10^6 - 10^8$ UFC.g⁻¹ (ANVISA, 2007).

De acordo com a Figura 12, observa-se um efeito positivo da adição de polpa de açaí na multiplicação de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. Acredita-se que o alto teor de fibras presente no açaí (Tabela 2), pode ter estimulado a multiplicação das bactérias, com maior produção de ácidos durante a fermentação. Neste sentido, a adição da polpa de açaí antes da etapa de fermentação e não após essa etapa como mais praticado no processamento de iogurtes adicionados de outras polpas de fruta, foi fundamental para a maior multiplicação das bactérias.

No estudo de Silva (2007) com iogurtes probiótico e prebiótico, a contagem do número de células viáveis do microrganismo probiótico *Bifidobacterium* sp. durante 28 dias de armazenamento foram superiores a 6 log UFC.g⁻¹, permanecendo entre 6,7 a 6,3 log UFC.g⁻¹ para iogurte com 0,5% de bactéria probiótica, entre 6,1 a 6,4 log UFC.g⁻¹ para iogurte com 1,0% de bactéria probiótica e entre 7,2 a 6,9 log UFC.g⁻¹ para iogurte com 1,5% de bactéria probiótica.

Contagens superiores foram encontradas por Espírito Santo et al. (2010) em iogurte adicionados de 7% de polpa de açaí *Euterpe oleracea* com diferentes cepas de bactérias probióticas. No iogurte adicionado de *Lactobacillus acidophilus* foram quantificados 9,36 log UFC.g⁻¹, já no iogurte adicionado de *B. lactis* foram quantificados 7,65 log UFC.g⁻¹, para o iogurte adicionado de a *B. longum* a contagem foi de 5,42 log UFC.g⁻¹.

Nos produtos lácteos, a sobrevivência das bactérias probióticas depende de vários fatores, tais como: acidez, a linhagem utilizada, quantidade inoculada, temperatura de incubação, tempo de temperatura de armazenamento, disponibilidade de nutrientes, promotores e inibidores do crescimento, interação entre as espécies presentes, conteúdo de sólidos do leite e oxigênio dissolvido, principalmente, para as bifidobactérias que são anaeróbias (SHAH, 2000; LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001).

No presente estudo, a polpa de açaí *Euterpe edulis* adicionada apresentou alto teor de nutrientes devido a adição de polpa de açaí (Tabela 2), o que pode ter aumentado a disponibilidade de nutrientes e favorecido a multiplicação das bactérias probióticas (Figura 12), assim como das bactérias lácticas totais (Figura 11).

Durante o armazenamento sob refrigeração ocorre a pós-acidificação do iogurte com produção de ácidos orgânicos pela atividade metabólica das bactérias lácticas tradicionais, com decréscimo do valor de pH e aumento da acidez no produto (DONKOR et al, 2006). Esse fenômeno leva à redução na contagem de probióticos

viáveis, principalmente, de bifidobactérias já que as mesmas não são muito tolerantes ao ácido e sua multiplicação é diminuída em pH abaixo de 5,0 (SHAH; LANKAPUTHRA, 1997), o que reduz a vida de prateleira do produto (THAMER; PENNA, 2005).

O aumento da acidez observado no presente estudo (Figura 9) poderia ter afetado a viabilidade da *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, porém, não foi observada uma redução significativa na contagem da bactéria probiótica nem de bactérias lácticas totais. Além disso, segundo Saad et al. (2011), o leite não é um meio adequado para multiplicação de microrganismos probióticos, apesar de ser rico do ponto de vista nutricional.

Apesar disso, os resultados (Figuras 11 e 12) demonstram que mesmo em um meio que seria desfavorável, foi observada a multiplicação da bactéria probiótica e das bactérias lácticas totais com o aumento da adição de polpa de açaí e estas ainda se mantiveram viáveis durante os 28 dias de armazenamento. Fatos que ocorreram devido a presença dos nutrientes, como as fibras, provenientes da polpa de açaí *Euterpe edulis* adicionada ao iogurte.

3.7 AVALIAÇÃO SENSORIAL

Foram recrutados 95 julgadores, em sua maioria estudantes do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, sendo 57,9% do sexo feminino e 42,1 % do sexo masculino com faixa etária entre 19 e 44 anos, que ordenaram a preferência entre as formulações de iogurte elaboradas com diferentes teores de polpa de açaí (F₁:5%; F₂:10%; F₃:15%; F₄:20%; F₅:25%). O resultado do teste de ordenação-preferência está apresentado na Tabela 6.

Tabela 6- Resultado do teste de ordenação-preferência das cinco formulações de iogurte apresentadas aos julgadores

Resultados	F₁ (5%)	F₂ (10%)	F₃ (15%)	F₄ (20%)	F₅ (25%)
Soma das ordens	233 ^a	188 ^a	218 ^a	428 ^b	374 ^b

* Soma de ordens seguidas da mesma letra na coluna não difere entre si, ao nível de 5% de significância de acordo com o teste de Friedman. Para os 95 provadores recrutados, a diferença mínima significativa (dms) foi 60.

No teste de ordenação-preferência as menores somas indicam as formulações mais preferidas. Como observado na Tabela 6, as formulações com 5%, 10% e 15% de adição de polpa de açaí não apresentaram diferença estatística significativa ($p < 0,05$) e foram as mais preferidas segundo os julgadores, por apresentarem as menores somas. Assim sendo, foi escolhida a formulação com adição de 15% de polpa de açaí que, além estar entre as mais preferidas, foi a que apresentou os melhores resultados microbiológicos com maiores contagens de bactérias lácticas e probiótica em relação àquelas com adição de 5 e 10% de polpa de açaí.

No teste de aceitação, os 102 julgadores (Estudantes do CCA-UFES, sendo 59,8% do sexo feminino e 40,2 % do sexo masculino com faixa etária entre 19 e 44 anos) avaliaram separadamente os iogurtes sem adição de polpa e com adição de 15% de polpa de açaí quanto aos atributos cor, aroma, sabor, consistência e impressão global. As médias das notas dos atributos para os iogurtes e seus respectivos níveis de probabilidade estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7– Médias das notas hedônicas das amostras avaliadas no teste de aceitação e seus respectivos níveis de probabilidade para cada atributo

Atributos	F₀ (0%)	F₃ (15%)	Valor-p
Cor	7,3 ^b	8,1 ^a	0,00004*
Aroma	7,8 ^a	7,9 ^a	0,8155 ^{ns}
Sabor	7,9 ^a	8,0 ^a	0,9553 ^{ns}
Consistência	8,0 ^a	7,9 ^a	0,4239 ^{ns}
Impressão global	7,9 ^a	8,0 ^a	0,3431 ^{ns}

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$) e * significativo ($p < 0,05$). Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de F.

De acordo a Tabela 7 para todos os atributos, as médias encontradas ficaram entre 7 e 8 demonstrando a boa aceitação do produto elaborado. Apenas o atributo cor apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os iogurtes, sendo que a formulação com adição de 15% de polpa de açaí apresentou maior média, 8,1 (Tabela 7) e, portanto, melhor aceitação. Para os demais atributos avaliados, a adição de 15% polpa de açaí não afetou as características sensoriais do produto quando comparada ao iogurte sem adição de polpa.

A Figura 13 apresenta as frequências dos julgadores (%) em relação às notas hedônicas dos iogurtes sem adição e com adição de 15% de polpa de açaí referentes aos cinco atributos avaliados pelo teste de aceitação.

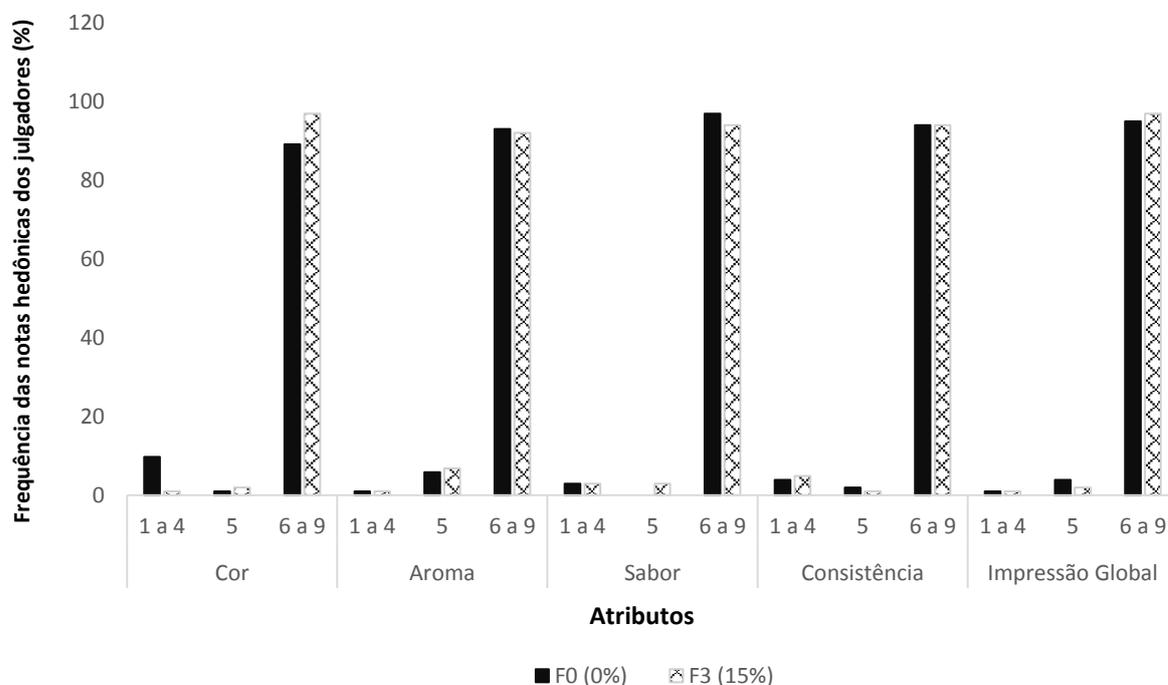


Figura 13- Frequência das notas hedônicas dos julgadores (%) das formulações F₀ e F₃ para os atributos cor, aroma, sabor, consistência e impressão global.

