



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**LUANA PINTO DE ARRUDA SALES**

**DESENVOLVIMENTO DE IOGURTE COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE  
UTILIZANDO POLPA DE *Syzygium cumini* L.**

**CAMPINA GRANDE**

**2018**

**LUANA PINTO DE ARRUDA SALES**

**DESENVOLVIMENTO DE IOGURTE COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE,  
UTILIZANDO POLPA DE *Syzygium cumini* L**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba para a obtenção do título de Mestre

Orientadora:

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

Co-orientadora:

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eliane Rolim Florentino

**CAMPINA GRANDE**

**2018**

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

S163d Sales, Luana Pinto de Arruda.  
Desenvolvimento de iogurte com atividade antioxidante, utilizando polpa de *Syzygium cumini* L. [manuscrito] : / Luana Pinto de Arruda Sales. - 2018.  
64 p. : il. colorido.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2018.

"Orientação : Profa. Dra. Flávia Carolina Alonso Burity, Departamento de Química - CCT."

"Coorientação: Profa. Dra. Eliane Rolim Florentino, Departamento de Química - CCT."

1. *Syzygium cumini*. 2. Iogurte. 3. Antioxidantes naturais.

21. ed. CDD 615.321

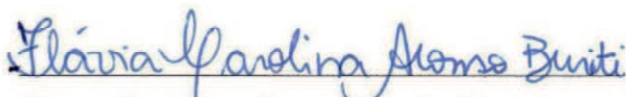
**LUANA PINTO DE ARRUDA SALES**

**DESENVOLVIMENTO DE IOGURTE COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE,  
UTILIZANDO POLPA DE *Syzygium cumini* L.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba para a obtenção do título de Mestre

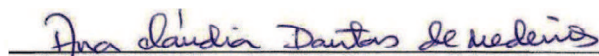
Aprovada em 02/03/2018

**BANCA EXAMINADORA**



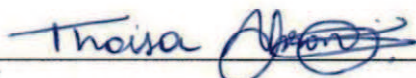
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Flávia Carolina Alonso Buriti (Orientadora)

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Cláudia Dantas de Medeiros

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Thaisa Abrantes Souza Gusmão

Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

**Dedicatória**  
**À minha família.**

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família, que é razão da minha vida;

Aos meus amigos, por estarem ao meu lado me incentivando durante esses dois anos;

Às amigas da turma de mestrado Fernanda Nóbrega, Fernanda Almeida, Vandiará, Camila e Laisla, pelos momentos que compartilhamos;

À professora Dr<sup>a</sup> Flávia Carolina, que com paciência e dedicação me orientou na realização desta pesquisa;

À professora Dr<sup>a</sup> Eliane Florentino, pela oportunidade que me foi dada de realizar este trabalho;

A todas as pessoas que tive o prazer de conhecer no Núcleo de Pesquisas e Extensão em Alimentos (NUPEA), que me acolheram desde o primeiro dia em que lá estive, alunos e técnicos, cuja colaboração foi pilar deste trabalho;

Aos meus amigos do NULF, que tornaram possível a realização deste sonho;

À Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), tão bem representada pelos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas;

Ao Programa de Incentivo à Pós-Graduação e Pesquisa (PROPESQ) da UEPB;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq);

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES);

À Fundação Parque Tecnológico da Paraíba (PaqTcPB) pelo apoio financeiro ao NUPEA;

À Unidade Acadêmica de Engenharia de Alimentos (UFCG), pela autorização para utilização do laboratório de Análise Sensorial;

E a todos que ajudaram de alguma forma na realização deste trabalho;

Minha gratidão

## RESUMO

*Syzygium cumini* (L.) é uma planta pertencente à família Mirtaceae e conhecida pelos nomes de ameixa preta indiana, ameixa de Java, azeitona, azeitona preta, jabolão, jamelão, janus, jamblon, jambolan, janman ou oliveira. Seus constituintes fenólicos, nas folhas, cascas e frutos, possuem atividades farmacológicas e fitoterápicas, mas este potencial é subaproveitado. Em virtude do aumento da procura por alimentos com propriedades funcionais, o objetivo deste trabalho foi elaborar iogurtes em versão integral e em versão semidesnatada com adição da polpa do *Syzygium cumini*. Foram realizados ensaios-piloto para definição das concentrações de polpa e leite a serem utilizadas, a partir dos quais se definiu utilizar 10% de polpa de *S. cumini* e 20% de leite reconstituído. Os produtos elaborados foram avaliados quanto aos parâmetros físico-químicos e microbiológicos, a concentração de fenólicos totais e a capacidade antioxidante após 1, 7, 14 e 21 dias do período de armazenamento do produto. Determinou-se a composição centesimal do produto pronto e da polpa. A aceitabilidade sensorial dos produtos elaborados foi avaliada após 7, 14 e 21 dias de armazenamento. As bactérias lácticas adicionadas para a fermentação mantiveram-se viáveis durante os 21 dias, sendo a espécie *Streptococcus thermophilus* encontrada em até 10,95 log UFC g<sup>-1</sup> no iogurte integral e 11,18 log UFC g<sup>-1</sup> no iogurte semidesnatado. A população de *Lactobacillus bulgaricus* atingiu 6,05 log UFC g<sup>-1</sup> no iogurte integral e 5,40 log UFC g<sup>-1</sup> no iogurte semidesnatado. Os iogurtes elaborados apresentaram teor de proteínas de 4,29 g 100 g<sup>-1</sup> e 5,23 g 100 g<sup>-1</sup> para o iogurte semidesnatado e integral respectivamente. O teor de cinzas foi de 1,55 g 100 g<sup>-1</sup> para o iogurte semidesnatado e 0,97 g 100 g<sup>-1</sup> para o integral. A capacidade antioxidante do iogurte integral durante o armazenamento variou entre 0,83 a 0,96 g de iogurte mg<sup>-1</sup> de DPPH, enquanto o iogurte com semidesnatado variou entre 0,67 a 1,00 g de iogurte mg<sup>-1</sup> de DPPH. Os compostos fenólicos totais foram mais abundantes no iogurte integral. De acordo com a análise sensorial, o iogurte integral obteve as melhores avaliações nos parâmetros sabor, textura e odor. Nos atributos de cor e acidez não houve diferença significativa entre os dois tratamentos (p < 0,05). A aceitação global do iogurte integral e semidesnatado foi maior após duas semanas de armazenamento. Ambas as versões de iogurte produzidas apresentaram-se de acordo com as exigências da legislação que regulamenta a produção de fermentados lácteos em relação à viabilidade de bactérias lácticas e ausência de contaminantes durante os dias de armazenamento avaliados. O iogurte integral obteve maior aceitação em relação ao sabor que o iogurte semidesnatado. Os resultados obtidos indicam que o fruto de *S. cumini* pode ser utilizado com sucesso na produção de iogurtes como uma alternativa ao aproveitamento do seu potencial antioxidante.

Palavras-chave: *Syzygium cumini*. Iogurte. Antioxidantes.

## ABSTRACT

*Syzygium cumini* (L.) is a plant belonging to the family Mirtaceae and known by the names of Indian black plum, Java plum, olive, black olives, jambolão, jamelão, janus, jamblon, jambolan, janman or oliveira. Its phenolic constituents, in leaves, barks and fruits, have pharmacological and phytotherapeutic activities, but this potential is underutilized. There is an increase on the demand for foods with functional properties, so the objective of this work was to elaborate yoghurts in full version and semi-skimmed version with the addition of *Syzygium cumini*'s pulp. Pilot tests were carried out to define the concentrations of pulp and milk to be used, from which it was defined to use 10% of *S. cumini*'s pulp and 20% of milk. The products were evaluated for physicochemical and microbiological parameters, the total phenolic concentration and the antioxidant capacity after 1, 7, 14 and 21 days of the storage period of the product. The centesimal composition of the ready product and the pulp were determined. The sensorial acceptability of the elaborated products was evaluated after 7, 14 and 21 days of storage. Lactic bacteria added for fermentation remained viable for 21 days, with *Streptococcus thermophilus* being found in up to 10.95 log CFU g<sup>-1</sup> in whole yoghurt and 11.18 log CFU g<sup>-1</sup> in semi-skimmed yogurt. The population of *Lactobacillus bulgaricus* reached 6.05 log CFU g<sup>-1</sup> in whole yoghurt and 5.40 log CFU g<sup>-1</sup> in semi-skimmed yogurt. The elaborated yoghurts presented protein content of 4.29 g 100 g<sup>-1</sup> and 5.23 g 100 g<sup>-1</sup> for semi-skimmed and whole yogurt respectively. The ash content was 1.55 g 100 g<sup>-1</sup> for semi-skimmed yogurt and 0.97 g 100 g<sup>-1</sup> for the integral. The antioxidant capacity of the whole yogurt during storage ranged from 0.83 to 0.96 g of DPPH mg<sup>-1</sup> yogurt, while the semi-skimmed yogurt ranged from 0.67 to 1.00 g of DPPH mg<sup>-1</sup> yogurt. Total phenolic compounds were more abundant in whole yoghurt. According to the sensorial analysis, the whole yoghurt obtained the best evaluations in the parameters taste, texture and odor. In the attributes of color and acidity there was no significant difference between the two treatments (p <0.05). The overall acceptance of whole and semi-skimmed yogurt was greater after two weeks of storage. Both versions of yogurt produced were in accordance with the requirements of the legislation that regulates the production of dairy products in relation to the viability of lactic acid bacteria and the absence of contaminants during the storage days evaluated. Integral yogurt was more widely accepted for taste than semi-skimmed yogurt. The results indicate that the fruit of *S. cumini* can be used successfully in the production of yogurts as an alternative to the use of its antioxidant potential.

