



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE
E BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE**



**COMPOSTOS BIOATIVOS EM PRODUTOS LÁCTEOS ADICIONADOS DE
POLPA DE AÇAÍ E CAMU-CAMU SUPLEMENTADOS COM BACTÉRIAS
PROBIÓTICAS**

DANIELA CAVALCANTE DOS SANTOS CAMPOS

**BOA VISTA – RR
JANEIRO/2017**

DANIELA CAVALCANTE DOS SANTOS CAMPOS

**COMPOSTOS BIOATIVOS EM PRODUTOS LÁCTEOS ADICIONADOS DE
POLPA DE AÇAÍ E CAMU-CAMU SUPLEMENTADOS COM BACTÉRIAS
PROBIÓTICAS**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de
Doutorado do Programa de Pós-Graduação em
Biodiversidade e Biotecnologia da Rede
BIONORTE, na Universidade Federal de
Roraima, para a obtenção do Título de Doutor em
Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. LEANDRO TIMONI
BUCHIDID CAMARGO NEVES

Co-orientadora: Profa. Dra. ADRIANA FLACH

BOA VISTA – RR

JANEIRO/2017

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal de Roraima

C825c Campos, Daniela Cavalcante dos Santos.
Compostos bioativos em produtos lácteos adicionados de polpa de açaí e camu-camu suplementados com bactérias probióticas / Daniela Cavalcante dos Santos Campos – Boa Vista, 2018.
115 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Timoni Buchidid.
Coorientadora: Profa. Dra. Adriana Flach.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Roraima, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal.

1 – Produtos lácteos. 2 – Frutas nativas da Amazônia. 3 – Pós-acidificação. I – Título. II – Flach, Adriana (orientadora).

CDU – 634.42

Ficha Catalográfica elaborada pela: Bibliotecária/Documentalista:
Marcilene Feio Lima - CRB-11/507-AM

DANIELA CAVALCANTE DOS SANTOS CAMPOS

COMPOSTOS BIOATIVOS EM PRODUTOS LÁCTEOS ADICIONADOS DE POLPA DE AÇAÍ E CAMU-CAMU SUPLEMENTADOS COM BACTÉRIAS PROBIÓTICAS

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal de Roraima, para a obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia.

Orientador : Prof. Dr. LEANDRO TIMONI BUCHIDID CAMARGO NEVES

Co-orientadora: ADRIANA FLACH

Banca examinadora

Prof. Dr. Leandro B. T. Camargo Neves – ORIENTADOR - Fitotecnia/UFRR –

Dra. Maria Fernanda Berlingieri Durigan – MEMBRO – EMBRAPA – RR

Dra. Lucianne Braga Oliveira Vilarinho – MEMBRO – CCA-UFRR

Dr. André Buzutti de Siqueira – MEMBRO - CCA/UFRR

Dra. Christinny Giselly Bacelar Lima - MEMBRO

BOA VISTA – RR

JANEIRO/2017

Dedico este trabalho à minha família, fonte de toda minha inspiração e razão de minha
insistência.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a Nossa Senhora de Nazaré, pela força e inspiração nos momentos difíceis.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Leandro Camargo Neves e Profa. Dra. Adriana Flach pelos ensinamentos, companheirismo, apoio e compreensão durante o desenvolvimento deste trabalho. Apesar da orientação finalizada, permanece a maravilhosa amizade formada.

À Universidade Federal de Roraima, pela oportunidade de cursar a Pós-graduação.

À minha família por todo incentivo e amparo em todos os momentos. Ao meu marido e às minhas filhas pela compreensão e paciência.

Àos meus amigos do Laboratório de Biotecnologia e Química Fina, Sheron, Sebastião, Edineide e Gilmar, por toda companhia, ensinamentos, aprendizados, e parceria.

Aos meus bolsistas de iniciação científica do ensino médio (PICEM) e graduação (PIC), Jéssica e em especial a Beatriz, pela companhia e apoio incansável durante as análises.

À minha querida amiga Jéssica Tosin, pelo auxílio nas análises durante o trabalho.

Ao Prof. Dr. Valdinar e a Semiramis Moreira pela disponibilização do NUPAGRI para realização de análises.

À Profa Dra. Consuelo Souza (UFPA) e Prof. Dr. Adriano Cruz (IFRJ), pela ajuda com as metodologias das análises microbiológicas.

A todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, meu muito obrigada.

CAMPOS, Daniela Cavalcante dos Santos. **Compostos bioativos em produtos lácteos adicionados de polpa de açaí e camu-camu suplementados com bactérias probióticas.** 2017. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede Bionorte) – Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, Roraima, 2017.

RESUMO

O açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) e o camu-camu (*Myrciaria dúbia* (Kunth) McVaugh) são frutos nativos da Amazônia que apresentam ótimas propriedades bioativas relacionadas a compostos fenólicos, antocianinas e vitamina C. Os produtos lácteos fermentados são matrizes alimentares consideradas como excelentes fontes de nutrientes, que podem ser suplementadas com frutas, fibras e uma variedade de microrganismos probióticos, para aumentar o poder nutritivo e funcional destes produtos. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi elaborar produtos lácteos fermentados com açaí e camu-camu e suplementados com cepas de *Bifidobacterium* (BB-12) e *Lactobacillus acidophilus* (LA-5), assim como avaliar o efeito destes microrganismos no comportamento dos componentes bioativos e atividade antioxidante dos produtos fermentados durante 28 dias de armazenamento. Os frutos de açaí foram obtidos em pomar particular (Boa Vista-RR), e os de camu-camu em população situada as margens do Rio Urubu (Boa Vista-RR). Para a elaboração do leite fermentado (LF) e do iogurte (IO), foram adicionados ao leite UHT 8% de açúcar, 4% de leite em pó desnatado, culturas probióticas (LF) e culturas lácticas tradicionais (IO), sendo submetidos à coagulação por 4 horas até pH de 4,8. As polpas e os produtos fermentados foram avaliados quanto: pH, acidez titulável, sólidos solúveis, umidade, sólidos totais, proteínas, lipídios, cinzas, açúcares redutores e totais, extrato seco total e desengordurado e valor calórico. A cor instrumental foi determinada apenas nos produtos fermentados com açaí, através da leitura dos parâmetros L*, a* e b* empregando a escala de cor CIELAB, nos dias 0 e 28 de avaliação. As contagens do BB-12 e LA-5 foram realizadas nos produtos fermentados com açaí e camu-camu, obedecendo às especificidades de cada microrganismo. A quantificação de fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante, tanto nas polpas quanto nos produtos fermentados foram realizadas seguindo metodologias oficiais e testes preliminares. Tanto as contagens de microrganismos quanto a determinação de componentes bioativos, foram realizadas no dia 0 e a cada 7 dias durante o período de 28 dias. Para a análise sensorial dos leites fermentados foram aplicados testes de ordenação e de aceitabilidade mediante escala hedônica. A polpa de açaí atendeu a legislação brasileira quanto à características físico-químicas e nutricionais, enquanto, a de camu-camu concordou com dados da literatura. Os

leites fermentados atenderam a legislação vigente quanto às características físico-químicas e nutricionais. Quanto aos efeitos da pós-acidificação nos leites fermentados e iogurtes, verificou-se que foram mais evidentes entre os dias 0 e 7 de avaliação, sendo maior nos iogurtes com camu-camu (IC) e açai (IA), devido à presença dos *L. bulgaricus*. A análise colorimétrica mostrou descolorações nos iogurtes e leites fermentados com açai, em função da degradação nas antocianinas. Os leites fermentados com açai (LFA) e camu-camu (LFC) classificaram-se como probióticos conforme a legislação brasileira apresentando contagem acima de 6 Log UFC g⁻¹, exceto o LFC com 20% de polpa. Os compostos fenólicos, as antocianinas e a atividade antioxidante nos leites fermentados e iogurtes aumentaram seus teores com o aumento no percentual de polpa, e reduziram ao fim do armazenamento. A atividade antioxidante mostrou excelente correlação com os teores de fenólicos e antocianinas. A análise sensorial mostrou que os leites fermentados apresentaram boa aceitabilidade pelos provadores.

Palavras-chave: Produtos lácteos, Frutas Nativas da Amazônia, Pós-acidificação.

CAMPOS, Daniela Cavalcante dos Santos. **Compostos bioativos em produtos lácteos adicionados de polpa de açaí e camu-camu suplementados com bactérias probióticas.** 2017. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede Bionorte) – Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, Roraima, 2017.

ABSTRACT

The açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) and camu-camu (*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh) are native fruits of the Amazon that have excellent bioactive properties related to phenolic compounds, anthocyanins and vitamin C. Fermented dairy products are considered excellent food matrices sources of nutrients, which can be supplemented with fruits, fibers and a variety of probiotic microorganisms to increase the nutritional and functional power of these products. In this sense, the objective of this work was to produce dairy products fermented with açaí and camu-camu and supplemented with strains of *Bifidobacterium* (BB-12) and *Lactobacillus acidophilus* (LA-5), as well as to evaluate the effect of these microorganisms on the behavior of the bioactive components and antioxidant activity of the fermented products during 28 days of storage. Açaí fruits were obtained in a private orchard (Boa Vista-RR), and camu-camu in a population located on the banks of the Urubu River (Boa Vista-RR). For the preparation of fermented milk (LF) and yogurt (IO), 8% of sugar, 4% of skimmed milk powder, probiotic cultures (LF) and traditional lactic (IO) cultures were added to UHT milk. coagulation for 4 hours to pH of 4.8. The pulps and fermented products were evaluated as pH, titratable acidity, soluble solids, moisture, total solids, proteins, lipids, ashes, reducing and total sugars, total and defatted dry extract and calorific value. The instrumental color was determined only on the products fermented with açaí, by reading the parameters L *, a * and b * using the CIELAB color scale, on days 0 and 28 of evaluation. The BB-12 and LA-5 counts were performed on the products fermented with açaí and camu-camu, obeying the specificities of each microorganism. The quantification of total phenolics, anthocyanins and antioxidant activity in both pulps and fermented products were performed following official methodologies and preliminary tests. Both counts of microorganisms and determination of bioactive components were performed on day 0 and every 7 days during the period of 28 days. For the sensorial analysis of the fermented milks were applied sorting and acceptability tests using hedonic scale. The açaí pulp complied with the Brazilian legislation regarding the physico-chemical and nutritional characteristics, while the camu-camu agreed with data from the literature. The fermented milks met the current legislation regarding the physical-chemical and nutritional characteristics. As regards the effects of post-acidification

on fermented milks and yoghurts, it was verified that they were more evident between days 0 and 7 of evaluation, being higher in the yogurts with camu-camu (IC) and açai (IA), due to the presence of *L. bulgaricus*. The colorimetric analysis showed discolorations in the yoghurts and milks fermented with açai as a function of anthocyanin degradation. Fermented milks with açai (LFA) and camu-camu (LFC) were classified as probiotics according to the Brazilian legislation showing a count above 6 Log CFU g⁻¹, except LFC with 20% of pulp. The phenolic compounds, anthocyanins and antioxidant activity in fermented milks and yoghurts increased their contents with the increase in pulp percentage, and reduced at the end of storage. The antioxidant activity showed excellent correlation with phenolic and anthocyanin contents. The sensorial analysis showed that the fermented milks showed good acceptability by the tasters.

Keywords: Dairy products, Native Fruits of the Amazon, Post-acidification.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição nutricional da polpa de açaí.....	20
Tabela 2 - Composição nutricional da polpa de camu-camu.....	23
Tabela 3 - Tipo de bactérias, tipo de produto fermentado, percentual de polpa de fruta adicionada e codificação das amostras.	40
Tabela 4 - Alíquotas utilizadas para determinação da atividade antioxidante pelo método de DPPH.....	48
Tabela 5 - Valores de composição nutricional e características físico-químicas das polpas dos frutos de camu-camu.	52
Tabela 6 - Composição nutricional e características físico-químicas dos iogurtes nas quatro concentrações de polpa de camu-camu e açaí	55
Tabela 7 – Comportamento dos parâmetros L* e a* nos iogurtes e leites fermentados com açaí nos dias 0 e 28 de avaliação.....	67
Tabela 8 - Comportamento do parâmetro b* nos iogurtes e leites fermentados com açaí entre os teores de polpa nos dias 0 e 28 de avaliação.....	68
Tabela 9 - Contagem de <i>Lactobacillus acidophilus</i> (LA-5) em leites fermentados com camu-camu e açaí nos dias 0, 7 e 14 de avaliação.....	69
Tabela 10 - Valores médios dos compostos fenólicos em mg de AGE 100g ⁻¹ em leites fermentados e iogurtes entre os teores de polpa adicionados e na polpa de camu-camu	71
Tabela 11 - Valores médios das antocianinas (mg 100 g ⁻¹) em leites fermentados e iogurtes entre os teores de polpa adicionados e na polpa açaí.	76
Tabela 12 - Valores médios da atividade antioxidante em μMols TE 100 g ⁻¹ em leites fermentados e iogurtes com açaí e camu-camu nos teores de polpa adicionados e nas polpas de fruta.....	82
Tabela 13 - Correlação entre as variáveis fenólicas totais e antocianinas com a atividade antioxidante pelo método de DPPH em leites fermentados e iogurtes com açaí e camu-camu com diferentes teores de polpa durante 28 dias de armazenamento.....	85
Tabela 14 - Avaliação sensorial de preferência de leites fermentados com açaí e camu-camu por ordenação para as amostras com 5%, 10%, 15% e 20% de polpa.	87

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - (A) Detalhe da palmeira de açaí (<i>Euterepe oleracea</i> Mart.), (B) Frutos do açazeiro e polpa de açaí processada (FURTADO, 2010).	19
Figura 2 - Aspectos dos frutos do camu-camu	22
Figura 3 - Etapas de coleta e higienização dos frutos de camu-camu. (A) Coleta dos frutos, (B) Frutos embalados em sacos plásticos de 2 kg, (C) Frutos pós-higienização.....	36
Figura 4 - Processamento da polpa de açaí. (A) Frutos do açaí retirados dos cachos, (B) Frutos de molho em água a 50 °C, (C) Despulpamento e (D) Polpa batida e frutos prontos para despulpamento.....	37
Figura 5 – Fluxograma do processamento de leite fermentado e iogurte com polpa de camu-camu e açaí.	39
Figura 6 – Etapas de processamento dos leites fermentados e iogurtes com açaí, na sequência: coagulação e adição de polpa de açaí.	40
Figura 7 – Etapas de incubação de bactérias probióticas. (A) Preparo da diluição 10^{-1} , (B) Diluição 10^{-1} dos LFA e LFC, (C) Diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} , (D) Placas inoculadas e adicionadas de meio MRS-LP e MRS-M, (E) Placas para contagem de BB-12 em jarras de anaerobiose e (F) Placas para contagem de LA-5.	44
Figura 8 - Detalhe do descoramento da solução de DPPH (0,06 mM) a partir de alíquotas crescentes de Trolox (5 μ M) para construção da curva de calibração. Na sequência da esquerda para direita, alíquotas 5 μ L, 35 μ L, 70 μ L, 105 μ L e 140 μ L.	48
Figura 9 - Modelo de ficha de avaliação sensorial.	50
Figura 10– Médias dos valores de pH em função dos teores de polpa de açaí e camu-camu em leites fermentados e iogurtes.	58
Figura 11 – Valores de pH em (A) iogurtes e (B) leites fermentados com açaí durante 28 dias de armazenamento.	59
Figura 12 – Valores de pH em (A) iogurtes e (B) leites fermentados com camu-camu durante 28 dias de armazenamento.....	60
Figura 13 – Médias dos valores de acidez titulável (g de ácido láctico 100g $^{-1}$) em função dos teores de polpa de açaí e camu-camu em leites fermentados e iogurtes.....	62
Figura 14– Valores de acidez titulável em (A) iogurtes e (B) leites fermentados com açaí durante 28 dias de armazenamento refrigerado.	63
Figura 15– Valores de acidez titulável em (A) iogurtes e (B) leites fermentados com camu-camu durante 28 dias de armazenamento refrigerado.	65

Figura 16 - Médias dos parâmetros de cor instrumental L*, a* e b* leites fermentados e iogurtes com açaí em diferentes teores de polpa.	66
Figura 17- Média de compostos fenólicos totais (mg de AGE 100g ⁻¹) em função dos teores de polpa de camu-camu em leites fermentados e iogurtes	73
Figura 18 - Fenólicos totais em mg de AGE 100g ⁻¹ em iogurtes (A) e leites fermentados (B) com camu-camu durante 28 dias de armazenamento.	74
Figura 19 - Antocianinas (mg 100 g ⁻¹) em (A) leites fermentados e (B) iogurtes de açaí durante 28 dias de armazenamento.....	79
Figura 20 – Média da atividade antioxidante (µMol TE 100 g ⁻¹) em função dos teores de polpa de açaí e camu-camu em leites fermentados e iogurtes.....	80
Figura 21- Atividade antioxidante em µMol TE 100g ⁻¹ em (A) leites fermentados e (B) iogurtes com açaí durante 28 dias de armazenamento.	83
Figura 22 - Atividade antioxidante em µMol TE 100g ⁻¹ em (A) leites fermentados e (B) iogurtes com camu-camu durante 28 dias de armazenamento.	84
Figura 23 - Frequência das amostras (A) LFA e (B) LFC adicionados de diferentes concentrações de polpa de açaí e camu-camu.	88
Figura 24 - Valores médios dos atributos cor, aroma, e aparência global dos leites fermentados com diferentes concentrações de polpa de açaí, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.	89
Figura 25 - Valores médios dos atributos sabor, acidez, e aparência global dos leites fermentados com diferentes concentrações de polpa de camu-camu, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.	90

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	iii
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 PRODUTOS LÁCTEOS.....	17
2.2 AÇAÍ (<i>Euterpe oleracea</i> Mart.).....	19
2.3 CAMU-CAMU [<i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) McVaugh].....	22
2.4 COMPOSTOS BIOATIVOS	24
2.4.1 Antocianinas.....	25
2.4.2 Compostos Fenólicos	26
2.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO RADICAL DPPH (2,2-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZYL)	27
2.6 ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	28
2.6.1 Probióticos.....	29
3. OBJETIVOS	33
3.1 Objetivo Geral.....	33
3.2 Objetivos específicos.....	33
4. JUSTIFICATIVA.....	34
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	36
5.1 OBTENÇÃO DAS POLPAS DE FRUTA.....	36
5.2 PROCESSAMENTO DOS LEITES FERMENTADOS E IOGURTES.....	37
5.3. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E DE COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL.....	41
5.4 ESTUDO DE PÓS-ACIDIFICAÇÃO DOS LEITES FERMENTADOS E IOGURTES.....	42
5.5 ANÁLISE COLORIMÉTRICA	42
5.6 CONTAGEM DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS.....	43
5.6.1 Contagem de <i>Bifidobacterium</i> (BB-12)	43
5.6.2 Contagem de <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5.....	43
5.7 QUANTIFICAÇÃO DE COMPONENTES BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NAS POLPAS DE FRUTA E NOS PRODUTOS FERMENTADOS.....	45
5.7.1 Preparo das soluções estoque	45
5.7.2 Determinação de fenólicos totais nas polpas de fruta e nos produtos fermentados de camu-camu	46

5.7.3	Quantificação de antocianinas totais	46
5.7.4	Determinação da capacidade antioxidante pelo método de DPPH nos leites fermentados, iogurtes e nas polpas de fruta	47
a)	<i>Curva de calibração com Tolox</i>	47
b)	<i>Preparação e avaliação da capacidade antioxidante</i>	48
5.8	ANÁLISE SENSORIAL.....	49
5.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA	51
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
6.1	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E DE COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL.....	52
6.2	PÓS-ACIDIFICAÇÃO EM LEITES FERMENTADOS E IOGURTES COM AÇAÍ E CAMUCAMU.....	57
6.3	ANÁLISE COLORIMÉTRICA	66
6.4	CONTAGEM DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS.....	69
6.5	QUANTIFICAÇÃO DE COMPONENTES BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NAS POLPAS DE FRUTA E NOS PRODUTOS FERMENTADOS.....	71
6.5.1	Compostos fenólicos	71
6.5.2	Antocianinas.....	75
6.5.3	Determinação da capacidade antioxidante (AA) pelo método de DPPH nos leites fermentados, iogurtes e nas polpas de fruta	80
6.6	ANÁLISE SENSORIAL.....	87
7.	CONCLUSÕES	91
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutos, com aproximadamente 6% da produção mundial (ANDRIGUETO et al., 2010). Porém, a fruticultura do trópico úmido, realizada nos estados Amazônicos, representa menos do que 0,2% desse total. Nos últimos anos, detectou-se incremento da exploração econômica de produtos e subprodutos de algumas frutíferas nativas, atribuído à crescente preocupação do consumidor com a relação entre dieta e saúde (ROMERO, 2007).

Já é reconhecida a relação entre a ingestão de frutos e vegetais e a diminuição do risco de desenvolvimento de diversas doenças crônico-degenerativas mediadas pela ação de radicais livres. Esses alimentos contêm grande concentração de compostos bioativos que possuem como função fisiológica, a ação contra esses radicais (AVELLO; SUWALSKY, 2006).

Dentre estas espécies frutíferas, podemos citar o açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) e o camu-camu (*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh), como sendo importantes objetos de estudo por apresentarem na composição de seus frutos componentes bioativos potencialmente benéficos à saúde (YAHIA, 2010).

O açaí, assim como muitas das frutas nativas brasileiras, permanecem como curiosidade alimentar, apesar Kuskoski et al. (2005) sugerirem o aumento do consumo mundial de frutas tropicais. É considerada super-fruta devido à sua atividade antioxidante demonstrada *in vitro* e *in vivo*, principalmente devido ao seu conteúdo de compostos fenólicos, tais como as suas antocianinas (LICHTENTHALER et al, 2005).

O camu-camu é considerado um fruto com alto valor nutricional especialmente relacionado a altos níveis de potássio e ácido ascórbico, sendo os teores deste ácido superiores aos encontrados na acerola. Ademais, em seu conteúdo bioativo ainda constam carotenoides e antocianinas, substâncias conhecidas como excelentes agentes antioxidantes (JUSTI et al., 2000; MATTA et al., 2004).

Dessa forma, um incentivo para a necessária integração entre os interesses sócio-econômicos e ambientais que envolvem o alimento regional é avaliar as propriedades nutricionais e funcionais dos frutos nativos e desenvolver novos produtos alimentícios com estas frutas (ESPIRITO SANTO, 2012).

Analisando o histórico do uso de frutos em alimentos processados, verificou-se que na década de 60, a adição de frutas em iogurte, teve como objetivo, atenuar o sabor ácido além de buscar maior aceitação popular e, ao mesmo tempo, ampliar a divulgação de suas qualidades nutritivas e terapêuticas, o que promoveu considerável aumento de seu consumo.

Essa tendência continua até hoje, na busca de adicionar frutas que já são popularmente conhecidas e aceitas. Na prática, as frutas utilizadas são muito variadas e refletem os gostos dos consumidores desde os clássicos iogurtes de morango e banana, até os mais exóticos de maçã com caramelo, frutas silvestres entre outros (CAVALCANTE et al., 2009).

Atualmente, a preocupação com a saúde e o bem-estar vem aumentando, uma vez que o estilo de vida atribulado tem influenciado negativamente o estado nutricional das populações. Assim, cresce a demanda por produtos que ofereçam benefícios nutricionais e que possuam funções biológicas positivas (ESPÍNDULA; CARDOSO, 2010).

Nesse sentido, o consumo de leites fermentados que esteve baseado, por muito tempo, no iogurte tradicionalmente produzido com fermentos compostos de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*, agora ingressa nas tendências dos alimentos funcionais e apontam para o uso de probióticos, que atuam como agentes “biotecnológicos”, melhorando características do produto a partir da redução da pós-acidificação, ou como “agentes terapêuticos”, ou seja, microrganismos que promovam efeitos benéficos nos indivíduos que os ingerem (ANTUNES, 2001).

O desenvolvimento de produtos lácteos contendo bactérias probióticas é um foco importante das indústrias de alimentos e, geralmente, a produção de alimentos contendo cepas probióticas específicas com concentrações apropriadas de células viáveis durante a vida de prateleira é um desafio tecnológico (MEDICI et al., 2004; KOURKOUTAS, 2005). Vários trabalhos propuseram que a dose mínima diária de culturas probióticas considerada terapêutica corresponde ao consumo de 100 g de produto contendo 6 a 7 log UFC/g (HOIER, 1999).

O conceito de que iogurtes probióticos e outros produtos lácteos fermentados podem atuar na melhora da digestão, aumentar a imunidade e proporcionar outros benefícios de saúde, são requisitos pretendidos pelas empresas alimentícias e consumidores modernos, que aderem cada vez mais a esta tendência (BURGAIN, et. al., 2011).

Os microrganismos probióticos utilizados em alimentos funcionais são geralmente dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Estes microrganismos são definidos como "microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas podem proporcionar um benefício a saúde ao organismo" (FAO/OMS, 2002). No entanto, ao exercer esses efeitos benéficos, bactérias probióticas devem manter a sua viabilidade primeiro durante o processamento e armazenamento e, em seguida, durante a sua passagem através do trato gastrointestinal superior, a fim de chegar no intestino em um estado viável (BURGAIN et al., 2011).

Considerando as potencialidades das frutas nativas da Amazônia e dos leites fermentados contendo probióticos na elaboração de alimentos com benefícios de saúde, este trabalho teve como objetivo a elaboração de leites fermentados suplementados com cepas de microrganismos probióticos e adicionados de polpa de açaí e camu-camu, avaliação de suas características físico-químicas, nutricionais e comportamento de compostos bioativos e atividade antioxidante durante o tempo de armazenamento refrigerado de 28 dias, além do estudo da aceitabilidade sensorial.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PRODUTOS LÁCTEOS

Os produtos lácteos fermentados constituem uma rica fonte de proteínas, cálcio, fósforo, vitaminas e carboidratos. O consumo destes produtos está relacionado à imagem positiva de alimento saudável e nutritivo, associado a suas propriedades sensoriais. Esse consumo também pode ser atribuído aos benefícios que estes produtos trazem ao organismo humano, tais como: facilitar a ação das proteínas e enzimas digestivas, facilitar a absorção de cálcio, fósforo e ferro, ser fonte de galactose – importante na síntese de tecidos nervosos e cerebrosídeos em crianças, além de ser uma forma indireta de se ingerir o leite (FERREIRA et al, 2001).

Além de suas propriedades nutricionais, é capaz de reduzir a intolerância à lactose, controlar infecções intestinais, reduzir a propensão a alguns carcinomas e melhorar o *flavor* e qualidade nutricional dos alimentos que as contêm (DAVIDSON et al., 2000).

Sintomas relacionados a irregularidades gastrointestinais ligados ao consumo de produtos lácteos podem estar associados à deficiência ou ausência da enzima intestinal beta galactosidase (lactase), este transtorno é chamado de intolerância à lactose, principal carboidrato do leite. A quebra da lactose na fabricação de produtos lácteos fermentados origina dois monossacarídeos, glicose e galactose, mais facilmente absorvidas pelo intestino (SUNENGA et al., 2003).

Segundo o Padrão de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, entende-se por leite fermentado ou cultivado os produtos resultantes da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado, por fermentos lácticos próprios, sendo esta fermentação realizada com um ou vários dos seguintes cultivos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* sp. *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* e/ou outras bactérias ácido-lácticas que por sua atividade contribuem para a determinação das características do produto final (BRASIL, 2007).

Na fabricação de produtos lácteos fermentados são empregadas bactérias ácido-lácticas dos gêneros *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, que fermentam açúcares, produzindo ácido láctico como principal produto da fermentação, o que acidifica o leite impedindo o desenvolvimento de bactérias nocivas à qualidade do produto final e à saúde humana (FARIA et. al, 2006).

Entretanto o fenômeno da pós-acidificação, que ocorre nos iogurtes devido à formação de ácido láctico por ação dos *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* interfere na viabilidade de culturas probióticas que possam ser inseridas nestes produtos. A fim de superar o problema da pós-acidificação, de acordo com Dave; Shah (1998), a atual tendência é usar fermentos chamados ABT, que contém *Lactobacillus acidophilus*, bifidobactéria e *Streptococcus thermophilus*, reduzindo a produção de acidez e mantendo os mesmos aspectos sensoriais dos produtos contendo *Lactobacillus bulgaricus*.

Os diferentes leites fermentados apresentam fases de produção similares, como padronização do conteúdo de gordura, aumento dos sólidos não gordurosos do leite, homogeneização, desaeração e tratamento térmico. No entanto, alguns aspectos tecnológicos precisam ser observados para a manutenção da viabilidade das culturas probióticas como a determinação do tipo de cultura inicializadora mais adequada, temperatura, tempo de incubação e taxa de inoculação (FARIA et. al, 2006; KRISTO et. al., 2003).

Estes alimentos, além de contribuírem para a nutrição básica, são benéficos à saúde do indivíduo que o consome devido à presença de bactérias lácticas como culturas probióticas (ANTUNES et. al., 2007; DONKORA et. al., 2007) e dos metabólitos produzidos por elas durante a fermentação do leite, além disso, os lácteos fermentados têm sido utilizados como veículos mais populares para a incorporação destes microrganismos (KRISTO et. al., 2003).

Dentre os benefícios que o leite fermentado pode proporcionar ao organismo, relacionados à presença de bactérias lácticas, podemos citar: controle da microbiota intestinal; diminuição da população de patógenos pela produção de ácidos acético e láctico, de bacteriocinas e de outros compostos antimicrobianos; viabilidade da digestão da lactose em indivíduos intolerantes a este carboidrato; estabilização da microbiota intestinal após o uso de antibióticos; estimulação do sistema imune e alívio da constipação (CAO; FERNÁNDEZ, 2005; SAAD, 2006).

2.2 AÇAÍ (*Euterpe oleracea* Mart.)

O açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma palmeira tropical nativa da Amazônia encontrada em grandes concentrações em todo o Estuário do Rio Amazonas sendo os frutos utilizados na produção da polpa componente importante na alimentação da população local, devido ao seu alto valor energético e nutricional, consumida, sobretudo misturada à farinha, com ou sem açúcar (GOUVÊA, 2010). Recentemente conquistou o interesse internacional, não só pela novidade e *flavor* exótico, mas também devido ao seu potencial benefício de saúde associada a sua composição fitoquímica (PACHECO-PALENCIA et al., 2007).

É muito semelhante à palmeira juçara (*Euterpe edulis* Mart.) da Mata Atlântica (Figura 1), diferenciando-se por crescer em touceiras de 3 a 25 estipes e podendo chegar a até 25 metros de altura (SILVA; BARRETO; SÊRODIO, 2004). Os frutos são pequenos e arredondados medindo de 1,1 a 1,5 cm de diâmetro. Possuem uma única semente envolvida por um tecido fibroso e coberta por uma camada de polpa fina e seca. No entanto, seu consumo não ocorre na forma *in natura*, tendo a necessidade de ser submetido a um processo de extração para que seja transformado em polpa ou suco (ROGEZ, 2000).

O processo de obtenção deste produto se restringe à imersão do fruto em água morna por tempo determinado, a fim de amolecer o mesocarpo antes do despulpamento (ROGEZ, 2000). Sua polpa é extraída por meios mecânicos sem filtração, podendo ser submetida ao processo físico de conservação. Após o despulpamento, o açaí pode ser classificado em grosso, médio e fino, de acordo com o teor de sólidos totais em 14 %, de 11 a 14 %, de 11 a 8 %, respectivamente (BRASIL, 2000).



(A)



(B)

Figura 1 - (A) Detalhe da palmeira de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), (B) Frutos do açazeiro e polpa de açaí processada (FURTADO, 2010).

Devido suas características nutricionais (Tabela 1) e seu papel sociocultural e econômico, na Amazônia, o açaí foi objeto de intensas pesquisas, nos últimos anos, quanto ao aspecto nutricional, perecibilidade e conservação (YUYAMA, L. et al., 2002), além de ser um fruto nativo, importante para o agronegócio sustentável na região amazônica (MUÑIZ-MIRET et al, 1996;. SILVA et al, 2006).

Tabela 1 - Composição nutricional da polpa de açaí

Característica	OLIVEIRA et al., (2011a)	ROGEZ (2000)
Umidade (%)	91,65	85,00
Gordura (%)*	46,92	52,64
Proteína (%)*	10,59	10,05
Resíduo mineral fixo (%)*	3,8	3,5
Sólidos solúveis (Brix)	6	-
pH	4,6	5,2

*resultados em base seca

Em virtude de seu elevado valor energético principalmente relacionado aos teores de lipídios, o interesse por este fruto no mercado nacional vem aumentando, especialmente por desportistas (TATENO, 2001; YUYAMA, L. et al., 2002). As formas de consumo do açaí nas diversas regiões dos Brasil e do mundo são variadas e se apresentam como sorvetes, *sherberts* (sobremesa congelada), coquetel de frutas (LINDEN, 2005), comprimidos, sucos, smoothies e bebidas instantâneas (MARCASON, 2009).