Observa-se na Figura 13 que uma maior porcentagem de julgadores atribuiu notas entre 6 e 9 em todos os atributos avaliados tanto para os iogurtes sem adição e com adição de 15% de polpa de açaí, demonstrando a boa aceitação do produto em todos os atributos.

A cor dos iogurtes elaborados é dada pela presença de compostos fenólicos, principalmente, antocianinas consideradas pigmentos naturais e encontradas em polpas de diferentes frutas. Como atributo sensorial a cor é um atrativo e, normalmente, influencia a decisão de compra do consumidor.

Na avaliação da cor do produto, no iogurte com adição de 15% de polpa de açaí, 97,1% (99/102) dos julgadores aceitaram o produto (notas entre 6 e 9), sendo resultado superior para o iogurte sem adição de polpa que foi de 89,2% (91/102), apresentado na Figura 13.

O aroma não foi um atributo que diferiu entre os iogurtes, como observado na

Tabela 7 e na Figura 13. Isso pode ser explicado pela adição de preparado de açaí com guaraná, um aromatizante adicionado na mesma quantidade e em todas as formulações testadas. Quanto ao sabor, a presença de polpa de açaí no iogurte não foi perceptível para os provadores entre as formulações avaliadas. Portanto, a quantidade de 15% de polpa açaí adicionada, não alterou o sabor do iogurte. Assim como o aroma e sabor, a consistência também foi um atributo que não apresentou diferença entre os iogurtes.

Em relação a impressão global, os resultados confirmaram a boa aceitação do iogurte, com 97,1% (99/102) de aprovação para formulação com 15% de polpa de açaí (F₃) e 95,1% (97/102) para a formulação sem adição de polpa (F₀) (Figura 13).

A Tabela 8 apresenta as médias das notas e o respectivo nível de probabilidade dos iogurtes de acordo com a análise de variância pelo teste F para a avaliação de intenção de comprado produto.

Tabela 8- Médias hedônicas das formulações sem polpa de açaí (F₀) e com adição de 15% de polpa de açaí (F₃) avaliadas para intenção de compra dos julgadores e seus respectivos níveis de probabilidade (p)

Formulações	Médias das notas
F₀ (0%)	1,73 ^a
F₃ (15%)	1,66 ^a
Valor-p	0,5572 ^{ns}

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$). Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste F.

Como observado na Tabela 8, a intenção de compra não apresentou diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre as formulações avaliadas. Percebe-se que a maiorias dos julgadores atribuíram notas entre 1 e 2, que de acordo com a escala se classificam como 1: “certamente compraria” e 2: “provavelmente compraria” (Figura 5). A Figura 14 apresenta a média das notas hedônicas das formulações F₀ e F₃ para a intenção de compra.

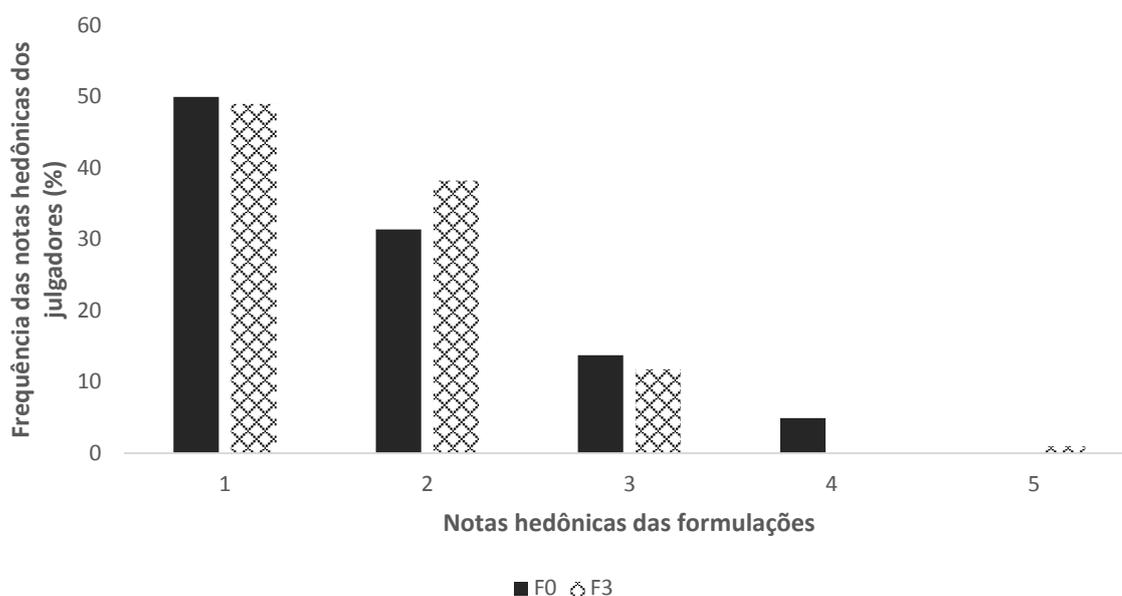


Figura 14 - Frequência das notas hedônicas dos julgadores (%) das formulações F₀ (sem polpa de açaí) e F₃ (15% de polpa de açaí) quanto a intenção de compra do iogurte.

De acordo com a Figura 14, para o iogurte sem adição de polpa de açaí, 50,0% (51/102) dos julgadores “certamente comprariam o produto” e 31,4% (32/102) “provavelmente compraria”. O mesmo foi observado para com o iogurte adicionado de 15% de polpa de açaí *Euterpe edulis*, em que 49,01% (50/102) dos provadores “certamente compraria” e 38,23% (39/102) “provavelmente compraria o produto”.

4 CONCLUSÃO

- A utilização de polpa de açaí *Euterpe edulis* para enriquecimento do iogurte não alterou os padrões de qualidade do produto definidos pela Instrução Normativa de nº 46 de 23 de outubro de 2007 do MAPA.
- Foram observadas muitas contribuições positivas da adição de polpa de açaí *Euterpe edulis* no iogurte, tais como: redução do tempo de fermentação dos iogurtes; maior multiplicação tanto das bactérias lácticas totais (*Streptococcus salivarius thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii*

bulgaricus) quanto da bactéria probiótica (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12).

- As formulações com adição de 20% e 25% de polpa de açaí apresentaram contagem de bactérias lácticas totais e bactéria probiótica que atendem as especificações exigidas pela legislação, IN n° 46 de 2007 do MAPA e a Lista de Alegação de Propriedade Funcional da Anvisa, respectivamente.
- Quanto a viabilidade das bactérias lácticas totais e probiótica, em todas as formulações as contagens se mantiveram durante os 28 dias de armazenamento a 5 °C.
- Em relação a aceitação sensorial e intenção de compra, o iogurte adicionado de 15% de polpa de açaí *Euterpe edulis*, inulina e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 teve boa aceitação com tendência a comprarem e consumirem o iogurte.
- Utilização da polpa de açaí *Euterpe edulis* representa uma excelente alternativa de diversificação do produto lácteo, além de permitir o aproveitamento e agregação de valor tanto ao iogurte quanto da polpa como matéria-prima da indústria de alimentos.

CAPÍTULO II- Polpa de açaí *Euterpe edulis* como fonte de compostos bioativos em iogurte simbiótico adicionado de inulina e cultura probiótica

Resumo: A produção de iogurtes com adição de frutas como o açaí *Euterpe edulis* vem como uma alternativa para o enriquecimento do produto, já que o fruto se destaca pela presença de compostos bioativos como as antocianinas que apresentam elevada atividade antioxidante. Neste contexto, foi avaliada a influência da adição de polpa de açaí *Euterpe edulis* (0 a 25 %) em iogurtes adicionados de inulina e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* no conteúdo de fenólicos totais, teor de antocianinas e atividade antioxidante em iogurtes durante o armazenamento por 28 dias a 5°C. A polpa de açaí *Euterpe edulis* apresentou $812,32 \pm 18,94$ mg AGE / 100g de conteúdo fenólico total, $245,85 \pm 9,45$ mg /100 g de teor de antocianinas e $44,29 \pm 1,46$ μ mol Trolox / 100 g de atividade antioxidante. Nos iogurtes com adição de polpa, o conteúdo de fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante foram significativos ($p < 0,05$), sendo maiores nas formulações com maior adição de polpa de açaí. O conteúdo de fenólicos totais encontrados variaram de 18,17 a 117,84 mg de AGE /100 g, as antocianinas variaram de 2,55 a 47,88 mg /100 g e a atividade antioxidante variaram de 0,71 a 6,95 μ mol Trolox / g. Quanto a estabilidade desses compostos, durante os 28 dias de armazenamento a 5 °C foram observadas perdas significativas no teor de antocianinas e da atividade antioxidante. Na formulação com 25 % de polpa de açaí ocorreu uma redução de 57,93 % do teor de antocianinas e 51,9 % na atividade antioxidante. A polpa de açaí *Euterpe edulis* pode ser usada como fonte de compostos bioativos em sistemas alimentícios como o iogurte, porém deve ser considerada a instabilidade das antocianinas durante a vida de prateleira dos iogurtes.