Keywords: *Syzygium cumini*. Yogurt. Antioxidants.



# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>11</b>
2.1	Objetivo geral	11
2.2	Objetivos específicos	11
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>12</b>
3.1	<i>Syzygium cumini</i>	12
3.1.1	Propriedades bioativas do fruto de <i>Syzygium cumini</i> .	13
3.2	Antioxidantes naturais	15
3.3	Iogurte	17
3.4	Alimentos funcionais	19
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>21</b>
4.1	Obtenção e processamento dos frutos de <i>Syzygium cumini</i>	21
4.1.1	Coleta	21
4.1.2	Sanitização dos frutos	21
4.1.3	Preparo da polpa	21
4.2	Caracterização físico-química do fruto	22
4.2.1	Determinação do tamanho médio dos frutos	22
4.2.2	Determinação do teor de sólidos solúveis	22
4.2.3	Determinação de pH e acidez titulável	22
4.2.4	Determinação da composição centesimal da polpa de <i>Syzygium cumini</i>	22
4.2.4.1	Determinação do teor de sólidos totais e de umidade	22
4.2.4.2	Determinação do teor de cinzas	22
4.2.4.3	Determinação do teor de lipídios	23
4.2.4.4	Determinação do teor de proteínas	23
4.2.4.5	Determinação do teor de carboidratos totais	23
4.2.5	Determinação de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante	23
4.2.5.1	Preparo das amostras para as análises de compostos fenólicos totais e de capacidade antioxidante	23
4.2.5.2	Determinação de compostos fenólicos totais	23
4.2.5.3	Determinação da atividade antioxidante por DPPH	24
4.3	Ensaio piloto para obtenção de iogurte com adição de polpa de <i>Syzygium cumini</i>	24
4.3.1	Delineamento de estudo	24
4.3.2	Preparo do inóculo	25
4.3.3	Preparo do iogurte	25
4.3.4	Ensaio piloto 1 – aspecto do produto final e determinação da acidez ao final fermentação	26
4.3.5	Ensaio piloto 2 – definição da proporção de polpa e leite no preparo do iogurte com base na população de bactérias lácticas no início e final da fermentação.	26
4.3.5.1	Determinação de <i>Streptococcus thermophilus</i>	27
4.3.5.2	Determinação de <i>Lactobacillus</i> sp.	27

4.3.6	Ensaio piloto 3 – definição da proporção de polpa e leite no preparo do iogurte com base na viscosidade das formulações ao final da fermentação	27
<b>4.4</b>	<b>Ensaio definitivos – avaliação da estabilidade de iogurtes com a adição de polpa de <i>Syzygium cumini</i></b>	<b>28</b>
4.4.1	Determinações físico-químicas	28
4.4.2	Determinação de fenólicos totais e de capacidade antioxidante	28
4.4.3	Viabilidade das culturas lácticas	28
4.4.4	Determinação de contaminantes em iogurte	28
4.4.4.1	Determinação de coliformes a 35 °C e a 45 °C	28
4.4.4.2	Determinação de bolores e leveduras	29
4.4.4.3	Determinação da presença de <i>Salmonella sp</i>	29
4.4.5	Análise sensorial	29
<b>4.5</b>	<b>Análise estatística</b>	<b>30</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>32</b>
<b>5.1</b>	<b>Avaliação dos frutos e polpa de fruta</b>	<b>32</b>
5.1.1	Caracterização físico-química dos frutos de <i>Syzygium cumini</i>	32
5.1.2	Composição centesimal da polpa de <i>Syzygium cumini</i>	32
5.1.3	Determinação de fenólicos totais e capacidade antioxidante na polpa de <i>Syzygium cumini</i>	33
<b>5.2</b>	<b>Ensaio pilotos</b>	<b>35</b>
5.2.1	Ensaio-piloto 1 – aspecto do produto final e determinação da acidez ao final fermentação	35
5.2.2	Ensaio piloto 2 – população das culturas lácticas utilizadas na fermentação do ensaio-piloto	38
5.2.3	Ensaio piloto 3 – viscosidade do produto ao final da fermentação	39
<b>5.3</b>	<b>Ensaio definitivos</b>	<b>40</b>
5.3.1	Composição centesimal dos iogurtes com polpa de <i>Syzygium cumini</i>	40
5.3.2	Acidez e pH dos iogurtes durante o período de armazenamento	42
5.3.3	Determinação de fenólicos totais e capacidade antioxidante nas etapas de pré-fermentação e armazenamento do iogurte com polpa de <i>Syzygium cumini</i>	43
5.3.4	Viabilidade das bactérias lácticas durante armazenamento	46
5.3.5	Análise de contaminantes microbiológicos durante armazenamento	47
5.3.6	Análise sensorial	49
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>53</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>54</b>
	<b>ANEXO – I – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA</b>	<b>61</b>
	<b>APÊNDICE I – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b>	<b>63</b>
	<b>APÊNDICE II – FICHA PARA TESTE DE ACEITAÇÃO</b>	<b>64</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre as plantas da família *Myrtaceae*, a espécie *Syzygium cumini* é uma das mais estudadas. No princípio, foi classificada botanicamente como *Eugenia jambolanum*, e teve sua classificação modificada para *Syzygium cumini* Lamarck (AYYANAR; SUBASH-BADU, 2012). A espécie *S. cumini* é originária da Índia, mas atualmente é encontrada em diversas regiões tropicais por todo o mundo. Aqui no Brasil, *S. cumini* é encontrado em diversos estados da região Norte, Nordeste, Sul e Sudeste (BARCIA, 2009). Seu fruto é oval, de coloração esbranquiçada antes da maturação, adquirindo coloração azul ou violeta com a maturação e possui uma única semente. Possui sabor que é descrito como combinação de doce, levemente amargo e adstringente. Sua vida útil após a coleta é curta, o que causa o desperdício de uma grande quantidade dos frutos na época de frutificação (fevereiro e março) (LAGO; GOMES; SILVA, 2006).

Sabe-se que frutos que apresentam diversas tonalidades de coloração vermelha e azul, como é o caso da espécie *S. cumini*, apresentam grande quantidade de flavonoides, como por exemplo os pigmentos hidrofílicos antocianinas, as quais apresentam bioatividades de natureza diversa (AQIL et al., 2012). Estas moléculas, além de possuírem atividades antimutagênicas, apresentam grande capacidade antioxidante *in vivo* e *in vitro* (SAXENA; GAUTAM; SHARMA, 2013). A introdução de alimentos ricos em antocianinas na dieta tem sido associada à prevenção de doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes (TRIGUEROS; WOJDYLO; SENDRA, 2014).

Vegetais ricos em antocianinas, ou outro componente fisiologicamente ativo, como beta caroteno ou licopeno, representariam a forma mais simples de um alimento funcional, ou seja, alimentos que além de nutrientes, também oferecem benefícios à saúde (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, 2004).

O iogurte apresenta nutrientes em maiores concentrações que o leite devido ao processo de fermentação como por exemplo: proteínas, riboflavina, vitamina B-6 e B-12, cálcio, potássio, zinco e magnésio. A acidez do produto aumenta a biodisponibilidade de nutrientes como o cálcio (JACQUES; WANG, 2014).

A associação de frutas e iogurte pode melhorar o sabor e as propriedades funcionais do iogurte natural. A incorporação de frutas ao iogurte pode ser feita com a fruta *in natura*, néctar, geléia, xarope ou com o suco concentrado da fruta (JAYASINGUE et al., 2015).

Existe um interesse maior na introdução do *S. cumini* na dieta humana através do desenvolvimento de produtos alimentícios como sorvetes, vinhos, geleias, bolos ou sucos

funcionais (TAVARES et al., 2016). Com o intuito de avaliar o aproveitamento do fruto de *S. cumini*, foi estudado o uso de sua polpa no desenvolvimento de iogurtes integral e desnatado, além de determinar sua capacidade antioxidante.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

O objetivo do presente estudo foi desenvolver um iogurte com atividade antioxidante, utilizando polpa de *Syzygium cumini*, L.

### 2.2 Objetivos específicos

Foram objetivos específicos deste estudo:

- a) caracterizar o fruto de *S. cumini* quanto aos parâmetros físico-químicos pH e acidez;
- b) determinar a composição centesimal da polpa de *S. cumini*: umidade, lipídios, proteínas e cinzas;
- c) elaborar formulações de iogurte com adição da polpa do fruto do *S. cumini* nas versões integral e semidesnatado;
- d) caracterizar os produtos formulados quanto aos parâmetros físico-químicos pH e acidez;
- e) determinar a composição centesimal dos produtos elaborados: umidade, lipídios, proteínas e cinzas;
- f) verificar a estabilidade dos produtos formulados durante o armazenamento;
- g) avaliar a capacidade antioxidante dos produtos formulados;
- h) avaliar a aceitabilidade dos produtos formulados através de análise sensorial.

## 3 REVISÃO DA LITERATURA

### 3.1 *Syzygium cumini*

*Syzygium cumini* pertence à família das plantas Mirtáceas, a qual se encontra distribuída por diversas regiões tropicais do mundo como América do Sul, Sudoeste da Ásia e Austrália. Os frutos comestíveis encontrados na subfamília *Mirtoideae* têm importância econômica e incluem desde plantas ornamentais como a murta, especiarias como o cravo (*Syzygium aromaticum*), pimenta da Jamaica (*Pimenta dioica*), e as frutas de *Psidium* (goiaba), *Myrciaria*, *Eugenia*, *Syzygium*, *Plinia* e *Luma* (REYNERTSON et al., 2008). No Brasil, algumas das principais representantes dessa família são a *Myrciaria cauliflora* Berg (jaboticaba), *Psidium cattleianum* Sabina (goiaba amarela), *Campomanesia xanthocarpa* (guabiroba) e *Eugenia pyriformis* Cambess (uvaia) (PEREIRA et al., 2012).