Além de suas características características físico-químicas e nutricionais, o açaí é fonte abundante de compostos fenólicos, em que se destacam os flavonoides, principalmente a classe das antocianinas. Cinco antocianinas foram identificadas no açaí, sendo a cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo as mais predominantes (SCHAUSS et al., 2006a). Estudos sobre as atividades biológicas do açaí incluem atividade antioxidante e redução de pressão sanguínea em ratos hipertensos (LICHTENTHÄLER et al, 2005; PACHECO-PALENCIA et al, 2008), especialmente devido ao seu alto teor de antocianinas. Além disso, Del Pozo-Insfran et al. (2006) e Stoner (2009), verificaram que frações de fenólicos presentes em polpa de açaí mostraram redução na proliferação de células cancerígenas e redução de tumores esofágicos em roedores, mostrando o potencial benéfico dos constituintes bioativos do açaí para a saúde.

Além dos componentes bioativos, alguns estudos mostram potencialidades do óleo da polpa de açaí, comparando-o aos de avelã, oliva (BENITEZ-SÁNCHEZ et al., 2003) e abacate (NASCIMENTO et al., 2008), que são óleos ricos em ácidos graxos monoinsaturados (60%) e ácidos graxos poli-insaturados (14%) (MENEZES et al., 2008). De acordo com a mais recente pirâmide alimentar dos EUA, este fato incentiva o uso de açaí como fonte de ácidos graxos essenciais (EKINCI et al., 2008).

Devido à expansão de empresas de laticínios, tem havido uma aproximação dos mercados de produtos lácteos e bebidas de frutas, com a introdução de produtos lácteos híbridos, tais como “juiceceuticals” ou sucos nutracêuticos, oferecendo saúde, sabor e conveniência (KHURANA; KANAWJIA, 2007). Alguns estudos já apontam o uso do açaí em produtos lácteos, mostrando resultados positivos e animadores quanto ao uso desta fruta.

Espirito Santo (2012) utilizou polpa de açaí durante a fermentação de iogurtes probióticos e verificou aumentos nas contagens de *L. acidophilus* L10, *B. animalis* ssp. *lactis* B104 e *B. longum* B105 ao fim dos 28 dias de armazenamento, assim como a formação de ácidos graxos poli-insaturados, verificando efeitos positivos dos ácidos graxos presentes no açaí no metabolismo das bactérias lácticas.

Almeida et. al. (2008), também utilizaram polpa de açaí em iogurtes probióticos e verificaram incrementos nas contagens de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum* em iogurtes adicionados de polpa de açaí em relação a iogurtes sem adição de polpa, observando efeitos benéficos do açaí para o crescimento destes microrganismos.

Leite (2015), também estudaram iogurtes probióticos adicionados de polpa de açaí, porém além das contagens de bactérias lácticas, determinaram teores de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante dos produtos, e também verificaram incrementos nas contagens dos probióticos e efeitos positivos dos componentes bioativos na manutenção destes microrganismos.

2.3 CAMU-CAMU [*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh]

Os frutos da família das mirtáceas têm um significativo uso histórico como frutas comestíveis e como parte da medicina tradicional em todo o mundo tropical e subtropical (CHIRINOS et al., 2010). Uma mirtácea em particular, o camu-camu, também conhecido como caçari, araçá d'água ou sarão, é uma espécie frutífera que ocorre espontaneamente nas margens de rios e lagos da Amazônia, entre a região oriental do Peru e central do Estado do Pará, no Brasil (RIBEIRO et. al., 2002).

Seus frutos são globosos de superfície lisa e brilhante, de 2 a 4 cm de diâmetro e peso médio de 8,4 g, coloração vermelho-escuro passando a roxo-escuro no final da maturação. Apresenta boas características agrônômicas, tecnológicas e nutricionais, mostrando grande potencial econômico (YUYAMA et al., 2003).



Figura 2 - Aspectos dos frutos do camu-camu

A produção no Brasil não ultrapassa 20 toneladas de polpa por ano. Em contrapartida, o Peru, maior produtor mundial de camu-camu, produz em média 800 toneladas de polpa/ano (INPA, 2011). Quase que a totalidade é exportada para os Estados Unidos, Japão e França, onde são encontrados diversos produtos de camu-camu no mercado, como sucos, sorvetes, balas (ALVES et al., 2002), *sherbets* (sobremesa congelada), extratos, polpas, purê, além de produtos desidratados (AKTER, 2011).

Apesar da baixa produtividade brasileira, diversos estudos vêm sendo realizados em algumas regiões em que as plantas de camu-camuzeiro são endêmicas, a fim de domesticar a espécie para desenvolvimento em terra firme. Desse modo, se pode controlar a época de colheita do fruto e atingir teores mais elevados de ácido ascórbico e antocianinas, (YUYAMA et al., 2011), além de aumentar sua produtividade.

Pesquisas mostram que o fruto camu-camu possui potencial benéfico à saúde, destacando-se pelo alto teor de vitamina C, flavonoides, elagitaninos, além de possuir elevada capacidade antioxidante, *in vivo* e *in vitro* (GENOVESE et al., 2008; GONÇALVES et al., 2010; MYODA et al., 2010). Os frutos, procedentes de várias regiões mostram teor de vitamina C que varia entre 0,934 a 6,112 mg/100g de polpa, e comparada com outras frutas, é considerada a fonte mais rica de vitamina C cujos conteúdos são superiores aos da acerola (RUFINO et al., 2010).

Além da vitamina C, o camu-camu contém outros compostos antioxidantes como elagitaninos (GENOVESE et al., 2008), antocianinas (ZANATTA et al., 2005) e carotenoides (AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2004) e componentes minerais com destaque para os teores de potássio (Tabela 2) (JUSTI et al., 2000), que é responsável por acelerar a absorção intestinal de vitamina C (STEVENSON, 1974).

Tabela 2 - Composição nutricional da polpa de camu-camu

Componentes	Quantidade (por 100g)
Umidade	94g
Proteínas	0,4g
Carboidratos	3,5g
Fibras	0,1g
Cinzas	0,3g
Lipídios	0,2g
Fósforo	17mg
Potássio	71,1mg
Cálcio	6,5mg
Vitamina C	1410mg

Fonte: RODRIGUES; MARX, 2006

Dentre os compostos poli fenólicos encontrados no camu-camu estão: ácido elágico, elagitaninos, quercetina, caempferol e cianidina (GENOVESE et al., 2008; GONÇALVES et al., 2010; CHIRINOS et al., 2010; RUFINO et al., 2010). Zanatta et al.

(2005) e Gonçalves et al. (2010) identificaram duas antocianinas majoritárias no camu-camu, a cianidina-3-glicosídeo e a delphinidina-3-glicosídeo. Estes compostos, assim como a vitamina C, contribuem para a atividade antioxidante destes frutos.

Mesmo apresentando características funcionais que possam trazer benefícios de saúde, o consumo *in natura* deste fruto é dificultado devido à elevada acidez e o amargor da casca. Seu suco é considerado excelente alternativa para combinação com outras matérias-primas, aumentando assim o teor de vitamina C de diversos produtos como néctares, doces, sorvete, iogurtes ou bebidas isotônicas (RODRIGUES et al, 2003), possibilitando a inserção do fruto no mercado de produtos de larga aceitação.

Vários estudos estão sendo desenvolvidos na tentativa de inserir o camu-camu em alimentos a fim de enriquecê-los com vitamina C, dentre eles, Silva et al. (2011), estudaram a aceitabilidade de diferentes formulações de picolés de camu-camu e encontraram resultados dentro da escala hedônica em “gostei muito”, mostrando boa aceitabilidade do produto. Já Fujita (2015), estudou a conservação da polpa de camu-camu e o comportamento dos compostos bioativos através de diferentes processos de secagem, além da inserção deste produto em bebidas probióticas fermentadas de soja, mostrando bons resultados no desenvolvimento de produtos funcionais.

Maeda; Andrade (2003) e Peuckert et al. (2010) elaboraram bebida alcóolica fermentada e barra de cereal adicionada de soja e camu-camu, respectivamente, mostrando boas propriedades tecnológicas do camu-camu em produtos industrializados.

2.4 COMPOSTOS BIOATIVOS

O consumo de frutas e vegetais é reconhecido por reduzir os riscos de diversas doenças incluindo as cardiovasculares, câncer e acidente vascular cerebral (AVC) (WILLETT, 2002), além de fornecer alguns benefícios de saúde, principalmente atribuídos ao conteúdo de compostos bioativos, especialmente vitamina C, polifenóis e carotenoides (STEINMETZ; POTTER, 1996).

Esse efeito protetor tem sido atribuído, em grande parte, a propriedades biológicas como atividades antioxidante, anti-inflamatória e hipocolesterolêmica de nutrientes como as vitaminas C, A e E, e de compostos fenólicos como os flavonoides. Entre estes podemos citar as catequinas do chá verde e do vinho, as antocianinas dos frutos vermelhos, os flavonóis das folhas e as isoflavonas da soja (SEIFRIED et al., 2007; RICE-EVANS et al., 1996).

Esses componentes fitoquímicos podem modular algumas vias de sinalização envolvidas em processos patológicos (JOSEPH et al, 2007;. SURH, 2009), ademais, evidências apontam que flavonoides como proantocianidinas e antocianinas, podem atrasar o processo de envelhecimento e aumentar a expectativa de vida, alegando relação direta com frutas e vegetais (JOSEPH et al, 2007, 2009; QIN et al, 2009;. SCHAUSS et al, 2006a; WILSON et al. , 2006).

Células e tecidos do organismo humano estão continuamente sofrendo agressões causadas pelos radicais livres e espécies reativas do oxigênio, os quais são produzidos durante o metabolismo normal do oxigênio ou são induzidos por danos exógenos (MARTÍNEZ-FLÓREZ, 2002; NIJVELDT et a., 2001; WANG et al., 1999). E nesse sentido os compostos bioativos provenientes da dieta podem ajudar a suprir esta deficiência e também promover proteção, prevenção ou redução dos efeitos causados pelo estresse oxidativo (HUANG et al., 2005; PIETTA, 2000).

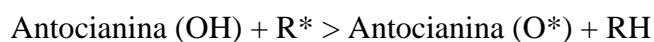
2.4.1 Antocianinas

São pigmentos amplamente distribuídos na natureza, solúveis em água e de cor intensa, responsáveis pela coloração azul, vermelha, violeta e púrpura de muitas espécies do reino vegetal. Pertencem ao grupo dos flavonoides, compostos fenólicos caracterizados por apresentar o núcleo básico *flavilium* (cátion 2-fenilbenzopirílio), o qual consiste de dois anéis aromáticos unidos por uma unidade de três carbonos, que são condensados por um oxigênio. A molécula de antocianina é constituída por duas ou três porções, uma aglicona (antocianidina), um grupo de açúcares e, frequentemente, um grupo de ácido orgânico (FRANCIS, 1989; JACQUES, ZAMBIAZI, 2011).

Aproximadamente 22 agliconas são conhecidas, das quais 18 ocorrem naturalmente e apenas seis (pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina) são importantes em alimentos (FRANCIS, 2000).

As antocianinas possuem espectro de cor que vai do vermelho ao azul, apresentando-se também como uma mistura de ambas as cores resultando em tons de púrpura. Muitas frutas, hortaliças, folhas e flores devem sua atrativa coloração, a esses pigmentos que se encontram dispersos nos vacúolos celulares (DEGÁSPARI, 2004). A formação do glicosídeo e a maior presença de grupos OCH₃ conferem, em geral, cor mais avermelhada e maior estabilidade à oxidação e ao calor do que o aumento das hidroxilações, que por sua vez proporcionam predomínio das cores rosa e azul (BELITZ et al., 2009).

Além disso, podem prevenir danos causados pelos radicais livres através de vários mecanismos, como por exemplo, o carreamento direto do radical livre. As antocianinas são oxidadas pelos radicais, resultando em um radical menos reativo e mais estável (NIJVELDT, 2001) de acordo com a equação abaixo.



onde: R* = radical livre e O* = radical livre de oxigênio.

Este mecanismo ilustra a importância dos grupos hidroxilas para a elevada capacidade antioxidante das antocianinas, como por exemplo, das delphinidinas e cianidinas (KUSKOSKI et al, 2004).

Em soluções aquosas, as antocianinas apresentam diferentes estruturas químicas em equilíbrio. Quando o pH se encontra abaixo de 2,0, as antocianinas apresentam coloração intensamente avermelhada devido ao predomínio da forma cátion *flavílium* (AH⁺). Com o pH em torno de 4,5 é observado um equilíbrio entre a pseudo base carbinol ou forma hemicetal, incolor e chalconas. Com o aumento do pH ocorre uma rápida desprotonação resultando na formação predominante da base quinoidal (A) que tem coloração azul (BOBBIO; BOBBIO, 1995; GIUST, WROLSTAD, 2001).

2.4.2 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são amplamente estudados, entre outras razões por possuírem potencial atividade antioxidante, o que é interessante para a indústria de alimentos tanto pela possibilidade de serem utilizados como conservantes naturais de alimentos, quanto pela possibilidade de conferirem alegações funcionais aos alimentos que os contenham (MORAES-DE-SOUZA et al., 2008).

Os mais importantes metabólitos fenólicos são os ácidos fenólicos (ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos), os polifenóis e os flavonoides. O sabor amargo e adstringente da maioria dos alimentos e bebidas que contêm essas substâncias se deve à presença destes compostos (DREWNOSKI; GOMEZ-CARNEIROS, 2000).

O teor e a composição dos compostos fenólicos podem ser influenciados por fatores intrínsecos e extrínsecos da planta. Alguns exemplos de fatores intrínsecos são: a cultivar, a variedade e o estágio de maturação. E os fatores extrínsecos são: as condições

ambientais (índice de precipitação pluviométrica, umidade relativa, exposição à luz), altitude, ataque de herbívoros, bactérias e fungos eo cultivo e manejo (BECKMAN, 2000)

A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente a sua estrutura química e às propriedades redutoras. Estas características desempenham uma função importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. As substâncias intermediárias formadas pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente nesta estrutura, contendo um ou mais grupos hidroxilas (PIMENTEL et al, 2005; SOUSA et al, 2007).

2.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO RADICAL DPPH (2,2-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZYL)

Os radicais livres e outros oxidantes, vem sendo considerados nos últimos anos como grandes causadores de várias doenças como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema imune, disfunções cerebrais e diabetes mellitus tipo I (SOUSA et al., 2007).

A produção de radicais livres ocorre naturalmente durante ações catalíticas de enzimas, no metabolismo celular ou pela exposição a fatores exógenos (BIANCHI et al., 1999; BARREIROS et al., 2006). Um organismo encontra-se sob estresse oxidativo (EO) quando ocorre um desequilíbrio entre sistemas pro-oxidantes e antioxidantes, de maneira que os primeiros sejam predominantes. O excesso desses radicais pode ser combatido por antioxidantes produzidos pelo corpo ou adquiridos de forma exógena (BIANCHI et al. 1999; SCHNEIDER et al., 2004).

De acordo com Sousa et al. (2007), denominam-se antioxidantes, as substâncias que presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato (BARREIROS et al., 2006).

Nesse sentido, evidências epidemiológicas crescentes do papel de alimentos antioxidantes na prevenção de certas doenças têm conduzido ao desenvolvimento de grande número de métodos para determinar a capacidade antioxidante (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURACALIXTO, 2006). Estes métodos podem ser baseados na captura do radical peroxila (ORAC, TRAP), poder de redução do metal (FRAP; CUPRAC), captura do radical hidroxila (método de desoxirribose), captura do radical orgânico (ABTS, DPPH), quantificação de produtos

formados durante a peroxidação de lipídios (TBARS, oxidação do LDL, co-oxidação do β -caroteno) (SÁNCHEZ-MORENO, 2002; ARUOMA, 2003), etc.

Dentre estes métodos, o ABTS, FRAP, DPPH e ORAC são alguns dos mais usados atualmente (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006). Considerados fáceis, rápidos e seguros, os métodos que envolvem o sequestro de radicais livres, ABTS e DPPH, avaliam a capacidade antioxidante pelo mecanismo de transferência de elétrons (SÁNCHEZ-MORENO, 2002).

O método de DPPH está baseado no descoramento de uma solução composta por radicais estáveis DPPH• de cor violeta quando da adição de substâncias que podem ceder um átomo de hidrogênio (BRAND-WILLIAMS, 1995; HUANG; PRIOR, 2005). O método de inibição de radicais DPPH• baseia-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante e utiliza quantidades significativas de reagentes, padrões e amostras (DUARTE-ALMEIDA, 2006).

2.6 ALIMENTOS FUNCIONAIS

O principal papel da dieta consiste em fornecer nutrientes suficientes para atender necessidades metabólicas, dando ao consumidor uma sensação de satisfação e bem-estar. Estudos recentes, no entanto, apoiam a hipótese de que, além de atender as necessidades nutricionais, a dieta pode modular várias funções fisiológicas, desempenhando papéis cruciais quanto aos prejuízos ou benefícios a saúde (KOLETZKO et. al., 1998).

Historicamente, o estado nutricional das populações é afetado pela alta ingestão de açúcares, sal, ácidos graxos saturados e gorduras *trans*, baixa ingestão de fibras, vitaminas e minerais essenciais. Estes hábitos são os principais causadores de doenças crônico-degenerativas. Assim, para reduzir o risco destas enfermidades, foi proposto o desenvolvimento de novos produtos alimentícios que contenham substâncias biologicamente ativas, surgindo dessa forma, os alimentos funcionais (ROBERFROID, 2002).

Alimento funcional é definido como alimento semelhante em aparência ao alimento convencional que consumido como parte da dieta usual, pode proporcionar benefícios para a saúde, produzindo efeitos metabólicos e fisiológicos úteis na manutenção de uma boa saúde física e mental, e auxiliando na redução do risco de doenças crônico-degenerativas, além das suas funções nutricionais básicas (LAJOLO, 2001; MARRIOTT, 2000; SANDERS, 2003).

Todos os alimentos são funcionais em algum nível fisiológico, pois eles fornecem nutrientes e outras substâncias que fornecem energia, sustentam o crescimento, mantêm/reparam processos vitais. Entretanto os alimentos funcionais ultrapassam essas necessidades fornecendo benefícios adicionais de saúde que podem reduzir riscos de doenças ou simplesmente promover saúde. Alimentos funcionais incluem: alimentos convencionais, alimentos modificados (fortificados, enriquecido ou aprimorado), alimentos medicinais e alimentos para dietas especiais (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, 2009).

A crescente demanda por estes alimentos tem impulsionado os investimentos na área de pesquisa e desenvolvimento pelas indústrias alimentícias (MICHIDA et al, 2006). No Brasil, o Ministério da Saúde através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), exige que o alimento ou ingrediente que reivindicam propriedades funcionais, não pode fazer referência à cura ou prevenção de doenças (BRASIL, 1999a; BRASIL, 1999b).

De acordo com Food Processing (2009) e Granato et al (2010), o mercado de alimentos funcionais no Brasil foi responsável por 1% (US\$ 500 milhões) das vendas totais de alimentos em 2007 sendo a maior parte deste mercado (65%) composta por produtos probióticos. Mundialmente, os ingredientes, suplementos e alimentos probióticos compõem um mercado de US\$ 16 bilhões em 2008 e estima-se que a venda destes produtos pode chegar a 19,6 bilhões dólares em 2013 (GRANATO et al, 2010).

Ao mesmo tempo em que há um avanço no desenvolvimento de novos produtos, há também aumento no nível de exigência dos consumidores. Não há dúvidas de que os produtos lácteos são alimentos funcionais, uma vez que são a melhor fonte de cálcio disponível essencial na prevenção da osteoporose e câncer de cólon. (DA SILVA, 2007).

A incorporação de microrganismos probióticos como adjuntos dietéticos em diferentes produtos lácteos tem reforçado suas propriedades funcionais, resultando em aumento no consumo (KRISTO et. al., 2003), por apresentarem excelentes características sensoriais (VINDEROLA et. al., 2000).

Em derivados lácteos as bactérias probióticas mais utilizadas são *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* (FIORAMONTI et. al., 2003; GOMES; MALCATA, 1999; LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001a). Estes microrganismos apresentam diversas características em comum como, por exemplo, são seguros ou Generally Regarded As Safe (GRAS), apresentam capacidade de adesão à mucosa intestinal e são tolerantes aos ácidos e a bile (DUNNE et al., 2001).

2.6.1 Probióticos

Os probióticos são definidos como "microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde. Vários critérios de seleção foram aplicados na triagem de novas estirpes de probióticos que podem ser categorizados em três grupos: seguros, funcionais e com aspectos tecnológicos. (PIMENTEL; MATTO et. al., 2012).

Visto que microrganismos viáveis e biologicamente ativos são necessários em locais específicos para gerar um benefício à saúde, as culturas de probióticos transportadas por alimentos devem primeiramente sobreviver ao processamento dos alimentos e às condições de armazenamento e finalmente as barreiras naturais do organismo (ROLFE, 2000; MINELLI, BENINI, 2008), para posteriormente colonizar o intestino, mesmo que temporariamente, para efeito benéfico ao hospedeiro, além disso, estes microrganismos não devem apresentar enteropatogenicidade ou enteropatotoxicidade (OLIVEIRA et. al., 2002).

Szajewska; Mrukowicz (2005) estabelecem critérios que designam uma bactéria probiótica:

- Ser de origem humana;
- Ter propriedades não patogênicas;
- Ser resistente ao processamento tecnológico;
- Apresentar-se estável em meio ácido;
- Aderir ao tecido epitelial alvo;
- Ter persistência no trato gastrointestinal;
- Produzir substâncias antimicrobianas;
- Apresentar influência sobre o sistema imunológico e nas atividades

metabólicas.

Vários mecanismos de ação têm sido propostos para explicar os efeitos benéficos dos probióticos. Tais mecanismos ainda não foram completamente elucidados, entretanto, podem envolver a modificação do pH intestinal, ação contra patógenos através da produção de compostos antimicrobianos, competição por sítios de adesão, nutrientes e fatores de crescimento, estímulo das células do sistema imunológico e produção de lactase (COLLADO et al., 2009). Contudo, é importante salientar que os efeitos benéficos à saúde atribuídos a ingestão de probióticos, assim como seu mecanismo de atuação no organismo são dependentes do tipo de cepa (BURGAIN et al., 2011).

Os microrganismos utilizados como probióticos são pertencentes ao grupo das bactérias ácido-láticas e de acordo com a resolução RDC nº 2, de 7 de janeiro de 2002, os probióticos são classificados em *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus salivares*,

(sendo os dois primeiros mais empregados em produtos alimentícios) e são capazes de transformar quimicamente os alimentos, facilitando a digestibilidade (ROCHA, 2011). Os *Lactobacillus* e as *Bifidobacterium* têm sido isolados de todas as porções do trato gastrointestinal de humanos saudáveis, sendo que o local de preferência para colonização intestinal destes microrganismos são, respectivamente, o íleo terminal e o cólon (BIELECKA; et al., 2002).

Os probióticos devem apresentar células viáveis em quantidades adequadas no alimento durante toda a estocagem do produto, sendo a dose diária de consumo recomendada de 10^8 - 10^9 Unidades Formadoras de Colônia (UFC), realizada através da ingestão de 100 g de produto contendo $10^6 - 10^7$ UFC/g ou mL (BRASIL, 2007).

As bifidobactérias são habitantes naturais do intestino humano e animal, sendo sua população influenciada pela idade, dieta, antibióticos, estresse entre outros fatores (ARUNACHALAM, 1999). Estes microrganismos são considerados probióticos e foram incorporados em diversos produtos alimentícios, tais como: iogurtes (AWAISHEH, et. al., 2005; KAILASAPATHY, et. al., 2008; RAMCHANDRAN; SHAH, 2010), sorvetes (AKIN, et al., 2007; TURGUT; CAKMAKCI, 2009) e queijos (ONG, et. al., 2007; FRITZEN-FREIRE et. al., 2010).

Estes microrganismos caracterizam-se por serem bastonetes gram-positivos, anaeróbios, no entanto, alguns são tolerantes ao oxigênio, possuem formato de Y e requerem nutrientes especiais, o que dificulta seu isolamento e a sua multiplicação em laboratório (MENEZES, 2007).

Vários fatores foram considerados como determinantes para afetar a viabilidade das bifidobactérias, incluindo acidez, pH, tempo e temperatura de armazenagem, e o teor de oxigênio (PICOT; LACROIX, 2004; RANADHEERA et. al., 2010). Sua temperatura de crescimento situa-se entre 20°C a 46°C e morrem a 60°C. O pH ótimo para a multiplicação destas bactérias está entre 6 e 7, com praticamente nenhuma multiplicação em pH < 5,1 ou pH > 8 (SHAH, 2007).

Em humanos, espécies de bifidobactérias são consideradas benéficas por produzirem os ácidos láctico, acético e pequena quantidade do ácido fórmico sem geração de CO₂, reduzindo assim o pH do cólon e inibindo a proliferação de patógenos, mostrando, dessa forma, sua ação probiótica (ALTIERI, 2008; DA SILVA, 2007; FLORENCE, 2009).

O gênero *Lactobacillus* foi isolado e classificado no ano de 1901 por Otto Kandler e Norbert, e atualmente já se conhecem mais de 100 espécies e subespécies. Constituem-se em bastonetes, gram-positivos, não esporulados, aeróbios ou anaeróbios facultativos, que se

dispõe em forma de cadeias de diferentes tamanhos (SAARELA et al., 2000; GIRAFFA et al., 2010).

A distribuição é afetada por fatores ambientais, como: pH, disponibilidade de O₂, nível de substâncias específicas, presença de secreções e interações bacterianas (VIEIRA, 2011). Sua multiplicação pode ocorrer até 45°C, sendo a multiplicação ótima entre 35-40°C. A tolerância destes microrganismos a acidez varia de 0,3% a 1,9% de ácido láctico, com pH ótimo entre 5,5-6,0 e a sua multiplicação é reduzida em pH abaixo de 4,0 (SHAH et al., 1995; FERNÁNDEZ-GARCÍA et al., 1998; SHAH, 2007).

Muitos estudos têm evidenciado o papel benéfico de *Lactobacillus acidophilus* no hospedeiro, já que este microrganismo foi efetivo na inibição de adesão de patógenos *in vitro* (COCONNIER et al. 1993) e capazes de sintetizar vitaminas como ácido ascórbico, niacina e vitamina B12 (SHAH, 2007). Além disso, este microrganismo tem atividade lipolítica que influencia o valor nutricional do iogurte suplementado, e proteolítica atuando na produção de diacetil, acetoína e ácidos voláteis (acético, fórmico, capróico, caprílico, butírico, entre outros), semelhante à atuação *L. bulgaricus*. (GOMES; MALCATTI,1999).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o comportamento dos compostos bioativos, atividade antioxidante e pós-acidificação refrigerada em produtos lácteos fermentados com açaí e camu-camu durante 28 dias de armazenamento.

3.2 Objetivos específicos

- Elaborar iogurtes e leites fermentados com frutos nativos da Amazônia seguindo os padrões previstos pela Legislação Brasileira;
- Caracterizar físico-quimicamente e nutricionalmente os produtos lácteos fermentados, assim como as polpas de açaí e camu-camu;
- Acompanhar a pós-acidificação dos produtos lácteos fermentados durante 28 dias de armazenamento refrigerado;
- Quantificar os compostos bioativos e o potencial antioxidante dos produtos lácteos fermentados adicionados de fruta, assim como nas polpas de açaí e camu-camu;
- Acompanhar o comportamento dos componentes bioativos e atividade antioxidante dos leites fermentados durante 28 dias de armazenamento;
- Acompanhar o desenvolvimento microbiano por meio contagem de bactérias probióticas;
- Determinar a aceitabilidade dos leites fermentados por meio de análise sensorial.

4. JUSTIFICATIVA

Já é reconhecida a relação entre a ingestão de frutos e vegetais e a diminuição do risco de desenvolvimento de diversas doenças crônico-degenerativas, em função dos benefícios de saúde promovidos por substâncias bioativas presentes nestes alimentos. Entretanto, com o ritmo acelerado da vida moderna, grande parte da população mantém em sua rotina, hábitos alimentares pouco saudáveis, que reduzem ou excluem a ingestão de frutas e hortaliças da dieta diária, podendo contribuir de forma significativa para o aparecimento de patologias que poderiam ser prevenidas através da alimentação.

Nesse sentido, o planejamento e produção de alimentos que unam a facilidade do consumo com propriedades nutritivas e funcionais caberiam como alternativa de melhora nos hábitos alimentares e conseqüentemente, com a prevenção de enfermidades relacionadas à falta de nutrientes essenciais a dieta. Os produtos lácteos fermentados são alimentos amplamente aceitos no mercado de produtos industrializados, e atualmente apresentam diversidade de possibilidades de consumo, pois variam sua composição nutricional para atender consumidores com restrições alimentares, como diabéticos e intolerantes/alérgicos a lactose, atletas, pessoas que desejam manter a boa forma, entre outros, sendo, portanto, produtos com excelente versatilidade, aceitabilidade e com ótimas propriedades tecnológicas e nutricionais.

Outra vertente relacionada à produção de lácteos fermentados é a inserção de microrganismos probióticos (bactérias vivas capazes controlar a flora intestinal, evitando possíveis desconfortos gastrointestinais), na formulação do produto, tendência que está se consolidando no mercado alimentício, por trazer uma nova linha de alimentos com propriedades funcionais. A associação dos produtos lácteos fermentados (iogurtes) com frutas é uma realidade desde a década de 60, partindo como tentativa de aumentar a aceitabilidade do produto e suplementá-lo com vitaminas ausentes na composição do leite. Entretanto a suplementação de iogurtes e leites fermentados é feita comumente com frutas consagradas como, morango, uva e ameixa, porém mais recentemente, também estão sendo utilizados o mamão e a graviola.

Com o crescimento da fruticultura Amazônica, devido e a expansão da divulgação e exportação do açaí, as frutas nativas da Amazônia, começam a ganhar espaço nos mercados, mediante a alegação de suas potencialidades nutricionais. Nesse sentido, este trabalho objetiva desenvolver iogurtes e leites fermentados adicionados de polpa de frutas nativas da

Amazônia (açai e camu-camu) e e verificar o comportamento dos componentes bioativos durante o armazenamento refrigerado de 28 dias.

A manutenção das propriedades bioativas de frutos nativos da Amazônia em produtos lácteos fermentados é pouco estudada e, portanto representa uma inovação para a indústria de alimentos e para a comunidade científica, além de estimular a produção local de frutos e a agroindustrialização com conseqüente verticalização de produtos regionais.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 OBTENÇÃO DAS POLPAS DE FRUTA

A polpa de camu-camu foi obtida a partir de frutos provenientes plantas localizadas nas proximidades do Rio Urubu situado na região da Serra da Lua, município de Boa Vista. Cerca de nove quilos de frutos foram coletados no mês de maio de 2014, próximo ao término da safra da cultura, embalados em sacos plásticos com capacidade para 2kg e armazenados em isopor com gelo em escama, para em seguida serem transportados até o local do despulpamento (Figura 3). Os frutos, íntegros, sem injúrias e com 85% das cascas vermelhas com pequena mancha verde clara do lado não exposto ao sol (SILVA, 2012), foram selecionados, lavados em água corrente para retirada de sujidades e higienizados em água clorada a 200 partes por milhão (ppm) durante 10 minutos. Em seguida foram submetidos à despulpadeira, sem adição de água e o produto obtido foi acondicionado em sacos plásticos com capacidade de 1 litro e transportados para o Laboratório de Tecnologia de Produtos Agropecuários (LTPA) da Escola Agrotécnica da Universidade Federal de Roraima (EAgro/UFRR). A polpa foi acondicionada em embalagens de 200 mL e submetidas a pasteurização a 95 °C durante 5 minutos e resfriadas até alcançar temperatura de 19-22 °C para então ser congelada a -18 °C até o momento da produção dos leites fermentados e iogurtes.

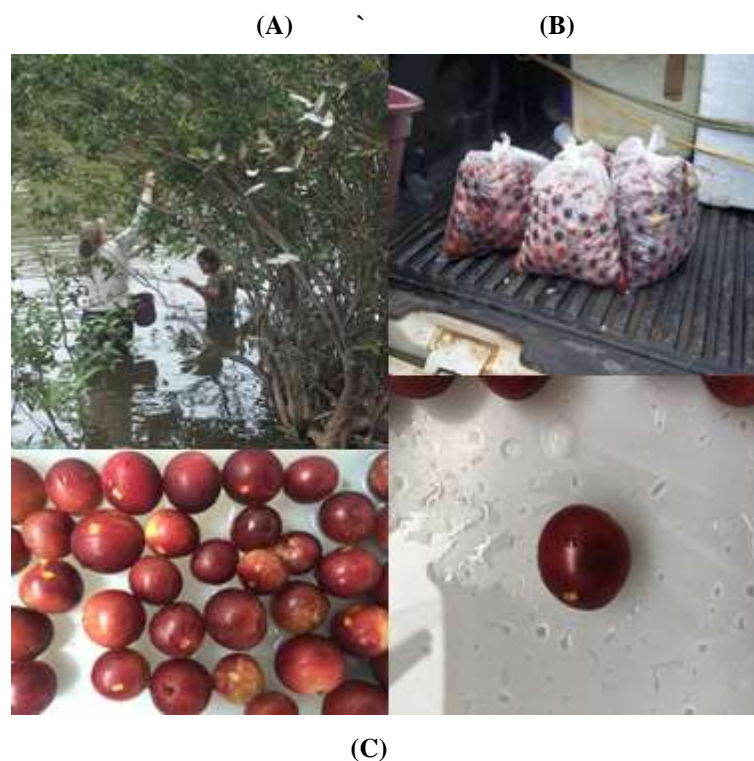


Figura 3 - Etapas de coleta e higienização dos frutos de camu-camu. (A) Coleta dos frutos, (B) Frutos embalados em sacos plásticos de 2 kg, (C) Frutos pós-higienização.