Palavras-chaves: açaí, antocianinas, atividade antioxidante, composto fenólicos totais, *Euterpe edulis*, iogurte simbiótico.

CHAPTER II - *Euterpe edulis* acai pulp as a source of bioactive compounds in symbiotic yogurt added inulin and probiotic culture.

Abstract: The production of yogurts with addition of fruits like *Euterpe edulis* açai is an alternative to the enrichment of the product, since the fruit stands out by the presence of bioactive compounds such as anthocyanins, which have high antioxidant activity. In this context, was evaluated the influence of the addition of *Euterpe edulis* açai pulp (0 to 25%) to yogurts with inulin and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, in total phenolic content, content of anthocyanins and antioxidant activity in yoghurt, during storage for 28 days at 5° C. The pulp of açai *Euterpe edulis* showed 812,32 ± 18,94 mg AGE / 100 g total phenolic content, 245,85 ± 9,45 mg / 100 g anthocyanin content and 44,29 ± 1,46 µmol Trolox / 100 g antioxidant activity. In yogurts with addition of pulp, the content of total phenolics, anthocyanins and antioxidant activity were significant (p<0,05), and higher in formulations with higher addition of acai pulp. The total phenolic content found in the formulations ranged from 18,17 to 117,84 mg AGE / 100 g, anthocyanins ranged from 2,55 to 47,88 mg / 100 g and the antioxidant activity ranged from 0,71 to 6,95 µmol Trolox / g. As regard the stability of such compounds, there were material losses in anthocyanins and antioxidant activity during the 28 days storage at 5 ° C. In formulating 25 % acai pulp there was a reduction of 57,93 % of anthocyanins and 51,9 % in antioxidant. The pulp of acai *Euterpe edulis* can be used as a source of bioactive compounds in food systems such as yogurt, however it should be considered instability of anthocyanins during the shelf life of the yoghurt.

Keywords: acai, anthocyanins, antioxidant activity, total phenolic compound, *Euterpe edulis*, symbiotic yogurt

1 INTRODUÇÃO

O comportamento dos consumidores atualmente tem levado a escolha por alimentos mais saudáveis, cujo consumo pode resultar em benefícios adicionais à sua saúde. Neste contexto, há uma demanda crescente por alimentos processados adicionados de compostos naturais e, portanto, a incorporação de substâncias funcionais e ingredientes naturais como as frutas representa uma excelente alternativa para a indústria de alimentos, com melhoria da qualidade, da imagem e diversificação dos produtos.

As propriedades funcionais em frutas estão relacionadas à presença de compostos bioativos, como as antocianinas, que são pigmentos naturais pertencentes ao grupo dos compostos fenólicos com comprovada atividade antioxidante dentre outros compostos.

As frutas são as principais fontes de compostos fenólicos, em termos qualitativos e quantitativos, sendo variada a constituição destes no teor das frutas. Nos alimentos, os compostos fenólicos são responsáveis por várias das características sensoriais como o gosto amargo, adstringência e aroma (SHAHIDI; NACZK, 1995; MELO et al., 2008).

O conteúdo de compostos fenólicos, antocianinas e a atividade antioxidante nos alimentos são aspectos muito valorizados. Em razão disso o consumo do açaí tem sido relacionado com a prevenção de várias doenças degenerativas (ROGEZ, 2000; SCHULTZ, 2008).

A polpa de açaí é extraída do fruto do açaí de diferentes espécies de palmeira da família *Arecaceae*, como a espécie *Euterpe edulis* Mart. conhecida popularmente como palmeira juçara.

O conteúdo de fenólicos totais dos frutos de açaí *Euterpe edulis* da região de Santa Catarina encontrado por Borges et al. (2010) foi de cerca de 2610,86 mg de ácido gálico equivalente (AGE)/100g e o teor de antocianinas foi de cerca de 1080,54 mg de antocianinas / 100 g em frutos de açaí. Kuskoski et al. (2006) concluiu em seu estudo que o teor de compostos fenólicos do açaí é superior a frutas como uva e amora. Para atividade antioxidante, o estudo de Schultz (2008) quantificou 13,6 μ mol de atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC)/g em açaí *Euterpe edulis* da região de Santa Catarina.

As formas de extração dos compostos bioativos presentes no fruto de açaí *E. edulis*, principalmente das antocianinas, para a obtenção de extratos e aplicação destes, assim como da polpa como ingredientes e fonte de compostos bioativos em sistemas alimentícios ainda são pouco conhecidos (CARDOSO; LEITE, 2009; CONSTANT, 2003).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi quantificar o conteúdo de fenólicos totais, o teor de antocianinas e a atividade antioxidante da polpa de açaí *Euterpe edulis* assim como do iogurte de açaí *Euterpe edulis* durante o armazenamento de 28 dias a 5°C.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo em Alegre, ES. Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios de Tecnologia de Produtos Agrícolas e Química de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos.

O iogurte foi elaborado com adição de 0, 5, 10, 15, 20 e 25% de polpa de açaí *E. edulis*, preparado de açaí com guaraná (Gemacon), inulina (Clariant) S/A), cultura liofilizada de bactérias lácticas e probiótica (Christian Hansen), açúcar e leite em pó integral, conforme fluxograma das etapas do processamento apresentada na Figura 15.

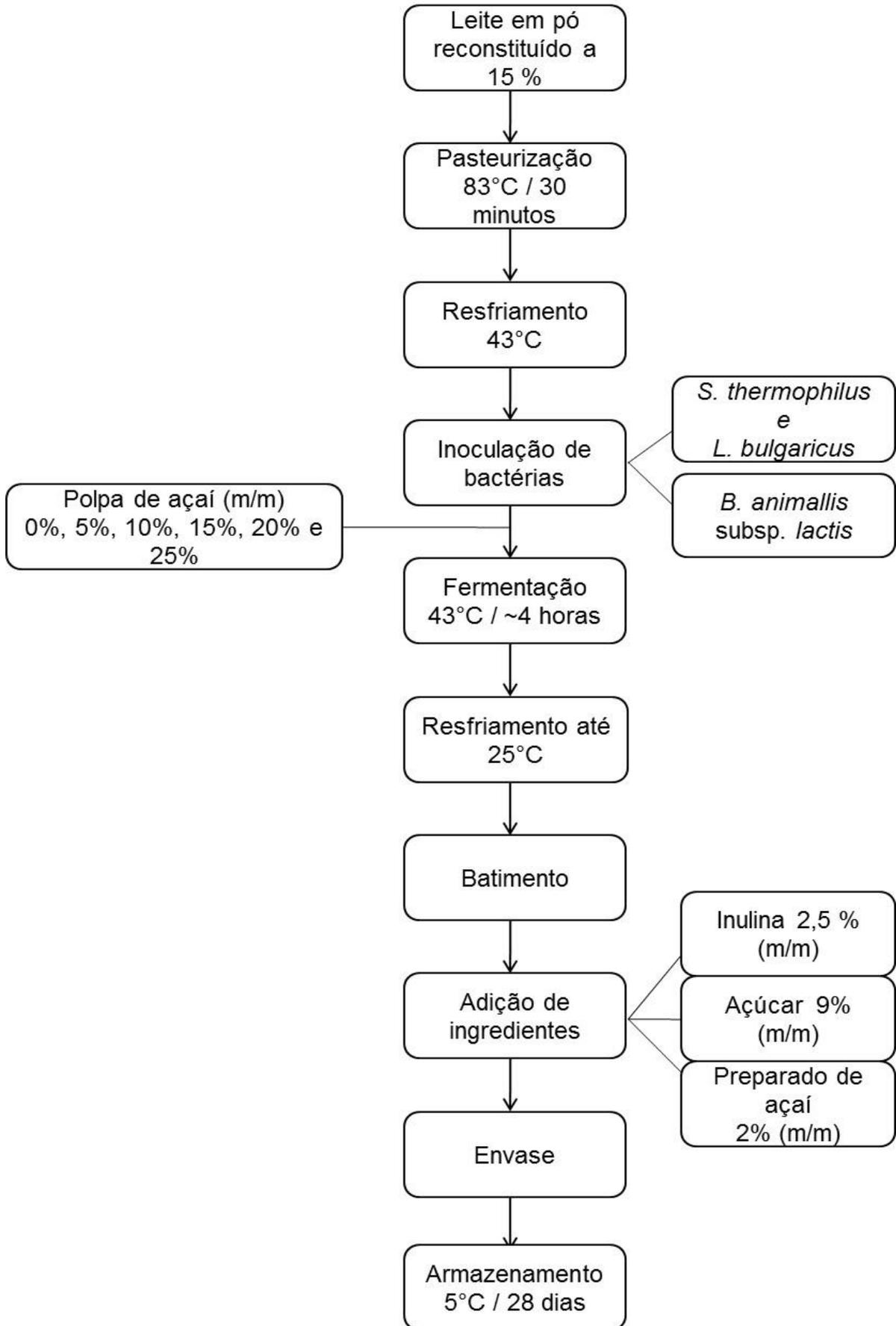


Figura 15– Fluxograma das etapas de processamento do iogurte.