A árvore de *S. cumini* é classificada como uma sempre-verde, com período de frutificação que ocorre entre os meses de janeiro a março. Seus frutos são de coloração violeta escura, quase preta e medem entre 1,5-3,8cm (AYYANAR; SUBASH-BABU, 2012). Na Figura 3.1 é apresentada a árvore da espécie *S. cumini*.

Figura 3.1 - Árvore de *Syzygium cumini*:



Fonte: a autora, 2018.

Os frutos tropicais das mirtáceas crescem sob condições de alto estresse oxidativo devido à intensidade de raios solares e altas temperaturas, o que estimulam a produção de compostos fenólicos com o intuito de inibir os danos causados pelos raios ultravioleta nos tecidos vegetais, além de proteger os organismos dos mamíferos que os consomem (REYNERTSON et al., 2008). Na Figura 3.2 é apresentado o fruto de *S. cumini*.

Figura 3.2 - Fruto de *S. cumini*.

Fonte: a autora, 2018.

### 3.1.1 Propriedades bioativas do fruto de *Syzygium cumini*.

*Syzygium cumini* é rico em compostos fenólicos e que possui atividades farmacológicas associadas às sementes, frutos e casca do caule (AYYANAR; SUBASH-BABU, 2012). Suas propriedades mais importantes, como por exemplo o potencial antioxidante, estão relacionadas aos seus constituintes fenólicos e ao alto teor de antocianina de seus frutos (AQIL et al., 2012). Foram identificados 74 compostos fenólicos diferentes nas partes comestíveis do fruto de *S. cumini* (casca e polpa) dentre antocianinas, flavonóis, monômeros de flavan-3-ol, taninos condensados e taninos hidrolisáveis. O teor de compostos fenólicos no fruto é de 569 (pele) e 235 (polpa) mg Kg<sup>-1</sup> em equivalentes de ácido gálico (TAVARES et al., 2016).

Há cerca de 17 antocianinas de ocorrência natural nas plantas, dentre as quais as mais universalmente distribuídas são: pelargonidina, cianidina, peonidina, petunidina, malvidina e delphinidina. Saxena, Gautam e Sharma (2013) identificaram através de cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) as principais antocianinas do fruto de *S. cumini* como sendo a petunidina-3,5-diglicosídeo e cianidina-3,5-diglicosídeo, e em menor quantidade, malvidina-3,5-diglicosídeo e delphinidina-3,5-diglicosídeo. Por outro lado, de acordo com Reynertson et al. (2008) os principais compostos fenólicos encontrados em polpa de *S. cumini* foram cianidina 3-glicosídeo e delphinidina 3-glicosídeo. As diferentes composições de solo e condições climáticas são responsáveis pela variação de componentes antocianínicos das plantas.

O fruto do *S. cumini* é utilizado há muito tempo na medicina tradicional da Índia para o tratamento de diversas enfermidades, em especial a diabetes (TAVARES et al., 2016).

Helmstädter (2008) revisou estudos realizados até aquela data sobre a atividade anti-hiperglicêmica do pó das sementes e frutos frescos de *S. cumini*. Os estudos incluem experimentos em animais e ensaios *in vitro*. Evidencia-se a atividade anti-hiperglicemiante dos extratos do pó através da redução em até 30% a glicemia em jejum e pós-prandial. A conclusão do estudo sugere que existem dados robustos o suficiente para embasar ensaios clínicos em pacientes de diabetes do tipo 2, com doses de extrato de frutos frescos ou sementes de *S. cumini* para serem comparados a tratamentos com placebos e com fármacos de administração oral padronizados.

O potencial bioativo de componentes não fenólicos na prevenção e/ou tratamento da diabetes também foi avaliada por Li et al. (2017). O extrato de frutos de *S. cumini* com acetato de etila, o qual é rico em triterpenóides, foi avaliado em modelos experimentais em animais a fim de avaliar a tolerância à glicose, inibição de gliconeogênese hepática e redução da glicemia pós-prandial. Os resultados obtidos indicam que a administração do extrato é capaz de melhorar a tolerância à glicose em animais aumentando a sensibilidade à insulina, com conseqüente aumento da tolerância à glicose *in vivo*. Há também redução da produção de glicose *in vivo* por inibição da expressão de enzimas hepáticas ligadas à gliconeogênese.

Quando isolados, os polifenóis de extratos do fruto de *S. cumini* apresentam potencial antimicrobiano e antioxidante contra micro-organismos patógenos de referência (SINGH et al., 2016). Os polifenóis isolados apresentam atividade antimicrobiana tanto contra micro-organismos Gram-positivos quanto Gram-negativos, além de ter alguma atividade contra *Candida albicans*. Estes resultados sugerem que o extrato de polifenóis do fruto de *S. cumini* possa ser usado como conservante ou associado a terapias com antibióticos convencionais.

A fim de avaliar se a atividade antimicrobiana *in vitro* de *S. cumini* seria comprovada *in vivo*, Maciel et al. (2008) usaram o modelo animal de ligação cecal e punctura (CLP- *cecal ligation and puncture*), a fim de reproduzir condições clínicas encontradas em uma situação de sepse. O estudo mostrou que o tratamento profilático com o extrato de folhas de *S. cumini* causou redução de mortalidade em sepse letal induzida em camundongos. No entanto, o efeito não se deu por atividade antimicrobiana direta, mas sim por indução do recrutamento de neutrófilos ao local da infecção. Em estudo posterior utilizando-se o óleo essencial da planta, foi observado que o mecanismo da atividade anti-inflamatória inclui a inibição da migração de eosinófilos, neutrófilos e células mononucleares (SIANI et al., 2013).

Além do polifenóis, as antocianinas presentes no extrato do fruto de *S. cumini* também possuem atividade antimicrobiana, segundo sugere o trabalho de Gopu, Kothandapani e Shetty (2015). As antocianinas estudadas nesse trabalho, em especial a malvidina,



interromperam a comunicação intracelular bacteriana através do mecanismo chamado *Quorum Sensing*, o qual está associado à patogenicidade de algumas bactérias como a *Klebsiella pneumoniae*. Este resultado também confere importância ao uso de extratos do fruto como conservantes em alimentos, ou adjuvantes em tratamentos com antibióticos.

Em estudo conduzido por Saxena, Gautam e Sharma (2013), foi avaliado o potencial antimutagênico de antocianinas isoladas do fruto de *S. cumini*. A avaliação da anitmutagenicidade foi realizada através de modelo bacteriano por inibição de mutações causadas por agentes físicos (raios UV) ou químicos (EMS e ácido nalidíxico). O fruto de *S. cumini* apresentou alta atividade antimutagênica devido à antocianina petunidina-3,5-diglicosídeo.

O óleo essencial de *S. cumini*, e seu principal constituinte,  $\alpha$ -pineno foram avaliados para potencial atividade antiprotozoária contra formas amastigotas e promastigotas de *Leishmania amazonensis* (RODRIGUES et al., 2015). Nesse estudo, os efeitos antiproliferativos do óleo essencial extraído das folhas de *S. cumini* amastigotas intramacrofágicas foram expostos ao óleo essencial e ao  $\alpha$ -pineno para determinar o índice de sobrevivência das células. Observou-se que tanto o  $\alpha$ -pineno quanto o óleo essencial apresentaram maior atividade antiproliferativa contra as formas de *Leishmania*. O mecanismo proposto segundo ensaio de modulação da ativação de macrófagos seria através de atividade imunomodulatória como observado através da maior atividade fagocítica e lisossomal, assim como aumento dos níveis de óxido nítrico. A citotoxicidade do óleo essencial e do  $\alpha$ -pineno foram consideradas aceitáveis.

A casca liofilizada do fruto de *S. cumini* pode ser empregada como fonte de corante alimentício natural em alimentos e produtos farmacêuticos (AYYANAR; SUBASH-BADU, 2012). O fruto de *S. cumini* tem sido usado no desenvolvimento de produtos alimentícios como sucos, geleias, polpa, *muffins* e vinho (TAVARES et al., 2016).

O potencial antioxidante dos compostos bioativos de *S. cumini* pode ser aproveitado no setor farmacêutico, cosmético e nutricional. Seu uso em tecnologia de alimentos reduz a utilização de antioxidantes sintéticos como o BHA (butil-hidroxianisol), o BHT (butil-hidroxitolueno) ou o TBHQ (terc-butil-hidroquinona), os quais devem ter estabelecido seus níveis de segurança e toxicidade (MELO et al., 2011).

### **3.2 Antioxidantes naturais**

Os constituintes principais das plantas são a água, carboidratos, proteínas, enzimas, lipídios, pigmentos, vitaminas, minerais, além de componentes que apresentam bioatividade, os quais são produtos do metabolismo secundário dos vegetais (BARCIA, 2009). Antocianinas, flavonoides, ácidos fenólicos e taninos têm importante papel na atração de insetos polinizadores e dispersores de sementes, além de ser compostos de defesa contra infecções microbianas (REYNERTSON et al., 2008).