A polpa de açaí foi adquirida pomar particular situado no município de Boa Vista entre os meses de fevereiro e março de 2014, totalizando 5 kg referentes aos frutos presentes em três cachos. Os frutos foram selecionados considerando-se critérios de qualidade relacionados à coloração da casca (roxa) e ausência de danos e podridões visuais. Para o despulpamento, os frutos foram colocados de molho em água à temperatura de 50°C durante 45 minutos, com posterior pesagem e adição de água, a mesma utilizada no molho na proporção 1,5:1 (v/p) água/fruto (Figura 4). Posteriormente os frutos foram levados a despulpadeira e a polpa acondicionada em embalagens plásticas com capacidade de 200 mL, submetida a pasteurização a 95 °C por 5 minutos, resfriada até alcançar temperatura de 19-22 °C para então ser congelada a -18 °C até o momento da produção dos leites fermentados e iogurtes.



Figura 4 - Processamento da polpa de açaí. (A) Frutos do açaí retirados dos cachos, (B) Frutos de molho em água a 50 °C, (C) Despulpamento e (D) Polpa batida e frutos prontos para despulpamento.

5.2 PROCESSAMENTO DOS LEITES FERMENTADOS E IOGURTES

Os leites fermentados (LF) e os iogurtes (IO) foram processados no Laboratório de Tecnologia de Produtos Agropecuários da Escola Agrotécnica da Universidade Federal de Roraima (LTPA/EAgro), sendo elaborados com leite UHT (Ultra High Temperature)

padronizado em 3,0% de gordura, adicionado de 8% de açúcar, 4% de leite em pó desnatado e culturas bacterianas probióticas e tradicionais de uso direto, ou seja, sem necessidade de suspensão e reativação para produção dos fermentados.

Para o processamento do leite fermentado foi utilizado 0,08% de culturas probióticas contendo *Streptococcus termophilus*, *Bifidobacterium* BB-12 (BB-12) e *Lactobacillus acidophilus* (LA-5), presentes no fermento Bio Rich® da Chr Hansen, sendo incubado em estufa com circulação de ar a temperatura de 41 ± 3 °C durante 4 horas. Enquanto que para a elaboração do iogurte, foram utilizados 1,5% de culturas tradicionais contendo *Streptococcus termophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* disponíveis em fermento Ricaferm YR03 da empresa Ricanata, com incubação em estufa com circulação de ar a temperatura de 43 ± 3 °C por 4 horas. As inoculações tanto das culturas probióticas, quanto das culturas tradicionais no leite UHT, foram realizadas em fluxo laminar, a fim de evitar possíveis contaminações aos produtos fermentados.

Após o tempo de incubação, o leite fermentado e iogurte foram resfriados e mantidos a 12 ± 2 °C durante 6 horas em incubadora B.O.D. Após este período a temperatura foi ajustada para de 4 ± 2 °C, onde permaneceram até completar 24 horas, tempo suficiente para desenvolvimento dos sabores e aromas resultantes do metabolismo dos microrganismos lácticos. Passado o período de maturação de 24 horas, foram acrescentadas polpas de açaí e camu-camu nas concentrações de 5%, 10%, 15% e 20% (p/p) (BRASIL, 2007). Os leites fermentados e os iogurtes de fruta, cerca de 25 ± 2 g, foram acondicionados em embalagens de polietileno tereftalato (PET) com taxa de permeabilidade ao oxigênio de $94 \text{ cm}^3/\text{m}^2.\text{dia}$ (FARIA, 2001) e capacidade de 145 mL e mantidas sob refrigeração em temperatura de 4 ± 2 °C durante 28 dias. Além dos leites fermentados e iogurtes adicionados de polpa de fruta, foram separados e acondicionados iogurtes naturais, ou seja, sem adição de polpa e nas mesmas condições experimentais, para constituição do tratamento controle durante a avaliação da pós-acidificação de armazenamento destes produtos. O fluxograma de processamento do iogurte e leite fermentado está apresentado na Figura 5 e Figura 6.

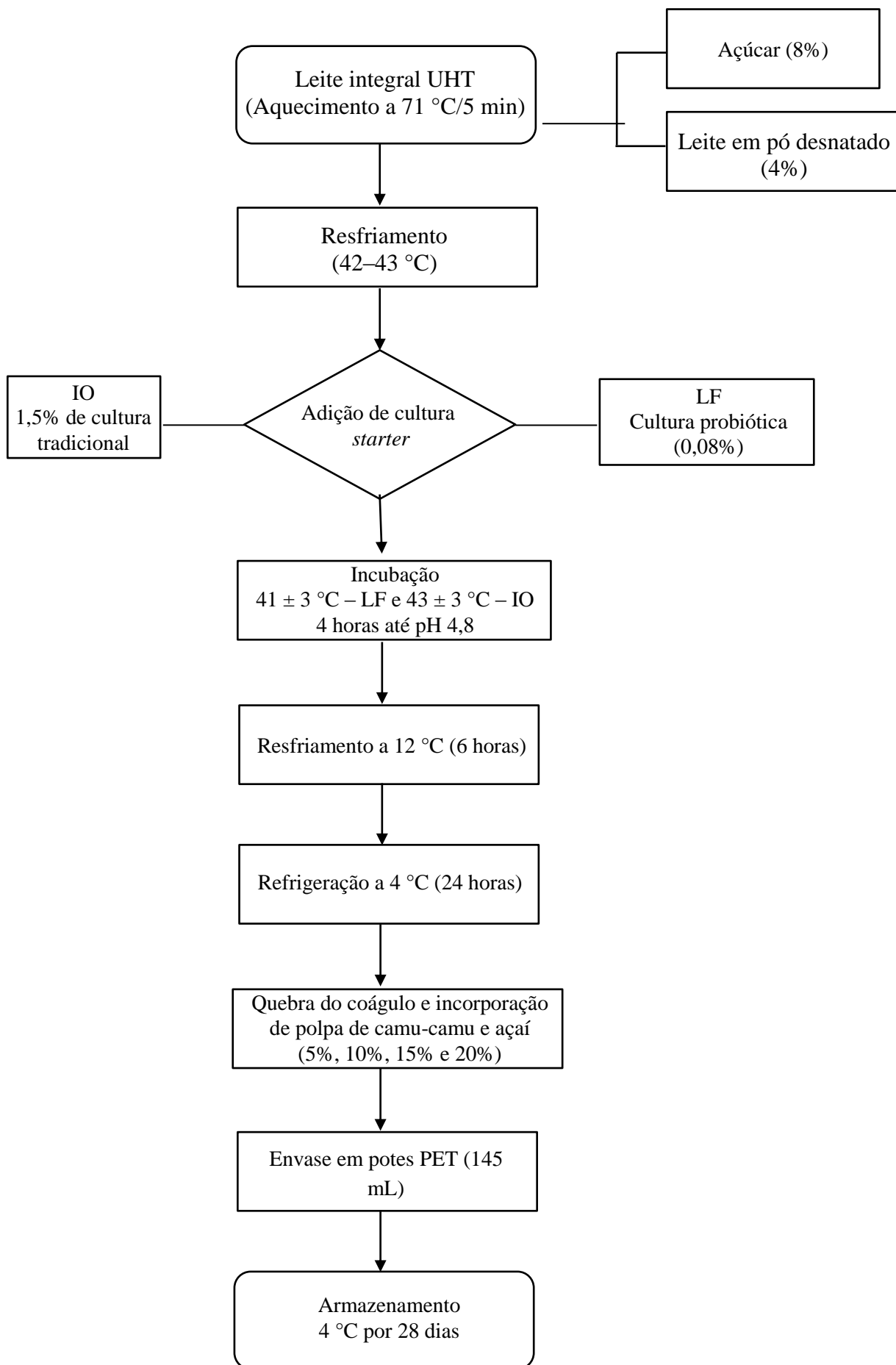


Figura 5 – Fluxograma do processamento de leite fermentado e iogurte com polpa de camu-camu e açaí.



Figura 6 – Etapas de processamento dos leites fermentados e iogurtes com açaí, na sequência: coagulação e adição de polpa de açaí.

Os produtos fermentados produzidos foram codificados de acordo com o tipo de bactérias e percentuais de polpa adicionados, e estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Tipo de bactérias, tipo de produto fermentado, percentual de polpa de fruta adicionada e codificação das amostras.

Tipo de bactéria	Tipo de produto fermentado	% de polpa	Codificação das amostras	
Bactérias probióticas		—	LFA nat	LFC nat
(combinação de <i>Streptococcus termophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i> (BB-12) e <i>Lactobacillus acidophilus</i> (LA-5)	Leite fermentado	5	LFA 5%	LFC 5%
		10	LFA 10%	LFC 10%
		15	LFA 15%	LFC 15%
		20	LFA 20%	LFC 20%
Bactérias tradicionais do iogurte		—	IA nat	IC nat
ou culturas starter (<i>Streptococcus termophilus</i> e <i>Lactobacillus bulgaricus</i>)	Iogurte	5	IA 5%	IC 5%
		10	IA 10%	IC 10%
		15	IA 15%	IC 15%
		20	IA 20%	IC 20%

LFA: Leite fermentado com açaí; LFC: leite fermentado com camu-camu; IA: iogurte com açaí; IC: iogurte com camu-camu; Nat: iogurte ou leite fermentado sem adição de polpa de fruta.

Os iogurtes com camu-camu e com açaí foram elaborados para se estabelecer comparação com os leites fermentados quanto aos resultados dos estudos de pós-acidificação, cor instrumental, quantificação de componentes bioativos e atividade antioxidante, a fim de avaliar o comportamento das bactérias probióticas nos leites fermentados, em relação aos microrganismos tradicionais presentes nos iogurtes e verificar de que forma os microrganismos probióticos influenciam estas características, em relação produto original, o iogurte.

5.3. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E DE COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL

As análises físico-químicas e de composição nutricional foram realizadas nos frutos e nos leites fermentados elaborados. As análises realizadas nos frutos tiveram o objetivo de verificar a qualidade das polpas de fruta e a influência dos componentes nutricionais, como proteínas e gorduras, na constituição final dos produtos fermentados. Tanto os frutos quanto os leites fermentados, foram avaliados em triplicata para as características físico-químicas e de composição nutricional. Os resultados da composição centesimal foram expressos em g 100 g⁻¹ de amostra.

- 5.3.1 pH - determinado por potenciometria a partir da leitura direta nas polpas e nos LF em amostra homogeneizada (IAL, 2008);
- 5.3.2 Acidez titulável (AT) - determinada nas polpas e nos LF de acordo com IAL (2008). Os resultados foram expressos em g de ácido cítrico 100 g⁻¹ para as polpas de fruta e em g de ácido láctico 100 g⁻¹ para os IO e LF;
- 5.3.3 Sólidos solúveis (SS) - determinados por refratometria, usando o refratômetro Shimadzu, com correção de temperatura, utilizando-se uma gota de suco puro e dos LF, expressando-se o resultado em °Brix (IAL, 2008);
- 5.3.4 Umidade - determinada pela secagem das polpas em estufa a 105 °C até peso constante IAL (2008);
- 5.3.5 Sólidos totais - determinados pela secagem das polpas em estufa a 105 °C até peso constante (IAL, 2008);
- 5.3.6 Proteínas - determinadas pelo método Kjeldahl seguindo as recomendações do IAL (2008). O fator geral de conversão de 6,25 e 6,38 foi aplicado para calcular as proteínas nas polpas e nos LF respectivamente;

- 5.3.7 Lipídios totais – determinados, tanto nas polpas, quanto nos LF através do método de Bligh; Dyer (1959);
- 5.3.8 Cinzas - determinadas em todas as amostras por meio de incineração em mufla a 550°C, segundo IAL (2008);
- 5.3.9 Extrato seco total – determinado por secagem dos LF em estufa a 105 °C até peso constante IAL (2008);
- 5.3.10 Extrato seco desengordurado (EST) – determinado por diferença entre o percentual de EST e o de lipídios totais;
- 5.3.11 Açúcares totais e redutores: determinados nas polpas e nos LF conforme metodologia de IAL (2008);
- 5.3.12 Cálculo de valor calórico (kcal): foi obtido aplicando-se os fatores de *Atwater 4 - 9 - 4* kcal/g para os valores de proteínas, lipídios e carboidratos totais, respectivamente, nas polpas e nos LF, segundo ANDERSON et al. (1988) e a Resolução RDC nº360, de 23 de Dezembro de 2003.

5.4 ESTUDO DE PÓS-ACIDIFICAÇÃO DOS LEITES FERMENTADOS E IOGURTES

Os estudos de pós-acidificação foram realizados nos iogurtes e leites fermentados em todas as concentrações de polpa, e nos respectivos tratamentos controles (LFA nat e LFC nat e IA nat e IC nat). Os produtos fermentados foram avaliados em triplicata no dia 0 e a cada 7 dias durante um período de 28 dias quanto aos valores de pH e acidez titulável em ácido láctico (g de ácido láctico 100g⁻¹) seguindo recomendações de IAL (2008).

5.5 ANÁLISE COLORIMÉTRICA

A cor instrumental foi avaliada apenas para os LFA e IA, uma vez que para os produtos fermentados de camu-camu, após testes preliminares, não se verificou variação dos parâmetros de cromaticidade, em função da coloração branca dos produtos a base de camu-camu. As avaliações de cor foram realizadas no dia 0 e a cada 7 dias durante um período de 28 dias de armazenamento, 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), empregando a escala de cor CIELAB, utilizando Spectrophotometer CM-5 (Konica Minolta).

5.6 CONTAGEM DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS

As contagens das culturas probióticas foram realizadas em duplicata nos leites fermentados nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 de estocagem, para verificar a viabilidade das culturas no produto ao longo do período de avaliação. Amostras de 10g de leite fermentado foram diluídas em 90 mL de água peptonada salina 0,1% estéril, sendo estabelecida a diluição 10^{-1} . Este conjunto foi agitado vigorosamente durante 1 minuto para homogeneização do sistema. A partir desta diluição, foi tomado 1 mL que foi diluído em 9 mL de água peptonada, formando a diluição 10^{-2} . Esta etapa de diluição sequencial foi repetida até 10^{-6} e as bactérias foram inoculadas a partir de 1 mL de cada diluição pela técnica de plaqueamento em profundidade (*pour plate*).

5.6.1 Contagem de *Bifidobacterium* (BB-12)

Para contagem das colônias de *Bifidobacterium* (BB-12), o ágar MRS (Man, Rogosa and Sharpe) (ACUMEDIA) foi modificado para ágar MRS-LP, contendo 0,2% de cloreto de lítio 0,3% de propionato de sódio. Em seguida todos os ingredientes do ágar MRS-LP foram dissolvidos em água fervente e esterilizados a 121 °C durante 15 minutos. O pH do meio foi ajustado para $6,7 \pm 2$ com NaOH a 1N (LAPIERRE, et al., 1992). As placas foram incubadas utilizando jarras de anaerobiose pelo método da combustão com auxílio de uma vela, sendo a jarra hermeticamente fechada e mantida a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 72 horas (Figura 7). A vela queima até que o oxigênio seja esgotado e uma atmosfera microaerófila seja estabelecida, favorecendo o crescimento dos BB-12. Os resultados foram expressos em log unidade formadora de colônia por grama ($\log \text{UFC g}^{-1}$) (VINDEROLA; REINHEIMER, 1999).

5.6.2 Contagem de *Lactobacillus acidophilus* LA-5

Para contagem dos *L. acidophilus* foi utilizado o ágar MRS-M (Man, Rogosa and Sharpe – Maltose) (ACUMEDIA), já que a solução de maltose (NEON) adicionada ao meio permite apenas o crescimento desse microrganismo. Para o preparo da solução de maltose, 25 g de maltose foi dissolvida em 50 mL de água destilada e esterilizada passando através de uma membrana filtrante de 0,45 μm (Millipore®). Após o processo de filtração, foi adicionado 4 mL/100 mL da solução de maltose ao meio MRS previamente esterilizado (autoclave a 121 °C durante 15 minutos), em temperatura em torno de 50 °C. O meio

adicionado de maltose foi homogeneizado cuidadosamente para evitar a incorporação de ar (VINDEROLA; REINHEIMER, 1999; MORIYA et al., 2006).

Após a inoculação das bactérias, as placas foram dispostas em aerobiose a 37°C por 72 horas (Figura 7) e os resultados foram expressos em log unidade formadora de colônia por grama ($\log \text{UFC g}^{-1}$) (VINDEROLA; REINHEIMER, 1999).



Figura 7 – Etapas de incubação de bactérias probióticas. (A) Preparo da diluição 10^{-1} , (B) Diluição 10^{-1} dos LFA e LFC, (C) Diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} , (D) Placas inoculadas e adicionadas de meio MRS-LP e MRS-M, (E) Placas para contagem de BB-12 em jarras de anaerobiose e (F) Placas para contagem de LA-5.

5.7 QUANTIFICAÇÃO DE COMPONENTES BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NAS POLPAS DE FRUTA E NOS PRODUTOS FERMENTADOS

A quantificação dos fenólicos totais, antocianinas e capacidade antioxidante, dos leites fermentados e iogurtes com açaí e camu-camu nos teores de polpa de 5%, 10%, 15% e 20% (m/m) foram realizadas no dia 0 e a cada 7 dias durante 28 dias de armazenamento refrigerado de 4 ± 1 °C. Para as quantificações foram realizados testes preliminares a fim de determinar as concentrações das soluções estoque a serem preparadas, alíquotas a serem retiradas e a viabilidade de quantificação destes componentes nos leites fermentados e iogurtes com açaí e camu-camu durante o período experimental.

Após as avaliações prévias, verificou-se que os leites fermentados e os iogurtes com camu-camu, não apresentaram quantidades quantificáveis de antocianinas a partir do dia 7 de avaliação, e, portanto, esta análise não foi realizada para os produtos fermentados de camu-camu. Já para os leites fermentados e iogurtes com açaí, os teores de fenólicos totais, também já não eram quantificáveis a partir do dia 7 de avaliação, e, portanto, não foram determinados durante o período estudado.

5.7.1 Preparo das soluções estoque

Para o preparo das soluções estoque utilizadas nas quantificações de fenólicos nos produtos fermentados de camu-camu e determinação da atividade antioxidante pelo método de DPPH para os leites fermentados e iogurtes com açaí e com camu-camu, aproximadamente 2,5 g destes produtos em todas as concentrações de polpa (5%, 10%, 15% e 20%) foram homogeneizados em metanol e transferidos para balões volumétricos de 5 mL. Para as quantificações nas polpas de açaí e camu-camu foram preparadas soluções metanólicas de 0,5 g mL⁻¹ e 0,2 g mL⁻¹, atendendo aos mesmos critérios das solução preparadas para os produtos fermentados. Em seguida as soluções metanólicas foram submetidas à sonicação em ultrassom (modelo Unique – 1400 A) por 20 minutos e centrifugadas a 3400 RPM (CENTRIBIO, modelo 80-2b), também por 20 minutos, sendo o sobrenadante utilizado nas determinações de compostos fenólicos e atividade antioxidante.

5.7.2 Determinação de fenólicos totais nas polpas de fruta e nos produtos fermentados de camu-camu

Para a constituição das soluções contendo os compostos fenólicos, foram tomadas alíquotas da solução estoque em triplicata de 216 μL , 105 μL , 70 μL e 53 μL tanto para os leites fermentados quanto para os iogurtes nas concentrações de 5%, 10%, 15% e 20% respectivamente. Para as polpas de camu-camu e açaí foram tomadas alíquotas de 10 μL e 100 μL respectivamente. Em seguida foi adicionado 300 μL do reagente de Folin Ciocalteu, 2 mL de uma solução a 15% de carbonato de sódio (Na_2CO_3) e água destilada para aferir os balões volumétricos até volume final de 5 mL, seguindo o método proposto por Genovese; Lannes (2009) com adaptações. As soluções foram transferidas para tubos de ensaio com capacidade de 15 mL e centrifugadas a 3400 RPM por 5 minutos, em seguida foram mantidas em repouso por duas horas a temperatura ambiente e ao abrigo da luz. A absorbância foi medida a 798 nm em espectrofotômetro UV-visível (modelo UV - mini - 1240 - Shimadzu) e os resultados obtidos a partir da curva de calibração com ácido gálico e expressos em mg de AGE (ácido gálico equivalente) por 100 g de amostra.

5.7.3 Quantificação de antocianinas totais

A determinação de antocianinas totais foi realizada segundo o método descrito por Francis (1989), com algumas adaptações. Para esta quantificação, utilizou-se de 2,5 g dos leites fermentados e iogurtes com açaí nas concentrações de 5%, 10%, 15% e 20%. Para as quantificações nas polpas de açaí e camu-camu foram preparadas soluções com concentrações 0,25 g mL^{-1} e 0,10 g mL^{-1} . As soluções foram homogeneizadas, em triplicata, com solução extratora a base de etanol acidificado com ácido clorídrico (HCl 1,5N + Etanol 85:15) e transferidas para balões volumétricos de 10 mL onde permaneceram em repouso por 24 horas ao abrigo da luz e em temperatura ambiente. Após esse período as amostras foram transferidas para tubos de ensaio com capacidade para 15 mL e centrifugadas durante 20 minutos a 3400 RPM para em seguida serem filtradas em papel de filtro qualitativo. A absorbância do filtrado foi medida a 535 nm em espectrofotômetro UV-visível (modelo UV - mini - 1240 - Shimadzu), usando como branco, a solução extratora. Os resultados foram obtidos de acordo com a equação descrita a seguir:

$$\text{Antocianinas} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{\text{Abs} \times \text{FD}}{98,2}$$

Onde:

- Abs = absorvância das amostras centrifugadas e filtradas
- FD = fator de diluição (razão do peso da amostra pelo volume final de solução)

5.7.4 Determinação da capacidade antioxidante pelo método de DPPH nos leites fermentados, iogurtes e nas polpas de fruta

A capacidade antioxidante foi determinada através da redução do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) pelos antioxidantes presentes nas amostras e quantificada a partir da curva de calibração utilizando o Trolox como padrão de antioxidante (BRAND-WILLIANS et al., 1995; RUFINO et al., 2007) com adaptações. Os métodos para construção da curva de calibração, preparo e avaliação das amostras estão descritos a seguir :

a) Curva de calibração com Trolox

Para a construção da curva de calibração, foram preparadas soluções metanólicas de Trolox (5 µM) e de DPPH (0,06 mM) de forma que esta, apresentasse aproximadamente 0,6 de absorvância em 515 nm de comprimento de onda. A partir da solução de Trolox (5 µM), foram retiradas alíquotas crescentes de 5 µL, 35 µL, 70 µL, 105 µL e 140 µL, para preparar soluções com concentrações variando de 0,0025 a 0,07 µMol 5 mL⁻¹. As alíquotas foram transferidas em duplicata para balões volumétricos de 5 mL, onde foram adicionados 4 mL de DPPH e o volume aferido com metanol. Após repouso de 30 minutos em ambiente escuro, as absorvâncias das soluções foram medidas a 515 nm em espectrofotômetro UV-visível (modelo UV - mini – 1240 - Shimadzu), sendo o metanol utilizado como branco (Figura 8).



Figura 8 - Detalhe do descoramento da solução de DPPH (0,06 mM) a partir de alíquotas crescentes de Trolox (5 μ M) para construção da curva de calibração. Na sequência da esquerda para direita, alíquotas 5 μ L, 35 μ L, 70 μ L, 105 μ L e 140 μ L.

b) Preparação e avaliação da capacidade antioxidante

As alíquotas retiradas das soluções estoque preparadas a partir dos leites fermentados e iogurtes com açaí e camu-camu foram otimizadas seguindo recomendações de Nenadis et al., 2004, com adaptações, permitindo a observação do comportamento das amostras durante 28 dias de avaliação (Tabela 4) . As alíquotas tomadas para a determinação da atividade antioxidante nas polpas de açaí e camu-camu foram de 100 μ L e 40 μ L. .

Tabela 4 - Alíquotas utilizadas para determinação da atividade antioxidante pelo método de DPPH.

Concentração de polpa (%)	LFC	IC	LFA e IA
	Alíquotas (μ L)		
5	67,5	45,0	845,0
10	34,0	25,0	630,0
15	25,5	20,0	420,0
20	15,0	15,0	312,0

As alíquotas foram adicionadas de 4 mL da solução de DPPH e o volume completado com metanol até 5 mL em balão volumétrico. As soluções ficaram em repouso por 30 minutos ao abrigo da luz, e após esse período, as absorbâncias foram medidas a 515 nm. Os resultados foram obtidos através da curva de calibração e foram expressos em μ Mols equivalente de Trolox (μ Mol TE).

5.8 ANÁLISE SENSORIAL

Os leites fermentados com açaí e com camu-camu foram submetidos à análise sensorial por uma equipe de 60 provadores não treinados no LTPA EAgro/UFRR, sendo aplicados testes de ordenação-preferência e aceitabilidade mediante escala hedônica.

O teste de ordenação-preferência foi utilizado para determinar a preferência entre leites fermentados com açaí em suas diferentes concentrações de polpa (5%, 10%, 15% e 20%), assim como para os de camu-camu, obedecendo a mesma logística. Neste estudo, não foram avaliadas diferenças entre os sabores. O julgador ordenou as amostras estabelecendo uma escala decrescente das amostras mais preferidas para as menos preferidas. (MINIM, 2006).

A escala hedônica estruturada de 9 pontos, desde desgostei muitíssimo (1) até gostei muitíssimo (9) avaliou os parâmetros de cor, aroma, sabor, acidez, e aparência global (CHAVES, 2001) dos leites fermentados elaborados neste experimento.

Os provadores receberam aproximadamente 40 mL de cada amostra com temperatura entre 4 – 8 °C, em copos de plástico descartáveis com capacidade para 50 mL, codificados com números aleatórios de três dígitos (MININ, 2006).

O modelo de ficha utilizado para avaliar a aceitabilidade dos produtos está apresentado na Figura 9.

ANÁLISE SENSORIAL – Leite fermentado

Nome: _____ Data: __/__/2015

Sexo: _____ Idade: _____

1. Avalie cada uma das amostras de leite fermentado codificadas e use a escala abaixo para identificar o quanto você gostou ou desgostou de dos atributos COR, AROMA, SABOR, ACIDEZ e APARÊNCIA GLOBAL de cada amostra.

9	Gostei muitíssimo
8	Gostei muito
7	Gostei moderadamente
6	Gostei levemente
5	Indiferente
4	Desgostei levemente
3	Desgostei moderadamente
2	Desgostei muito
1	Desgostei muitíssimo

Amostra	Cor	Aroma	Sabor	Acidez	Aparência Global
171					
222					
312					
016					

2. Das amostras experimentadas, por favor, ordene-as de acordo com sua preferência:

Primeiro lugar (preferida) _____

Segundo lugar _____

Terceiro lugar _____

Quarto lugar _____

Figura 9 - Modelo de ficha de avaliação sensorial.

5.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Nos dados da caracterização físico-química e de composição nutricional dos leites fermentados com açaí e com camu-camu após o processamento (dia 0) foi realizada análise de variância (ANOVA), seguido do Teste de Tukey a 5% de significância para avaliar o efeito dos teores de polpa nos leites fermentados.

Para análise dos dados de pós-acidificação, de componentes bioativos e de atividade antioxidante dos leites fermentados e iogurtes, foi estabelecido delineamento inteiramente casualizado (DIC) em fatorial triplo 2 x 5 x 5 (2 tipos de produtos fermentados x 5 teores de polpa x 5 períodos de avaliação) sendo os dados submetidos a análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey e análise de regressão a 5% de significância. A correlação de *Pearson* (r^2) foi realizada para verificar a influência dos componentes fenólicos e antocianinas na atividade antioxidante dos leites fermentados e iogurtes com camu-camu e açaí. As correlações foram determinadas com auxílio do Microsoft Excel 2010.

Para análise dos dados de cor dos leites fermentados e iogurtes com açaí, foi estabelecido delineamento inteiramente casualizado (DIC) em fatorial triplo 2 x 5 x 2 (2 tipos de produtos fermentados x 4 teores de polpa x 2 períodos de avaliação) sendo os dados submetidos a análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey a 5%, a fim de avaliar a diferença total de cor entre os dias 0 e 28 de avaliação.

Os dados das contagens de *Bifidobacterium* BB-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 expressos em log UFC g⁻¹ foram avaliados mediante análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey a 5%, de significância.

Os dados do teste de ordenação foram avaliados com base no teste de soma de ordens de Friedman, conforme descrito por Minim (2006). Para avaliação dos dados do teste de aceitabilidade mediante escala hedônica foi utilizada análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey a 5% de significância.

Os dados foram avaliados utilizando o programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2011).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E DE COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL

As avaliações físico-químicas e de composição nutricional das polpas de açaí e de camu-camu estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Valores de composição nutricional e características físico-químicas das polpas dos frutos de camu-camu.

Parâmetros	Camu-Camu	Açaí
pH	2,50	4,91
Acidez titulável (g ác. cítrico 100g ⁻¹)	2,81	0,26
Sólidos Solúveis (°Brix)	10,20	4,50
Umidade (%)	94,04	91,24
Sólidos Totais (%)	1,37	8,76
Proteínas (%)	0,08	0,38
Lipídios (%)	0,20	4,01
Açúcares Totais (%)	0,57	1,07
Açúcares redutores (%)	0,29	0,84
Cinzas (%)	0,012	0,046
Valor energético (Kcal)	40,73	438,75

A polpa de camu-camu apresentou baixo pH e elevado valor de acidez, considerada boa característica tecnológica para industrialização de produtos alimentícios, considerando tempo e tipo de tratamento térmico aplicado (MAEDA; ANDRADE, 2003), uma vez que a necessidade de tempos menores de aplicação de calor matém as propriedades nutricionais de componentes importantes como os compostos fenólicos totais e vitamina C. Além disso, alimentos onde o pH é inferior a 4,0, ou seja, muito ácido, há inibição no desenvolvimento microbiano, entre os quais pode-se citar fungos e principalmente bactérias (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

O valor de pH está de acordo com os resultados obtidos por Silva et al. (2014), que encontrou valores de 2,51 em camu-camus de Roraima e por Zanatta; Mercadante (2007) em frutos de camu-camu produzidos em diferentes regiões de São Paulo (2,6 a 2,9). Os resultado de acidez concordou concordou com valores encontrados por Peuckert et. al.

(2010) (2,18%) e Alves et al. (2002) (2,86%). A polpa de camu-camu não está incluída na 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 (PIQ), portanto não há como estabelecer limites mínimos e máximos para as características físico-químicas e nutricionais deste alimento.

A polpa de açaí se classificou como alimento de baixa acidez, pois apresentou pH maior que 4,5, estando susceptível a contaminação microbiana por fungos e bactérias (FRANCO; LANDGRAF, 2008). O PIQ estabelece que os valores de pH estejam compreendidos entre 4,0 e 6,2, e portanto, a polpa avaliada neste estudo atende aos requisitos estabelecidos na legislação. Os resultados estão de acordo com os de Silva et al. (2004) 4,8 e Oliveira et al. (2011a) 4,6, que estudaram a composição dos frutos de *Euterpe oleracea* para diferentes finalidades.

Em relação à acidez, o PIQ preconiza que os limites mínimos e máximos obedçam à classificação da polpa quanto ao teor de sólidos totais, que nesse estudo se enquadraram como açaí fino, com teores de sólidos entre 8,0% e 11,0% e acidez correspondente de 0,27 g de ácido cítrico 100g⁻¹, portanto a polpa de açaí atende ao critério previsto e os resultados de acidez corroboram com os observados por Leite (2015) e Alexandre et al. (2003).

O teor de sólidos solúveis apresentaram valores superiores aos encontrados por Silva (2012) (6,71 °B) e Alves et al. (2002) que detectaram valor de 6,36°B, estudando camu-camus em Roraima e no Pará. Segundo Maeda; Andrade (2003) os sólidos solúveis no camu-camu são representados de forma destacada (mais de 40%) por ácidos orgânicos, e os açúcares estão em baixas concentrações, concordando com os baixos valores de açúcares redutores e totais encontrados nesta polpa. Os açúcares totais e redutores estão de acordo com os valores encontrados por Silva (2012) – 1,50% e 0,90%, respectivamente, em frutos de camu-camuzeiro de Roraima, indicando que os frutos apresentam baixo grau de doçura e elevada acidez.