Foram realizadas análises para determinação do conteúdo fenólico total, do teor de antocianinas e da atividade antioxidante, a cada 7 dias (t_0 , t_7 , t_{14} , t_{21} e t_{28}) durante o armazenamento do produto a 5 °C por 28 dias e na polpa de açaí *Euterpe edulis*.

2.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

2.1.1 TEOR DE ANTOCIANINAS

Para determinação do teor de antocianina da polpa de açaí, a extração foi realizada com etanol 70% acidificado com HCl 3 M suficiente para ajustar o pH do meio para 2, conforme Francis (1982), ao abrigo da luz e sob temperatura de refrigeração, por no mínimo 24 horas. O teor de antocianinas foi quantificado por método espectrofotométrico conforme Rodríguez-Saona et al. (1998). Os resultados foram expressos em cianidina-3-glicosídeo (peso molecular de 449,2 g.mol⁻¹) e para a leitura foi utilizado o coeficiente de absorvidade molar de 26900 L⁻¹.cm⁻¹.mol⁻¹ em comprimento de onda de 535 nm.

Para quantificar o teor de antocianinas no iogurte, foi preparado um extrato de cada formulação. A extração dos pigmentos das amostras foi realizada por centrifugação de 2 g de iogurte com 8 mL de solução de etanol/1,5N (85:15) durante 30 minutos na velocidade de 5000 rpm à temperatura de 11 °C. Em seguida, o sobrenadante foi filtrado e realizada a leitura direta em espectrofotômetro no comprimento de onda de 535 nm, de acordo com metodologia adaptada de Prudencio et al. (2008).

2.1.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os compostos responsáveis pela atividade antioxidante da polpa de açaí *Euterpe edulis* foram extraídos conforme metodologia de Francis (1982). Para as amostras de iogurtes empregou-se a metodologia descrita por Prudencio et al. (2008). A quantificação da atividade antioxidante foi realizada conforme Dias (2009), utilizando-se o método de ensaio do radical ABTS. Foi realizada leitura no espectrofotômetro no

comprimento de onda de 734 nm. O reagente Trolox foi utilizado para obtenção da curva-padrão e os resultados expressos em equivalentes de Trolox ($\mu\text{mols Trolox/g}$).

2.1.3 CONTEÚDO FENÓLICO TOTAL

A determinação do conteúdo fenólico total foi realizada pelo ensaio com o reagente Folin-Ciocalteu, segundo o método adaptado por Singleton e Rossi (1965). O extrato da polpa de açaí *Euterpe edulis* foi obtido pela extração com etanol 70% acidificado com HCl 3M até pH 2, conforme Francis (1982) e os extratos das amostras de iogurte foram obtidos conforme Prudencio et al. (2008), já descrito no item 2.1.1. Aos tubos contendo os extratos foi adicionado o reagente Folin-Ciocalteu e a solução saturada de carbonato de sódio (7,5 %). A absorbância das amostras foi medida em espectrofotômetro no comprimento de 760 nm. Foi utilizada a curva padrão de ácido gálico e os resultados expressos em ácido gálico equivalente (mg AGE/100g).

2.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em parcelas subdivididas, em que a parcela principal foi o teor de polpa de açaí com seis níveis (0%, 5%, 10%, 15%, 20% e 25%) e como subparcela o tempo de armazenamento com cinco níveis (0, 7, 14, 21, 28 dias). As variáveis-resposta foram: conteúdo fenólico total, teor de antocianinas e atividade antioxidante. O iogurte foi processado em três repetições e as análises realizadas em duplicatas. Os dados foram analisados estatisticamente com auxílio do software Microsoft Office Excel® e software R.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E TEOR DE ANTOCIANINAS E SUA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NA POLPA DE AÇAÍ *Euterpe edulis*

Em relação aos compostos bioativos da polpa de açaí, a Tabela 9 apresenta os resultados das médias referentes a quantificação do conteúdo de fenólicos totais, teor de antocianinas e atividade antioxidante da polpa de açaí (*Euterpe edulis*), utilizada para a elaboração dos iogurtes.

Tabela 9- Média \pm desvio-padrão dos resultados de conteúdo fenólico total, teor de antocianinas e atividade antioxidante da polpa de açaí (*Euterpe edulis*)

Análises	Médias \pm Desvio-Padrão
Conteúdo fenólico total (mg AGE*/100 g)	812,32 \pm 18,94
Teor de antocianinas (mg antocianinas/100 g)	245,85 \pm 9,45
Atividade antioxidante (μ mol Trolox/100 g)	44,29 \pm 1,46

* AGE- ácido gálico equivalente.

O conteúdo de fenólicos totais encontrado para o açaí *Euterpe edulis* foi de 812,32 mg AGE/100g (Tabela 9), superiores aos valores encontrados nos estudos com polpa de açaí *Euterpe edulis* desenvolvidos por Schultz (2008) e Kuskoski et al. (2006) com 463,6 mg AGE/100g e 136,8 mg AGE/ 100g, respectivamente. Já no estudo desenvolvido por Borges et al. (2010) foram quantificados 2610,86 mg AGE/100g em açaí *E. edulis*.

Comparando como estudo de Rufino (2008) que analisou diferentes frutas, o valor encontrado no presente estudo foi superior ao de frutas como açaí *E. oleracea* (454,1 \pm 44,6 mg AGE/100g) e *E. edulis* (755,3 \pm 8,3 mg AGE/100g), jamelão (185,4 \pm 3,8 mg AGE/100g), jabuticaba (440,4 \pm 9,9 mg AGE/100g) e murta (609,6 \pm 17,7 mg AGE/100g).

O conteúdo de compostos fenólicos quantificado nos alimentos é altamente influenciado por fatores como: método extração utilizado, natureza química desses

compostos, presença de substâncias interferentes, condições e tempo de armazenamento, o que explica as variações encontradas no conteúdo de fenólicos totais da literatura (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Em relação ao teor de antocianinas os resultados obtidos no presente estudo (Tabela 9) foram superiores ao encontrado por Rufino (2008) para açaí *E. edulis* (191,7 mg /100g), *E. oleracea* (114,4 mg /100g), jambolão (93,3 mg /100g), jabuticaba (58,1 mg /100g), murta (142,9 mg /100g), puça-preto (102,8 mg /100g).

Foram superiores também aos quantificados por Kuskoski et al. (2006), que obtiveram valores médios de $22,8 \pm 0,8$ mg/100 g de antocianina e o desenvolvido por Schultz (2008) que comparou as duas espécies *in natura* de açaí *E. edulis* em que foram quantificados 58,5 mg/100g de antocianina e *E. oleracea* que foram quantificados 18,4 mg/100g de antocianina. No trabalho desenvolvido por Borges et al. (2010) foram encontrados teores de antocianinas de até 1080,54 mg/ 100 g nos frutos de *E. edulis*.

Quanto à atividade antioxidante, o resultado encontrado (Tabela 9) foi menor que o quantificado por Rufino (2008) de 78,3 $\mu\text{mol Trolox/g}$ para açaí *E. edulis*. Porém, foi superior àqueles reportados por Schultz (2008) e Castro (2012) de 13,6 $\mu\text{mol Trolox/g}$ e 6,9 $\mu\text{mol Trolox/g}$ para açaí *E. edulis*, respectivamente. O resultado foi superior também as frutas como: açaí *E. oleracea* ($15,1 \pm 4,1$ $\mu\text{mol Trolox/g}$), jabuticaba ($37,5 \pm 1,4$ $\mu\text{mol Trolox/g}$), jamelão ($29,7 \pm 0,3$ $\mu\text{mol Trolox/g}$), e murta ($49,1 \pm 0,2$ $\mu\text{mol Trolox/g}$), quantificadas no estudo de Rufino (2008).

Segundo Aliberti (2009), a época do ano (safra e entre-safra), influências ambientais como o potencial do solo e a umidade, o grau de maturação da fruta, além do modo como a polpa foi processada e acondicionada são fatores que explicam a causa de variações entre resultados desses compostos bioativos de experimentos encontrados na literatura.

3.2 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E TEOR DE ANTOCIANINAS E SUA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NOS IOGURTES

A variação do conteúdo de fenólicos totais nos iogurtes durante o tempo de armazenamento a 5°C por 28 dias nos tempos t_0 , t_7 , t_{14} , t_{21} e t_{28} foi significativa

($p < 0,05$) apenas para o fator teor de polpa de açaí. O fator tempo e a interação entre os fatores foram não significativos estatisticamente ($p \geq 0,05$).