Antioxidantes são definidos como qualquer substância que atrasa, evita ou remove danos oxidativos em moléculas-alvo e cujo papel fisiológico seria evitar danos ao componentes celulares como consequência de reações químicas envolvendo radicais livres (PROCHÁZKOVÁ; BOUŠOVÁ; WILHELMOVÁ, 2011).

Radicais livres são moléculas reativas com elétrons desemparelhados capazes de existir de forma independente. Processos metabólicos endógenos, especialmente inflamação crônica, são importantes fontes de radicais livres. Radicais livres podem reagir e danificar biomoléculas tais como lipídios, proteínas, carboidratos e DNA. O consumo de antioxidantes na dieta, os quais são capazes de neutralizar os radicais livres, poderia então ser uma estratégia na prevenção de danos dos radicais livres às biomoléculas (SONG et al., 2010).

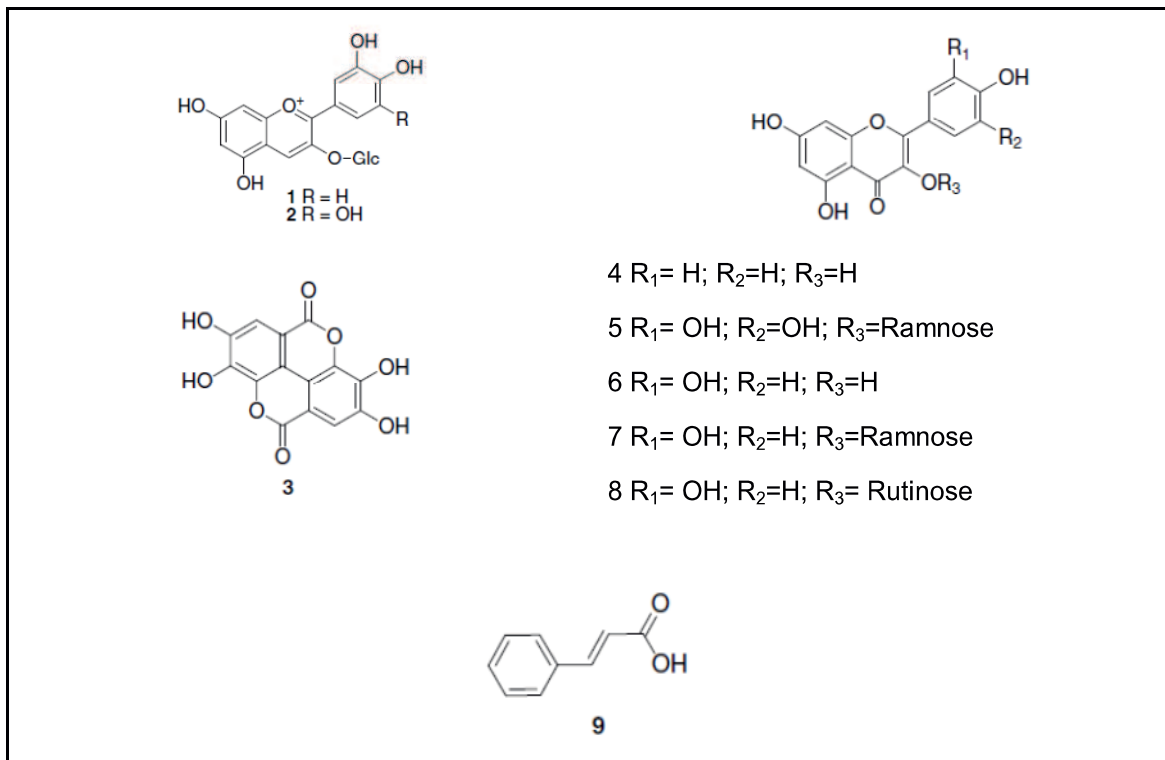
Vitaminas, carotenoides e fenólicos apresentam efeito protetor por complementar o sistema de defesa antioxidante inato do organismo, o que sustenta as recomendações de uma dieta rica nestes compostos. As vitaminas podem atuar como sequestrante dos radicais de oxigênio tornando-as indisponíveis para agir como propagadoras da cadeia oxidativa (como a vitamina C) ou através de ação regeneradora (como a vitamina E). Carotenóides reagem principalmente com radicais peróxido e oxigênio molecular através da transferência de energia do oxigênio excitado para a molécula carotenoide. Exercem suas funções antioxidantes especialmente em fases lipídicas, bloqueando os radicais livres que danificam membranas lipoproteicas (PEREIRA et al., 2012).

Os compostos fenólicos são exemplo de um grupo variado de moléculas que apresentam propriedades bioativas e estão subdivididos entre fenólicos flavonoides e não flavonoides (MELO et al., 2011). Os compostos fenólicos inibem enzimas oxidativas e fatores de transcrição inflamatórios nuclear como Fator Nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) e proteína ativadora-1 (AP-1), possuem atividade antialérgica, antiviral, antibacteriana, antifúngica, antitumoral e anti-hemorrágica (REYNERTSON et al., 2008).

A ação antioxidante dos compostos fenólicos pode ser causada pela neutralização e sequestro de radicais livres ou pela quelação de metais de transição (PEREIRA et al., 2012). A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos é atribuída ao poder redutor do grupo

hidroxila aromático, o qual reduz os radicais livres reativos através da formação de intermediários estáveis devido à distribuição da carga através do sistema de anéis aromáticos (PEREIRA et al., 2012). A título de exemplo, na Figura 3.3, são apresentados exemplos de estruturas fenólicas comuns em plantas da família das mirtáceas.

Figura 3.3 - Exemplo de compostos fenólicos encontrados na família das Mirtáceas: cianidina 3-glicosídeo (1), delphinidina 3-glicosídeo (2); ácido elágico (3); kaempferol (4); miricetina (5); quercetina (6); quercitrina (7); rutina (8) e ácido cinâmico (9).



Fonte: adaptado de REYNERTSON et al., 2008.

### 3.3 Iogurte

O desenvolvimento dos processos de fermentação que levou aos derivados lácteos começou com a domesticação dos animais mamíferos e nasceu da necessidade de aumentar o período de validade do leite para não desperdiçá-lo (SFAKIANAKIS; TZIA, 2014).

De acordo com a Instrução Normativa n° 46 (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2007, p.4), iogurte é definido como o produto:

[...] cuja fermentação se realiza cultivos protosimbóticos de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, aos quais se podem acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-lácticas

que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final.

Apesar de ser referida na legislação como sendo uma subespécie, *Streptococcus thermophilus* teve seu reconhecimento como espécie realizada por Schleifer et al. (1991) a partir de estudos de hibridização de DNA.

A fermentação do leite para produção de iogurte é fruto da atuação sinérgica entre *Streptococcus thermophilus* (ST) e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (LB), através da metabolização da lactose em ácido láctico e redução do pH do meio. Inicialmente, a maior atividade proteolítica do ST é responsável pela liberação de aminoácidos e ácidos orgânicos (como o ácido fórmico) que estimulam o crescimento do LB. Por ser mais tolerante à maior tensão de O<sub>2</sub> no início da fermentação, o ST é responsável pela diminuição inicial do pH. À medida que o pH e a tensão de O<sub>2</sub> do meio diminuem, a atividade do LB aumenta (SFAKIANAKIS; TZIA, 2014).

Na produção de iogurte é utilizado leite integral ou desnatado. Pode-se ainda adicionar adoçantes, estabilizantes, corantes e flavorizantes para melhorar a aparência e características sensoriais. Além disso, a fim de aumentar a concentração de sólidos, é possível incorporar leite em pó e concentrado de proteína de soro (RAMÍREZ-SUCRE; VÉLEZ-RUIZ, 2013).

No Brasil, de acordo com pesquisa de orçamento familiar realizada nos anos de 2008-2009, o iogurte aparece como um dos alimentos processados de maior consumo entre os habitantes de zonas urbanas (IBGE, 2011). Ainda segundo a pesquisa, a prevalência do consumo de iogurte diminui com o aumento da idade, ao contrário do que acontece com outros derivados lácteos, como o queijo.

O iogurte tem uma taxa de consumo médio *per capita* chegando 9,8 g/dia, sendo maior entre as mulheres (11,0 g/dia) do que entre os homens (8,5 g/dia) (IBGE, 2011). Na Alemanha e nos Estados Unidos a taxa de consumo de iogurte *per capita* chega a 48,8 g/dia e 18,4 g/dia respectivamente (HOPPERT et al., 2013). Segundo Cinbas e Yazici (2008), a introdução de iogurtes a base de frutas na alimentação contribui significativamente para o consumo desses produtos em todas as faixas etárias. De acordo com esses autores, o aumento do consumo estaria correlacionado à ideia de alimentação saudável fornecida pela adição de frutos aos iogurtes.

O iogurte é um alimento rico em proteínas, cálcio, magnésio, vitamina B<sub>12</sub> e alguns ácidos graxos essenciais. Além disso, contém culturas bacterianas, o que o torna uma fonte de probióticos (FERNANDEZ; MARETTE, 2017).

A indústria de iogurte cresceu nos últimos vinte anos devido a inovações na pesquisa científica. Recentes descobertas levaram ao desenvolvimento de novos produtos lácteos com benefícios à saúde humana pela utilização de culturas probióticas e a adição de compostos bioativos, além de melhorar as características sensoriais que despertam o interesse do consumidor (SFAKIANAKIS; TZIA, 2014). Atualmente o mercado brasileiro tem grande variedade de produtos lácteos e as indústrias estão em constante busca de aprimoramento e diversificação dos seus produtos para que tenham seus benefícios potencializados (MÜHLBAUER et al., 2012).