Para a polpa de açaí os teores de sólidos solúveis não estão descritos no PIQ, entretanto, os teores de açúcares totais devem atender o limite máximo 40 g 100 g⁻¹, não sendo estabelecidos valores mínimos para esta variável. Os teores de sólidos solúveis, apresentados foram inferiores aos verificados para a polpa de camu-camu, devido a menor acidez da polpa de açaí. Além disso, os baixos valores de açúcares totais corroboram com observações de Maeda; Andrade (2003), quanto à contribuição desses componentes na composição do Brix. Os resultados obtidos para SS e açúcares totais concordou concordaram

com os observados por Neves et al. (2015) que encontram teor de SS de 4,0 °Brix, e açúcares totais de 1,92 %, em açaí armazenado sob-refrigeração.

O teor de umidade, em ambas as polpas, apresentaram valores elevados característicos de produtos vegetais frescos, indicando que estes frutos são perecíveis e passíveis de contaminação microbiana (FRANCO; LANDGRAF, 2008), entretanto, a elevada acidez da polpa de camu-camu reduz possíveis desenvolvimentos de microrganismos relacionados à elevada umidade de produto. Os resultados obtidos neste trabalho concordou concordou com os de Dib Taxi (2001) (91,3%) em camu-camu proveniente do Pará e com Nascimento et al. (2008) (89,18%), em polpas frescas de açaí.

Concordado com os dados de composição centesimal de produtos de origem vegetal e de Peuckert et. al. (2010), o camu-camu apresentou baixos teores de proteínas (0,08%) e de lipídios (0,20%), justificando o baixo valor energético desta polpa.

Para a polpa de açaí, a legislação prevê que os percentuais de proteínas e lipídios, em base seca, sejam de no mínimo 5,0% e 20%, respectivamente, e, portanto, as polpas avaliadas neste trabalho atenderam aos padrões previstos por Brasil (2000). Dentro da composição do açaí, pode-se verificar que os lipídios são os constituintes de maior concentração, sendo o principal componente na construção do valor energético desta fruta.

Para a avaliação dos resultados obtidos nas análises físico-químicas e de composição nutricional dos leites fermentados com açaí e camu-camu, foi avaliada a influência dos teores de polpa sobre as variáveis: sólidos solúveis (SS), umidade, extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD), proteínas, lipídios, cinzas, açúcares totais, açúcares redutores e valor calórico (Tabela 6). A polpa de camu-camu influenciou de forma significativa as variáveis SS, EST, ESD, açúcares totais, proteínas, lipídios e valor calórico, enquanto a polpa de açaí mostrou efeito significativo apenas para as variáveis SS e cinzas

A partir dos valores obtidos para SS, tanto nos LFC quanto nos LFA, verificou-se redução dos teores conforme o percentual de polpa foi aumentado. Este comportamento, relaciona-se provavelmente ao aumento no teor de água dos produtos em função da adição das polpas. Estes dados concordaram com os resultados observados para a variável umidade nos LFC, onde se verificou o aumento de umidade conforme o teor de polpa foi aumentado.

A variável EST mostrou comportamento contrário aos SS, ou seja, diminuíram significativamente conforme o teor de polpa foi aumentado. Este resultado concordou com os de Silva et al. (2014), que encontraram valores de umidade (77% e 79%) e EST (22% a 20%) variando de forma inversamente proporcional, conforme os teores de polpa de camu-camu, foram aumentados.

Tabela 6 - Composição nutricional e características físico-químicas dos iogurtes nas quatro concentrações de polpa de camu-camu e açaí

Características	LFC			
	5%	10%	15%	20%
Sólidos solúveis	19,90a	19,37a	18,23b	17,90b
Umidade (%)	74,71b	76,39a	77,16a	77,34a
EST (%)	25,28a	23,61b	22,83b	22,60b
ESD (%)	22,91a	20,83b	19,95b	19,59b
Proteínas (%) *	5,32a	4,13b	4,11b	4,00b
Lipídios (%) *	2,37d	2,78c	2,92b	3,08a
Cinzas (%)	0,91a	0,73a	0,88a	0,85a
Açúcares totais (%) *	11,57c	12,14b	12,49a	12,50a
Açúcares redutores (%)	2,52a	2,36b	2,38b	2,26b
Valor calórico (Kcal)	88,89b	91,10ab	92,68ab	93,72a

Características	LFA			
	5%	10%	15%	20%
Sólidos solúveis (Brix)	20,50a	19,03b	18,83b	18,56b
Umidade (%)	79,30a	77,56a	78,80a	78,96a
EST (%)	20,69a	22,44a	21,20a	21,04a
ESD (%)	14,68a	17,15a	16,62a	15,77a
Proteínas (%) *	3,60a	4,56a	4,05a	3,75a
Lipídios (%) *	4,58a	5,26a	5,28a	6,01a
Cinzas (%)	0,77a	0,66ab	0,69ab	0,64b
Açúcares totais (%)	12,32a	12,34a	12,43a	12,45a
Açúcares redutores (%)	2,07b	2,24a	2,12b	2,10b
Valor calórico (Kcal)	104,90b	114,09a	113,44a	118,89a

* resultados expressos em base seca

Letras minúsculas diferentes na mesma linha mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$) a 5% de probabilidade

Nos LFA, a umidade e o EST não foram influenciados significativamente pelo teor de polpa, porém estão de acordo com os valores encontrados por Leite (2015) que obtiveram 77% e 23%, respectivamente, em iogurtes probióticos de açaí. Entretanto, estudos realizados por Oliveira et al. (2011b) e Costa et al. (2012) apresentaram valores de umidade em torno de 67% e 82% e extrato seco total de 33% e 17% em iogurtes com açaí e juçaí, respectivamente, mostrando valores diferentes dos encontrados neste estudo. As variações nos

resultados para estas variáveis dependem da formulação inicial dos produtos fermentados e dos teores de sólidos incluídos, tais como açúcar, polpas de fruta, fibras probióticas, leite em pó, entre outros.

O EST avalia o teor de sólidos totais presentes nos produtos lácteos, e tem objetivo de valorizar as propriedades físicas do produto como: consistência do iogurte firme, viscosidade do iogurte batido e atributos sensoriais de sabor e aroma e que atenda o percentual de aproximadamente 16% (ÖZER, 2010), nesse sentido, os iogurtes avaliados neste trabalho superam os valores recomendados pelo autor, e provavelmente estão relacionados à adição de polpa aos LF.

Os valores de ESD dos LFC foram superiores aos dos LFA, sendo este comportamento justificado pelos elevados teores de lipídios na polpa de açaí. Estes dados concordaram com os resultados de Cipriano et al. (2014) que encontraram valores de ESD variando de 10% a 13% em iogurtes com diferentes concentrações de polpa de açaí e Silva et al. (2014) que encontraram valores de ESD variando entre 17% a 20% em iogurte adicionados de polpa de camu-camu em diferentes concentrações. Os teores de ESD observados neste trabalho foram superiores aos encontrados na literatura.

A Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que estabelece Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (PIQLF), prevê que o teor de proteínas seja no mínimo de 2,9%, estando os LFC e LFA em todos os teores de polpa dentro da legislação. Os resultados para LFA superam os encontrados por Oliveira et al. (2011b) (2,59%) e Costa et. al (2012) (1,82%). Os LFC mostraram redução no teor de proteínas conforme o teor de polpa de camu-camu foi aumentado, em função do aumento no teor água e maior dispersão das proteínas lácteas, sendo os percentuais encontrados neste trabalho superiores aos observados por Silva et. al (2014).

Segundo Brasil (2007a), os produtos fermentados podem se classificar quanto ao teor de matéria gorda em produtos fermentados com creme (mínimo 6%), integrais (3,0 a 5,9%), parcialmente desnatados (0,6 a 2,9%) e desnatados (máximo 0,5%). Nesse sentido os LFA com teores de polpa até 15%, se caracterizaram como integrais, enquanto o LFA 20%, foi classificado como com creme. Os LFC com teores de polpa até 15% classificaram-se como parcialmente desnatados, enquanto o LFC 20% foi considerado integral. Os resultados obtidos nos LFA concordaram com os de Leite (2015) (4,16%) e os de camu-camu com os de Silva et al. (2014) (2%).

Os açúcares totais no LFC mostraram aumento significativo quando os teores de polpa de camu-camu foram aumentados, enquanto nos LFA, não houve diferença significativa

para esta variável. Os carboidratos, os lipídios e as proteínas, contribuem para a definição do valor calórico dos alimentos e nesse sentido verificou-se que nos LFC e LFA, os açúcares totais corresponderam em média 53% e 43% das calorias dos leites fermentados, respectivamente, superando as calorias relacionadas aos lipídios. Mendes et al. (2015) estudando iogurtes com açaí reduzidos em açúcares, verificaram diminuição calórica de 48,11% e 57,46% em iogurtes com 10% e 20% de polpa de açaí, indicando que os açúcares, influenciam significativamente o valor calórico destes produtos.

6.2 PÓS-ACIDIFICAÇÃO EM LEITES FERMENTADOS E IOGURTES COM AÇAÍ E CAMU-CAMU

Tanto para o pH quanto para acidez titulável (AT) verificou-se que as interações teor de polpa x tipo de produto fermentado, tipo de produto fermentado x dias de armazenamento e tipo de produto fermentado x teor de polpa x dias de armazenamento foi significativa a 5% de probabilidade, assim como os efeitos simples dados pelo tipo de produto fermentado, teor de polpa e dias de armazenamento.

Observando as médias de pH dentro dos teores de polpa, verificou-se que os resultados obtidos nos LFA, LFC e IC, reduziram significativamente ($p \leq 0,05$) de forma linear (Figura 10) conforme os teores de polpa foram aumentados, mostrando influência das polpas nesta variável. Quanto ao IA, as variações de pH não seguiram padrão decrescente linear, não sendo possível estabelecer ajustes em modelos de regressão até o segundo grau.

Considerando os tipos de produto fermentado, iogurtes e leites fermentados com açaí e camu-camu, os valores de pH foram significativamente ($p \leq 0,05$) superiores nos iogurtes, relacionado a presença de *Lactobacillus bulgaricus*, microrganismo responsável pela acidificação natural destes produtos pós-processamento.

Considerando a influência da polpa de fruta nos iogurtes e leites fermentados, observou-se menores valores de pH nos IC e LFC em todos os teores de polpa aplicados, quando comparados com os IA e LFA. Estes resultados se justificam devido à elevada acidez da polpa de camu-camu.

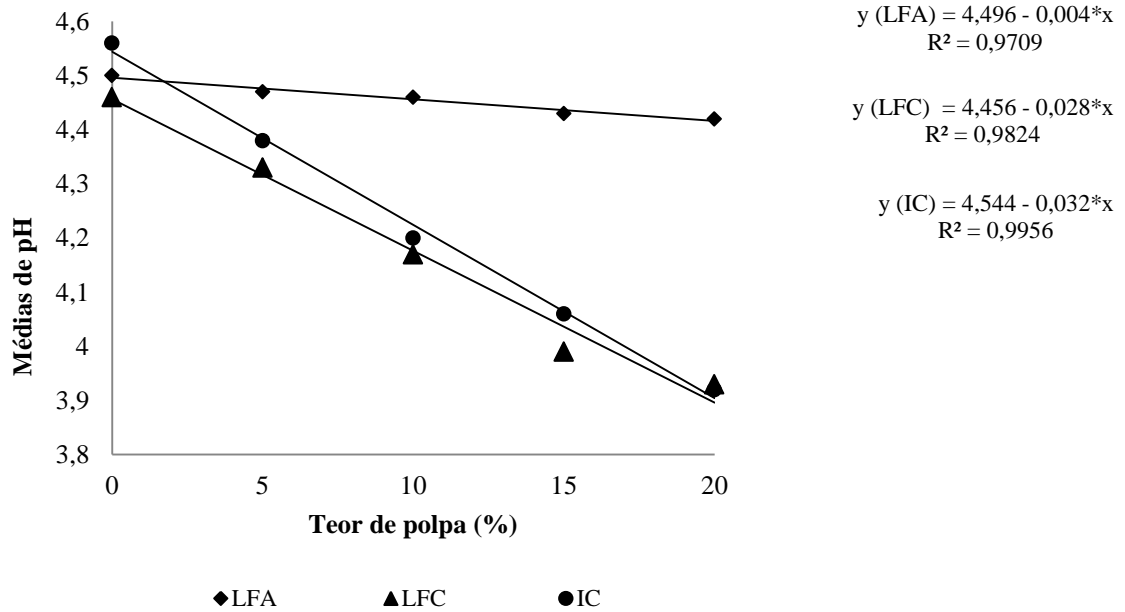
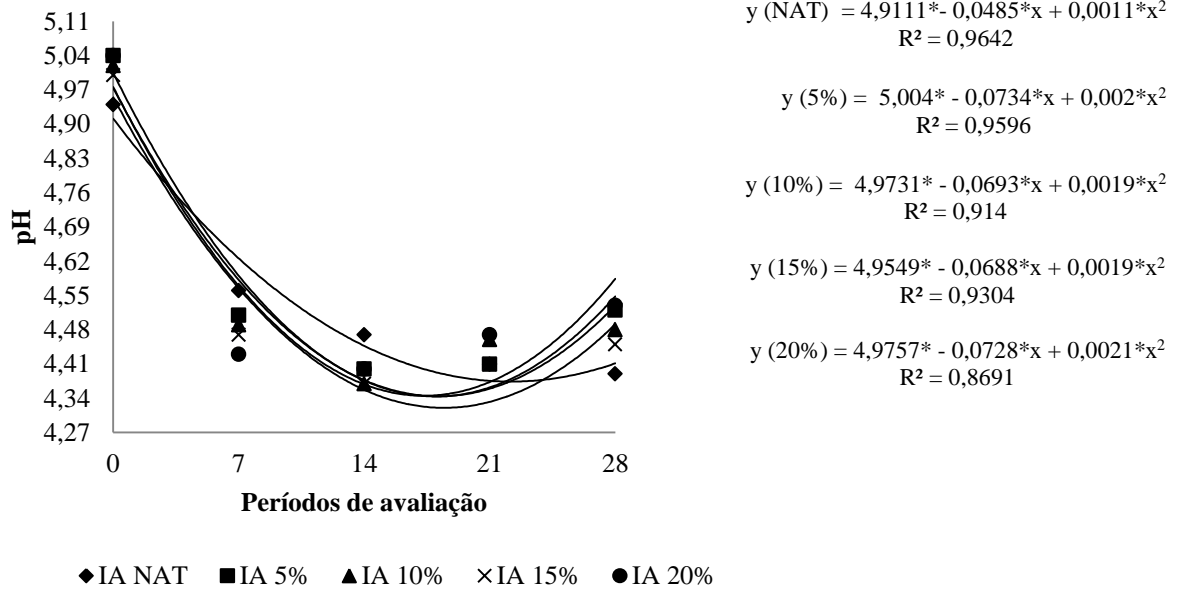


Figura 10– Médias dos valores de pH em função dos teores de polpa de açaí e camu-camu em leites fermentados e iogurtes.

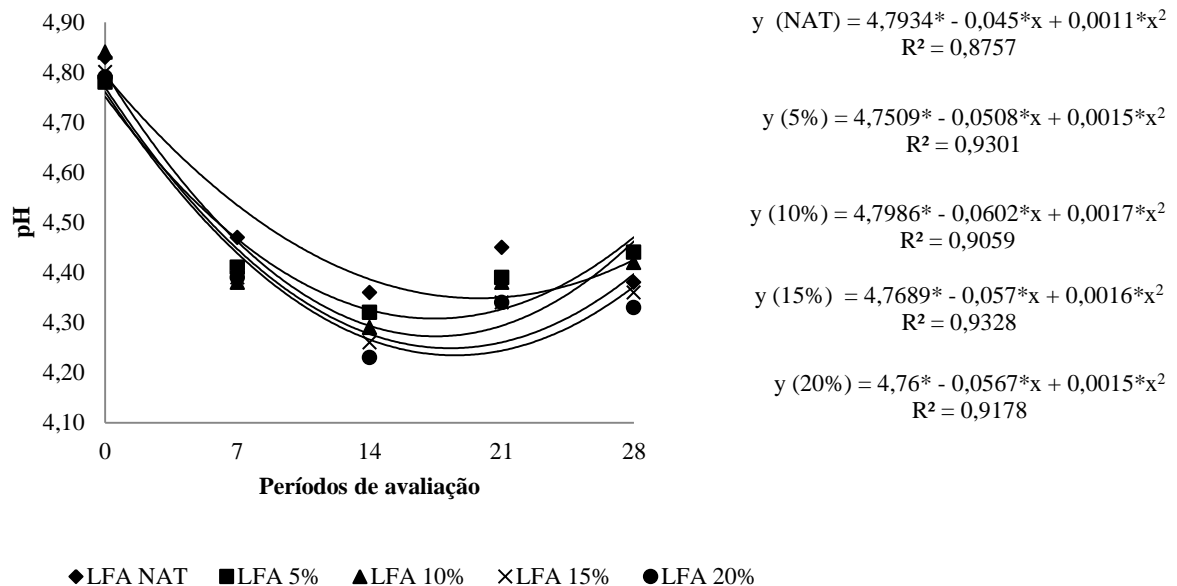
Considerando a interação teor de polpa x produto fermentado x dias de avaliação, observou-se nos LFA e IA redução significativa ($p \leq 0,05$) nos valores de pH até o dia 14, com posterior aumento nos dias 21 e 28, ajustando-se em modelos de regressão do 2º grau para todos os teores de polpa (Figura 11).

Entre os tipos de produto fermentado estudados, verificou-se que os IA apresentaram maiores reduções médias de pH (12,3%) no fim do período de estocagem de 28 dias, do que os LFA (10,8%), sendo observado, em ambos os produtos, que as maiores reduções se concentraram entre os dias 0 e 7 de avaliação. Oliveira; Damin (2003), estudando diferentes teores de sólidos e sacarose em leites fermentados, também verificaram maiores efeitos de acidificação entre os dias 0 e 7 de avaliação, concordando com os resultados apresentados neste trabalho.

Relacionando a acidificação dos leites fermentados de açaí com a contagem de *Lactobacillus acidophilus* (LA-5), pôde-se observar que o incremento no teor de polpa, favoreceu a redução dos valores de pH, nos LFA 15% e LFA 20%, onde as reduções nas unidades formadoras de colônias (UFC g^{-1}) de LA-5 foram menores que nos LFA 5% e LFA 10%, apontando influência positiva do açaí desenvolvimento de bactérias probióticas



(A)



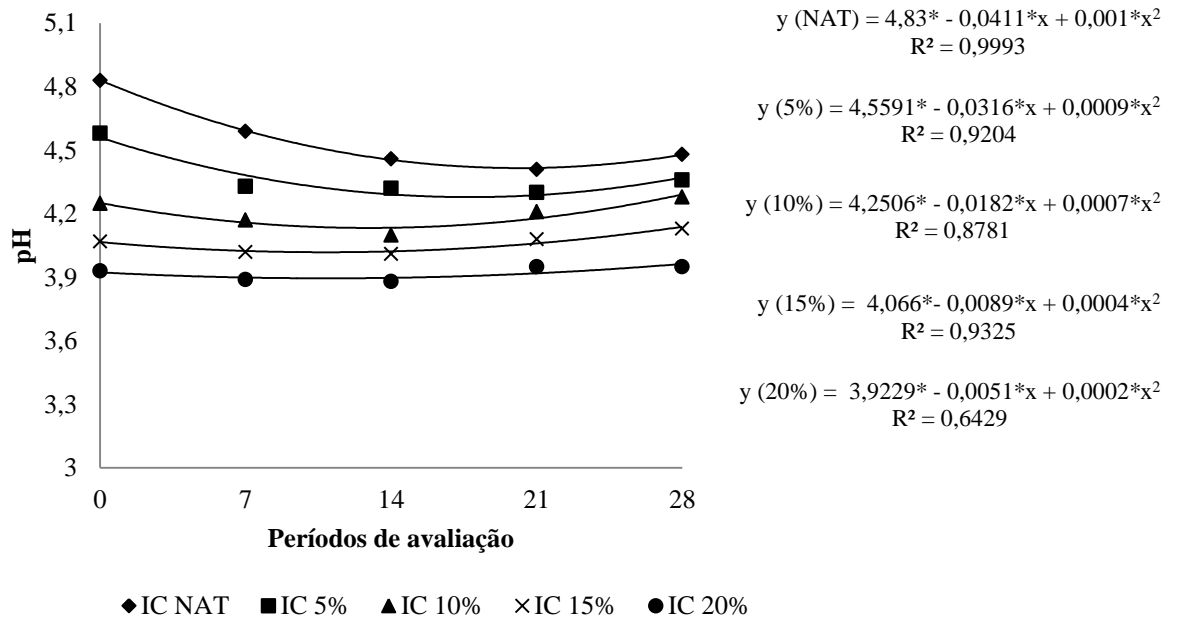
(B)

Figura 11 – Valores de pH em (A) iogurtes e (B) leites fermentados com açaí durante 28 dias de armazenamento.

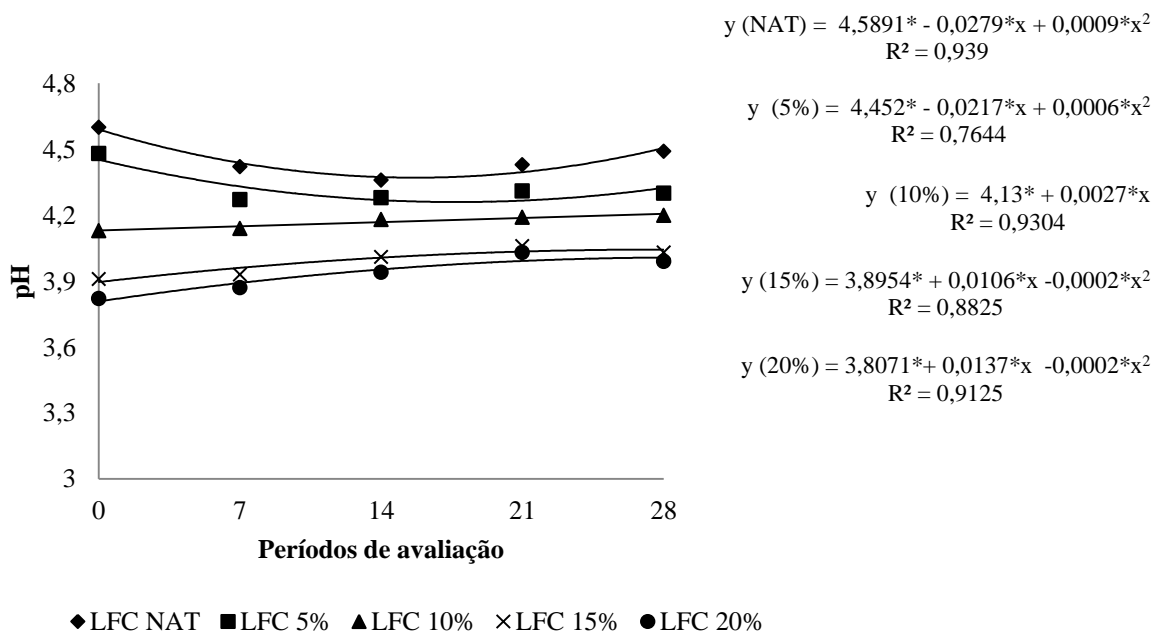
Ainda avaliando a interação teor de polpa x produto fermentado x dias de avaliação para a variável pH, porém observando os produtos fermentados de camu-camu, verificou-se que para os IC, em todos os teores de polpa, e LFC, exceto na concentração de 10% houve ajuste quadrático das regressões às linhas de tendência (Figura 12). Considerando os dias de avaliação, observou-se nos IC, em todos os teores de polpa, redução significativa ($p \leq 0,05$) dos valores até o dia 14 de armazenamento, com posterior aumento nos dias 21 e 28,

comportamento semelhante aos IA e LFA. Já nos LFC, foram verificadas reduções nos LFC nat e no LFC 5%, enquanto as demais concentrações tiveram incremento significativo nos valores de pH, provavelmente relacionado decréscimo no número de unidades formadoras de colônia (UFC g⁻¹) de LA-5 na ordem de 5,4%, 2,27% e 1,92% para os LFC 10%, LFC 15% e LFC 20%, respectivamente, promovendo redução na acidificação.

Assim como no LFA e IA, as reduções de pH nos IC, em todos os teores de polpa e nos LFC nat e LFC 5%, foram maiores entre os dias 0 e 7 de armazenamento.



(A)



(B)

Figura 12 – Valores de pH em (A) iogurtes e (B) leites fermentados com camu-camu durante 28 dias de armazenamento.

Os iogurtes, assim como os leites fermentados 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 presentes nos produtos fermentados (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001b). Entretanto, as reduções de pH pós-acidificação ocorreram de maneira mais acentuada nos IA e IC sendo explicadas pela presença de *Lactobacillus bulgaricus*, principal responsável pela acidificação pós processamento.

Ao contrário do que se observa para os iogurtes, nos leites fermentados, as bactérias probióticas *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus acidophilus* promovem pós-acidificações mais discretas que as geradas pelos *Lactobacillus bulgaricus*, devido a baixa taxa proteolítica promovida por estes microrganismos (GOMES; MALCATA, 1999), o que justifica as menores reduções de pH nos leites fermentados de açai, e camu-camu.

As reduções nos valores de pH entre os dias 0 e 7 de avaliação, nos leites fermentados e iogurtes com açai e camu-camu, concordaram com as observações de Oliveira; Damin et al. (2003), que estudaram leites fermentados em diferentes teores de sólidos e sacarose e Espirito Santo (2012) avaliando iogurtes probióticos com polpas de frutos nativos, verificaram o mesmo comportamento para esta variável.

De acordo com Franco; Landgraf (2008), os valores de pH obtidos neste trabalho para iogurtes e leites fermentados com açai e camu-camu, com exceção do IC 20 %, LFC 15% e LFC 20%, os classificaram como alimentos ácidos (pH entre 4,0 - 4,5), sendo as exceções classificadas como alimentos muito ácidos (pH < 4,0). Valores de pH abaixo de 4,0 nos IC 10%, LFC 15% e LFC 20% influenciaram negativamente as contagens de LA-5 devido aos valores de tolerância admitidos por essas bactérias variarem entre valores de pH abaixo de 5,0 até 6,2 (KANDLER; WEISS, 1986).

De maneira inversa ao pH, os resultados de acidez titulável para todos os produtos fermentados aumentaram significativamente ($p \leq 0,05$), conforme o teor de polpa foi aumentado, sendo os produtos fermentados de camu-camu os mais ácidos entre todos os estudados. As regressões ajustaram-se significativamente em modelos quadráticos e linear (Figura 13).

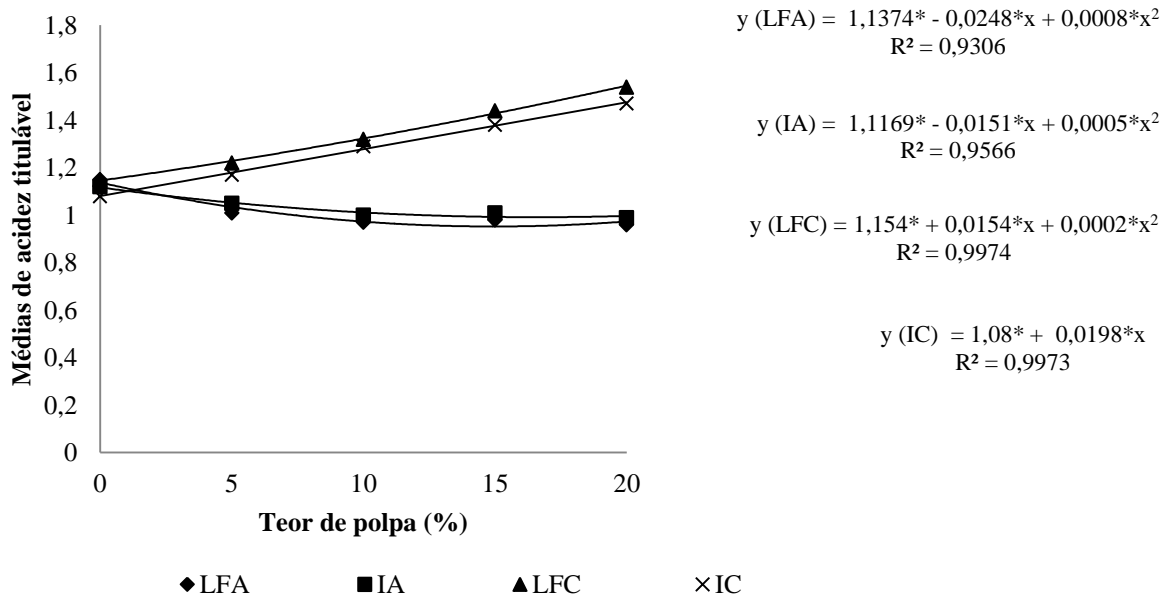


Figura 13 – Médias dos valores de acidez titulável (g de ácido láctico 100g⁻¹) em função dos teores de polpa de açaí e camu-camu em leites fermentados e iogurtes.

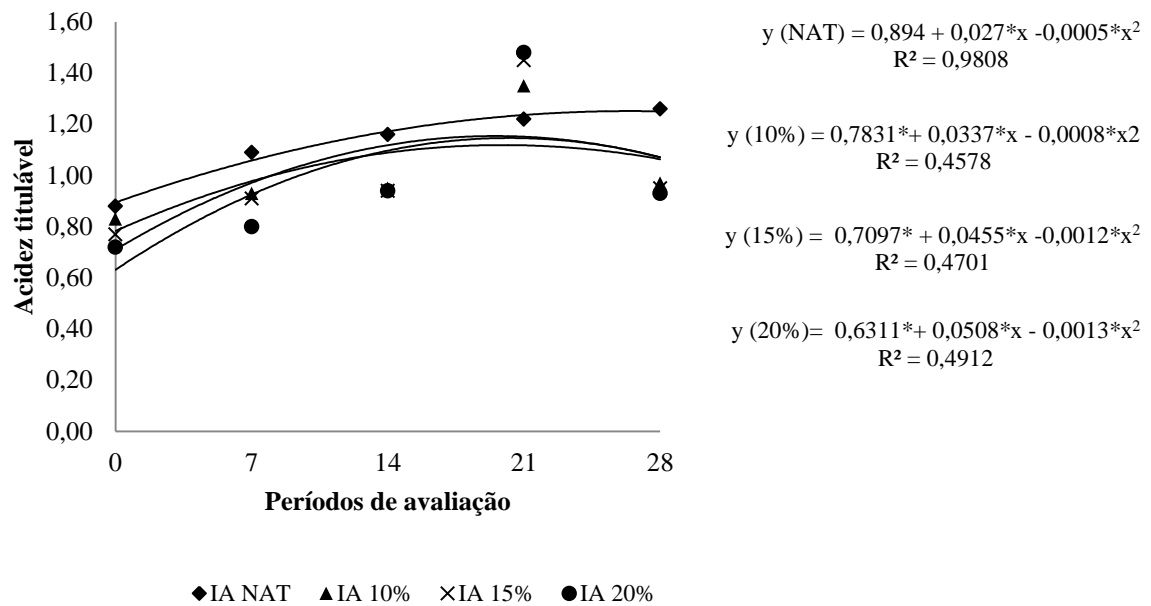
Considerando a interação teor de polpa x produto fermentado x dias de avaliação, observou-se nos LFA e IA aumento significativo ($p \leq 0,05$) nos valores AT até o dia 21 seguido de redução no dia 28. O comportamento da AT nos produtos fermentados de açaí ajustaram-se em modelos de regressão do 2º grau para todos os teores de polpa (Figura 14). Entre os tipos de produto fermentado estudados, verificou-se que os IA apresentaram aumentos médios de AT na ordem de 40%, sendo maiores que os observados nos LFA (22%) ao fim do período de estocagem.

Foram observados aumentos médios significativos na AT dos IA entre os dias 0 e 7 (14,5%) e 14 e 21 (25%), com exceção do IA nat neste último período. Além disso, o aumento no teor de polpa promoveu maiores aumentos na AT durante o período avaliado, sendo o IA 20% o produto fermentado mais ácido ao fim da estocagem.