A Figura 16 apresenta o modelo linear ajustado aos dados de conteúdo fenólico total e, que de acordo com análise de regressão, foi significativo ($p < 0,05$) pelo teste F. Na equação, x é o teor de polpa de açaí em % (Figura 16).

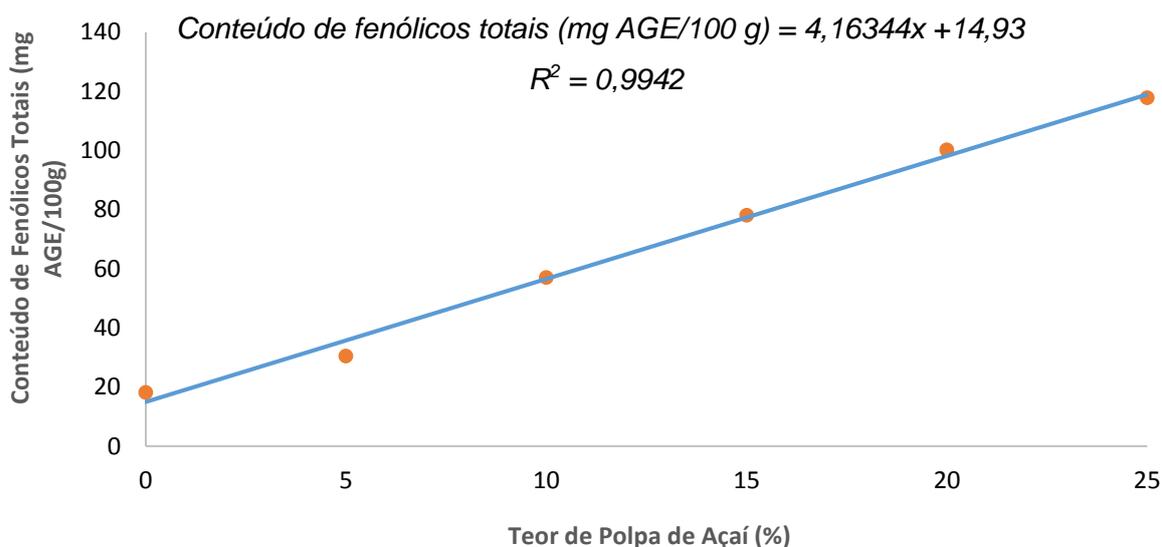


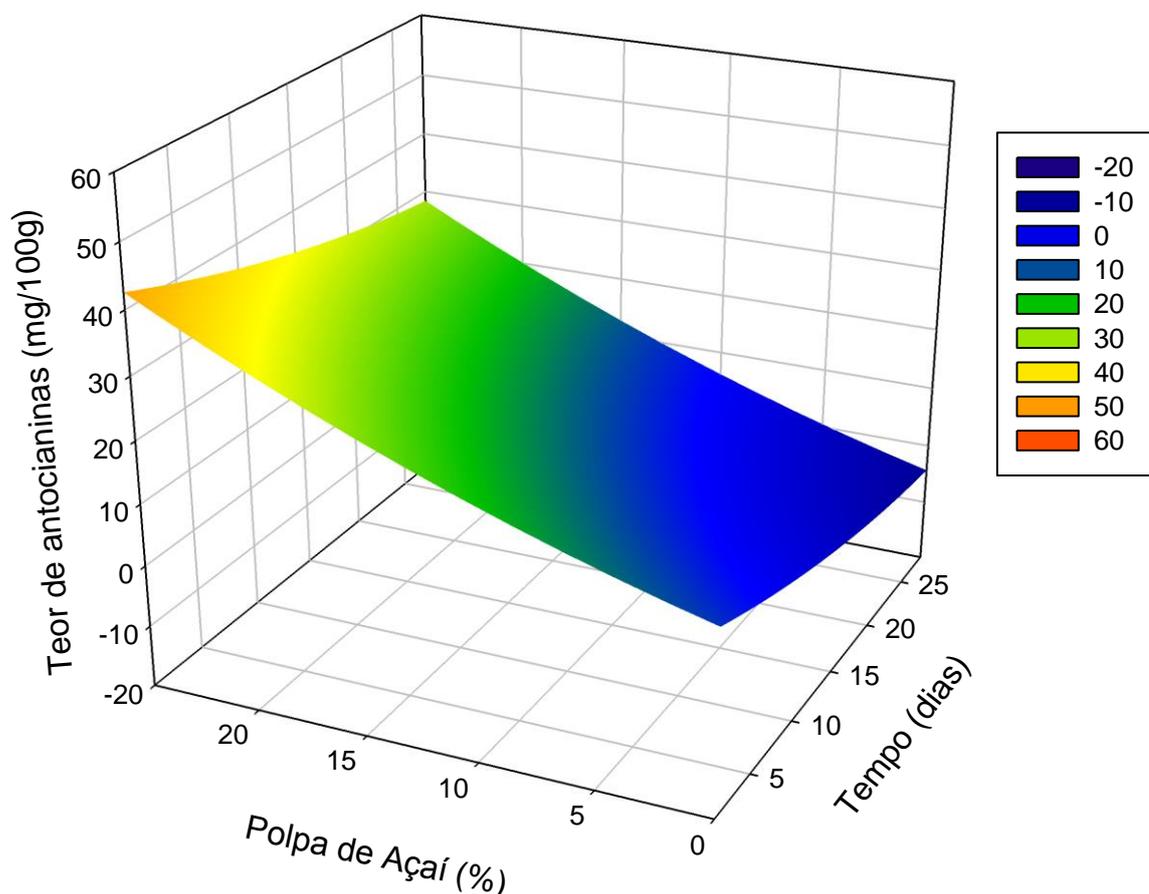
Figura 16– Modelo linear ajustado do conteúdo fenólico total (mg AGE/100g) do iogurte em função do teor de polpa de açaí (%).

De acordo com a Figura 16, o aumento do conteúdo de fenólicos totais ocorre com aumento do teor de polpa de açaí adicionada ao iogurte. O conteúdo de fenólicos totais encontrados nos iogurtes variaram de 18,17 a 117,84 mg de AGE/ 100g.

Os valores encontrados para o conteúdo fenólico totais nos iogurtes do presente estudo se deve a presença da polpa de açaí, visto que os iogurtes sem adição de polpa de frutas não são caracterizados por apresentarem tais compostos fenólicos como as antocianinas. Porém, foram quantificados 18,17 mg de AGE/ 100g na formulação sem polpa de açaí, fato explicado pela adição de preparado de açaí com guaraná, um aromatizante de coloração próxima ao roxo.

Quanto ao teor de antocianinas o fator tempo, o teor de polpa de açaí e a interação dos fatores tempo e teor de polpa de açaí foram significativos ($p < 0,05$), sendo ajustado o modelo quadrático significativo ($p < 0,05$) pela análise de variância da regressão.

A variação do teor de antocianina em função do tempo de armazenamento em dias (x) e do teor de polpa de açaí em % (y) é apresentada na Figura 17.



$$\text{Teor de antocianinas (mg/100g)} = 10,7408 - 0,838x + 0,8778y + 0,0107x^2 + 0,0171y^2$$

$$R^2 = 0,9601$$

Figura 17- Modelo quadrático ajustado do teor de antocianinas (mg/100g) em função do teor de polpa de açaí (%) e do tempo de armazenamento (dias).

De acordo com a Figura 17, observa-se que o teor de antocianinas aumentou com o teor de polpa e diminuiu com o tempo de armazenamento. A polpa de açaí adicionada aos iogurtes apresenta um teor médio de antocianinas de 254,85 mg/100g (Tabela 9).

Os valores, em mg de antocianinas/100g, foram de: 2,55 (F₀); 9,79 (F₁); 20,33 (F₂); 30,11 (F₃); 38,97 (F₄); 47,88 (F₅). Entretanto, observou-se uma redução nos teores de antocianinas após 28 dias de armazenamento a 5 °C de 24,7% (F₀); 58,29% (F₁); 72,79% (F₂); 59,05% (F₃); 59,04% (F₄); 57,93% (F₅). Ao final dos 28 dias de

armazenamento os valores encontrados para os iogurtes, em mg de antocianinas / 100 g foram: 1,92 (F₀); 4,10 (F₁); 5,53 (F₂); 12,33 (F₃); 15,96 (F₄); 22,14 (F₅).

A razão da redução do teor de antocianinas nos iogurtes desenvolvidos pode ser justificada pela baixa estabilidade destes compostos que são facilmente degradados, altamente instáveis em altas temperaturas.

A presença de oxigênio, a luz, o pH, a estrutura química e o tipo de processamento são fatores que afetam sua estabilidade, dificultando assim sua aplicação como corante natural em produtos alimentícios e a grande variação de teores encontrados (FRANCIS, 1989; SHAHIDI; NACZK, 1995).

Para a atividade antioxidante apenas para a interação entre os fatores tempo e teor de polpa de açaí foi não significativa ($p \geq 0,05$). Os fatores teor de polpa de açaí e tempo foram significativos a 5% de acordo com o teste F.