### **3.4 Alimentos funcionais**

De acordo com a Associação Dietética Americana (2004), alimento funcional é definido como todo alimento que possui efeitos benéficos à saúde quando consumido regularmente como parte de uma dieta cotidiana. Estão inclusos nessa classificação os alimentos não processados, enriquecidos ou fortificados.

A busca por produtos com baixo teor de gordura e potencial funcional é impulsionada pelo impacto de doenças crônicas que estão intimamente relacionadas com os hábitos alimentares e estão tornando-se epidêmicas como a obesidade, doença coronariana e doenças cardiovasculares (ATAMIAN et al., 2014).

O leite, assim como os produtos derivados, é um alimento rico em proteínas e fonte de micronutrientes como cálcio, magnésio, fósforo, potássio e vitaminas A e B<sub>12</sub>, cujo consumo traz conhecidos benefícios para a saúde (CHANDAN et al., 2006). O leite e seus derivados podem ser considerados alimentos funcionais, de acordo com os efeitos nutricionais e habilidade de afetar funções do corpo de forma benéfica por combinar produtos com moléculas que possuem bioatividades (MORAES; COLLA, 2010).

Considera-se o iogurte como um alimento funcional devido à sua capacidade de reduzir os sintomas relacionados à metabolização ineficiente da lactose. Além disso, de acordo com a cepa da cultura a ser utilizada na fermentação do iogurte, seu consumo diário pode estar associado tanto ao estímulo do sistema imunológico, quanto à melhora no perfil das vitaminas do complexo B, em indivíduos adultos (MORELLI, 2014).

As frutas são ótimas fontes de fibras alimentares, potássio, antioxidantes, compostos fenólicos e carotenoides ( $\beta$ -caroteno, licopeno, luteína e zeoxantina), bem como possuem alto conteúdo de água e fibras insolúveis (FERNANDEZ; MARETTE, 2017).

A associação de frutas e iogurtes pode dar origem a alimentos com elevado potencial funcional. Ao serem adicionadas aos produtos fermentados lácteos, as frutas funcionam como aditivos naturais, aumentando a atividade antioxidante e funcionalidade do alimento (PEREIRA; BARROS; FERREIRA, 2013). Ao se adicionar polpa de frutas negligenciadas, as quais são fontes de compostos fenólicos, ao iogurte, já considerado de valor funcional devido às suas propriedades intrínsecas, estaríamos agregando maior valor ao produto. Ao se utilizar frutos que apresentam moléculas com atividade terapêutica e fitoquímica já comprovadas haveria um estímulo do uso de frutos que são abundantes no país, porém subutilizados.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Obtenção e processamento dos frutos de *Syzygium cumini*

#### 4.1.1 Coleta

Os frutos de *Syzygium cumini* foram coletados no mês de fevereiro de 2017, na região de Lagoa Seca (Latitude: -7.6891, Longitude: -35.8556, Altitude: 640 m), município localizado a 7 km de Campina Grande-PB.

#### 4.1.2 Sanitização dos frutos

Inicialmente os frutos foram triados através de catação para separação dos viáveis. Foi realizada a sanitização mergulhando-se os frutos em solução de hipoclorito de sódio 4-6% por uma hora e após esse período foram enxaguados.

#### 4.1.3 Preparo da polpa

Os frutos foram descaroçados manualmente e a parte comestível do fruto foi recolhida e processada em liquidificador industrial. A polpa homogeneizada foi separada em porções em embalagens de PVC com 500 mL cada. Antes do armazenamento em freezer a polpa foi tratada termicamente em banho-maria a 85 °C por 30 minutos. Na Figura 4.1 é apresentada a polpa do fruto após descaroçamento.

Figura 4.1 – Fruto de *Syzygium cumini* após descaroçamento.



Fonte: a autora, 2018

## 4.2 Caracterização físico-química do fruto

### 4.2.1 Determinação do tamanho médio dos frutos

A determinação do tamanho médio dos frutos foi realizada através da medição de altura e circunferência de uma amostra de trinta frutos dentre os coletados, utilizando-se paquímetro (Starret 799, Starret Tools<sup>®</sup>, Itu, Brasil).

### 4.2.2 Determinação do teor de sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis foi realizado com refratômetro (Reichert, Depew, NY, EUA) e os resultados expressos em grau Brix.

### 4.2.3 Determinação de pH e acidez titulável

Os valores de pH foram determinados por meio de pHmetro (TECNAL, Piracicaba, Brasil) diretamente nas amostras. A determinação de acidez titulável foi realizada por volumetria com indicador fenolftaleína. Os valores foram expressos em termos de g de ácido cítrico 100 g<sup>-1</sup> de amostra (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

### 4.2.4 Determinação da composição centesimal da polpa de *Syzygium cumini*

#### 4.2.4.1 Determinação do teor de sólidos totais e de umidade

A determinação do teor de sólidos totais e umidade nas amostras foi realizada por técnica gravimétrica. O fundamento do método utilizado é a perda de massa da amostra por secagem em estufa à vácuo a 70° C (Lucadema, São José do Rio Preto, Brasil) até peso constante (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

#### 4.2.4.2 Determinação do teor de cinzas

A determinação do teor de cinzas foi realizada por incineração das amostras em forno mufla a 550 °C, de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz (2008).



#### *4.2.4.3 Determinação do teor de lipídios*

A extração da fração lipídica foi realizada com sistema solvente clorofórmio:metanol (2:1) de acordo com a metodologia de Folch, Lees e Stanley (1957).

#### *4.2.4.4 Determinação do teor de proteínas*

O teor de proteínas foi determinado, utilizando-se o método de micro-Kjeldahl, utilizando-se o fator de conversão de 6,38 para leite e derivados (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

#### *4.2.4.5 Determinação do teor de carboidratos totais*

O teor de carboidratos totais foi calculado através da diferença entre 100 e a soma do conteúdo determinado para umidade, cinzas, proteínas e lipídios (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2003).

### *4.2.5 Determinação de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante*

#### *4.2.5.1 Preparo das amostras para as análises de compostos fenólicos totais e de capacidade antioxidante*

As amostras foram pesadas na quantidade de 1,25 g, misturadas a 5 mL de metanol-HCl (HCl concentrado, 0.1 mL 100 mL<sup>-1</sup>), e mantidas em temperatura de refrigeração a 4 °C durante a noite. As misturas refrigeradas foram então centrifugadas (centrífuga 5810R, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) a 13500 × g por 5 min a 4 °C. O resíduo foi lavado com metanol-HCl, havendo repetição do procedimento por duas vezes. Os sobrenadantes obtidos foram utilizados para as análises.

#### *4.2.5.2 Determinação de compostos fenólicos totais*

A análise foi realizada de acordo com o método de Folin-Ciocalteu e ácido gálico como padrão segundo método de Santos et al. (2017), com modificações. Aliquotas de 60 µL de cada extrato preparado, 2,340 µL de água destilada e 150 µl do reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Alemanha) foram transferidas para

tubos de ensaios e misturados. Após 8 min, 450  $\mu\text{L}$  de solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (30 g  $100\text{ mL}^{-1}$ ) foi adicionada aos tubos, homogeneizados e mantidos em repouso por 30 min no escuro em temperatura ambiente. A absorbância foi medida a 750 nm em espectrofotômetro SP – 2000 UV (Spectrum, Shanghai, China) e um ensaio de calibração foi preparado utilizando ácido gálico (Vetec, Sigma-Aldrich, Duque de Caxias, Brazil) para obter a equação. Os resultados foram expressos como mg de equivalente de ácido gálico (mg GAE)  $100\text{ g}^{-1}$  de amostra. As amostras foram analisadas em triplicatas.

#### 4.2.5.3 Determinação da atividade antioxidante por DPPH

Determinação da capacidade antioxidante através da atividade sequestradora do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) foi realizada através de metodologia adaptada de Rufino et al. (2007). Diferentes alíquotas dos extratos das amostras (50  $\mu\text{L}$ , 100  $\mu\text{L}$  e 200  $\mu\text{L}$ ) foram misturadas com DPPH 100  $\mu\text{M}$  para um volume total de 3 mL. O decréscimo da absorbância em 517 nm foi medido após 60 min de manutenção das amostras em temperatura ambiente.

A quantidade de amostra necessária para reduzir a concentração inicial do DPPH em 50% ( $\text{EC}_{50}$ ) foi calculada (inicialmente em mg de amostra  $\text{mL}^{-1}$  de solução de DPPH 100  $\mu\text{M}$ ) após construir o percentual de inibição pela curva da concentração do extrato. O resultado final de capacidade antioxidante total foi expresso em g de amostra  $\text{mg}^{-1}$  de DPPH, de acordo com a equação:

$$\text{Capacidade antioxidante (g amostra } \text{mg}^{-1} \text{ DPPH)} = \frac{\text{EC}_{50} \text{ (mg mL}^{-1}\text{)}}{\mu\text{MDPPH} \times 394.3} \times 10^3 \quad (1)$$

em que  $\mu\text{M DPPH}$  é o DPPH em  $\mu\text{M}$  consumido pela amostra no ensaio para o decaimento da absorbância em 50% e 394.3 é a massa molar do DPPH.

### 4.3 Ensaios pilotos para obtenção de iogurte com adição de polpa de *Syzygium cumini*

#### 4.3.1 Delineamento de estudo

Os iogurtes com polpa de *S. cumini* foram produzidos em dois tipos de tratamentos: utilizando-se leite integral e leite desnatado. Para determinar as proporções das formulações definitivas de iogurte, foram realizados ensaios-pilotos tendo como variáveis respostas a acidez do produto ao final da fermentação, concentração de bactérias lácticas do cultivo

iniciador e viscosidade. Isto foi realizado com o objetivo de avaliar a influência das variáveis estudadas, que foram concentração de leite em pó ( $x_1$ ) e concentração de polpa de *S. cumini* ( $x_2$ ).