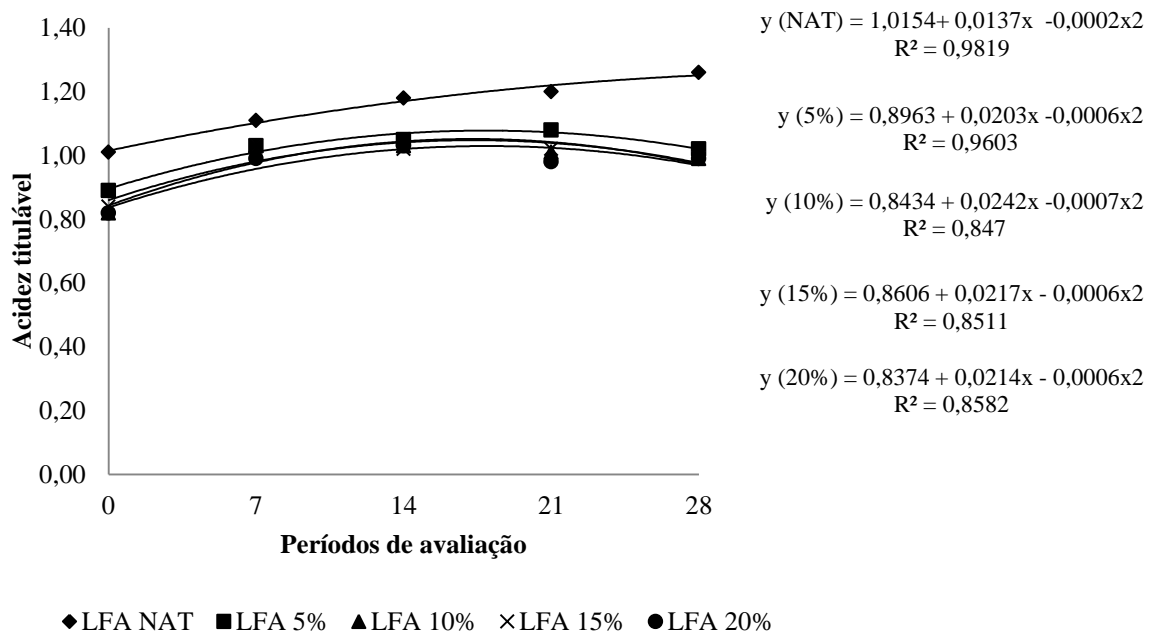
Assim como os IA, os LFA apresentaram aumentos diretamente proporcionais ao aumento no teor de polpa de açaí, sendo o LFA 20% mais ácido que os demais. Entretanto, os aumentos de AT nestes produtos foram mais evidentes apenas entre os dias 0 e 7 de avaliação correspondendo a um aumento de 14%.

O LFA nat apresentou aumento de AT superior aos LFA em todas as concentrações durante todo o período de avaliação, e considerando a contagem de UFC g⁻¹ de LA-5, o LFA nat mostrou aumento de 7% na contagem entre os dias 0 e 7 de avaliação, enquanto os demais LFA's mostraram redução (principalmente LFA 5% e LFA 10%),

portanto confirmando a maior acidificação deste produto neste período e mostrando influencia da polpa de açaí no desenvolvimento dos microrganismos pós-acidificação.



(A)



(B)

Figura 14– Valores de acidez titulável em (A) iogurtes e (B) leites fermentados com açaí durante 28 dias de armazenamento refrigerado.

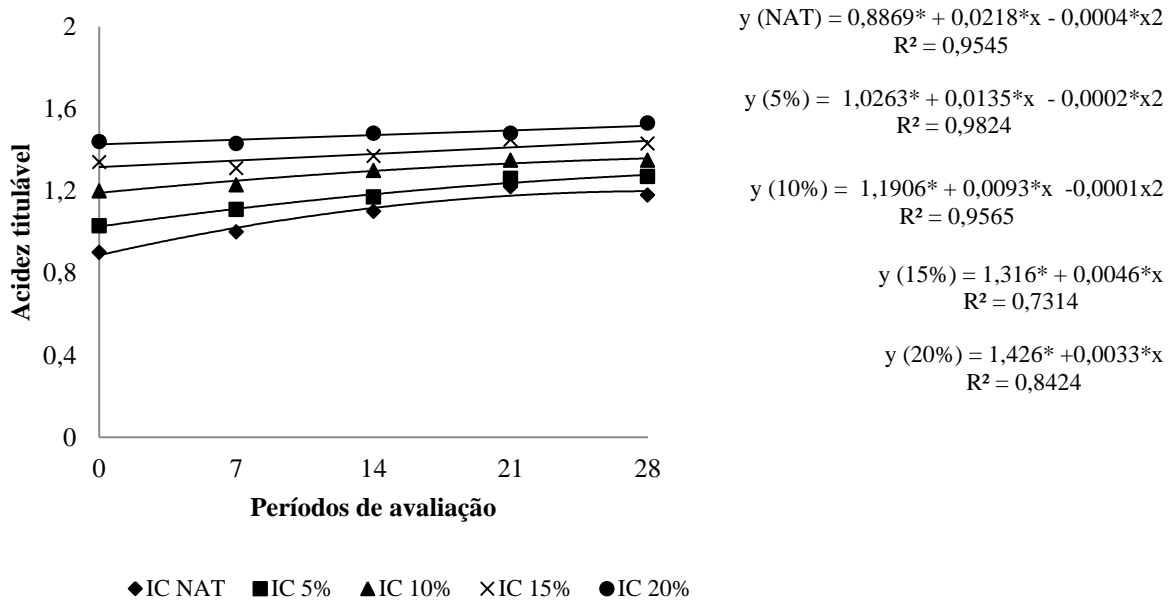
Os IC e LFC e seus teores de polpa adicionados apresentaram aumento significativo ($p \leq 0,05$) na AT conforme o teor de polpa foi aumentado, mostrando ajustes de

regressão em 1° e 2° graus. O LFC 15%, não se ajustou aos modelos propostos, e, portanto, não está apresentado na Figura 15.

Considerando a interação teor de polpa x produto fermentado x dias de avaliação, os IC mostraram aumento na AT até fim do armazenamento de 28 dias. Foi verificado que as maiores porcentagens de acidificação se concentraram nos IC nat, IC 5% e IC 10% com incrementos de acidez de 31%, 18,9% e 11%, respectivamente, durante o período de avaliação sendo os aumentos mais evidentes entre os dias 0 e 14 de armazenamento.

Comparando os IC e LFC quanto ao comportamento da AT, observou-se que os iogurtes apresentaram mais acidificação (14%) que os leites fermentados (5%) ao fim da estocagem, situação relacionada às espécies distintas de microrganismos presentes nos produtos

Os LFC 5% e LFC 10% apresentaram acidificações até o dia 28 de avaliação da ordem de 5,5% e 8,7% respectivamente, enquanto que os LFC 15% e LFC 20% mostraram baixas taxas de acidificação visualizadas a partir do dia 21 de estocagem. O LFC nat apresentou o mesmo comportamento do LFA nat, mostrando maior aumento de AT durante o período estudado.



(A)

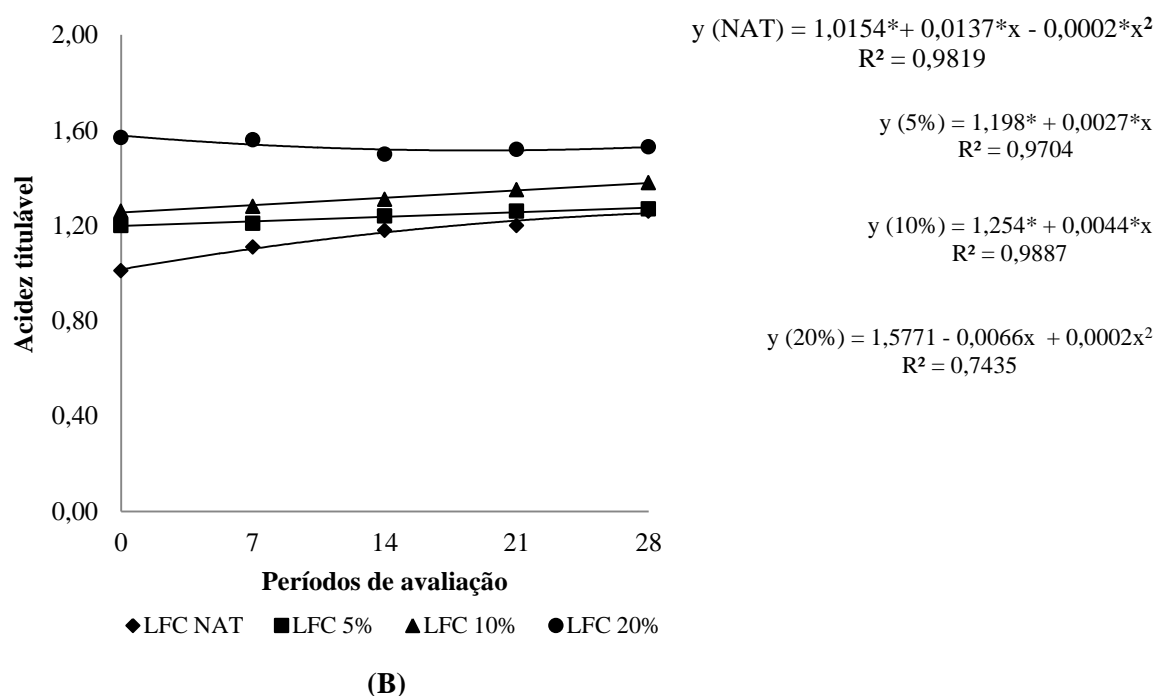


Figura 15– Valores de acidez titulável em (A) iogurtes e (B) leites fermentados com camu-camu durante 28 dias de armazenamento refrigerado.

A Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007, que estabelece o Padrão de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, preconiza que a acidez titulável de iogurtes deve estar entre 0,6 a 1,5 g de ácido láctico 100g⁻¹, enquanto que para leites fermentados este valor deve ser de 0,6 a 2,0 g de ácido láctico 100 g⁻¹, portanto, todos os produtos fermentados obtidos neste trabalho, atenderam a legislação quanto aos limites mínimos e máximos. Entretanto, concluiu-se que valores de acidez a partir de 1,20 g de ácido láctico 100g⁻¹ reduziram a acidificação em leites fermentados com camu-camu, pelo efeito nocivo dos ácidos às bactérias probióticas.

Microrganismos probióticos são mais sensíveis ao abaixamento do valor de pH e consequente aumento de acidez, apresentando menor viabilidade nos produtos lácteos processados (THAMER; PENA, 2005). Nesse sentido, visando melhorar a viabilidade das bactérias probióticas em produtos fermentados, Almeida; Bonassi; Roça (2001) elaboraram uma bebida láctea com valores de pH entre 5,07 e 5,14 pois algumas espécies de bifidobactéria não se desenvolvem em pH entre 4,50 e 5,00, portanto, nesse sentido, o uso de baixos percentuais de polpa de camu-camu e o término da fermentação em valores de pH acima de 5,0, poderiam ser uma possibilidade tecnológica para aumentar a vida útil dos *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidumbacteria* nos leites fermentados elaborados neste trabalho.

Em relação ao aumento nos valores de AT atribuídos ao aumento no percentual de polpas de açaí e camu-camu, Barbosa (2007) ao estudar diferentes porcentagens de polpa de

pêssego em extrato de soja fermentado com *Lactobacillus acidophilus*, verificou aumento na AT, conforme o teor de polpa foi aumentado. Entretanto Leite (2015), estudando iogurtes simbióticos de açaí em diferentes porcentagens de polpa, não verificou diferenças entre os valores de acidez titulável em função dos teores de polpa e seus resultados de AT foram menores ($0,70 \text{ g de ácido láctico } 100\text{g}^{-1}$) que os encontrados para os IA e LFA estudados neste trabalho.

6.3 ANÁLISE COLORIMÉTRICA

A avaliação da cor instrumental no parâmetro de luminosidade L^* verificou-se que as interações teor de polpa x tipo de produto fermentado, teor de polpa x dias de avaliação, tipo de produto fermentado x dias de avaliação foram significativas a 5% de significância, assim como os fatores isolados.

Para o parâmetro de cromaticidade a^* o fator isolado tipo de produto fermentado e a interação tipo de produto fermentado x teor de polpa x dias de avaliação não foram significativos a 5%. No parâmetro de cromaticidade b^* apenas o fator isolado tipo de produto fermentado e a interação teor de polpa x dias de avaliação não foram significativos a 5%. O comportamento das variáveis L^* , a^* e b^* , mostraram ajustes de regressão lineares e quadráticos para os LFA e IA. O parâmetro de luminosidade L^* para o LFA não se ajustou aos modelos de regressão propostos e, portanto, não está apresentado na Figura 16.

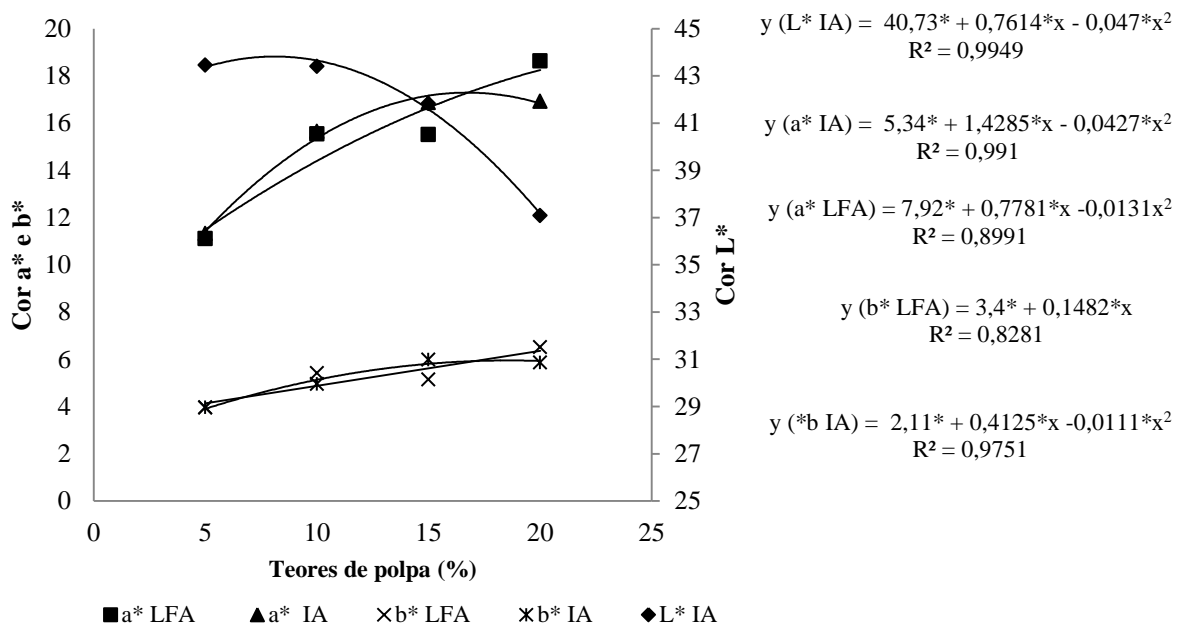


Figura 16 - Médias dos parâmetros de cor instrumental L^* , a^* e b^* leites fermentados e iogurtes com açaí em diferentes teores de polpa.

De acordo com a escala CIELab de Hunterlab (2008), a luminosidade L^* varia de 0 (preta) a 100 (branca), nesse sentido o parâmetro L^* nos IA, mostrou redução nos valores, conforme o teor de polpa de açaí foi aumentado, indicando que os iogurtes ficaram mais escuros. Estes resultados concordaram com os de Wallace; Giusti (2008) que relataram reduções da variável L^* em iogurtes adicionados de teores crescentes de antocianinas de *Berberis boliviana*.

Em relação à cromaticidade a^* nos LFA e IA, os valores se apresentaram sempre positivos, ou seja, mantiveram-se no sentido do vermelho. Houve aumento nos valores em ambos os produtos fermentados conforme o teor de polpa foi aumentado, sendo os LFA 20%, os produtos com coloração mais vermelha entre todos os produtos avaliados. Entre os LFA e IA adicionados de 5% e 10% de polpa, não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$), sendo verificadas diferenças entre os tipos de produtos fermentados a partir dos teores de 15%.

Os valores para cromaticidade b^* nos LFA e IA, também se mantiveram positivos seguindo no sentido do amarelo. Assim como no parâmetro a^* , os valores de b^* aumentaram conforme os teores de polpa foram aumentados.

Estes resultados concordaram com os encontrados por Leite (2015), que avaliou a redução no parâmetro L^* e aumento na cromaticidade a^* e b^* , relacionadas ao aumento nos teores de polpa de açaí em iogurtes.

Considerando os dias 0 e 28 de avaliação nos IA e LFA para L^* e a^* , verificaram-se aumentos nos valores de L^* indicando descoloração relacionadas à redução nos teores de antocianinas, entretanto os valores de a^* não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$), indicando que coloração dos produtos se manteve no sentido do vermelho, até o dia 28 (Tabela 7).

Tabela 7 – Comportamento dos parâmetros L^* e a^* nos iogurtes e leites fermentados com açaí nos dias 0 e 28 de avaliação.

Tipo de produto fermentado	Parâmetro luminosidade (L^*)		Parâmetro cromaticidade a^*	
	Dias de avaliação		Dias de avaliação	
	0	28	0	28
IA	39,54 aA	43,34 aA	15,32 aB	15,08 aB
LFA	39,56 aA	41,01 aB	16,01 aA	14,38 aA

Letras minúsculas diferentes na mesma linha mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade
Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade

Nos IA e nos LFA em todos os teores de polpa, foi verificado aumento na variável b^* no sentido do amarelo, principalmente nos produtos fermentados com 15% e 20% de polpa (Tabela 8). ŚCIBISZ et al. (2012) estudando comportamento de antocianinas em iogurtes probióticos de mirtilo, relacionou a redução do parâmetro L^* e aumento no b^* durante ao armazenamento de iogurtes, a possível conversão do cátion flavilium (colorido) em formas incolores ou amareladas.

Tabela 8 - Comportamento do parâmetro b^* nos iogurtes e leites fermentados com açaí entre os teores de polpa nos dias 0 e 28 de avaliação.

Teor de polpa (%)	Cromaticidade b^* IA		Cromaticidade b^* LFA	
	Dias de avaliação		Dias de avaliação	
	0	28	0	28
5	2,97 bC	4,95 aC	3,12 bC	4,78 aC
10	3,97 bB	5,98 aB	4,57 bB	6,24 aB
15	4,51 bAB	7,44 aA	4,65 bB	5,67 aB
20	4,93 bA	6,83 aA	5,89 bA	7,13 aA

Letras minúsculas diferentes na mesma linha mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade
Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade

6.4 CONTAGEM DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS

As contagens de microrganismos probióticos nos LFC e LFA previam as contagens de LA-5 e BB-12, entretanto, o BB-12 não cresceu no meio MRS-LP nas condições estabelecidas por Lapiere et.al. (1992), portanto os dados referentes a este microrganismo não estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Contagem de *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) em leites fermentados com camu-camu e açai nos dias 0, 7 e 14 de avaliação.

Teor de polpa (%)	Contagem LA-5 em LFC (Log UFC g ⁻¹)			Contagem LA-5 em LFA (Log UFC g ⁻¹)		
	Dias de avaliação			Dias de avaliação		
	0	7	14	0	7	14
Nat	6,28 bB	6,72 aA	6,41 cA	6,28 cD	6,72 bC	6,41 bC
5	6,35 aA	6,29 bC	6,01 cB	6,53 aA	6,15 bB	6,50 bB
10	6,36 aC	6,02 bD	6,03 bB	6,42 aC	6,10 bD	6,28 bD
15	6,17 aE	6,03 bB	6,03 bB	6,21 bE	6,21 aA	6,59 aA
20	6,25 aB	6,11 bC	5,76 cC	6,47 aB	6,20 bD	6,35 bD

Letras minúsculas diferentes na mesma linha mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade
Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade

De acordo com a Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que estabelece Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, as contagens de bactérias lácticas totais devem ser de no mínimo de 6,0 Log UFC g⁻¹ de leite fermentado. Nesse sentido, durante o período avaliado, apenas o LFC 20% no dia 14 de avaliação, não apresentou contagens satisfatórias, enquanto os demais produtos se classificaram como probióticos.

No dia 0 de avaliação, verificou-se que as contagens de LA-5 nos LFC 5% e 10%, foram superiores as dos LFnat (sem polpa) mostrando efeito positivo da polpa de camu-camu, provavelmente relacionado ao elevado de teor de ácido ascórbico presente naturalmente neste fruto. Dave; Shah (1997) verificaram efetividade na adição de ácido ascórbico (0, 50, 150 e 250 mg/kg iogurte) de eliminar oxigênio em iogurtes probióticos, favorecendo o crescimento destes microrganismos, entretanto os efeitos se mantiveram apenas durante os primeiros 15 dias.

Não foram determinados os teores de vitamina C nos LFCs com diferentes teores de polpa de camu-camu, entretanto pode-se verificar que o LFC 5% apresentou as menores reduções (0,94%) nas contagens entre os dias 0 e 7 de avaliação.

Os LFC 15% e LFC 20% apresentaram contagens inferiores as do LF nat no dia 0 de avaliação, mostrando efeito negativo da polpa de camu-camu nestes produtos, provavelmente relacionada a sua elevada acidez comprometendo o desenvolvimento dos LA-5. Entretanto se consideramos as contagens no dia 14, apenas o LFC 20% reduziu seus valores abaixo de $6,0 \text{ UFC g}^{-1}$, concluindo que 20% de polpa influencia negativamente no número de UFC g^{-1} nos produtos, descaracterizando-os como probióticos. Segundo Kandler; Weiss, (1986), os LA-5 admitem variações entre valores de pH abaixo de 5,0 até 6,2, sendo, portanto, influenciados pela polpa de camu-camu no LFC 20%, cujo pH situou-se na faixa entre 3,80 e 3,99.

Durante o período de avaliação, os LFA, em todas as concentrações de polpa, e o LFA nat se mantiveram dentro do limite previsto no PIQLF (BRASIL, 2007), e verificou-se no dia 0 de avaliação que os LFA 5%, LFA 10% e LFC 20% mostram contagens maiores que o LFA nat indicando efeito positivo da polpa de açaí. No dia 7, foram verificadas reduções em todos os LFA, com exceção do LFA nat, que teve aumento nas contagens, seguidos por aumento em todas as contagens nos LFA no dia 14, exceto no LFA nat. Comportamento semelhante foi verificado por Almeida et al. (2008) e Espirito Santo et al. (2010) que verificaram reduções seguidos de aumentos nas contagens de bactérias em iogurtes probióticos contendo polpa de açaí, durante os períodos avaliados.

As reduções nas contagens das bactérias lácticas nos dias entre os dias 0 e 7 de avaliação, podem ser associadas às maiores taxas de acidificação neste período. Quando os efeitos da acidificação foram reduzidos após o dia 7, houve aumento significativo no número de UFC g^{-1} , revelando efeito negativo da acidificação no desenvolvimento destas bactérias. A partir do dia 14, foi possível verificar o efeito positivo do açaí para as bactérias, uma vez que as contagens de todos os LFA aumentaram, enquanto no LFA nat reduziram. Espirito Santo et al. (2010), também avaliaram o efeito benéfico da polpa de açaí, no dia 14 de avaliação, onde todos os iogurtes adicionados de polpa, apresentaram contagens superiores as dos iogurtes sem polpa.

A seleção de estirpes ácido-tolerantes é um princípio de absoluta importância na obtenção resultados satisfatórios para a sobrevivência de probiótico culturas em leites fermentados (MATTILA-SANDHOLM et al. 2002), além disso, a permeabilidade ao oxigênio das embalagens, aditivos alimentares, minerais, e a combinação de microrganismos também deve ser avaliada na produção destas matrizes alimentares.

6.5 QUANTIFICAÇÃO DE COMPONENTES BIOATIVOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NAS POLPAS DE FRUTA E NOS PRODUTOS FERMENTADOS

6.5.1 Compostos fenólicos

Os LFA e IA não foram avaliados quanto aos teores de fenólicos totais, entretanto a polpa de açaí apresentou valor de 64,05 mg AGE 100 g⁻¹, sendo inferior aos valores observados por Kuskoski et al. (2006), 136,8 mg AGE 100 g⁻¹, Canuto et al. (2010), 410 mg AGE 100 g⁻¹ e Rufino et al. (2009) 578 mg AGE 100 g⁻¹. Entretanto, a discrepância entre o valor obtido e os encontrados na literatura, pode ser atribuída a fatores edafoclimáticos, origem, geográfica, condições de colheita e processo de armazenamento (KIM et al., 2003). Canuto et al. (2010) acrescenta que seja provável que a diversidade no estágio de maturidade dos frutos empregados no preparo das polpas seja a maior responsável pela variabilidade nesta variável.

Em relação ao camu-camu, a quantificação de compostos fenólicos realizadas na polpa e nos produtos fermentados, teve o objetivo de verificar a contribuição dos fenólicos da fruta nestes produtos em mg de AGE 100 g⁻¹. Os teores médios de fenólicos dos iogurtes, dos leites fermentados e o teor na polpa da camu-camu estão descritos na Tabela 10.

Tabela 10 - Valores médios dos compostos fenólicos em mg de AGE 100g⁻¹ em leites fermentados e iogurtes entre os teores de polpa adicionados e na polpa de camu-camu

Teor de polpa (%)	LFC	IC
5	8,14 bD	9,99 Ad
10	17,38 aC	18,40 aC
15	25,30 bB	29,20 aB
20	36,25 bA	39,32 aA
Polpa de camu-camu	1381,48	

*Letras minúsculas diferentes na mesma linha mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$) a 5% de probabilidade
Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$) a 5% de probabilidade*

Pode-se avaliar que houve redução nos teores de compostos fenólicos no momento em que a polpa de camu-camu foi adicionada aos iogurtes e aos leites fermentados, concluindo que a adição de polpa nestes produtos, não mantém concentrações equivalentes de fenólicos quando se compara com as concentrações presentes no fruto. Entretanto, se relacionarmos os teores de fenólicos encontrados em 100 g de LFC e IC, com outras fontes como: cajá, graviola, manga e maracujá (35,48, 20,65, 19,68 e 6,03 mg catequina 100 g⁻¹)

(MELO et al., 2008), pode-se verificar que os teores quantificados nos iogurtes e leites fermentados adicionados de polpa se equiparam e até mesmo superam os teores encontrados para estas frutas.

O camu-camu é um fruto que apresenta alta concentração de compostos fenólicos, na faixa de 1370 a 2110 mg AGE 100 g⁻¹, os quais podem ser relacionados com as características sensoriais de amargor e adstringência no fruto e em produtos derivados limitando sua aceitabilidade (ALVES et al., 2002; MAEDA; ANDRADE, 2003), entretanto, nos produtos fermentados elaborados neste trabalho as cascas foram utilizadas apenas na etapa de bateção sendo posteriormente separadas da polpa, e portanto características de amargor não foram observadas na análise sensorial. O teor de compostos fenólicos encontrados para a polpa de camu-camu concordou com os resultados dos autores citados e com os obtidos por Genovese et al. (2008), os quais encontraram valor de 1797 mg AGE 100 g⁻¹ em polpa congelada.

Considerando a classificação de Vasco et al. (2008), a polpa de camu-camu e de açaí e os produtos fermentados adicionados com camu-camu, se enquadram como alimentos de alto (> 500 mg GAE 100 g⁻¹) e baixo (< 100 mg GAE 100 g⁻¹) teor de compostos fenólicos.

A diferença na classificação entre a polpa de camu-camu e seus os produtos fermentados, se deve as perdas de componentes fenólicos da polpa quando adicionada aos produtos, provavelmente relacionadas à formação de espécies reativas de oxigênio, que são neutralizadas por estes componentes, e, portanto, não são mais detectadas pelos métodos analíticos propostos.

Avaliando o efeito dos diferentes percentuais de polpa de fruta (5%, 10%, 15% e 20%), nos teores de compostos fenólicos dos produtos fermentados, pode-se verificar que o aumento neste percentual, promoveu incremento significativo ($p \leq 0,05$) nas concentrações de fenólicos nos LFC e nos IC, concordando com resultados de Cheuczuk; Rocha (2014) que verificaram incremento no teor de fenólicos totais em bebidas lácteas adicionadas de 25% e 30% de polpa de cajá-manga.

Considerando o tipo de produto fermentado, os IC apresentaram maiores concentrações de compostos fenólicos quando comparado com os LFC. Schultz (2008) estudando conservação de polpas de açaí, encontrou maiores teores de fenólicos em polpas de pasteurizadas e acidificadas em pH 4,0, do que em polpas *in natura*. Nesse sentido, os IC apresentaram acidificação mais forte em relação aos LFC, sendo os maiores teores de fenólicos possivelmente relacionados aos menores valores de pH observados nos IC. As regressões ajustaram-se significativamente em modelos quadráticos para ambos os produtos fermentados estudados (Figura 17).

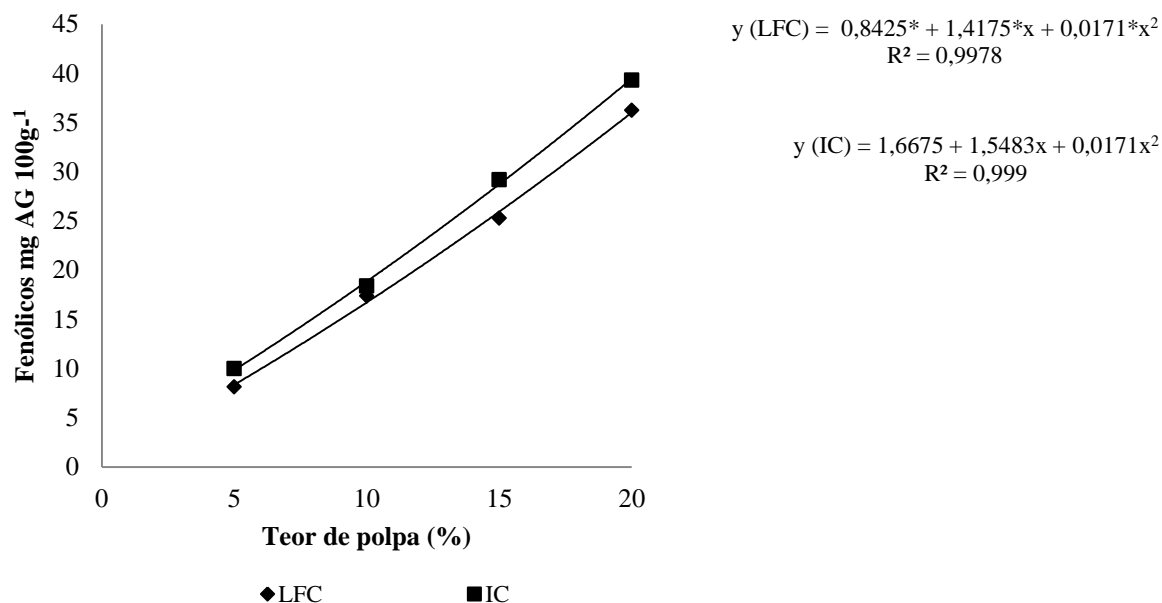


Figura 17– Média de compostos fenólicos totais (mg de AGE 100g⁻¹) em função dos teores de polpa de camu-camu em leites fermentados e iogurtes

Quanto à interação tipo de produto fermentado x teor de polpa x dias de armazenamento verificou-se que nos IC e LFC em todos os teores de polpa houve redução quadrática significativa ($p \leq 0,05$) nos teores de fenólicos totais durante o período de 28 dias de avaliação. Nos IC verificou-se que nos teores de polpa de 15% e 20% ocorreram maiores perdas de fenólicos, com média entre os teores de polpa, ao fim do armazenamento de 28 dias, de 48%. Perdas mais significativas foram verificadas entre os dias 0 e 7 de avaliação totalizando 29,6% de redução entre os teores de polpa, relacionado principalmente ao IC 20%.

Nos LFC, as reduções dos compostos fenólicos, em todos os teores de polpa, situaram-se em torno de 50% ao final do armazenamento de 28 dias, sendo as maiores perdas médias destes componentes, entre os teores de polpa, concentradas entre os dias 0 e 7 (23,88%), relacionadas principalmente ao LFC 20%, e entre os dias 21 e 28 (28,50%), com perdas equivalentes distribuídas entre todos os LFC's estudados.

O comportamento de redução dos compostos fenólicos nos produtos lácteos durante 28 dias de armazenamento refrigerado ajustou-se significativamente em modelos de regressão do 2º grau conforme Figura 18.