A Figura 18 apresenta o modelo linear ajustado, a equação e o coeficiente de determinação R^2 para atividade antioxidante ($\mu\text{mol Trolox/g}$) do iogurte em função do teor de polpa de açaí em %, onde x corresponde ao teor de polpa de açaí (%).

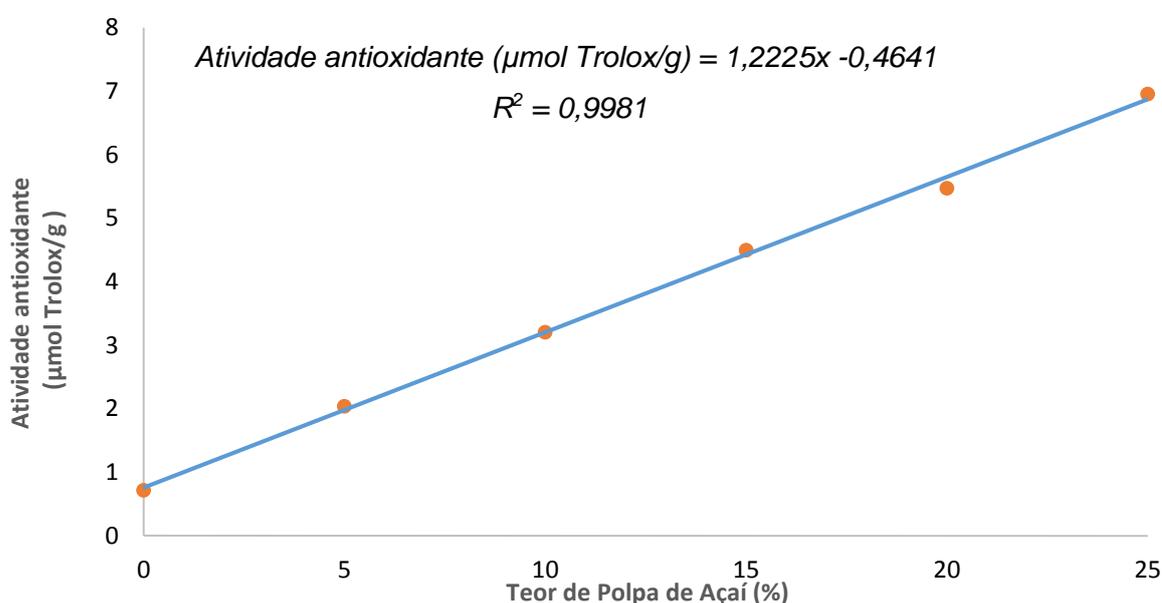


Figura 18- Modelo linear ajustado da atividade antioxidante ($\mu\text{mol Trolox/g}$) em função do teor de polpa de açaí (%).

De acordo com a Figura 18, observa-se que a atividade antioxidante aumenta com aumento do teor de polpa de açaí adicionada, o que pode estar associado ao maior teor de antocianinas dos iogurtes adicionados de polpa de açaí, já que estes são compostos com comprovada atividade antioxidante.

Os resultados encontrados, expressos em $\mu\text{mol Trolox/g}$, foram de: 0,71 (F_0); 2,04 (F_1); 3,20 (F_2); 4,49 (F_3); 5,47 (F_4); 6,95 (F_5) (Figura 18). Quando comparado com a atividade antioxidante encontrada na polpa de açaí de 44,29 $\mu\text{mol Trolox/g}$ (Tabela 9), os resultados nos iogurtes foram inferiores, devido, provavelmente às perdas de antocianinas, durante o processamento dos iogurtes à qual também pode ser associada a atividade antioxidante presente na polpa adicionada no iogurte de açaí. Rocha (2013) encontrou valores de 1,24 a 1,78 $\mu\text{mol Trolox/g}$ de atividade antioxidante em bebidas lácteas adicionadas de extrato de antocianinas e luteínas

Na literatura, muitos autores relatam uma correlação positiva entre a atividade antioxidante e o conteúdo de fenólicos totais (KUSKOSKI et al. 2006; KALT et al. 1999). No presente estudo, foi observado tal comportamento, já que à medida que se aumentou o teor de polpa de açaí nas formulações de iogurte, verificou-se um aumento do conteúdo de fenólicos totais, dentre eles do teor de antocianinas, assim como da atividade antioxidante.

A Figura 19 apresenta o modelo linear ajustado, a equação e seu coeficiente de determinação R^2 da atividade antioxidante dos iogurtes em função do tempo de armazenamento a 5°C por 28 dias. Na equação x refere-se ao tempo de armazenamento em dias (Figura 19).

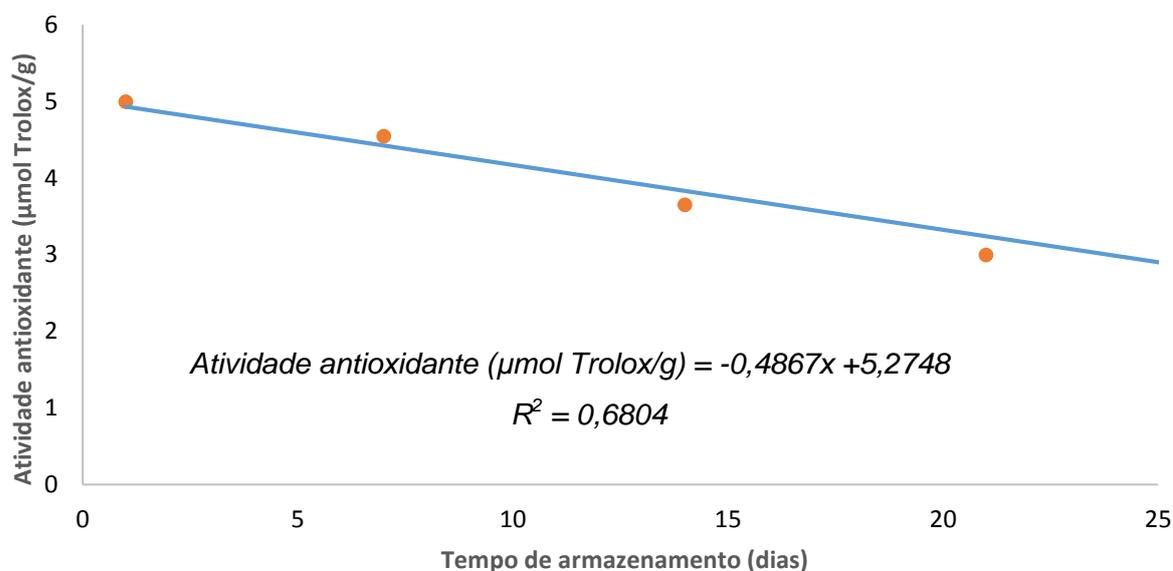


Figura 19 - Modelo linear ajustado da atividade antioxidante ($\mu\text{mol Trolox/g}$) em função tempo de armazenamento (dias) a 5°C.

Durante o armazenamento do iogurte sob refrigeração a atividade antioxidante em $\mu\text{mol Trolox/g}$ foi de: 5,99 (t_0); 4,54 (t_7); 3,65 (t_{14}); 2,99 (t_{21}); e 2,88 (t_{28}) (Figura 19). Observou-se uma redução de 51,9 % da atividade antioxidante durante o armazenamento do produto. Sabe-se que as antocianinas apresentam comprovada atividade antioxidante, assim se ocorre degradação desses compostos, como observado na Figura 14, conseqüentemente ocorre redução da atividade antioxidante.

Os antioxidantes naturais em alimentos vêm sendo amplamente estudado pela possibilidade de substituir os antioxidantes sintético, evitando-se assim reações oxidativas que afetam o valor nutricional, e também parâmetros de qualidade como cor, sabor, odor e textura. Porém são compostos muito instáveis, o que dificulta sua utilização. (DONNELLY; ROBINSON, 1995; SOARES, 2002).

4 CONCLUSÃO

- O elevado teor de compostos fenólicos e antocianinas, bem como a atividade antioxidante da polpa de açaí *Euterpe edulis* possibilita sua utilização como fonte de compostos bioativos em matrizes alimentícias complexas como o iogurte. Entretanto, deve-se considerar a redução desses compostos no iogurte.
- A instabilidade das antocianinas e, conseqüentemente, a perda da sua capacidade antioxidante nos iogurtes durante o armazenamento sob refrigeração é um fator a ser considerado e avaliado em termos tecnológicos.
- A aplicação do fruto açaí de *Euterpe edulis* no setor alimentício possibilita conservação da espécie.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A elaboração do iogurte simbiótico, adicionado do prebiótico inulina, microrganismo probiótico *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 e polpa de açaí *Euterpe edulis*, foi viável sob o ponto de vista tecnológico, e representa uma alternativa que atende a tendência do mercado de produtos lácteos que busca o desenvolvimento de alimentos mais saudáveis adicionados de ingredientes naturais.

A adição da polpa de açaí *Euterpe edulis* favoreceu a multiplicação dos microrganismos no iogurte e reduziu o tempo de fermentação do produto, além de não alterar suas características de qualidade comparadas aos padrões de identidade e qualidade de leites fermentados estabelecidos pela IN nº 46 de 2007 do MAPA. Na avaliação sensorial, os iogurtes apresentaram boa aceitação pelos consumidores, que afirmaram que certamente comprariam o produto.