#### 4.3.2 Preparo do inóculo

O processo de fermentação do iogurte teve início no preparo do inóculo carreador da cultura iniciadora (*starter*), o qual tem a função de gerar ácido láctico a partir da lactose do leite (VEDAMUTHU, 2006). A base láctea do inóculo foi preparada pela reconstituição de leite em pó integral (Ninho®, Nestlé, Ituiutaba, Brasil) a 13 g 100 g<sup>-1</sup>. A base láctea foi tratada termicamente através do aquecimento em banho-maria a 90 °C por dez minutos a fim de eliminar formas vegetativas de micro-organismos e inativação parcial de algumas enzimas. Após resfriamento a 45 °C adicionou-se a cultura láctica padrão para iogurtes liofilizada, contendo *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Yolac®, Vilac, Istambul, Turquia) em câmara asséptica. Agitou-se em vórtex para dissolução da cultura láctica. O inóculo foi incubado para fermentação em estufa a 43±2 °C por 4h e em seguida, armazenado sob refrigeração a 5 °C até a utilização.

#### 4.3.3 Preparo do iogurte

Determinou-se definição das proporções de polpa de *S. cumini* e leite das versões de iogurte a serem trabalhadas através de ensaios-piloto. Foram preparadas 5 formulações para iogurte integral e 5 para iogurte a base de leite desnatado.

A base láctea para o iogurte foi produzida a partir da reconstituição do leite em pó em água destilada, Ninho® para a formulação integral e Molico® (Nestlé, Araçatuba, Brasil) para o iogurte semidesnatado, nas proporções estudadas (Tabela 4.1). O açúcar refinado (Estrela®, Biosev, Ares, Brasil) foi adicionado na proporção de 9 g açúcar para cada 100 g de base láctea. A base foi tratada termicamente através do aquecimento em banho-maria a 90 °C, por dez minutos. Na Tabela 4.1 são apresentadas as proporções avaliadas para leite em pó e polpa de *S. cumini* nos ensaios piloto para elaboração do iogurte integral e semidesnatado. As formulações foram identificadas pelas letras A, B, C, D e E para iogurte a base de leite integral, e pelas letras F, G, H, I e J para os iogurtes a base de leite desnatado.

Tabela 4.1 – Proporções na composição das formulações de iogurte integral e semidesnatado testadas em ensaios-piloto.

Tratamentos		Leite em pó (%)			Polpa de <i>S. cumini</i> (%)		
Integral	Semidesnatado	13	16,5	20	10	12,5	15
A	F	X			X		
B	G			X			X
C	H			X	X		
D	I	X					X
E	J		X			X	

Pesou-se de forma asséptica a quantidade de inóculo preconizada para a formulação de iogurte preparado na proporção de 3 g de inóculo para cada 100 g de produto e transferiu-se para o frasco de erlenmeyer com a base láctea. Adicionou-se a polpa à base láctea e em seguida a mistura foi homogeneizada em agitador do tipo vórtex.

A formulação foi transferida para potes plásticos de polipropileno de 140 mL com tampa, e incubados em estufa a  $43 \pm 2$  °C. A cada hora, retirou-se uma alíquota do produto para determinação da acidez em concentração de ácido láctico.

#### 4.3.4 Ensaio piloto 1 – aspecto do produto final e determinação da acidez ao final fermentação

Este ensaio foi utilizado para a verificação do aspecto do produto final e da acidez das amostras. A determinação da acidez em ácido láctico foi realizada de acordo com metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008) e expressa em g de ácido láctico  $100 \text{ g}^{-1}$ .

#### 4.3.5 Ensaio piloto 2 – definição da proporção de polpa e leite no preparo do iogurte com base na população de bactérias lácticas no início e final da fermentação.

Este ensaio foi realizado para determinação da contagem de bactérias da cultura iniciadora *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus* sp. No início e ao final da fermentação, alíquotas de 25 g de iogurte foram diluídas em 225g de solução de NaCl a 0,85%. A partir da diluição inicial de  $10^{-1}$  foram feitas diluições subsequentes para serem utilizadas nas análises descritas a seguir.

#### 4.3.5.1 Determinação de *Streptococcus thermophilus*

Para a determinação de *Streptococcus thermophilus*, 1 mL da diluição do iogurte em solução salina foi transferido para placa de Petri. Adicionou-se meio de cultura ágar M17 (Difco™, Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, EUA), suplementado com lactose a 10%, fundido e à temperatura de 45° C sobre a diluição para cultivo em profundidade. Após endurecimento do meio, incubou-se em estufa bacteriológica a 35° C por 24 horas.

#### 4.3.5.2 Determinação de *Lactobacillus* sp.

Para determinação de *Lactobacillus* sp., 1 mL da diluição do iogurte em solução salina foi transferido para placa de Petri. Adicionou-se meio de cultura ágar MRS (DeMan, Rogosa e Sharpe) (Difco™, Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, EUA) acidificado até pH 5,40 com ácido acético, fundido e à temperatura de 45° C sobre a diluição para cultivo em profundidade. Após endurecimento do meio, incubou-se em estufa bacteriológica por 48 horas.

#### 4.3.6 Ensaio piloto 3 – definição da proporção de polpa e leite no preparo do iogurte com base na viscosidade das formulações ao final da fermentação

Dentre os tratamentos avaliados, foram escolhidos para a determinação da viscosidade os que se destacaram por atingir um maior nível de acidez ao final das quatro horas de fermentação no ensaio piloto 1. No ensaio piloto 3, a viscosidade foi determinada ao término da fermentação (TF) e após sete dias de armazenamento (D7) sob refrigeração a 4°C. A viscosidade foi medida em viscosímetro rotacional, tipo Brookfield, marca Fungilab®, modelo Visco Basic Plus. Este viscosímetro é baseado na medição do torque de uma haste rotativa em velocidade específica mergulhado em uma amostra. Utilizou-se a haste L4, a qual fornece resultados até 12.000 mPa s. A velocidade do teste foi de 50 rpm e a medida da viscosidade foi registrada após cinco minutos de rotação da haste de metal mergulhada na amostra de iogurte.

#### **4.4 Ensaios definitivos – avaliação da estabilidade de iogurtes com a adição de polpa de *Syzygium cumini***

##### 4.4.1 Determinações físico-químicas

A determinação da composição centesimal (umidade, sólidos totais, cinzas, lipídios, proteína e carboidratos totais) foi realizada nos produtos do primeiro dia de armazenamento, os quais foram mantidos sob congelamento ( $\square\square-18^{\circ}\text{C}$ ) até o momento das análises, segundo os métodos analíticos do Instituto Adolfo Lutz, conforme descrito previamente nos itens 4.2.4.1 a 4.2.4.5.

Os valores de pH foram determinados por meio do pHmetro (TECNAL, Piracicaba, Brasil) diretamente nas amostras. A determinação de acidez titulável foi realizada por volumetria com indicador fenolftaleína e os valores foram expressos em termos de g de ácido láctico  $100\text{ g}^{-1}$  de iogurte. Os valores de pH e acidez dos iogurtes foram determinados após 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento a  $5^{\circ}\text{C}$  (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

##### 4.4.2 Determinação de fenólicos totais e de capacidade antioxidante

Análise realizada de acordo com os procedimentos descritos previamente na seção 4.2.5.

##### 4.4.3 Viabilidade das culturas lácticas

Realizadas conforme procedimento descrito nas seções 4.3.5.1 e 4.3.5.2 para *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus* sp., respectivamente.

##### 4.4.4 Determinação de contaminantes em iogurte

###### 4.4.4.1 Determinação de coliformes a $35^{\circ}\text{C}$ e a $45^{\circ}\text{C}$

O produto foi diluído em solução salina a 0,85% inicialmente na proporção 1:10, a partir da qual foi sequencialmente diluída até obter-se a concentração de  $10^{-3}$ . Alíquotas de cada diluição obtida foram adicionadas em triplicata a tubos, contendo 10 mL do meio de cultura caldo verde brilhante bile lactose (VBBL) e tubo de Durhan invertido. Os tubos foram incubados a  $35^{\circ}\text{C}$ , por até 24 horas. Considerou-se resultado positivo, os tubos de Duhan que

apresentaram gás no seu interior. Os tubos que apresentaram resultado positivo foram posteriormente repicados para meio de cultura em caldo EC contendo tubo de Durham invertido, e incubados a 45 °C.

#### 4.4.4.2 Determinação de bolores e leveduras

A amostra do produto final foi diluída em solução salina a 0,85% a fim de se obter diluição  $10^{-1}$  e a partir dessa obter as diluições  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ . Cem microlitros de cada diluição obtida foram aplicadas em duplicada sobre placas com meio de cultura ágar batata, previamente adicionado de ácido tartárico (na proporção de 1,4 mL de solução de ácido a 10 g  $100 \text{ mL}^{-1}$  para 1 L de meio de cultura), e espalhado de forma homogênea com o auxílio de alça de Drigalski. As placas foram mantidas em temperatura ambiente e a leitura foi realizada após 72 horas.