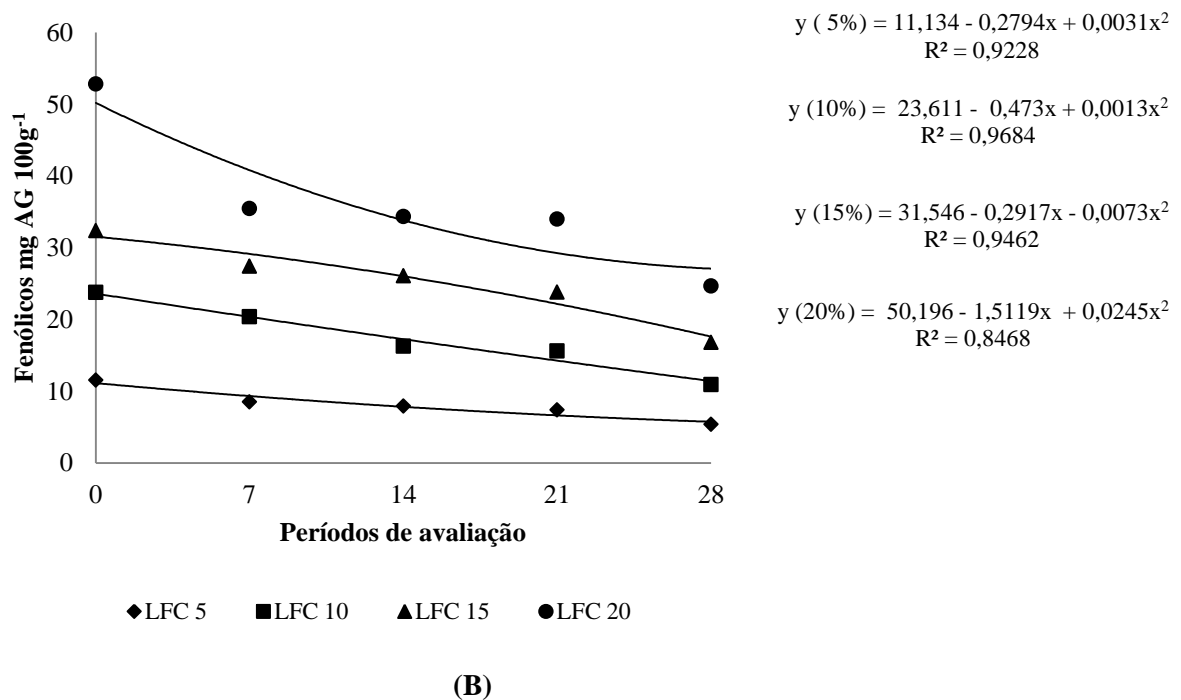
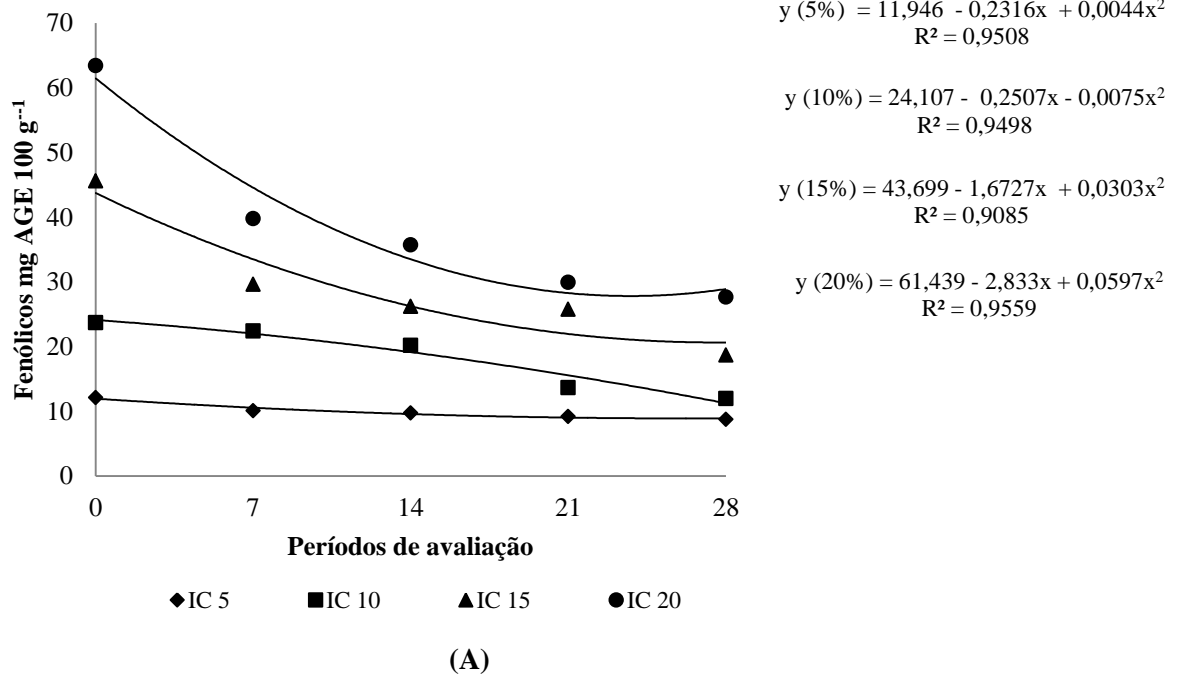


Figura 18 - Fenólicos totais em mg de AGE $100g^{-1}$ em iogurtes (A) e leites fermentados (B) com camu-camu durante 28 dias de armazenamento.

Quando se relacionou os dados da acidificação dos IC e dos LFC com as reduções dos compostos fenólicos nestes produtos, esperava-se que as maiores reduções de fenólicos se concentrassem nos IC 5% e IC 10%, uma vez que estes produtos apresentaram as maiores acidificações do período estudado, entretanto, verificou-se nesses produtos, menores reduções de fenólicos durante o período experimental. Quanto às acidificações nos LFC, e a redução de

fenólicos, verificou-se que a perda destes compostos foi maior entre dias 21-28, momento em que a AT dos LFC mostraram os menores aumentos, portanto não se podem relacionar os dados da acidificação, com a redução nos teores de fenólicos.

Fazendo a mesma relação, porém considerando a contagem de LA-5 em leites fermentados e o comportamento dos fenólicos entre os dias 0 e 7 de avaliação, verificou-se que nos LFC 5% e LFC 20%, onde as reduções nas contagens microbianas foram menores, as perdas nos componentes fenólicos foram maiores (26% e 32%, respectivamente), enquanto que nos LFC 10% e LFC 15%, onde as reduções nas unidades formadoras de colônias foram mais evidentes, as perdas de componentes fenólicos foram menores (14% e 15%, respectivamente), indicando que o número de colônias pode estar relacionado à redução dos componentes fenólicos. Entretanto, deve-se estabelecer a contagem de UFC g⁻¹ de LA-5 de todo o período de avaliação, assim como inserir a contagem dos *Streptococcus thermophilus* e otimizar a contagem de BB-12 a fim de estabelecer a possível relação entre as contagens de microrganismos e a redução de componentes bioativos.

Além de dos fatores pós-acidificação e microbiológico, a ação do oxigênio, incorporado no momento da bateção e adição de polpa dos iogurtes de leites fermentados, bem como aquele absorvido devido à permeabilidade da embalagem PET, também pode estar relacionado a estas reduções de componentes fenólicos, uma vez que as características químicas destes componentes os tornam susceptíveis à oxidação.

Mesmo com a redução nos componentes fenólicos ao longo do período experimental, os IC e os LFC nos quatro teores de polpa estudados mantiveram cerca de 50% dos valores iniciais ao fim dos 28 dias, mostrando boa conservação destes componentes nas formulações estudadas.

6.5.2 Antocianinas

Para os LFC e IC, não foram realizadas quantificações de antocianinas, entretanto a polpa de camu-camu foi avaliada para esta variável apresentando teores de 15,58 mg 100 g⁻¹, valores superiores aos encontrados por Maeda; Andrade (2003) 2,12mg 100 g⁻¹ e Gonçalves et al. (2010) de 2,16 mg 100 g⁻¹ em massa fresca e 306 mg 100 g⁻¹/massa seca.

Os elevados teores de antocianinas na polpa de camu-camu avaliada neste trabalho podem estar relacionados ao despulpamento do fruto para obtenção da polpa. O processo consistiu na bateção dos frutos inteiros, e, portanto, os componentes presentes nas cascas foram incorporados à polpa, aumentando os teores de antocianinas. Silva (2012), estudando o ponto e colheita de camu-camu, verificou que as antocianinas, assim como as

flavonas e flavonóis, encontravam-se em maior concentração na casa, em relação ao mesocarpo destes frutos.

Em outros estudos envolvendo antocianinas em camu-camu, Zanatta et al. (2005) e Gonçalves et al. (2010) isolaram antocianinas de frutos provenientes de São Paulo e da Amazônia, e identificaram duas antocianinas majoritárias, a cianidina-3-glicosídeo e a delphinidina-3-glicosídeo, na tentativa de avaliar *in vitro* efeitos benéficos destes componentes na saúde.

Em relação à polpa de açaí, esta foi avaliada quanto ao teor de antocianinas totais, a fim de verificar sua influência, no conteúdo de antocianinas dos LFA e IA, em diferentes concentrações de polpa. Os teores médios de antocianinas dos iogurtes, dos leites fermentados e na polpa de açaí estão descritos na Tabela 11.

O teor de antocianinas nos produtos fermentados com açaí não se equiparou aos teores observados na polpa, mostrando redução drástica nestes componentes. Este comportamento também foi verificado por Leite (2015) em iogurte simbiótico adicionado de diferentes percentuais de polpa de açaí. As reduções nos teores de antocianinas dos IA e LFA em relação à polpa, podem estar relacionadas à incorporação de oxigênio durante bateção e adição de polpa. Nesse sentido, as antocianinas tendem a estabilizar as espécies reativas de oxigênio através de sua reação com o componente reativo do radical. O alto poder de reação do grupo hidroxil das antocianinas com o radical torna-o inativo (NIJVELDT, 2001), não sendo mais possível sua quantificação.

Tabela 11 - Valores médios das antocianinas ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$) em leites fermentados e iogurtes entre os teores de polpa adicionados e na polpa açaí.

Teor de polpa (%)	LFA	IA
5	6,98 aD	5,39 bD
10	22,47 aC	17,77 bC
15	46,23 aB	38,11 bB
20	71,61 aA	63,14 bA
Polpa de açaí	146,13	

Letras minúsculas diferentes na mesma linha mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade
Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade

Verificou-se que o aumento no percentual de polpa, aumentou de forma significativa ($p \leq 0,05$) as concentrações de antocianinas tanto nos LFA quanto nos IA, entretanto, quando se considerou o tipo de produto fermentado, os LFA apresentaram maiores

concentrações de antocianinas quando comparado com os IA. ŚCIBISZ et al. (2012) cita que microrganismos utilizados na produção de alimentos podem gerar enzimas causando hidrólise de antocianinas em agliconas menos estáveis, portanto os diferentes microrganismos utilizados na produção dos IA e LFA, podem estar relacionados com as diferenças nos resultados.

Considerando o período de armazenamento de 28 dias, verificou-se que em ambos os produtos fermentados houve redução média significativa ($p \leq 0,05$) nos teores de antocianinas com perdas de 50,4% e 40,6% nos LFA e IA respectivamente, podendo-se observar que mesmo com os maiores valores de antocianinas durante todo o período, os leites fermentados apresentaram maiores perdas nestes compostos. Estes resultados concordaram com os de ŚCIBISZ et al. (2012), que verificaram melhor estabilidade de antocianinas em iogurtes de mirtilo não probióticos em relação aqueles adicionados de LA-5.

As antocianinas apresentam cores diferentes dependendo do pH do meio em que se encontram, ocorrendo a obtenção de soluções incolores ou coloridas, (TERCI; ROSSI, 2002). Em pH abaixo de 2,0 as antocianinas apresentam-se basicamente na forma catiônica (vermelho), com o aumento do pH, ocorre uma rápida desprotonação para formar a base quinoidal (azul), nesse sentido os menores valores de pH e maiores acidificações foram observadas nos IA, portanto, mesmo com menores teores iniciais de antocianinas, estes produtos mantiveram suas antocianinas mais estáveis durante o período de avaliação.

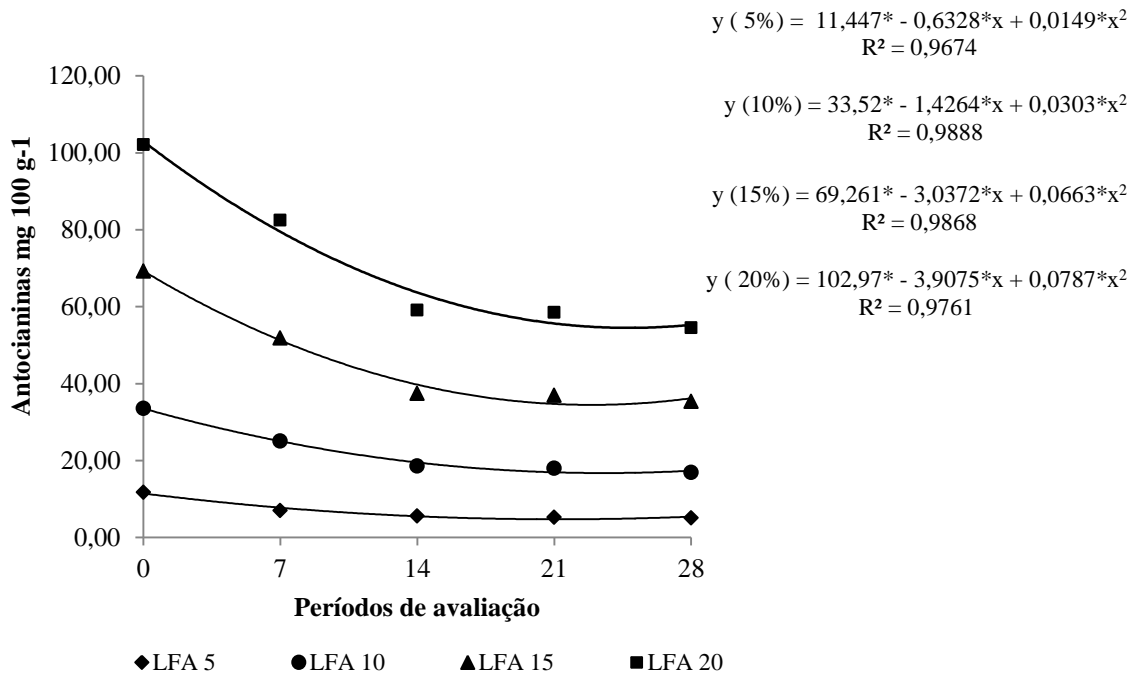
Considerando o período de avaliação compreendido entre os dias 7 e 14, verificou-se nos LFA e IA, as maiores perdas médias entre os teores de polpa com reduções de 28%, e 7,7%. Após este período, as reduções nos teores de antocianinas foram menores concordando com Wallace; Giusti (2008) que observaram que a degradação de antocianinas depende da concentração do substrato, e que quando a concentração de antocianinas decresce, o grau de degradação também decresce.

Quando se relacionou o tipo de produto fermentado x teor de polpa x dias de avaliação, foi verificado redução quadrática significativa para os LFA e IA (Figura 19). Foi observado nos LFA, que quanto maior a quantidade de polpa adicionada, menores às perdas nos teores de antocianinas (LFA 5% - 56,54% e LFA 20% - 46,59%). Já nos iogurtes, verificaram-se perdas em torno de 40% para todos os percentuais de polpa adicionados.

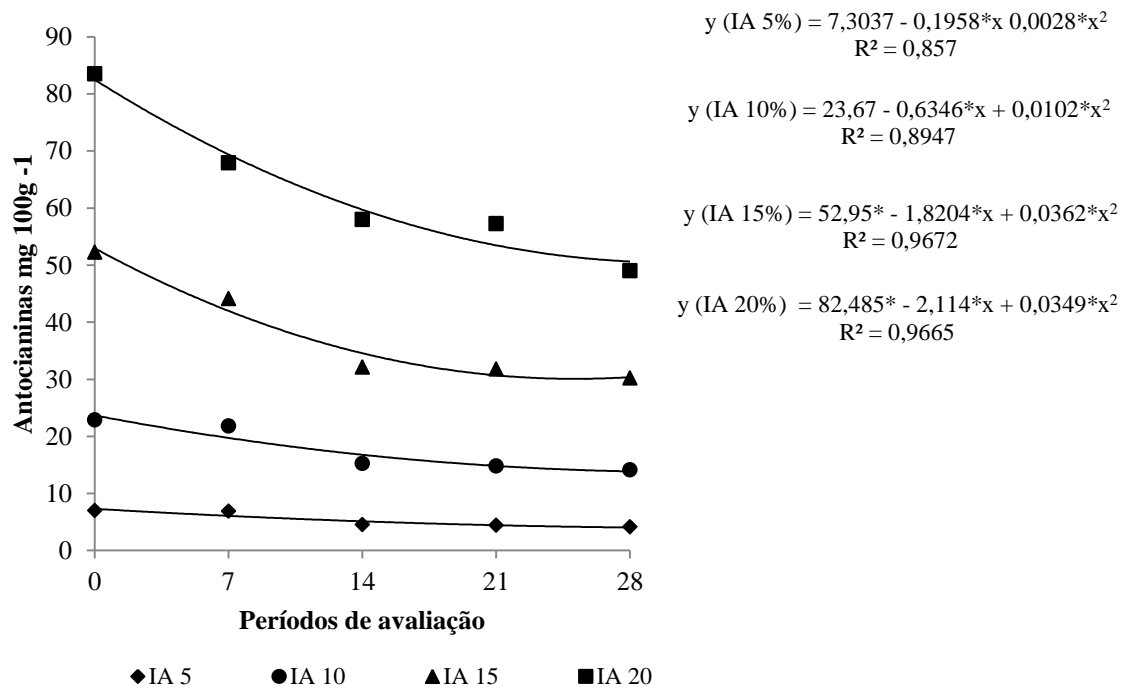
ŚCIBISZ et al. (2012) estudaram a influência de bactérias probióticas em iogurtes de mirtilo e verificaram que os *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* influenciaram negativamente a estabilidade das antocianinas, entretanto os demais microrganismos probióticos como LA-5 e BB-12 não influenciaram na estabilidade destes compostos. Considerando as contagens de LA-5, apenas nos LFA, e a redução nos teores de antocianinas

entre os dias 7 e 14, verificou-se aumento nas UFC g^{-1} principalmente nos LFA 5% e LFA 15%, entretanto, quando se considerou a redução de antocianinas neste mesmo período, as maiores perdas, foram relacionadas aos LFC 20%, os quais apresentaram menores aumentos nas UFC g^{-1} .

Gris et al. (2007) e Wallace; Giusti (2008), afirmam que, além dos efeitos promovidos bactérias láticas, a estabilidade das antocianinas em iogurtes é também afetada pelo armazenamento, temperatura, pH, conteúdo de outros polifenóis e lipídios em iogurte, sendo, portanto, necessários mais estudos a fim de esclarecer o comportamento das antocianinas nesta matriz alimentar.



(A)



(B)

Figura 19 - Antocianinas (mg 100 g⁻¹) em (A) leites fermentados e (B) iogurtes de açaí durante 28 dias de armazenamento.

6.5.3 Determinação da capacidade antioxidante (AA) pelo método de DPPH nos leites fermentados, iogurtes e nas polpas de fruta

Para a atividade antioxidante nos LFA, IA, LFC e IC verificou-se que as interações teor de polpa x tipo de produto fermentado, tipo de produto fermentado x dias de armazenamento e tipo de produto fermentado x teor de polpa x dias de armazenamento foi significativa a 5% de probabilidade, assim como os efeitos simples dados pelo tipo de produto fermentado, teor de polpa e dias de armazenamento.

Considerando os teores de polpa e os tipos de produto fermentado, verificou-se nos produtos fermentados de açaí e camu-camu, que o aumento no percentual de polpa promoveu incremento na atividade antioxidante com ajustes de regressão quadráticos e linear conforme Figura 20.

Além disso, pode-se observar que as médias de atividade antioxidante obtidas nos LFC e IC, foram superiores as encontradas para os IA e LFA, concluindo que a polpa de camu-camu adicionada aos produtos fermentados, apresenta mais compostos com atividade antioxidante do que a polpa de açaí. Genovese et al. (2007) estudando frutos e polpas congeladas brasileiras, encontram valor de AA em camu-camu de 141 $\mu\text{mol TE g}^{-1}$, valor superior ao encontrado por Kuskoski et al. (2006) em polpas de açaí de 6,9 ($\mu\text{mol TE g}^{-1}$), justificando as diferenças nos valores obtidos nos iogurtes.

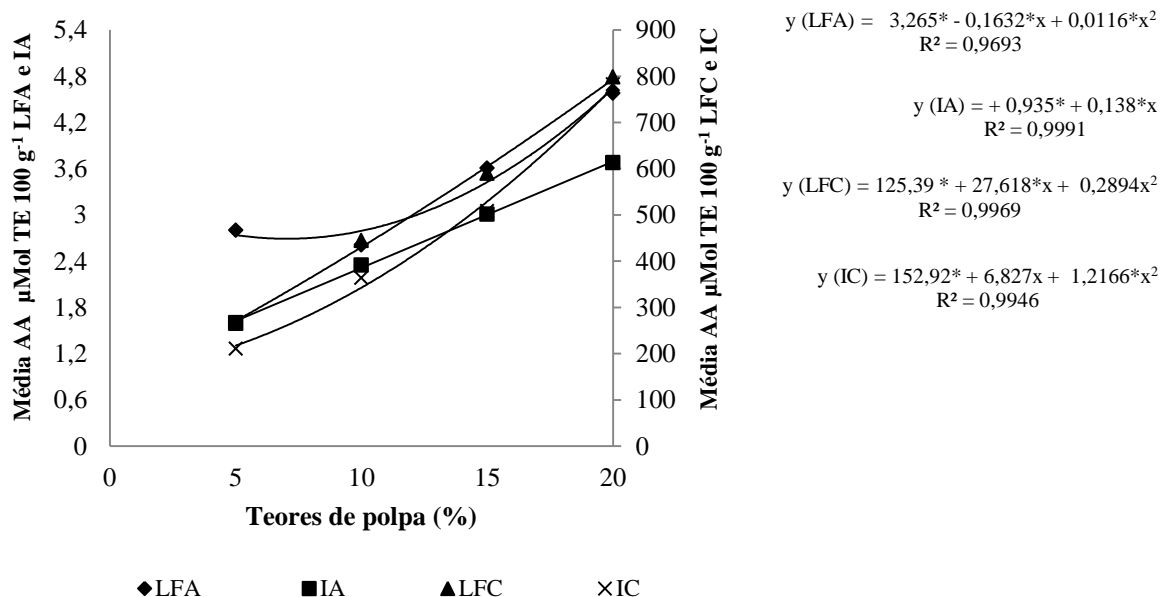


Figura 20 – Média da atividade antioxidante ($\mu\text{Mol TE 100 g}^{-1}$) em função dos teores de polpa de açaí e camu-camu em leites fermentados e iogurtes

Entre os tipos de produtos fermentados, a AA nos LFA foram superiores as encontradas nos IA, provavelmente relacionados aos maiores teores de antocianinas verificados nestes produtos. Nos produtos adicionados de camu-camu, os LFC apresentaram maiores atividades antioxidantes quando comparados com os IC, entretanto os leites fermentados apresentaram menores teores de compostos fenólicos que os iogurtes, indicando que a atividade antioxidante dos produtos fermentados de camu-camu, pode estar mais fortemente relacionada ao teor de ácido ascórbico. Chirinos et al. (2010) demonstraram que a vitamina C contribui com 70% do total da atividade antioxidante de frutos de camu-camu, portanto, pode-se relacionar a menor atividade antioxidante dos IC, as possíveis degradações de vitamina C, em função das maiores acidificações ocorridas nesses produtos.

A atividade antioxidante encontrada em 100 g polpa de açaí utilizada neste trabalho foi inferior aos resultados encontrados por Schultz (2008) em polpa *in natura* (9,2 $\mu\text{Mol TE g}^{-1}$) e Kuskoski et al. (2006), sendo relacionada principalmente ao seu conteúdo de antocianinas (LICHTENTHÄLER et al, 2005). Hassimotto (2005) observaram que amostras ricas em antocianinas, como o açaí e o jambolão exibiram potente atividade antioxidante dependente das concentrações destes flavonoides.

A polpa de camu-camu apresentou elevada atividade antioxidante por 100 g de polpa fresca, sendo este comportamento também verificado por Gonçalves et al. (2010), que estudando polpas nativas do Brasil, verificou que o camu-camu exibiu a maior capacidade antioxidante, sendo 10 vezes superior as atividades de frutos como o araçá-boi, araçá e cambuci. A capacidade antioxidante dos frutos de camu-camu está relacionada aos seus conteúdos de ácido ascórbico e compostos fenólicos (CHIRINOS et al., 2010; GENOVESE et al., 2008).

Avaliando a contribuição das polpas de camu-camu e açaí na atividade antioxidante dos produtos fermentados, verificou-se que a AA nos produtos é inferior a encontrada nas polpas, concordando com os dados obtidos para fenólicos e antocianinas (Tabela 12). Entretanto se compararmos as atividades antioxidantes de 100 g dos iogurtes e leites fermentados avaliados neste trabalho com os resultados de polpa de frutas tropicais tais como amora 4,3 $\mu\text{mol TE g}^{-1}$, goiaba 5,9 $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ (KUSKOSKI et al., 2006), e polpas de jaracatia 4,4 $\mu\text{mol TE g}^{-1}$, araçá-boi 1,80 $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ e maracujá 0,80 $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ (GENOVESE et al., 2008), verifica-se que os iogurtes e leites fermentados, podem ser equiparados a fontes naturais de compostos antioxidantes sendo uma excelente alternativa para consumidores que não mantém o hábito de consumir frutas e verduras, mas por outro lado, consomem produtos industrializados de fácil acesso, como os produtos fermentados.

Tabela 12 - Valores médios da atividade antioxidante em $\mu\text{Mols TE } 100 \text{ g}^{-1}$ em leites fermentados e iogurtes com açai e camu-camu nos teores de polpa adicionados e nas polpas de fruta

Teor de polpa (%)	LFA	IA	LFC	IC
5	2,80 aC	1,60 bD	258,36 aD	206,87 bD
10	2,61 aC	2,35 bC	431,70 aC	353,59 bC
15	3,61 aB	3,01 bB	573,92 aB	495,31 bB
20	4,58 aA	3,68 bA	795,13 aA	760,97 bA
Polpa de açai ($\mu\text{Mol TE } 100 \text{ g}^{-1}$)			380,23	
Polpa de camu-camu ($\mu\text{Mol TE } 100 \text{ g}^{-1}$)			2639,83	

Letras minúsculas diferentes na mesma linha mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade
Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade

Hannum (2004) afirma que frutas e vegetais representam excelente fontes de compostos bioativos, sendo o consumo relacionado à redução de riscos de doenças crônico-degenerativas. Este efeito protetivo, está parcialmente associado a substâncias antioxidantes como a vitamina C, carotenoides e flavonoides (DIPLOCK et al., 1998; RICE-EVANS et al., 1996). Nesse sentido, os produtos desenvolvidos neste trabalho, podem contribuir com substâncias antioxidantes, e promover benefícios de saúde.

O acompanhamento das médias das atividades antioxidantes os IA e LFA mostraram ao fim dos 28 dias de armazenamento perdas de atividade na ordem de 61% e 53% respectivamente, concordando com observações de Leite (2015) em iogurtes simbióticos com diferentes porcentagens de polpa. Entre os teores de polpa adicionados, o IA 20% apresentou a maior redução na atividade antioxidante durante todo o período avaliado, mostrando variações de $7,18 \mu\text{mol TE g}^{-1}$ a $2,05 \mu\text{mol TE g}^{-1}$, entre os dias 0 e 28, atingindo uma perda total de 71%. Já nos leites fermentados, o LFA 5%, apresentou as menores perdas de AA (44%), enquanto os demais produtos mostraram reduções em torno de 55%. No período compreendido entre os dias 0 e 7 de avaliação, foram verificadas reduções mais significativas na atividade antioxidante nos IA e LFA da ordem de 39,6% e 31,1% respectivamente.

O comportamento decrescente na atividade antioxidante dos IA e LFA mostraram ajustes lineares e quadráticos de regressão e estão apresentados na Figura 21.

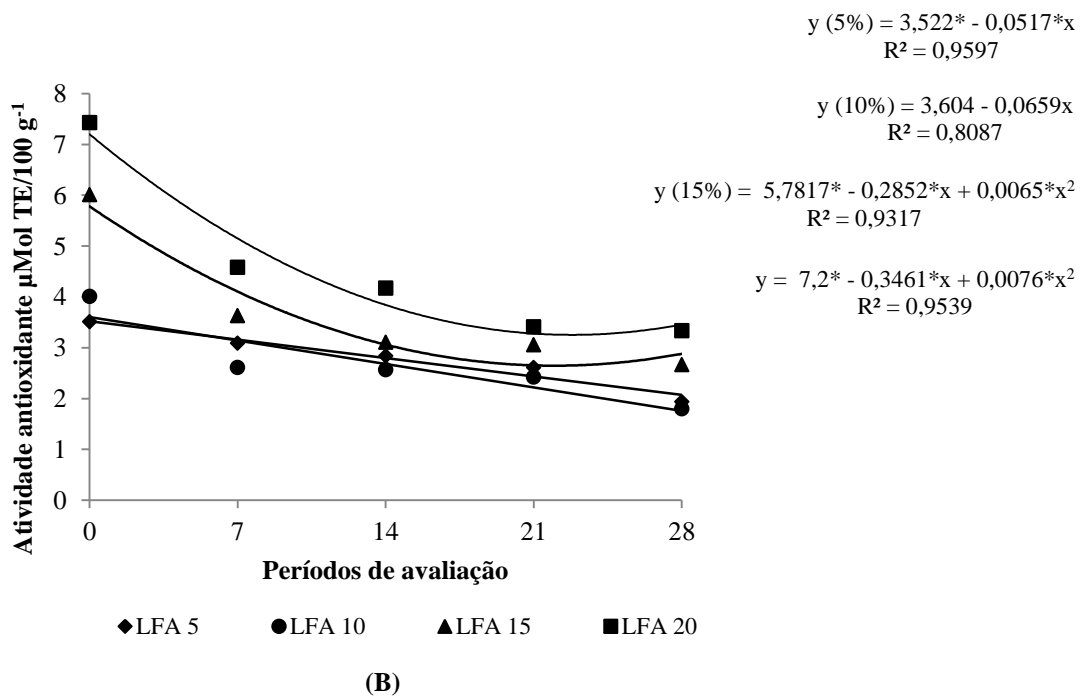
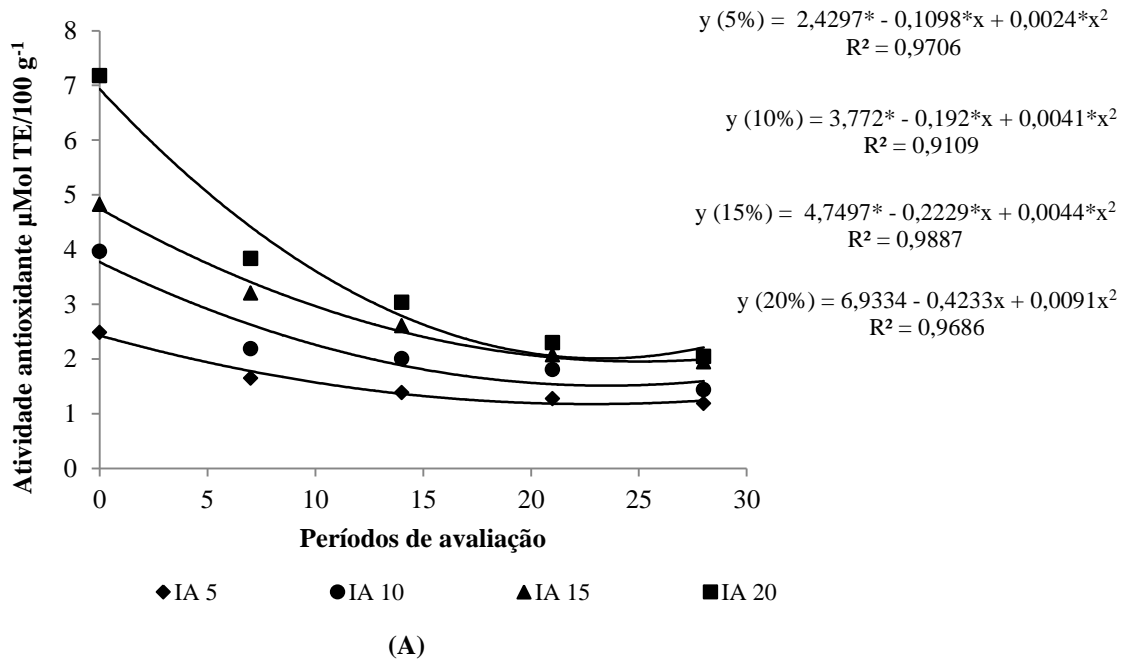


Figura 21- Atividade antioxidante em $\mu\text{Mol TE } 100\text{g}^{-1}$ em (A) leites fermentados e (B) iogurtes com açai durante 28 dias de armazenamento.

Nos produtos fermentados com camu-camu foram verificadas maiores reduções na AA nos LFC e IC com 5% de polpa, alcançando percentuais de 88%. Os LFC e IC nas demais concentrações apresentaram diminuição na redução da AA conforme os teores de polpa foram aumentados, sendo, portanto, os LFC 20% e IC 20%, os produtos que apresentaram as maiores atividades ao final do período de 28 dias. Assim como nas demais

variáveis avaliadas, no período compreendido entre os dias 0 e 7 de avaliação, foram verificadas reduções mais significativas na AA atingindo 46,7% e 35,4% nos IC e LFC, respectivamente.

O comportamento decrescente na atividade antioxidante dos LFC e IC mostraram ajustes quadráticos de regressão e estão apresentados na Figura 22.