Em relação à utilização como fonte de compostos bioativos no iogurte, a adição da polpa de açaí *Euterpe edulis* pode ser promissora, entretanto, ainda é necessário o desenvolvimento de estudos que avaliem métodos para se reduzir as perdas de compostos fenólicos durante o processamento, assim como daquelas capazes de aumentar a estabilidade das antocianinas durante a vida de prateleira do iogurte.

5 REFERÊNCIAS

ALEXANDRE, D.; CUNHA, R. L.; HUBINDER, M.D. Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos. **Ciência Tecnologia de Alimentos**.v. 24, n. 1, 2004.

ALIBERTI, N. da C. M. **Influência da homogeneização a alta pressão sobre a retenção de antocianinas presentes na polpa de açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.)**. 2009. 98 f. Tese (Doutorado em Engenharia) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

ALVES, C. C. O.; RESENDE, L. V.; CRUVINEL, R. S. R.; PRADO, M. E. T. Estabilidade da microestrutura e do teor de carotenoides de pós obtidos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) liofilizada. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p.830-839, 2008.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos**. 2007. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm> Acesso em: 10 mai. 2014.

AOAC - Association of Official Analytical Chemist. **Official Methods of Analysis**. 15^a ed. Washington (DC): AOAC; 1985, 1986.

AOAC - Association of Official Analytical Chemist. **Official Methods of Analysis**. 15^a ed. Washington (DC): AOAC; 1995.

AOAC- Association of Official Analytical Chemistis. **Official methods of analysis**. 16^a ed., 3. ver., Gaithersburg: Published by AOAC International, v.2, cap.32, p. 1-43, 1997.

AOAC - Association of Official Analytical Chemist. **Official Methods of Analysis**. 17^a ed. Washington (DC): AOAC; 2000.

BRANDÃO, S. C. C. Tecnologia da Fabricação de logurte. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 42, n. 250, p. 3-8, 1987.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Obtenção de leite com qualidade e elaboração de derivados**. Versão – online. Documento 154. ISSN 1806 – 9193, Junho, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº 46, de 23 de novembro de 2007: **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados**, 2007.

BORGES, G. S. C. **Determinação de compostos bioativos e avaliação da atividade antioxidante das diferentes frações dos frutos de juçara (*Euterpe edulis* Mart.) cultivados no estado de Santa Catarina**. 2013. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

BORGES, G.S.C. et al..Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**. v. 44, p. 2128–2133, 2010.

CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BENASSI, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, 2010.

CARDOSO, M. L.; LEITE, J. P. V. **Palmeira juçara**: A exploração dos frutos é mais ecológica e rentável do que a do palmito. Espaço do produtor, 18 jun. 2009. Disponível em:<<https://www2.cead.ufv.br/espacoProdutor/scripts/verArtigo.php?codigo=19&acao=exibir>> Acesso em: 15 mai. 2014.

CASTRO, R. W. **Caracterização de açaí obtido de frutos de *Euterpe edulis* Martius tratados termicamente**. 2012. 57 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Título de Engenheiro Agrônomo) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

CHANDAN, R. C.; WHITE, C. H.; KILARA, A.; HUI, Y.H. **Manufacturing yogurt and fermented milks**. 1. ed. Carlton: Blackwell Publishing Ltd, 2006.

CHAMPAGNE C. P.; GARDNER, N. J. Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 45 61–84, 2005.

COHEN, K. O.; ALVES, A. M. **Sistema de processamento de açaí**: Processamento, embalagens e conservação. Embrapa, 2006. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Acai/SistemaProducaoAcai_2ed/paginas/processamento.htm> Acesso em: 5 jun. 2014.

CONSTANT, P. B. L. **Extração, Caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (*Euterpe oleracea M.*)**. 2003. 183 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

COSTA, E. A. D.; GONÇALVES, C.; MOREIRA, S. R.; CORBELLINI, L. M. Produção de polpa e sementes de palmeira juçara: alternativa de renda para a mata atlântica. **Tecnologia & Inovação Agropecuária**, p.61-66, Dez. 2008.

COSTA, G. N. D. S.; MENDES, M. F.; ARAUJO, I. O. D.; PEREIRA, C. D. S. S. Desenvolvimento de um iogurte sabor Juçará (*Euterpe edulis Martius*): avaliação físico-química e sensorial. **Revista Eletrônica TECCEN**, Vassouras, v. 5, n. 2, p. 43-58, Mai.-Ago. 2012.

COUSSEMENT, P.A.A. Inulin and oligofructose: safe intakes and legal status. **Journal of Nutrition**, v. 129, n. 7, p. 1412-1417, 1999.

DAVE, R. I.; SHAH, N. P. Viability of yogurt and probiotic, in yogurt made from commercial starter cultures. **International Dairy Journal**, v. 7, n. 1, p. 31-41, 1997.

DE LIMA, C. P. **Estudo fitoquímico, bromatológico e das propriedades biológicas de frutos de *Euterpe edulis Martius* (Arecaceae)**. 2012. 213f. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

DELLA LUCIA, S. M. **Métodos estatísticos para avaliação da influência de características não sensoriais na aceitação, intenção de compra e escolha do consumidor**. 2008. 116p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

DE PAULA, G. A. **Caracterização físico-química e estudo do escurecimento enzimático em produtos derivados de açaí (*Euterpe oleracea Mart.*)**. 2007. 85 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

DIAS, M. M. S. **Leite de cabra fermentado adicionado de prebiótico, probiótico e compostos bioativos destinados a idosos**. 2009, 123f, Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

DO NASCIMENTO, R. J. S.; COURI, S.; ANTONIASSI, R.; FREITA, S. P. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, vol.30 no.2, p. 498-502, Jaboticabal-SP, Junho, 2008.

DONNELLY, J.K., ROBINSON, D.S. Invited review. Free radical in foods. **Free Radical Research**, Yverdon, v.22, n.2, p.147-176, 1995.

DONKOR, O. N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. **Internacional Dairy Journal**, v. 16, p. 1181-1189, 2006.

EKINCI, F. Y. et al. Effects of probiotic bacteria and oils on fatty profiles of cultured cream. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 110, p. 216-223, 2008.

ESPÍN, J. C.; SOLER-RIVAS, C.; WICHERS, H.J.; GARCÍA-VIGUERA, C. Anthocyanin-based natural colorants: A new source of antiradical activity for foodstuff. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.48, p.1588-1592, 2000.

ESPÍRITO SANTO, A. P. **Desenvolvimento de iogurte probiótico com adição de polpa de frutos brasileiros e fibra dietética total**. Tese de Doutorado (Doutor em Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

ESPÍRITO SANTO, A. P. et al. Açaí pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 20, p. 415-422, 2010.

FERREIRA, C. L. L. F.; TESHIMA, E. Prebiótico: Estratégia dietética para manutenção da microbiota colônica desejável. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Viçosa, n.16, set/out. 2000.

FERREIRA, L.L.F.C.; MALTA, H.L.; CARELI, R.T. *et al.* Verificação da qualidade físico-química e microbiológica de alguns iogurtes vendidos na região de Viçosa. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.56, p.152-158, 2001.

FRANCIS, F.G. Analysis of Anthocyanins. In: **Anthocyanins as Food colors** (P. Markakis ed.), p.182-208. Academic Press, N.Y. 1982.

FRANCIS, F. J. Food colorants: anthocyanins. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v. 28, p. 273-314, 1989.

FRANCK, A. Technological functionality of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. 2, p.287-291, 2002.

FUCHS, R.H.B.; PRUDENCIO, S.H.; HAULY, M.C. de O. Suplementação de iogurte de soja com frutooligossacarídeos: características probióticas e aceitabilidade. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 5, p. 613-622, 2005.

FULLER, R. A review - probiotics in man and animals. **J. Appl. Bacteriol.** 66:365,378., 1989.

GALLINA D. A. Leites fermentados funcionais: tendências e inovações. **Revista Ingredientes Tecnologia**, n.9, p. 26-30, 2010.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary Modulation of the Human Colonie Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. **Journal of Nutrition**. Bethesda, v.125, n.6, p.1401-12, 1995.

GUIMARÃES, D. H. P.; MASCIGRANDE, D. D. Polpas de Juçara e Açaí: diferenças reológicas em função da temperatura e teor de sólidos suspensos. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, Guarapuava, v.4, n.1, p.169–181, 2011.

HENDERSON, A. The genus *Euterpe* in Brazil. In: *Euterpe edulis* Martius – (Palmitreiro) biologia, conservação e manejo. Editores: Maurício Sedrez dos Reis, Ademir Reis. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000. p.1-22

HUNTERLAB. **Applications Note**: CIELCh Color Scale. Vol. 8, No. 11, 2008.

IADEROZA, M. et. al. Antocyanins from fruits of açai (*Euterpe oleracea* Martius) and juçara (*Euterpe edulis* Martius). **Tropical Science**, v. 32, p.41-46, 1992.

IAL - Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo. 4ª Edição, 2008.