#### 4.4.4.3 Determinação da presença de *Salmonella* sp

A pesquisa de *Salmonella* sp. foi realizada nos produtos destinados à análise sensorial. Foram pesados 25 g de amostra do produto final e diluídos em 225 g de água peptonada a fim de se obter diluição  $10^{-1}$ . A diluição foi incubada em estufa bacteriológica a 35 °C por 24 horas para enriquecimento. Com o auxílio de alça de platina, foi retirada uma alíquota da amostra diluída e estriada em meio diferencial para *Salmonella* sp Raj Hans (Himedia, Mumbai, Índia). Este meio diferencia espécies de *Salmonella* de outras espécies entéricas e o resultado é expresso como Ausência ou Presença de *Salmonella* sp.

#### 4.4.5 Análise sensorial

Os produtos elaborados foram avaliados sensorialmente através de teste de aceitação e escolha do atributo que mais se gostou e menos gostou. O estudo foi previamente avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética – CAAE nº 71569717.0.0000.5187 - ANEXO I). As amostras foram apresentadas a um painel composto por 103 julgadores não treinados, recrutados dentre os alunos, professores e funcionários dos *campi* da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) e da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). A análise foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos da Unidade Acadêmica de

Engenharia de Alimentos da UFCG. Antes de receber as amostras os avaliadores assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, o qual fornecia explicações sobre a pesquisa a ser conduzida e a participação do voluntário (APÊNDICE I). Em seguida, foram entregues as fichas de análise sensorial correspondentes às amostras recebidas (APÊNDICE II). Para análise sensorial deste estudo foram utilizadas escalas hedônicas híbridas. Escalas hedônicas híbridas são escalas lineares que apresentam em suas regiões central e extremas classificações afetivas verbais, enquanto que as demais porções são marcadas com pontos equidistantes entre si que permitem o fornecimento de dados contínuos (VILLANUEVA; DA SILVA, 2009).

Em cada ficha, os julgadores atribuíram uma nota aos produtos para os seguintes atributos: cor, odor, gosto ácido, sabor, consciência, e aceitação global (VILLANUEVA; DA SILVA, 2009). As amostras foram servidas em cabines individuais, em recipientes de plástico transparente, codificadas com números aleatórios de três dígitos, em porções de cerca de 40 mL (Figura 5.1), na temperatura de cerca de 4 à 8 °C, de forma balanceada em blocos incompletos acompanhadas de um copo com água para ser utilizado na limpeza do palato entre as provas. No total, foram servidas 303 amostras distribuídas por três sessões de análise sensorial. Na Figura 3.2 é apresentada a porção de iogurte que foi servida aos provadores.

Figura 4.2 – Amostra de iogurte servida aos julgadores para análise sensorial.



Fonte: a autora, 2018.

#### 4.5 Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão.

Os dados de acidez dos iogurtes integral e semidesnatado, produzidos para o ensaio-piloto de acidez, após 4 horas de incubação a  $43 \pm 2^\circ \text{C}$ , foram utilizados para obter os modelos



de regressão como função das proporções dos ingredientes  $x_1$  (leite em pó) e  $x_2$  (polpa de *S. cumini*) adicionados às formulações segundo a equação (2):

$$\hat{y} = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{12} x_1 x_2 \quad (2)$$

onde  $\hat{y}$  é a variável dependente,  $\beta_i$  é o coeficiente estimado pelo modelo de regressão e  $x_i$  são as variáveis independentes.

Os dados dos lotes de iogurte produzidos foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade de variância, seguida por análise de variância de medidas repetidas (ANOVA) e teste de Tukey para avaliação dos contrastes, considerando  $p < 0,05$ . Para as análises da polpa de fruta e de composição centesimal dos produtos do ensaio definitivo foi utilizado o teste t de Student para amostras independentes, considerando  $p < 0,05$ . Não havendo homogeneidade, os dados foram submetidos a testes não paramétricos equivalentes. Os dados foram tratados através do programa Statistica 8.0 (Statsoft, Tulsa, OK, EUA).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Avaliação dos frutos e polpa de fruta

#### 5.1.1 Caracterização físico-química dos frutos de *Syzygium cumini*

A caracterização do fruto de *S. cumini* foi realizada quanto ao tamanho médio do fruto, grau brix, pH e acidez e os resultados estão apresentados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Tamanho médio dos frutos, teor de sólidos solúveis, pH e acidez.

Parâmetros	Valores
Altura (cm)	2,48
Circunferência (cm)	1,67
Sólidos solúveis (°Brix)	11,60
pH	3,84 ± 0,03
Acidez (g de ácido cítrico 100 g <sup>-1</sup> )	5,31±0,13

Fonte: dados da pesquisa

A altura dos frutos coletados no período de frutificação apresentavam tamanho compatível com o relatado anteriormente por Ayyanar e Subash-Babu (2012), que foi entre 1,50-3,5 cm.

O valor de pH encontrado nos frutos de *S. cumini* neste estudo é característico de frutas cítricas, segundo Barcia (2009). Barcia (2009) obteve menor acidez dos frutos em relação ao nosso estudo, porém obteve maior grau Brix (variando de 14,00 a 15,2). Os valores encontrados para acidez e grau Brix são semelhantes aos relatados por Lago, Gomes e Silva (2006).

#### 5.1.2 Composição centesimal da polpa de *Syzygium cumini*

Na tabela 5.2 é apresentada a composição centesimal da polpa de *S. cumini* utilizada na elaboração dos iogurtes.

Tabela 5.2 – Composição centesimal da polpa de *S. cumini*.

Parâmetros	Valores
Umidade (g 100 g <sup>-1</sup> )	87,68 ± 0,35
Cinzas (g 100 g <sup>-1</sup> )	0,43 ± 0,04
Lipídios (g 100 g <sup>-1</sup> )	0,56 ± 0,03
Proteínas (g 100 g <sup>-1</sup> )	0,35 ± 0,02
Carboidratos (g 100 g <sup>-1</sup> )	2,70 ± 0,36

Fonte: dados de pesquisa

O teor de umidade encontrado está compatível com os apresentados nos trabalhos de Lago, Gomes e Silva (2006) para frutos coletados na região de São José do Rio Preto (SP), os quais relatam para *S. cumini* o teor de umidade de 87,75%, e de Barcia (2009) para os frutos da na região de Pelotas (RS), que encontrou variação entre 82,88 e 85,44% de umidade. Ao trabalhar com outros frutos da família mirtácea, Pereira et al. (2012) observaram que a umidade variou de 82,21% na guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) à 94,50% na uvaia (*Eugenia pyriformis*).

O teor de cinzas encontrado neste estudo (0,35%) é compatível com o encontrado no estudo de Lago, Gomes e Silva (2006), 0,34% e no estudo realizado por Barcia (2009), 0,39%. A espécie *S. cumini* apresentou um valor de cinzas menor que guabiroba (0,47%) e maior que a uvaia (0,23%), segundo trabalho de Pereira et al. (2012).

A quantidade de lipídios encontrada mostrou-se maior que a média obtida por Ayyanar e Subash-Babu (2012), que foi entre de 0,3 - 0,4 % ().

O teor de proteínas foi inferior ao de Barcia (2009) o qual variou de 0,58 a 1,10%, e também ao encontrado por Lago, Gomes e Silva (2006) que encontraram teor de proteínas de 0,68%. As variações podem ser explicadas pelas diferentes condições de solo em cada uma das regiões.

### 5.1.3 Determinação de fenólicos totais e capacidade antioxidante na polpa de *Syzygium cumini*

Antes de sua utilização para o preparo do iogurte, a polpa recebeu tratamento térmico com o objetivo de eliminar formas vegetativas de micro-organismos. A fim de avaliar o efeito do aquecimento no potencial antioxidante da polpa de *S. cumini*, determinou-se os níveis de fenólicos totais e capacidade antioxidante da polpa fresca e após o tratamento térmico.

A Tabela 5.3 apresenta a concentração de fenólicos totais, o EC<sub>50</sub> e a capacidade antioxidante em g mg<sup>-1</sup> DPPH determinada para a polpa antes e após tratamento térmico.

Tabela 5.3 - Fenólicos totais, EC<sub>50</sub> e capacidade antioxidante total, para polpa de *Syzygium cumini* antes e após tratamento térmico (média±desvio-padrão).

Parâmetros	Polpa de <i>Syzygium cumini</i>	
	Polpa fresca	Polpa termizada
Fenólicos totais (mg GAE 100 g <sup>-1</sup> )	185,31 ±16,10 <sup>A</sup>	116,88±20,58 <sup>A</sup>
EC <sub>50</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	1,79±0,07 <sup>A</sup>	2,19±0,07 <sup>B</sup>
DPPH (g de amostra mg <sup>-1</sup> )	0,080±0,005 <sup>A</sup>	0,098±0,005 <sup>B</sup>

Fonte: dados da pesquisa

<sup>A,B</sup> = Letras maiúsculas sobrescritas diferentes na mesma linha para um mesmo período de amostragem indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos.

A quantidade total de fenólicos na polpa tende a diminuir após tratamento térmico, entretanto não foi observada diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ), que pode ser devido ao baixo número de replicatas ou por ter se utilizado um tratamento térmico brando.

A fim de observar se o tratamento térmico tem efeito sobre a capacidade antioxidante da polpa, foi realizado ensaio baseado na atividade sequestrante do radical DPPH. Quanto menor a quantidade de produto necessária à neutralização do radical livre DPPH, maior é a sua capacidade antioxidante. Observa-se que a capacidade antioxidante da polpa apresentou diminuição ( $p < 0,05$ ).