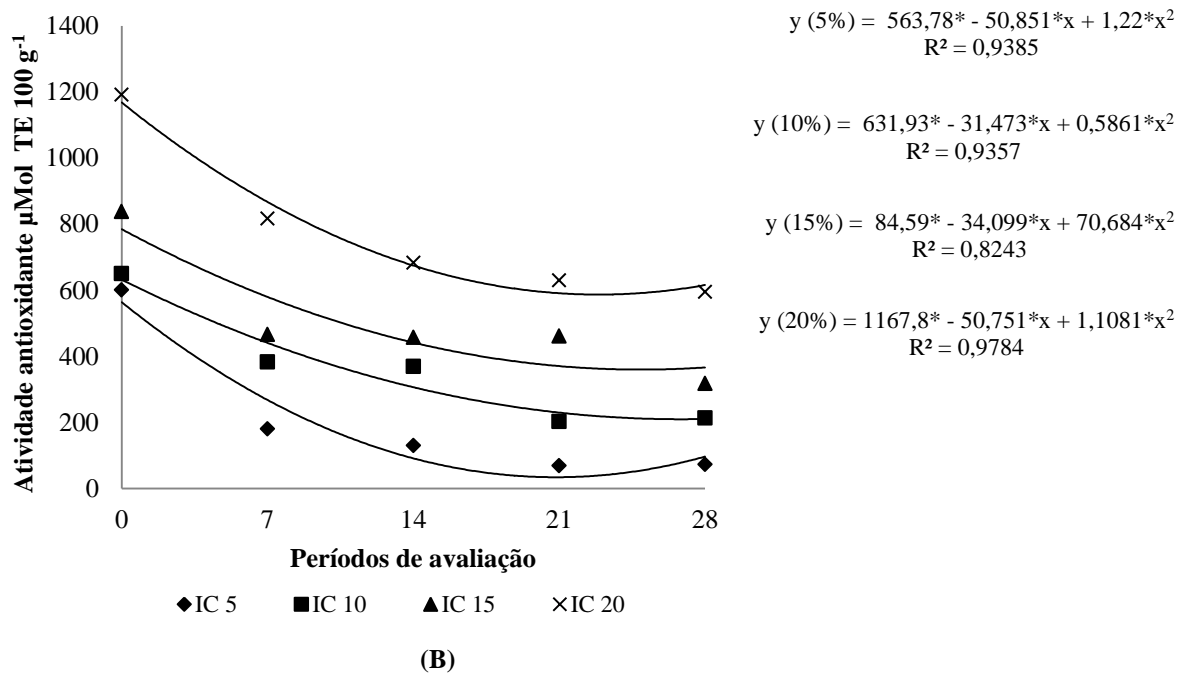
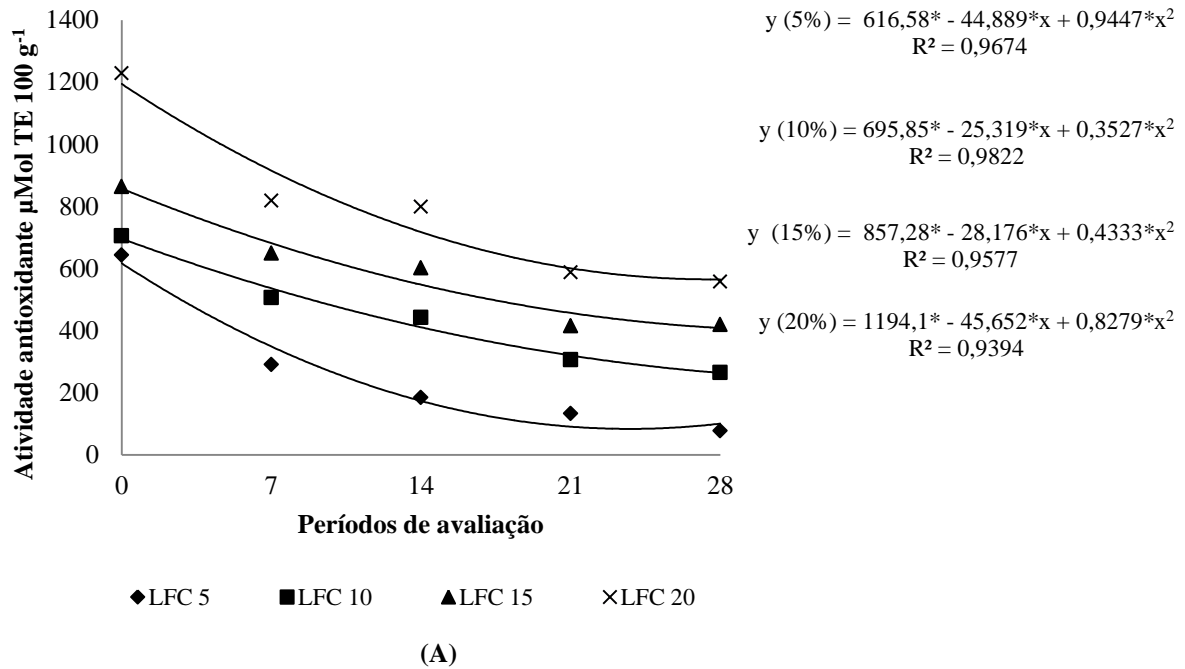


Figura 22 - Atividade antioxidante em $\mu\text{Mol TE } 100\text{g}^{-1}$ em (A) leites fermentados e (B) iogurtes com camu-camu durante 28 dias de armazenamento.

As correlações da atividade antioxidante pelo método de DPPH e o teor de fenólicos e antocianinas nos LFC e IC e LFA e IA estão apresentadas na Tabela 13.

Tabela 13 - Correlação entre as variáveis fenólicos totais e antocianinas com a atividade antioxidante pelo método de DPPH em leites fermentados e iogurtes com açaí e camu-camu com diferentes teores de polpa durante 28 dias de armazenamento.

Variáveis em Correlação	Coeficientes de correlação (r^2)			
	LFC	IC	LFA	IA
Fenólicos/DPPH	0,94	0,92	-----	-----
Antocianinas/DPPH	-----	-----	0,82	0,75

Todos os produtos fermentados apresentaram excelentes correlações entre os componentes bioativos e a atividade antioxidante pelo método de DPPH. As altas correlações entre fenólicos e DPPH apresentadas pelos LFC e IC, também foram verificadas por Genovese et al. (2008) que encontraram boas correlações entre fenólicos determinados por ensaios com Folin Ciocalteu (FC) e o método de DPPH em frutas ($r^2 = 0,97$) e polpas comerciais congeladas ($r^2 = 0,738$).

Segundo Huang et al. (2005), não há surpresas em se encontrar excelentes correlações lineares entre fenólicos totais determinados por Folin Ciocalteu e atividade antioxidante baseada na transferência de elétrons em ensaios de FRAP, DPPH, etc, desde que haja similaridade entre os dois ensaios. Entretanto, o método de Folin Ciocalteu, não dá medida exata e superestima o conteúdo de fenólicos em alimentos devido a alguns agentes redutores, como a vitamina C, uma vez que ela é capaz de reduzir o reagente de Folin, incluindo nos resultados substâncias que aumentam o conteúdo fenólico (HANNUM, 2004). Neste trabalho, os teores de fenólicos determinados pelo ensaio com o reagente de Folin nos LFC e IC podem estar superestimados em função dos elevados teores de vitamina C presentes no camu-camu, entretanto, como esta variável não foi quantificada, atribui-se a correlação com o DPPH essencialmente aos componentes fenólicos.

Nos LFA e IA a atividade antioxidante mostrou forte correlação positiva com os teores de antocianinas, concordando com Hassimoto et. al (2005), Kuskoski et al. (2006) que verificaram correlação positiva entre a atividade antioxidante e o índice de polifenóis totais e o conteúdo de antocianinas em baguaçu e jambolão e Abe et al. (2007), em cultivares de *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*, observaram associação positiva entre o conteúdo de antocianinas e a capacidade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres do DPPH. Normalmente, se verificam na literatura, correlações positivas entre compostos

fenólicos e a atividade antioxidante em diversas matrizes alimentares por diferentes métodos, entretanto, em testes preliminares foi observado que estes compostos não foram mais determinados em ensaios com Folin Ciocalteu nos LFA e IA partir do dia 7 de avaliação, não se podendo relacionar a AA nos LFA e IA com compostos fenólicos, mas sim com as antocianinas.

6.6 ANÁLISE SENSORIAL

A Tabela 14 apresenta o resultado do teste de ordenação usado para avaliar a preferência de quatro amostras leite fermentado com açaí e quatro de leite fermentado com camu-camu apresentadas a 60 julgadores. Os resultados do teste de Friedman mostraram que os valores seguidos da mesma letra não diferem entre si a de 5% de significância.

Tabela 14 - Avaliação sensorial de preferência de leites fermentados com açaí e camu-camu por ordenação para as amostras com 5%, 10%, 15% e 20% de polpa.

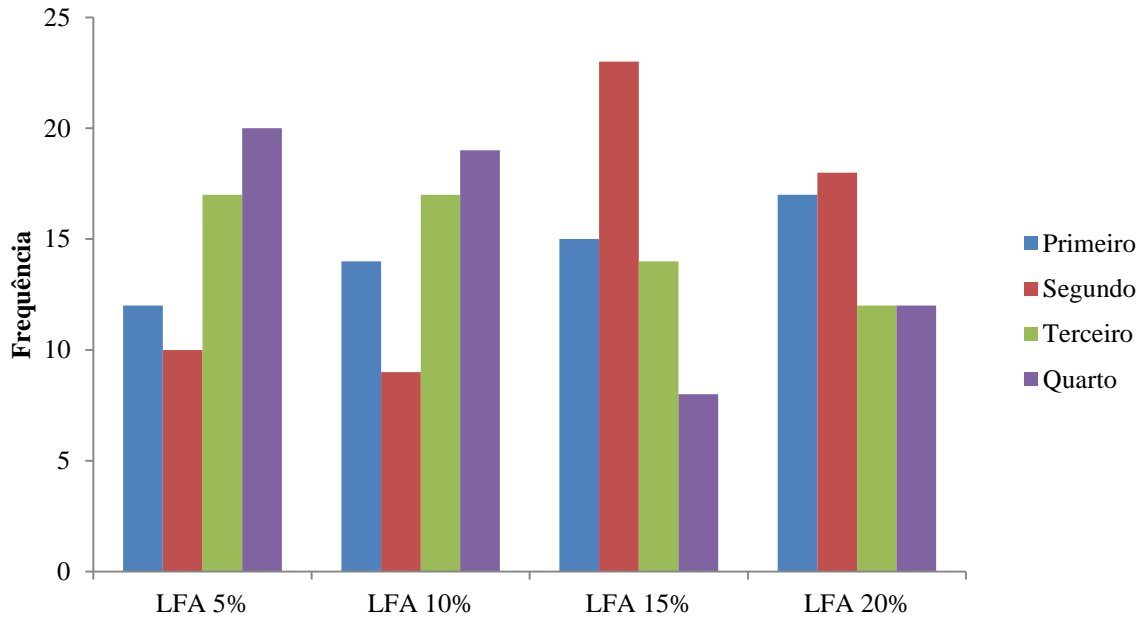
	Teores de polpa açaí (%)			
	LFA 5%	LFA 10%	LFA 15%	LFA 20%
Soma de ordens	164 a	163 a	135 a	138 a
Diferença vs. LFA 5%	-----	1 ^{ns}	29 ^{ns}	26 ^{ns}
LFA 10%	-----	-----	28 ^{ns}	25 ^{ns}
LFA 15%	-----	-----	-----	3 ^{ns}
	Teores de polpa camu-camu (%)			
	LFC 5%	LFC 10%	LFC 15%	LFC 20%
Soma de ordens	104 a	174 b	146 b	155 b
Diferença vs. LFC 5%	-----	70*	42*	51*
LFC 10%	-----	-----	28 ^{ns}	9 ^{ns}
LFC 15%	-----	-----	-----	19 ^{ns}

ns = não significativo. Valor absoluto crítico de diferença mínima significativa (dms) $\alpha = 37$ (NEWELL; MACFARLANE, 1987).

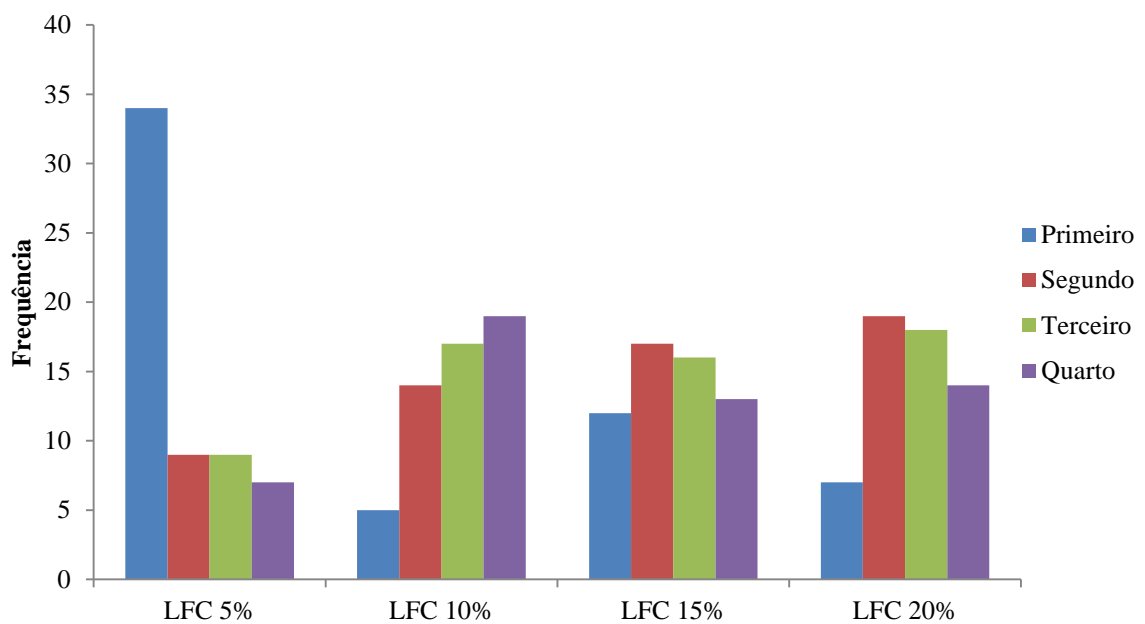
Nos LFA, os módulos da diferença foram inferiores a $DMS = 37$ (diferença mínima significativa), entre todos os teores de polpa de açaí, concluindo que não houve diferença significativa a 5% entre os leites fermentados, e, portanto, não houve amostra preferida. Já nos LFC, a amostra com 5% de polpa apresentou módulos de diferença superiores a $DMS = 37$, mostrando diferença significativa entre o LFC 5% e os demais LF, sendo a amostra preferida. Entretanto o aumento no percentual de polpa de 10% até 20% não influenciou a preferência dos provadores. No teste de ordenação as menores somas indicam as formulações mais preferidas, enquanto que as maiores somas indicam menor preferência.

Mesmo não havendo diferença entre os percentuais de polpa de açaí adicionados, ao se avaliar a frequência das ordens (Figura 23), o LFA 20% de polpa apresentou-se na maioria das vezes em primeiro lugar, enquanto que o de 5% mostrou-se como amostra preterida a maioria das vezes (Figura 24). Nos LFC, a frequência das ordens confirmou oos

resultados do Teste de Friedman para a maior preferência do LFC 5%, e classificando, como amostra preterida, o LFC 10%, uma vez que este produto se apresentou a maioria das vezes em quarto lugar e a menor quantidade de vezes em primeiro, em relação aos demais LFC's.



(A)



(B)

Figura 23 - Frequência das amostras (A) LFA e (B) LFC adicionadas de diferentes concentrações de polpa de açaí e camu-camu.

Mesmo não havendo preferência significativa entre os LFA pelo teste de ordenação, a Escala Hedônica, mostrou que houve diferença significativa entre as

aceitabilidades quanto à cor, aroma e aparência global, entretanto os atributos sabor e acidez, não diferiram ($p \leq 0,05$) entre as concentrações de polpa adicionadas (Figura 24).

Nos LFA, as médias das notas do atributo cor aumentaram conforme o teor de polpa de açaí foi aumentado, seguindo para os pontos “gostei moderadamente” e “gostei muito” na escala estruturada de 9 pontos, para os LFA 10%, LFA 15% e LFA 20%. O LFA 5% se classificou em “gostei levemente”. Leite (2015), avaliando a aceitabilidade de cor em iogurtes simbióticos de açaí com 15% de polpa, também verificou aceitabilidade relacionada ao ponto “gostei muito”. Em relação ao atributo aroma, as melhores médias foram relacionadas aos leites fermentados com 15% e 20% de polpa, sendo classificados em “gostei moderadamente”. Para o atributo aparência global, os LFA em todos os teores de polpa classificaram-se em “gostei moderadamente”, mostrando que o açaí pode ser aplicado em produtos lácteos com boa aceitabilidade.

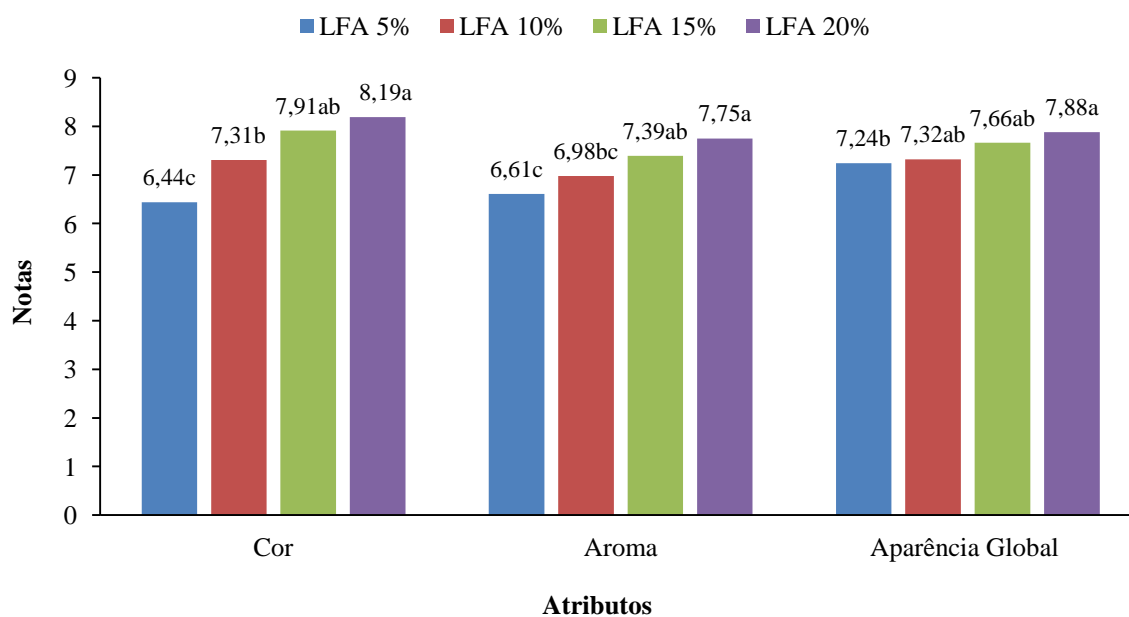


Figura 24 - Valores médios dos atributos cor, aroma, e aparência global dos leites fermentados com diferentes concentrações de polpa de açaí, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Quanto aos LFC as diferenças significativas concentraram-se entre os atributos de sabor, acidez e aparência global, enquanto cor e aroma não diferiram entre os teores de polpa de camu-camu. As médias das notas dos atributos que apresentaram diferença significativa estão apresentadas na Figura 25. Quanto ao atributo sabor, as médias variaram entre “indiferente” (LFC 10%), “gostei levemente” (LFC 15% e LFC 20%) e gostei “moderadamente” (LFC 5), concluindo que a menor quantidade de polpa de camu-camu, apresentou melhor sabor.

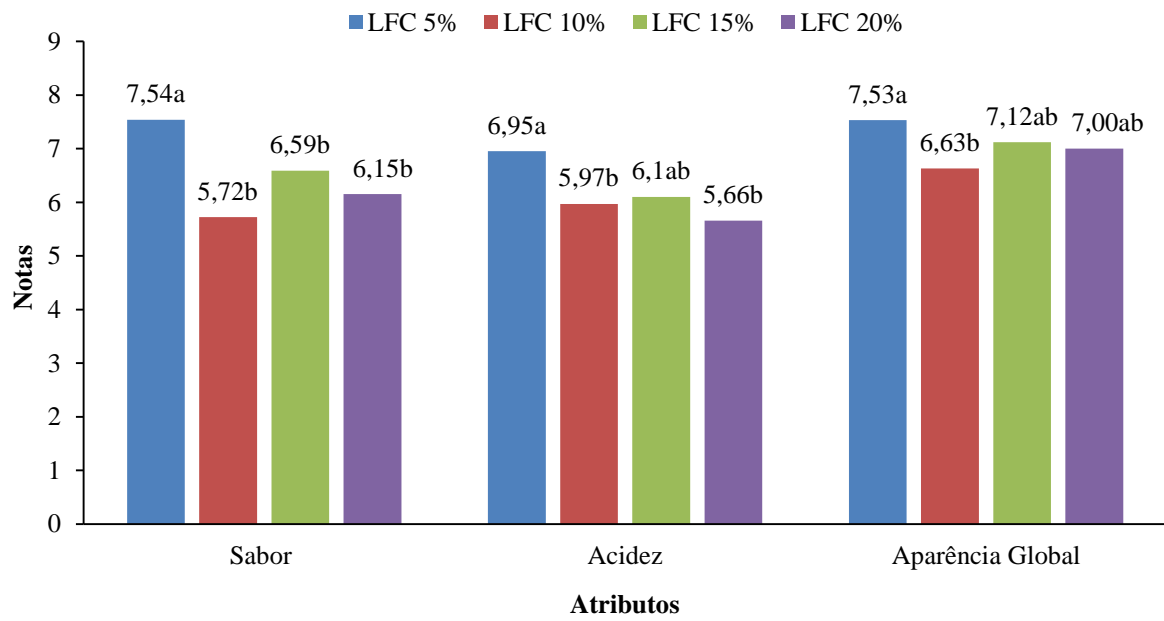


Figura 25 - Valores médios dos atributos sabor, acidez, e aparência global dos leites fermentados com diferentes concentrações de polpa de camu-camu, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

7. CONCLUSÕES

Quanto à qualidade das polpas, ambas apresentaram elevado teor de umidade, sendo, portanto bastante perecíveis. Quanto ao Padrão de Identidade e Qualidade para frutas, não há classificação para a polpa de camu-camu na legislação brasileira, porém os dados estão de acordo com as literaturas consultadas, enquanto polpa de açaí atendeu a todos os critérios estabelecidos.

Em relação à composição nutricional dos leites fermentados, concluiu-se que o aumento no teor da polpa de camu-camu, aumentou o teor de umidade e reduziu o extrato seco total nos leites fermentados com camu-camu. Os leites fermentados com camu-camu e leites fermentados com açaí apresentaram extrato seco total superiores ao recomendado pela literatura consultada. Quanto aos teores de proteínas e lipídios, todos os produtos elaborados atenderam a legislação vigente.

Na pós-acidificação observou-se influência dos teores de polpa no pH e acidez titulável em ácido lático em todos os produtos fermentados, sendo os menores valores de pH observados nos iogurtes com açaí e com camu-camu entre os dias 0 e 7 de estocagem.

Nos leites fermentados e iogurtes com açaí as acidificações foram maiores nos teores de polpa de 15 e 20%, enquanto nos leites fermentados e iogurtes com camu-camu, as acidificações foram maiores nos produtos com 5% de polpa de camu-camu. Todos os produtos fermentados atenderam a legislação quanto à acidez titulável.

A análise colorimétrica dos LFA e IA mostrou que os parâmetros L^* , a^* e b^* foram influenciados proporcionalmente pelos teores de polpa de açaí e pelo tempo de prateleira. Verificou-se perda de cor ao fim dos 28 dias, provavelmente relacionada à degradação das antocianinas.

Os leites fermentados com açaí e com camu-camu atenderam a legislação quanto às contagens de bactérias probióticas, sendo classificados como produtos probióticos, durante o período avaliado, com exceção do LFC 20%.

Quanto ao teor de fenólicos totais verificou-se que o aumento no teor de polpa de camu-camu, aumentou os teores de fenólicos nos iogurtes e leites fermentados, e que estes teores reduziram ao fim dos 28 dias de armazenamento, porém mantiveram cerca de 50% da quantificação inicial. Verificou-se nos LFC, que onde houve relação entre as contagens de LA-5 e o teor de compostos fenólicos, indicando efeito desses microrganismos no comportamento dessas substâncias.

As antocianinas foram proporcionalmente influenciadas pelos teores de polpa, e reduziram em torno de 50% e 40% nos leites fermentados e iogurtes de açaí ao fim dos 28

dias de armazenamento. Os iogurtes mantiveram suas antocianinas mais estáveis, devido sofrerem maiores acidificações. Não foi possível estabelecer relação entre a redução das antocianinas e as contagens de bactérias lácticas.

A atividade antioxidante dos produtos fermentados apresentaram excelentes correlações com as antocianinas e componentes fenólicos dos leites fermentados e iogurtes, e reduziu conforme a concentração destes componentes reduziram seus teores.

Os leites fermentados apresentaram boa aceitabilidade sensorial, com pontuação de aparência global em “gostei moderadamente”, podendo ser uma alternativa tecnológica para industrialização de frutas nativas da Amazônia.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, L. T.; DA MOTA, R. V.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I.; Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 27, n. 2, p. 394-400, 2007.

AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. **Nutrition**. 18(1): 75-81, 2002.

AKIN, M.B.; AKIN, M.S.;KIRMACI Z. Effect of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. **Food Chemistry**. v.104, p.93-99, 2007.

AKTER, M. S.; OH, S; EUN, J-B; AHMED, M. Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit: A review. **Food Research International**. v. 44, p. 1728–1732, 2011.

ALEXANDRE, D.; CUNHA, R. L.; HUBINDER, M. D. Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos. **Ciência Tecnologia de Alimentos**. v. 24, n. 1, p. 114-119 2004.

ALMEIDA, K. E., BONASSI, I. A., ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 2, n. 2, p. 187-192, 2001.

ALMEIDA, M.H.B.; SZOELLNER, S.S.; CRUZ, A.G.; MOURA, M.R.L.; CARVALHO, L.M.J. FREITAS, M.C.J.; SANTÁNA, A. Potentially probiotic açai yogurt. **International Journal of Dairy Technology**, v. 61, n. 2, p. 178-182, 2008.

ALTIERI C.; BEVILACQUA A.; AMATO D.; DEL NOBILE M. A.; SINIGAGLIA M.; Modelling the survival of starter lactic acid bacteria and *Bifidobacterium bifidum* in single and simultaneous cultures. **Food Microbiology**. v.25, p.729– 734, 2008.

ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C.; MOURA, C. F. H.; ARAÚJO, N. C. C. ALMEIDA, A. S. Camu-Camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh): A Rich Natural Source of Vitamin C. **Proc. Interamerican Society For Tropical Horticulture**. n. 46, p 11-13, 2002.

AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. **Journal of the American Dietetic Association**. v. 109, n. 4, 2009.

ANDERSON, L. A.; DIBBLE, M. V.; TURKKI, P. R.; MITCHELL, H. S.; RYNBERGEN, H. J. **Nutrição**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988.

ANDRIGUETO, J.R.; NASSER, L.C.B.; TEIXEIRA, J.M.A. **Produção integrada de frutas: conceito, histórico e a evolução para o sistema agropecuário de produção integrada - SAPI**. 2010. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>. Acesso em: mar. 2013.

ANTUNES, A. E. C.; MARASCA, E. T. G.; MORENO, I.; DOURADO, F.M.; RODRIGUES, L. G.; LERAYER, A. L. S. Desenvolvimento de buttermilk. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 27, n.1, p. 83-90, 2007.

ANTUNES, L. A. F. Microrganismos probióticos e alimentos funcionais. **Indústria de laticínios**, v. 6, n. 34, p. 30-34, 2001.

ARUNACHALAM, K.D. Role of bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. **Nutr. Res.**, v. 19, n. 10, p. 1559-1597, 1999.

ARUOMA, O. I. Methodological characterizations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. **Mutation Research**, v.9-20,p.523-524, 2003

AVELLO, M.; SUWALSKY, M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atena*, Concepción, n.494, n. 2, p. 161-172, 2006.

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

AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 17, p. 385-396, 2004.

BARBOSA, E. G. 2007. 73p. **Prevalência de bactéria probiótica *L. acidophilus* - NCFM em extrato de soja fermentado e saborizado com sacarose e polpa de pêsego**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Pelotas, RS, 2007.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID J. M.; DAVID J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa dos organismos. **Química Nova**. 113-123, 2006.

BATAVO. Leite Batavo Sensy baixa lactose. 2004. 2p. Publicidade.

BENITEZ-SÁNCHEZ, P.L.; LEÓN-CAMACHO, M.; APARICIO, R.A. Comprehensive study of hazelnut oil composition with comparisons to other vegetable oils, particularly olive oil. **European Food Research Technology**, v. 218, p. 13–19, 2003.

BECKMAN, C. H. Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants? **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 57, n. 3, p. 101-110, 2000.

BELITZ, H.-D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. 3. ed. Garching: Springer, 2009.

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

BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their *in vivo* effectiveness. **Food Research International**, v.35, n.2-3, p.125-131, 2002.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BLOIS, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, **Nature**, n.181, p.1199-1200, 1958.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do Processamento de Alimentos**. 2a. edição. São Paulo: Varela, p.111, 1995.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, de 7 jan. 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpas e sucos de frutas. **D.O.U.**, Brasília, 10/01/2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº. 46 de

23/10/2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **D.O.U.**, Brasília, 24/10/2007a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. **D.O.U**, Brasília, 30/04/1999a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 19, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem. **D.O.U**, Brasília, 30/04/1999b.

BRASIL, Ministério da saúde. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 360. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados Brasília, **D.O.U.**, Brasília, 26/12/2003.

BRASIL. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos. Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecno-científica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/ Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. **D.O.U**, Brasília, 2007b.

BUENO, S. M.; LOPES, M. R. V.; GRACIANO, R. A. S.; FERNANDES, E. C. B.; GARCIA-CRUZ, C. H. Avaliação da qualidade de polpas de frutas congeladas. **Rev. Inst. Adolfo Lutz, São Paulo**, v. 62, n. 2, p. 121-126, 2002.

BURGAIN, J., GAIANI, C., LINDER, M., SCHER, J. Encapsulation of probiotic living cells: from laboratory scale to industrial applications. **Journal of Food Engineering**. v. 104, n. 4, p. 467 e 483, 2011.

CAO, Y. C.; FERNÁNDEZ, A. F. Probióticos y reflexión necesaria. **Revista Cubana de Medicina General Integral**, v. 21, p.3-4, 2005.

CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A. P. 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**. v. 32, n. 4, p. , 2010.

CAVALCANTE, J. M.; MORAIS, A. C. S.; RODRIGUES, M. C. P. Efeito da adição de amêndoas da castanha de caju nas propriedades sensoriais do iogurte adoçado com mel. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 03, n. 01, p. 01-14, 2009.

CHAGAS, E. A.; GRIGIO, M. L.; DURIGAN, M. F. B.; FUJITA, E.; VIEITES, R. L. Caracterização centesimal e compostos bioativos de frutos de camu-camu em diferentes estádios de maturação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PROCESSAMENTO MÍNIMO E PÓS-COLHEITA DE FRUTAS, FLORES E HORTALIÇAS. **Anais...** Aracaju, SE, 2015.

CHAVES, J. R. P. **Métodos de diferença em avaliação sensorial de alimento e bebidas**. Viçosa: UFU, 2001.

CHEUCZUK, F; ROCHA, L. A. 2014. 59p. **Propriedades antioxidantes de bebida láctea fermentada prebiótica incorporada de polpa de cajá-manga**. Trabalho de conclusão de curso em Tecnologia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão, PR, 59p.

CHIRINOS, R.; GALARZA, J.; BETALLELUZ-PALLARDEL, I.; PEDRESCHI, R.; CAMPOS, D. Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu camu (*Myrciaria dubia* (HBK) McVaugh) fruit at different maturity stages. **Food Chemistry**, v. 120, n. 4, p. 1019-1024, 2010.

CIPRIANO, L. C.; CAMPOS, D. C. S.; MENDES, J. K. S.; SILVA, J. R.; NEVES, L. T. B. C. Elaboração e avaliação da composição nutricional de iogurtes com diferentes concentrações de polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Anais...**, Aracajú. 2014.

COCONNIER, M.H.; BERNET, M.F.; CHAUVIERE, G.; SERVIN, A.L.; Adhering heat-Killed human *Lactobacillus acidophilus*, strain LB, inhibits the process of pathogenicity of diarrhoeagenic bacteria in cultured human intestinal cells. **Journal of Diarrhoeal Diseases Research**. v.11, p. 242-253, 1993.