KALT, W.; FORNEY, C. F.; MARTIN, A.; PRIOR, R. L. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. **J Agric. Food Chem.**, Easton, v.47, n.11, p. 4638-4644, 1999.

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

LAROIA, S., & MARTIN, J. H. Effect of pH on the survival of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in frozen fermented dairy desserts. **Cultured Dairy Products Journal**, 26, 13-21. 1991.

LAROIA, S. MARTIN, J. H. Methods for enumerating and propagating bifidobacteria. **Cultured Dairy Products Journal**, v. 26, p. 32-33, 1991.

LEITMAN, P.; HENDERSON, A.; NOBLICK, L.; MARTINS, R.C. Arecaceae. In **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2013. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB15712>> Acesso em: 20 mai. 2013.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, D. E. S. Efeito da luz e da temperatura de congelamento sobre a estabilidade das antocianinas da pitanga roxa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 92-94, jan./mar., 2005.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, v. 11, n. 1-2, p. 1-17, 2001.

LOPES, T.J. et al. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **R. Bras. Agrociência**, Pelotas, v.13, n.3, p. 291-297, jul-set, 2007.

MACEDO, J. H. P.; RITTERSHOFER, F. O.; DESSEWFFY, A. **A silvicultura e a indústria do palmito**. Porto Alegre: Secretaria do Estado do Rio Grande do Sul, v. 01, 1975.

MADHAVI, D. L.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. Food antioxidants: technological, toxicological and health perspectives. **Nutrition** v. 18, n. 7/8, 2002, New York: Marcel Dekker, 1996.

MANTOVANI, A.; MORELLATO, L.P.C. Fenologia da Floração, frutificação, mudança foliar e aspectos da biologia floral do palmito. In: M. S. REIS & A. REIS (Eds.). **Euterpe edulis Martius – (Palmito) biologia, conservação e manejo**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, p.23-38, 2000.

MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, p. 163-180, 1982.

MARTINELLI G., MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. 1. ed. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, p. 1100, 2013.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. D. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 193-201, abr./jun. 2008.

MININ, V. P. R. **Análise sensorial: estudo com consumidores**. Viçosa: Editora UFV, p. 308, 2010.

MONTANUCI, F. D.; GARCIA, S.; PRUDENCIO, S. H.. Caracterização sensorial e aceitação de Kefir adoçado integral e desnatado com inulina. **Braz. J. Food Technol.**, p. 70-90, 2010.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**. v. 1054, p 95-111, 2004.

NINESS, K.R. Inulin and oligofructose: what are they. **J. Nutr., Bethesda**, v.129, suppl.7, p.1402S-1406S, 1999.

NITSCHKE, M.; UMBELINO, D. C. Frutoologossacarídeos: novos ingredientes funcionais. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia**, v. 36, n. 1, p. 27-34, 2002.

NOVELLO, A. A. **Extração de antocianinas dos frutos de açaí da mata atlântica (*Euterpe edulis Martius*) e sua atuação nas atividades antioxidante e antiaterogênica em camundongos apõe -/**, 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências da Nutrição) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

OLIVEIRA, L. **Probióticos, prebióticos e simbióticos: definição, benefícios e aplicabilidade industrial.** Dossiê Técnico, Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas. Minas Gerais, 2014.

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. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.23, supl., p.172176, 2003.

OLIVEIRA, M. do S. P. de; FARIAS NETO, J. T de; PENA, R. da S. **Açaí: técnicas de cultivo e processamento.** Fortaleza: Instituto Frutal, 2007.

PARVEZ, K.A.; MALIK, S.; KANG S.AH; KIM, H.-Y. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. **J. Appl. Bacteriol.**, v.100, p.1171-1185, 2006.

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

PIMENTEL, B.M.V.; FRABCKI, M.; GOLLÜCKE, B. P. **Alimentos Funcionais: Introdução às principais substâncias bioativas em alimentos.** São Paulo: Editora Varela, 2005.

PIMENTEL, T. C.; GARCIA, S.; PRUDÊNCIO, S.. Iogurte probiótico com frutanos tipo inulina de diferentes graus de polimerização: características físico-químicas e microbiológicas e estabilidade ao armazenamento. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, p. 1059-1070, maio/jun. 2012.

PIMENTEL, T. C.; GARCIA, S.; PRUDÊNCIO, S.. Aspectos funcionais de saúde tecnológicos de frutanos tipo inulina. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 30, n. 1, p. 103-118,

jan./jun. 2012.

PRUDENCIO, I. D. et al. Petit suisse manufactured with cheese whey retentate and application of betalains and anthocyanins. **LWT**. v.41, p. 905–910, 2008.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA, A.M.; OKSMANCALEDENTY, K.M.; MYLLÄRINEN, P.; SAARELA, M.; MATTILA-SANHOLM, T.; POUTANEN, K. Development of functional ingredients for gut health. **Trends Food Science Technologic**, Amsterdam, v.13, p.3-11, 2002.

REIS, A.; KAGEYAMA, PY. Dispersão de sementes do palmito (*Euterpe edulis* Martius – Palmae). 2000. In: M. S. REIS & A. REIS (Eds.). **Euterpe edulis Martius – (Palmito) biologia, conservação e manejo**. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, p. 60-92.

ROCHA, J. C. G. **Adição dos corantes naturais antocianinas e luteína em bebidas formuladas com proteínas e soro de leite**. 2013. 111 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, 2013.

RODRÍGUEZ-SAONA, L. E.; GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanin pigment composition of red-fleshed potatoes. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 3, p. 458-465, 1998.

ROGEZ, H. **Açaí: preparo, composição e melhoramento da conservação**. Belém. Editora UFPA. p. 289, 2000.

RUFINO, M. do S. M. **Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais**. 2008. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró.

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

SAAD, S.M. I.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F. **Probióticos e prebióticos em alimentos fundamentos e aplicações tecnológicas**. 1º ed. São Paulo: Editora Varela, 2011.

SALJI, J. P.; ISMAIL, A. A. Effect of initial acidity of plain yogurt on acidity changes during refrigerated storage. **Journal of Food Science**, Chicago, v.48, n.1, p. 258-259, Jan/Feb., 1983.

SCHULTZ, J. **Compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante de açais de *Euterpe edulis* Martius e *Euterpe oleracea* Martius submetidos a tratamentos para a sua conservação**. 2008. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Título de agrônomo) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade de Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food Phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. Lancaster: Technomic, 1995.

SHAH, H. P. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 4, p. 894-907, 2000.

SHAH, N. P.; LANKAPUTHRA, W. E. V. Improving viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* ssp. in yogurt. **Internacional Dairy Journal**, v. 7, p. 349-356, 1997.

SILVA, G. M. **Degradação da antocianina e qualidade sensorial da polpa de Juçara (*Euterpe edulis*) embalada e submetida à pasteurização**. 2012. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

SILVA, M. G. C. P. C.; BARRETTO, W. S.; SERÔDIO, M. H. **Caracterização química da polpa dos frutos de Juçara e de Açaí**. In: XVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2004, Florianópolis. Anais... CD ROOM, Florianópolis, SC, 2004.

SILVA, N. et al. **Microbiological examination methods of food and water: A laboratory manual**. c. 14, London: CRC Press, 2013.

SILVA, S. V. **Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico**. 2007. 107 f. Dissertação (Mestre em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J.A. Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.

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

SOUZA, G. Fatores que controlam o corpo e textura de iogurtes comerciais. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 105-110, 1990.

SOUZA, R. A. M. de. **Potencial oxidante e composição fenólica de infusão de ervas consumidas no Brasil**. 2007. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

SUSKOVIC, J., KOS, B. GORETA, J. MATOSIC, S. Role of lactic acid bacteria and Bifidobacteria in symbiotic effect. **Department of biochemical engineering, Faculty of food technology and biotechnology**, v. 39, p. 227-235, 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2013.

TAMINE, A. Y.; DEETH, H. C. Yogurt: technology and Biochemistry. **Journal of Food Protection**, v. 43, n. 12, p. 939-977, 1980.

TEIXEIRA et al. Qualidade do iogurte Comercializado em Belo Horizonte. **Leite e Derivados**, São Paulo, v. 1, n. 51, p. 32-39, 2000.

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

THARMARAJ, N.; SHAH, N. P. Selective Enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, Bifidobacteria, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and Propionibacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2288–2296, 2003.

VAZ, A. P. L.; FARO, Z. P.; SCHULLER, A. Perfil cromatográfico dos ácidos graxos do fruto do açaizeiro. **Revista Higiene Alimentar**, v. 23, n. 170/171, p. 123-126, 2009.

VINDEROLA, C. G.; BAILO, N.; REINHEIMER, J. A. Survival of probiotics in Argentina yogurts during refrigerate storage. **Food Research International**, Barking, v. 33, p. 97-102, 2000.

VORAGEN, A.G.J. Technological aspects of functional food-related carbohydrates. **Trends in Food Science & Technology**, v.9, n. 8/9, p.328-335, 1998.

YAHIA, E. M. The contribution of fruit and vegetable consumption to human health. In. ROSA, L. A.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; GONZALEZ-AGUILARA, G. A. **Fruit and vegetable phytochemicals: chemistry, nutritional value and stability**. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2010.