COLLADO, M. C.; ISOLAURI, E.; SALMINEN, S.; SANZ, Y. The impact of probiotic on gut health. **Current Drug Metabolism**, v. 10, p. 68-78, 2009.

COSTA, G. N. S.; MENDES, M. F.; ARAÚJO, I. M.; PEREIRA, C. S. S. Desenvolvimento de um iogurte sabor Juçará (*Euterpe edulis* Martius): Avaliação Físico-química e Sensorial. **Revista Eletrônica TECCEN**. v. 5, n. 2, p. 43-58, 2012.

DAVE R. I.; SHAH, N. P.. Effectiveness of ascorbic acid as an oxygen scavenger in improving viability of probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. **International Dairy Journal**. v. 7, n. 6-7, p. 435-443, 1997.

DAVE, R.I.; SHAH, N.P. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yoghurt. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. p. 2804-2816, 1998.

DAVEY, M. W.; MONTAGU, M. V.; INZE, D.; SANMARTIN, M.; KANELIS, A.; SMIRNOFF, N.; BENZIE, I. J. J.; STRAIN, J. J.; FAVELL, D.; FLETCHER, J. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, p. 825-860, 2000.

DA SILVA, S. V. **Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico**. 2007. 110p. Dissertação de Mestrado (Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2007.

DAVIDSON, R.H.; DUNCAN, S. E.; HACKNEY, C. R.; EIGEL, W.N.; BOLING, J.W. Probiotic culture survival and implications in fermented frozen yogurt characteristics. *Journal of Dairy Science*, v.83, n.4, p.66-673, 2000.

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

DEL POZO-INSFRAN, D.; PERCIVAL, S. S.; TALCOTT, S. T.; Acai (*Euterpe oleracea* Mart.) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 54, 1222–1229, 2006.

DIB TAXI, C. M. A. 2001. 166p. **Suco de camu-camu (*Myrciaria dubia*) microencapsulado obtido através de secagem por atomização**. 2001. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, 166p.

DIPLOCK, A. T.; CHARLEUX, J. L.; CROZIER-WILLI, G.; KOK, F. J.; RICE-EVANS, C.; ROBERFROID, M.; STAHL, W.; VINÃ-RIBES, J. Functional food science and defense against reactive oxidative stress. **British Journal of Nutrition** v. 80, n. 1, p. 77-112, 1998.

DONKORA, O. N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T., SHAH, N. P. Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and *in vitro* angiotensin-

converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. **Dairy Science and Technology**, v. 86, p. 21-38, 2007.

DREWNOSKI, A.; GOMEZ-CARNEIROS, C. Bitter taste. Phytonutrients and consumer. A review. **American Journal of Clinical and Nutrition**. v. 72, p.1424-1435, 2000.

DUARTE-ALMEIDA J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais dpph•1. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

DUNNE, C.; O'MAHONY, L.; MURPHY, L.; THORNTON, G.; MORRISSEY, D.; O'HALLORAN, S.; FEENEY, M.; FLYNN, S.; FITZGERALD, G.; DALY, C.; KIELY, B.; O'SULLIVAN, G. C.; SHANAHAN, F.; COLLINS, J. K. In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 386-392, 2001.

ENGLER, M. B.; ENGLER, M. M. (2004). The vasculoprotective effects of flavonoide-rich cocoa and chocolate. **Nutr Res**. 24: 695-706.

EKINCI, F. Y.; OKUR, O. D.; ERTEKIN, B.; GUZEL-SEYDIM, Z. Effects of probiotic bacteria and oils on fatty acid profiles of cultured cream. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 110, p. 216–224, 2008.

ESPÍNDULA, N. C.; CARDOSO, C. E. Formulação de um Iogurte Suplementado com Compostos Probióticos, Prébióticos e Polpa de Açaí. **Revista TECCEN**, v. 03, n. 01, p. 22-33, 2010.

ESPÍRITO SANTO A. P. 2012. 113p. Desenvolvimento de iogurte probiótico com adição de polpa de frutos brasileiros e fibra dietética total. Tese (Doutorado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica). Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, 2012.

ESPÍRITO SANTO A. P.; SILVA, R. C. SOARES, F. A. S. M.; ANJOS, D.; GIOIELLI, L. A.; OLIVEIRA, M. N. Açaí pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. **International Dairy Journal**. v. 20, n. 6, p. 415-422, 2010.

FARIA, C. P.; BENEDET, H. D.; GUERROUE, J. L. Análise de leite de búfala fermentado por *Lactobacillus casei* e suplementado com *Bifidobacterium longum*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 3, p. 407-414, 2006.

FARIA, J. A. F.; WALTER, E. H. M.; CRUZ, A. G. Sistemas de embalagem para alimentos probióticos e prébióticos. In: SAAD S. M. I; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. **Probióticos e prébióticos em alimentos: Fundamentos e aplicações tecnológicas**. 1ª ed. São Paulo: Livraria Varela, 2011.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, E.; MCGREGOR, J.U.; TRAYLOR, S. The addition of oat fiber and natural alternative sweeteners in the manufacture of plain yogurt. **Journal of Dairy Science**. v. 81, p. 655-663. 1998.

FERREIRA, C. L. L. F.; MALTA, H. L.; DIAS, A. S.; GUIMARÃES, A.; JACOB, F. E.; CUNHA, R. M.; CARELI, R. T.; PEREIRA, S.; FERREIRA, S. E. R. Verificação da qualidade físico-química e microbiológica de alguns iogurtes vendidos na região de Viçosa. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 56, n. 321, p. 152- 158, 2001.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia (UFLA)**, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FIORAMONTI, J.; THEODOROU, V.; BUENO, L. Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology? **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**. v. 17, n. 5, p. 711-724, 2003.

FLORENCE, A. C. R.; 2009. **Perfil tecnológico de cepas de bifidobactéria em co-cultura e em cultura pura *Streptococcus thermophilus* em leites orgânico e convencional**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2009.

FOOD PROCESSING, **Modest growth for global probiotic market**, 2009. Disponível em <http://www.foodprocessing.com/articles/2008/383.html>. Acesso em 10 ago. 2014.

FRANCIS, F. J. Food Colorants: anthocyanins. **Food Science and Nutrition**. v. 28, n. 4, p. 273-314, 1989.

FRANCIS, F. J. Anthocyanins and betalains: composition and applications. **Cereal Foods World**, v. 45, p. 208-213, 2000.

FRANCO, B. D. G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182p.

FRITZEN-FREIRE, C.B. et al. The effect of direct acidification on the microbiological, physicochemical and sensory properties of probiotic Minas Frescal cheese. **International Journal of Dairy Technology**, v.63, n.1, p.1-8, 2010.

FRITZEN-FREIRE, C.B.; PRUDÊNCIO, E.S.; AMBONI, R.D.M.C; PINTO, S.S; NEGRÃO-MURAKAMI, A.; MURAKAMI, F.S. Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the presence of prebiotics. **Food Research International**, v. 45, p. 306–312, 2012.

FUJITA. A. 2015. 149p. **Produtos derivados do camu-camu: efeito da secagem sobre elagitaninos e flavonoides, atividades antioxidante e antimicrobiana**. Tese (Doutorado Ciências de Alimentos). Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2015.

GENOVESE, M. I; LANNES, S. C. S. Comparison of total phenolic content and antiradical capacity of powders and “chocolates” from cocoa and cupuassu. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.4, p. 810-814, 2009.

GENOVESE, M.I.; PINTO, M.D.S.; GONCALVES, A.E.D.S. Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. **Food Science and Technology International**, v. 14, n. 3, p. 207-214, 2008.

GIUSTI, M. M.; WROSLTAD, E. R. Anthocyanins: characterization and measurement by UV-visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R.E. **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: John Wiley & Sons. Unit. F1.2.1-13. 2001.

GIRAFFA, G.; CHANISHVILI N.; WIDYASTUTI Y. Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. **Research in Microbiology**, v.161, p.480-487, 2010.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science and Technology**, v. 10, n. 4/5, p. 139-157, 1999.

GONÇALVES, A. E. S.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Chemical Composition and Antioxidant/Antidiabetic Potential of Brazilian Native Fruits and Commercial Frozen Pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 58, n. 8, p. 4666-4674, 2010.

GOUVÊA, A. C. M. S. **Quantificação das antocianinas majoritárias do açaí por cromatografia líquida de alta eficiência**. 2010. 76p. Dissertação (Mestrado em Ciência e

Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, Rio de Janeiro, 2010.

GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; NAZZARO, F.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, p. 292-302, 2010.

GRIS, E. F.; FERREIRA, E. A.; FALCA, L. D.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Influence of ferulic acid on stability of anthocyanins from Cabernet Sauvignon grapes in a model system and a yogurt system. **International Journal of Food Science and Technology**, v.42, n. 8, p. 992-998, 2007.

HANNUM, S. M. Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. v. 44, n. 1, p. 1-17, 2004.

HASSIMOTTO, N. M. A.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Antioxidant Activity of Dietary Fruits, Vegetables, and Commercial Frozen Fruit Pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v., 53, n. 8, p. 2928-2935, 2005.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.

HUANG, R., XIA, R., HU, L., LU, Y., WANG, M. Antioxidant activity and oxygen-scavenging system in orange pulp during fruit ripening and maturation. **Sci. Hortic**, 113, 166-172, 2007.

HUNTERLAB. **Applications Note: CIELCh Color Scale**. Vol. 8, n. 11, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 1. ed. digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA. **Cultivo do camu-camu**. Disponível em: <http://www.inpa.gov.br/cpca/areas/camu-camu.html>. Acesso em: 08 ago. 2014.

JACQUES, A. C.; ZAMBIAZI, R. C. Fitoquímicos em amora-preta (*Rubus* spp), **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, p. 245-260, 2011.

JOSEPH, J. A.; SHUKITT-HALE, B.; LAU, F.C. Fruit polyphenols and their effects on neuronal signaling and behavior in senescence. **Annals of the New York Academy of Sciences**. v. 1100, p. 470-485, 2007.

JOSEPH, J. A.; SHUKITT-HALE, B.; WILLIS, L. M.. Grape juice, berries, and walnuts affect brain aging and behavior. **Journal of Nutrition**. v. 139, p. 1813-1817, 2009.

JUSTI, K.C.; VISENTAINER, J.V.; SOUZA, N.E. & MATSUSHITA, M. Nutritional composition and Vitamin C stability in stored Camu-camu (*Myrciaria dubia*) pulp. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. n. 50, p. 405- 408, 2000.

KAILASAPATHY, K.; SUPRIADI, D. Effect of whey protein concentrate on the survival of *Lactobacillus acidophilus* in lactose hydrolyzed yoghurt during refrigerated storage. **Milchwissenschaft**, v. 51, n. 10, p. 565-568, 1996.

KANDLER, O.; WEISS, N. Genus *Lactobacillus beijerinck* 1901, 212AL. In: SNEATH, P. H. A.; MAIR, N. S.; SHARPE, M. E.; HOLT, J. G. (eds). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore: Williams and Wilkins, 1986.

KIM, D.; JEONG, S.; LEE, C. Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**, v.81, n. 3, p.321-326, 2003.

KHURANA, H. K.; KANAWJIA, S. K. Recent trends in development of fermented milks. **Current Nutrition & Food Science**, v. 3, p. 91-108, 2007.

KOLETZKO, B, A.; GGETT, P. J.; BINDELS, J. G. Growth, development and differentiation: a functional food science approach. **Brazilian Journal os Nutrition**. v. 80, p. 35-45, 1998.

KOURKOUTAS Y, XOLIAS V, KALLIS M, BEZIRTZOGLOU E, KANELLAKI M. *Lactobacillus casei* cell immobilization on fruit pieces for probiotic additive, fermented milk and lactic acid production. **Process and Biochemistry**. v. 40, n. 1, p. 411-416, 2005.

KRISTO, E; BILIADERIS, C.G.; TZANETAKIS N. Modelling of rheological, microbiological and acidification properties of a fermented milk product containing a probiotic strain of *Lactobacillus paracasei*. **International Dairy Journal**. v. 13, n. 7, p. 517-528, 2003.

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

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**, v.36, n.4, p.1283-1287, 2006.

KUSKOSKI, E. M.; E.; ASUERO, A. G; TRONCOSO, A. M; Jorge MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

LAJOLO, F.M. **Alimentos funcionais: uma visão geral-Importância de alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidades degenerativas**, Editora Atheneu, São Paulo 2001.

LAPIERRE, L.; UNDELAND, P.; COX, L. J. Lithium Chloride-Sodium Propionate Agar for the Enumeration of Bifidobacteria in Fermented Dairy Products. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 5, p. 1192-1196, 1992.

LEITE, S. T. 2015. 91p. **Iogurte simbiótico de açaí (*Euterpe edulis* Mart.): caracterização físico-química e viabilidade de bactérias lácticas e probiótica**. Dissertação (Mestrado Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Espírito Santo. Alegre, 2015.

LETERME, P., BULDGEN, A., ESTRADA, F., LONDOÑO, A. M. Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes and the rain forest of Colombia. **Food Chemistry**, v. 95, p. 644–652, 2006.

LINDEN, U. M. Von Der. Functional fruits - neglected potential? **Fruit Processing**. v. 15, p. 316–319, 2005.

LOPES, R. M., et al. **Flavonóides. Biotecnologia: Ciência & Desenvolvimento**. p. 18-22, 2003.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. C. Growth and survival of a probiotic yeast in dairy products. **Food Research International**. v.34, n. 9, p. 791-796, 2001b.

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

LICHTENTHÄLER, R.; BELANDRINO, R.; RODRIGUES, J. G. S. M.; PAPAGIANNPOULOS, M.; FABRICIUS, H.; MARX, F. Total oxidant scavenging capacities of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) fruits. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 56, n. 1, p. 53-64, 2005.

MAEDA, R. N.; ANDRADE, J. S.; Aproveitamento do camu-camu (*Myrciaria dubia*) para produção de bebida alcoólica fermentada. **Acta Amazônica**. v. 33, n. 3, p. 489-497, 2003

MARCASON, W. What Is the Açaí Berry and Are There Health Benefits? **Journal of the American Dietetic Association**. Question of the month, 2009.

MARRIOTT, B. M. Functional Foods: an ecological perspective. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 71, n. 6, p. 1728S-1734S, 2000.

MATTA, V. M.; MORETTI, R. H.; CABRAL, L. M. C. Microfiltration and reverse osmosis for clarification and concentration of acerola juice. **Journal of Food Engineering**, v. 61, n. 3, p. 477-482, 2004.

MATTILA-SANDHOLM, T.; MYLLÄRINEN, P.; CRITTENDEN, R.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; SAARELA, M. **Technological challenges for future probiotic foods**. v. 12, n. 2-3, p. 173-182.

MEDICI M, VINDEROLA CG, PERDIGÓN G. Gut mucosal immunomodulation by probiotic fresh cheese. *International Dairy Journal*. 2004; 14 (7): 611-618.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; ARAÚJO, C. R. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas. **Alimentos e Nutrição**. v. 19, n.1, p. 67-72, 2008.

MENDES, E. 2003. **Demanda pode tornar açaí raro e caro no Pará**, O Liberal. 15/02/2003. Disponível em www.oliberal.com.br. Acesso em 10 ago. 2014.

MENDES, J. K. S.; FONSECA, R. A.; CAMPOS, D. C. S.; SILVA, A. F. Elaboração e avaliação físico-química de iogurtes reduzidos em calorias a partir da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* MART.). IN: XIV ENCONTRO DO PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. **Anais...**, Boa Vista, 2015.

MENEZES C. R.; 2007. **Estudo da atividade prebiótica de hidrolisados lignocelulósicos**. 2007. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2007.

MENEZES, E. M. S.; TORRES, A. T.; SRUR, A. U. S. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada. **Acta Amazônica**. v. 38, n. 2, p. 311-316, 2008.

MICHIDA, H.; TAMALAMPUDI, S.; PANDIELLE, S. S.; WEBB, C.; FUKUDA, H.; KONDO, A.; Effect of cereal extracts and cereal fiber on viability of *Lactobacillus plantarum* under gastrointestinal tract conditions. **Biochemical Engineering Journal**, v. 28, p. 73-78, 2006.

MINELLI, E. B.; BENINI, A. Relationship between number of bacteria and their probiotic effects. **Microbial Ecology in Health and Disease**. v. 20, p. 180-183, 2008.

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

MORAES-DE-SOUZA, R. A.; OLDONI, T. L. C.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; ALENCAR, S.M. Antioxidant activity and phenolic composition of herbal infusions consumed in Brazil. **Ciencia y Tecnología Alimentaria**, v. 6, p. 41-47, 2008.

MORIYA, J; FACHIN, L; GÂNDARA, A. L. N.; VIOTTO, W. H. Evaluation of culture media for counts of bifidobacterium animalis in the presence of yoghurt bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 37, p. 516-520, 2006.

MUÑIZ-MIRET, N.; VAMOS, R.; HIRAOKA, M.; MONTAGNINI, F.; MENDELSON, R. The economic value of managing the Açay palm (*Euterpe oleracea* Mart.) in flood plains of the Amazon estuary, Pará, Brazil. **Forest Ecology and Management**, v. 87, p. 163–173, 1996.

MYODA, T.; FUJIMURA, S.; PARK, B.; NAGASHIMA, T.; NAKAGAWA, J.; NISHIZAWA, M. Antioxidative and antimicrobial potential of residues of camu-camu juice production. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 8, n. 2, p. 304-307, 2010.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal Chromatogr.**, v.1, n.2, p. 95-111, 2004.

NASCIMENTO, R. J. S.; COURI, S.; ANTONIASSI, R.; PEREIRA, S. F. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 498-502, 2008.

NIJVELDT, R. J.; VAN NOOD, E.; VAN HOORN D. E.; BOELEN, P. G., VAN NORREN, K.; VAN LEEUWEN, P. A. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 74, n. 4, p. 418-425, 2001.

NEVES, L. T. B. C.; CAMPOS, D. C.; MENDES; J. K. S.; URNHANI, C. O.; ARAÚJO, K. G. M. Qualidade de frutos processados artesanalmente de açaí (*Euterpe oleracea* MART.) e bacaba (*Oenocarpus bacaba* MART.). **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 37, n. 3, p. 729-738, 2015.

OLIVEIRA, L. T.; BATISTA, S.M.M. A atuação dos probióticos na resposta imunológica. **Revista Nutrição em Pauta**, 2002.

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

OLIVEIRA, P. D.; LIMA, S. C. G.; JÚNIOR, J. B. L.; ARAÚJO, E. A. F. Avaliação sensorial de iogurte de açaí (*Euterpe oleracea* mart) tipo “sundae”. **Revista Instituto. Laticínios “Cândido Tostes”**, n. 380, v. 66, p. 5-10, 2011.

OLIVEIRA R. P. S.; PEREGO P.; OLIVEIRA M. N.; CONVERTI A.; Effect of inulin as a prebiotic to improve growth and counts of a probiotic cocktail in fermented skim milk. **Food Science and Technology** v. 44, p. 520-523, 2011.

ONG, L.; HENRIKSSON, A.; SHAH, N.P. Chemical analysis and sensory evaluation of Cheddar cheese produced with *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* or *Bifidobacterium* sp. **Internatinal Dairy Journal**, v.17, n.8, p.937-345, 2007.

ÖZER, B. **Strategies for yogurt manufacturing**. In: YILDIZ, F. Development and manufacturing of yogurt and other functional products. CRC Press, p.47-96, 2010.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; HAWKEN, P.; TALCOTT, S. T. Juice matrix composition and ascorbic acid fortification effects on the phytochemical, antioxidant and pigment stability of acai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Food Chemistry**, v. 105 28–35, 2007.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; DUNCAN, C. E.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and thermal stability of two commercial açai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatória*. **Food Chemistry**, 115, 4, p.1199-1205, 2009.

PACHECO-PALENCIA, L.A; MERTENS-TALCOTT S.; TALCOTT, S. Absorption and biological activity of phytochemical rich extracts from açai (*Euterpe oleracea*) pulp and oil *in vitro*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 3593-3600, 2008.

PENN, J. W. Jr. The cultivation of camu camu (*Myrciaria dubia*): a tree planting programme in the Peruvian Amazon. **Forests, Trees and Livelihoods**, v. 16, p. 85–101, 2006.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v.39, p.791-800, 2006.

PEUCKERT, Y. P.; VIEIRA, B.V.; HECKTHEUER, L.H.R.; MARQUES, C.T.; ROSA, C.S. Caracterização e aceitabilidade de barras de cereais adicionadas de proteína texturizada de soja e camu-camu (*Myrciaria dubia*). **Alimentação e Nutrição**, v. 21, n.1, p. 147-152, 2010.

PICOT, A., LACROIX, C. Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 505-515, 2004.

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

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

PIMENTEL, L. L., MÄTTÖ, J.; F. Survival of potentially probiotic enterococci in dairy matrices and in the human gastrointestinal tract. **International Dairy Journal**, v. 27, p. 53-57, 2012.

QIN, Y.; XIA, M.; MA, J.; HAO, Y.; LIU, J.; MOU, H.; CAO, L.; LING, W.; Anthocyanin supplementation improves serum LDL- and HDL-cholesterol concentrations associated with the inhibition of cholesteryl ester transfer protein indyslipidemic subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 90, p. 485–492, 2009.

RAMCHANDRAN, L., SHAN, N.P. Proteolytic profiles and angiotensin-I converting enzyme and a -Glucosidase inhibitory activities of selected lactic acid bacteria. **Journal of Food Science**. v. 73, n. 2, p.75-81, 2010.

RANADHEERA, R. D. C. S., BAINES, S. K., ADAMS, M. C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, v. 43,p .1-7, 2010.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical of Biology and Medicine**, v.20, n.7, p.933-956, 1996.

RIBEIRO, S.I.; MOTA, M.G.C.; CORRÊA, M.L.P. Recomendações para o cultivo do camu-camuzeiro no Estado do Pará. **Circular Técnica**, Embrapa, Belém (PA), 2002.

ROCHA, L. P. **Benefícios dos Probióticos à Saúde Humana**. 2011. 31f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Graduação em Nutrição) Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí, RS, 2011.

ROGEZ, H. (2000). **Açaí: Preparo, Composição e Melhoramento da Conservação**; EDUFPA: Belém, Brazil. 313 pp.

RODRIGUES-AMAYA, B. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington: ILST Press, 2001.

RODRIGUES, R.B.; MARX, F. Camu camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh]: a promising fruit from the Amazon Basin. **Ernahrung**, v. 30, n. 9, p. 376-381, 2006.

RODRIGUES, R. B.; MENEZES, H. C.; CABRAL, L. M. C.; DORNIER, M.; RIOS, G. M.; REYNES, M. Evaluation of reverse osmosis and osmotic evaporation to concentrate camu-camu juice (*Myrciaria dubia*). **Journal of Food Engineering**, v. 63, p.97-102, 2003.

ROLFE, R. D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. **Journal of Nutrition**. v. 130, n. 2, p. 396-402. 2000.

- ROMERO, T. Amazônia em pé vale muito mais. 2007. Disponível em: <www.ambienteemfoco.com.br/?p=5096>. Acesso em: 03/2013.
- ROQUE, P. O **Camu-camu**. Manchete Rural. 88: 47 – 47. 1994.
- RUFINO, M. D. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S, M.; SAMPAIO, C. G.; PEREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Comunicado Técnico**. Fortaleza: 1ª Ed., 2007.
- RUFINO, M. D. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PEREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D; MANCINI FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.
- RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; SILVEIRA, M.R.S.; MOURA, C.F.H. Quality for fresh consumption and processing of some non-traditional tropical fruits from Brazil. **Fruits**, v. 64, n. 6, p. 361-370, 2009.
- SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas** São Paulo, v.42, n.1, p. 1-16, 2006.
- SÁNCHEZ-MORENO. C. methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, v.8, p.121-137, 2002.
- SANDERS, M. E. Probiotics: considerations for human health. **Nutrition Review**, v. 61, n. 3, p. 91-99, 2003.
- SAARELA M.; MOGENSEN G.; FONDÉN R.; MÄTTÖ J.; MATTILA-SANDHOLM T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**. v.84, p.197-215, 2000.
- SEIFRIED, H. E.; ANDERSON, D. E.; FISHER, E. I.; MILNER, J. A. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 18, p. 567- 579, 2007.
- SCHAUSS, A. G.; WU, X.; PRIOR, R. L.; OU, B.; HUANG, D.; OWENS, J.; AGARWAL, A.; JENSEN, G. S.; HART, A. N.; SHANBROM, E. Antioxidant capacity and other

bioactivities of the freeze-dried Amazonian Palm Berry, *Euterpe oleraceae* Mart. (Açaí). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 54, p. 8604-8610, 2006.

SCHULTZ, J. 2008. 51p. **Compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante de açais de *Euterpe edulis* Martius e *Euterpe oleracea* Martius submetidos a tratamentos para sua conservação**. Trabalho de conclusão de curso em Agronomia. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC, 51p.

ŚCIBISZ , I; ZIARNO, M; MITEKA, M.; ZAREBA, D. Effect of probiotic cultures on the stability of anthocyanins in blueberry and yoghurts. **Food Science and Technology**. v. 49, n. 2, p. 208-212, 2012.

SHAH, N. P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**. v.17,p.1262–1277, 2007.

SHAH, N. P.; LANKAPUTHRA, W.E.V.; BRITZ M. L.; KYLE W.S.A.; Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* commercial Yoghurt During Refrigerated Storage. **International Dairy Journal**. v. 5, p.515-521,1995.

SILVA, I. M.; SANTANA, A. C.; REIS, M. S. Análise dos retornos sociais oriundos de adoção tecnológica na cultura do açaí no Estado do Pará. Amazônia: **Ciência e Desenvolvimento**, v. 2, p. 25-37, 2006.

SILVA, J. R.; CAMPOS, D. C. S.; MENDES, J. K. S.; CIPRIANO, L. C; NEVES, L. T. B. C. Elaboração e avaliação da composição nutricional de iogurtes com diferentes concentrações de polpa de camu-camu (*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh). IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Anais...**, Aracajú. 2014.

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. **Anais...**, Florianópolis, 2004.

SILVA, P.R. Novidades na Fruticultura Paraense. **Fruticultura em Revista**. Belém, Pará. Novembro: 27-31, 2002.

SILVA, V.X. 2012. 109p. Determinação do ponto de colheita do camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh] por meio de atributos de qualidade e funcionais. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal de Roraima. Boa Vista, RR, 109p.

SILVA, V.X.; DURIGAN, M.F.B.; FUJITA, E.; CHAGAS, E.A.; NEVES, L.C.; DURIGAN, J.F. Determinação da formulação e caracterização da polpa e do picolé de camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh). In: 9 SLACA- Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos. **Anais...**, Campinas, 2011.

SOUTO, R.N.M. 2001. 95p. **Uso da radiação γ , combinada à refrigeração, na conservação de polpa de açaí (*Euterpe oleracea*, Mart.)**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 95p.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p.351-355, 2007.

SOUSA, M. A. C.; YUYAMA, L. K. D.; AGUIAR, J.P. L.; PANTOJA, L. Suco de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.): avaliação microbiológica, tratamento térmico e vida de prateleira. **Acta Amazônica**, v. 36, n. 04, p. 483 - 496, 2006.

STONER, G. D. Foodstuffs for preventing cancer: the preclinical and clinical development of berries. **Cancer Prevention Research**. v. 2, p. 187–194, 2009.

SUENAGA, C. I.; SIU, E. R.; KATO L. M.; OSAKO, M. K. . **Intolerância à lactose**. UNIFESP: Escola Paulista de Medicina. 2003. Disponível em: <<http://www.virtual.epm.br/material/tis/curr-bio/trab2001/grupo1/intolerancia.htm>>. Acesso em: 15 ago. 2015.

SZAJEWSKA, H.; MRUKOWICZ, J. Z. Probióticos e gastroenterite aguda em crianças: revisão crítica de evidências publicadas. Probióticos na infância. São Paulo. **Anais...** Nestlé, p. 26-39, 2005.

STEINMETZ, K. A.; POTTER, J. D. Vegetables, fruit, and cancer prevention: A review. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 96, p.1027-1039, 1996.

STEVENSON, N. R. Active transport of L-ascorbic acid in the human ileum. **Gastroenterology**, v. 67, p. 952-6, 1974.

TEIXEIRA, A. S.; CHAVES, L. da Silva.; YUYAMA, K. Esterases for examining the population structure of Camu-camu (*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh Myrtaceae). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 34, n.1. 2004.

TERCI, D. B. L.; ROSSI, A. V. indicadores naturais de pH: usar papel ou solução? **Química Nova** v. 25 n. 4, p. 684-688, 2002.

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

TURGUT, T., CAKMAKCI, S. Investigation of the possible use of probiotics in ice cream manufacture. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, p. 444-451, 2009.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v.111, n.4, p. 816-823, 2008.

VIEIRA, T. A. 2011. 90p. **Desenvolvimento de sobremesa láctea simbiótica**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos). Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia. São Caetano do Sul, RS, 2011.

VINDEROLA C. G., PROSELO W, GHIBERTO D, REINHEIMER J. A. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in Argentinian fresco cheese. **Journal of Dairy Science**. v. 83, n. 9, p. 1905-1911, 2000.

VINDEROLA, C.G., REINHEIMER, J.A. Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. **International Dairy Journal**. v. 9, n. 8, p. 497-505. 1999.

WALLACE, T. C.; GIUSTI, M. M. Determination of color, pigment, and phenolic stability in yogurt systems colored with nonacylated anthocyanins from *Berberis boliviana* L. as compared to other natural/synthetic colorants. **Journal of Food Science** v. 73, n. 4, p. 241-248, 2008.

WANG, H.; NAIR, M. G.; STRASBURG, G. M.; CHANG, Y. C.; BOOREN, A. M.; GRAY, J. I. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. **Journal of Natural Products**. v. 62, n. 2, p. 294-306, 1999

WILLETT, W. C. Balancing life-style and genomics research for disease prevention. **Science**, v. 296, p. 695-698, 2000.

WILSON, M. A.; SHUKITT-HALE, B.; KALT, W.; INGRAM, D. K.; JOSEPH, J. A.; WOLKOW, C. A. Blueberry polyphenols increase lifespan and thermotolerance in *Caenorhabditis elegans*. **Aging Cell**. v. 5, p. 59–68, 2006.

YAHIA, E. M. The Contribution of Fruit and Vegetable Consumption to Human Health. In: ROSA, L.A.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; GONZALEZAGUILARA; G.A. **Fruit and vegetable phytochemicals: chemistry, nutritional value and stability**. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2010. p. 3-51.

YUYAMA, K.; AGUIAR, J. L. P.; YUYAMA, K. L. O.; SILVA, I. A. Variabilidade genética de camu-camu silvestre da Amazônia. Simpósio de Recursos Genéticos para a América Latina e Caribe. **Resumo**. Pp: 459-461. 2001.

YUYAMA, K.; AGUIAR, J. P. L.; YUYAMA, K. L. O.; Camu-camu: um fruto fantástico como fonte de vitamina C. **Acta Amazônica** v. 32, n.1, p: 169-174, 2002.

YUYAMA, K; VALENTE, J. P.; CHÁVEZ FLORES, W. B. **Aspectos ecológicos**. In: CRV. Camu-camu. Curitiba, 2011. p. 51-61.

YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L.; FILHO, D. F. S.; YUYAMA, K.; VAREJÃO, M. J. , FÁVARO, D. I. T.; VASCONCELLOS, M . B. A.; PIMENTEL, S. A.; CARUSO, M. S. F. Caracterização físico-química do suco de açaí de *Euterpe precatoria* Mart. oriundo de diferentes ecossistemas amazônicos. **Acta amazônica**. v. 41, n. 4, p.545-552, 2011.

YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L.; NAGAHAMA, D.; ALENCAR, F. H.; YUYAMA, K.; CORDEIRO, G. W. O.; MARQUES, H. O. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) e camu-camu (*Myrciaria dúbia* (H.B.K.) Mc Vaugh) possuem ação antianêmica? **Acta Amazônica**, v. 32, n. 04, p. 625-633, 2002.

YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L.; YUYAMA, K.; LOPES, T. M.; FÁVARO, D. I. T.; BERGL, P. C. P.; VASCONCELLOS, M . B. A. Teores de elementos minerais em algumas populações de camu-camu. **Acta Amazônica**. v. 33, n. 4, p. 549-554, 2003.

ZANATTA, C. F.; CUEVAS, E.; BOBBIO, F.O.; WINTERHALTER, P.; MERCADANTE, A.Z. Determination of Anthocyanins from Camu-camu (*Myrciaria dubia*) by HPLC-PDA, HPLC-MS, and NMR. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 24, p. 9531-9535, 2005.

ZANATTA, C. F.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*). **Food Chemistry, Barking**, v. 101, n. 4, p. 1526-1532, 2007.

ZAPATA, S. M.; DUFOUR, J. P. Camu-camu *Myrciaria dubia* (H. B. K.) Mc Vaugh Chemical composition of fruit. **Journal Science Food Agriculture**. 61. Pp: 349 – 351. 1993.