Em comparação com os resultados de ensaio de atividade sequestrante do radical DPPH por outros frutos de mirtáceas, realizado por Pereira et al. (2012), *S. cumini* não termizado apresentou maior atividade antioxidante que guabiroba (0,16 g de amostra mg<sup>-1</sup> DPPH) e a uvaia (0,17 g de amostra mg<sup>-1</sup> DPPH).

Brando et al (2016) estudaram a variação da atividade antioxidante e os efeitos anti-proliferativos *in vitro* dos compostos fenólicos da polpa do fruto do *S. cumini* antes e depois de submetê-la ao processo de pasteurização. Esse processo de pasteurização levou ao aumento dos níveis de sólidos solúveis totais, compostos fenólicos e flavonoides. O conteúdo de antocianinas foi preservado, assim como a atividade antioxidante e citostática em linhagem de células de câncer renal e ovariano. Os dados sugerem que submeter a polpa de *S. cumini* ao processo de pasteurização não causa a perda da capacidade bioativa de seus compostos fenólicos e estimula seu uso na indústria alimentícia.

## 5.2 Ensaio piloto

### 5.2.1 Ensaio-piloto 1 – aspecto do produto final e determinação da acidez ao final fermentação

Na Figura 5.1 está apresentado o aspecto do iogurte obtido ao final da fermentação.

Figura 5.1 – Aparência de iogurte com polpa de *S. cumini* ao final da fermentação.



Fonte: a autora, 2018.

Após 4 horas de incubação, observa-se que após processo de fermentação a coloração do iogurte é lilás. A polpa adicionada deposita-se no fundo do recipiente usado para a fermentação, uma vez que durante a incubação as amostras são mantidas em repouso.

As formulações de iogurte integral que apresentaram sinérese foram: A (13% de leite e 10% de polpa) e D (13% de leite e 15% de polpa). No iogurte semidesnatado, as formulações

que apresentaram sinérese foram F (13% de leite e 10% de polpa) e I (13% de leite e 15% de polpa).

Foi observado que a separação do soro não ocorreu nas formulações com as maiores concentrações de leite (16,5 e 20%). A ocorrência de sinérese nas formulações com menor concentração de leite pode ser atribuída à menor concentração de sólidos, o que afeta a formação do gel e diminui sua consistência.

Na Tabela 5.4 são apresentados os dados de acidez ao final dos ensaios piloto para iogurte a base de leite integral e a base de leite desnatado com polpa de *Syzygium cumini* para as dez formulações testadas.

Tabela 5.4 – Acidez ao final da fermentação das formulações testadas para iogurte integral com polpa de *Syzygium cumini*. A acidez é expressa em g de ácido láctico 100 g<sup>-1</sup>.

Formulação	Variáveis independentes		Variáveis independentes codificadas	Acidez (g 100 g <sup>-1</sup> )
	Leite (g 100 g <sup>-1</sup> )	Polpa (g 100 g <sup>-1</sup> )		
Integral				
A	13	10	-1, -1	0,53±0,10
B	20	15	+1, +1	0,67±0,07
C	20	10	+1, -1	0,67±0,07
D	13	15	-1, +1	0,58±0,07
E	16,5	12,5	0, 0	0,61±0,08
Semidesnatada				
F	13	10	-1, -1	0,63±0,08
G	20	15	+1, +1	0,75±0,07
H	20	10	+1, -1	0,78±0,09
I	13	15	-1, +1	0,64±0,07
J	16,5	12,5	0, 0	0,69±0,09

Fonte: dados de pesquisa.

Nos ensaios de elaboração do produto a base de *S. cumini* para escolher dentre as formulações testadas inicialmente foram observadas as exigências da IN n° 46 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2007), a qual determina que o iogurte deve apresentar teor de acidez entre 0,6 e 1,5 g de ácido láctico 100 g<sup>-1</sup>. A legislação preconiza acidez acima de 0,60 g de ácido láctico 100 g<sup>-1</sup> a fim de evitar a proliferação de contaminantes e manter as características do produto durante o período de armazenamento.

Ao final de quatro horas, a maior parte das formulações testadas atingiram acidez superior a 0,6 g de ácido láctico 100 g<sup>-1</sup>, com exceção de duas formulações a base de leite integral: A (13% de leite e 10% de polpa) e D (13% de leite e 15% de polpa).

Observou-se que a acidez obtida ao final das quatro horas foi correlacionada positivamente à concentração de leite utilizada. As formulações a base de leite desnatado atingiram nível de acidez superior às formulações com leite integral ao final da fermentação. Na Tabela 5.5 são apresentados os coeficientes ( $x$ ), erros padrões (ep) e a análise da qualidade do modelo obtido para acidez nos iogurtes integral e desnatado ao final da fermentação.

Tabela 5.5 – Coeficientes ( $x$ ) com seus respectivos erros padrões [ep] e análise da qualidade do modelo obtido para acidez nos iogurtes integral e desnatado ao término da fermentação.

Item	Acidez	
	Integral	Desnatado
Leite ( $x_1$ )	0,06 [0,01]	0,06 [0,01]
Polpa ( $x_2$ )	NS	NS
Leite $\times$ Polpa ( $x_1 x_2$ )	NS	NS
$P$ modelo	<0,001	<0,001
$P$ (falta de ajuste)	0,55	0,92
$R^2$ ajustado	0,48	0,41

NS = não significativo

A acidez final foi influenciada diretamente pela concentração de leite, entretanto o coeficiente de determinação ( $R^2$  ajustado) foi muito baixo (0,48 para integral e 0,41 para desnatado). Uma provável explicação para o valor obtido seria o baixo número de replicatas ( $n=9$ ) deste estudo. Em ambos tratamentos, a adição de polpa ( $x_1$ ) e da interação entre polpa e leite ( $x_1 x_2$ ) não foram significativas, apenas havendo significância para a concentração de leite ( $p<0.001$ ). Os valores do coeficiente significativo indicam que a variável leite ( $x_1$ ) resultou na mesma interferência para os dois tratamento, logo a concentração de leite foi determinante para a escolha das amostras desta etapa.

Diante dos resultados obtidos neste ensaio, foram escolhidas duas formulações de cada tratamento para testar a viabilidade das culturas lácteas durante a fermentação. A escolha se baseou na velocidade em que as formulações atingiram o nível de acidez exigido pela legislação no tempo de 4 h. Em ambos os casos as formulações com 20 g 100 g<sup>-1</sup> de leite em pó tiveram melhor desempenho, mesmo variando entre elas a concentração de polpa. Dentre as formulações a base de leite integral foram selecionadas: B (20% de leite e 10% de polpa) e

C (20% de leite e 15% de polpa). Dentre as formulações a base de leite desnatado foram selecionadas: G (20% de leite e 10% de polpa) e H (20% de leite e 15% de polpa).

### 5.2.2 Ensaio piloto 2 – população das culturas lácticas utilizadas na fermentação do ensaio-piloto

Na Tabela 5.6 está apresentada a população de bactérias lácticas da cultura iniciadora que estavam viáveis no início e ao final do período de fermentação das formulações testadas para iogurte integral (B e C), e para iogurte semidesnatado (G e H). As medidas foram obtidas em triplicata e são apresentadas as médias e o desvio-padrão. Os dados são expressos em log UFC g<sup>-1</sup>.

Tabela 5.6 – População de bactérias viáveis de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* obtida para as formulações do ensaio-piloto avaliadas no início (T0) e ao final da fermentação (TF). Resultado expresso em log de UFC g<sup>-1</sup>.

		Log UFC g <sup>-1</sup>	
Bactérias lácticas	Tratamentos	T0	TF
<i>S. thermophilus</i>	B	7,22±0,52 <sup>Aa</sup>	9,44±0,24 <sup>Bb</sup>
	C	6,97±0,05 <sup>Aa</sup>	10,37±0,02 <sup>Cb</sup>
	G	7,37±0,14 <sup>Aa</sup>	8,76±0,25 <sup>Ab</sup>
	H	7,70±0,04 <sup>Aa</sup>	9,99±0,13 <sup>Cb</sup>
<i>L. bulgaricus</i>	B	4,15±0,04 <sup>Ba</sup>	4,74±0,05 <sup>Aa</sup>
	C	4,21±0,01 <sup>Ca</sup>	4,95±0,02 <sup>Ba</sup>
	G	3,78±0,15 <sup>Aa</sup>	4,65±0,01 <sup>Aa</sup>
	H	4,15±0,04 <sup>Ba</sup>	4,82±0,02 <sup>Ab</sup>

Fonte: Dados de pesquisa.

Notas: Sinais convencionais utilizados:

<sup>A,B,C</sup> = Letras maiúsculas sobrescritas diferentes na mesma coluna para um mesmo microrganismo e mesmo período de amostragem indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos.

a,b = Letras minúsculas sobrescritas diferentes na mesma linha para um mesmo microrganismo e mesma formulação indicam diferenças significativas entre os períodos de amostragem ( $p < 0,05$ ).

B, C = Formulações à base de leite integral: B (20% leite, 15% polpa); C (20% leite, 10% polpa).

G, H = Formulações à base de leite desnatado: G (20% leite, 15% polpa); H (20% leite, 10% polpa).

Considera-se o número de bactérias lácticas viáveis como sendo o somatório das contagens de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*. Nas fermentações estudadas, observou-se que todas atingiram a quantidade mínima exigida pela legislação. As bactérias lácticas devem ser viáveis no produto final e durante seu prazo de validade e em



concentração igual ou superior  $10^7$  unidades formadoras de colônia por grama de iogurte, segundo a instrução normativa número 46, do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2007).

Em relação à população de *S. thermophilus* para o iogurte integral, a formulação C (20% de leite, 10% de polpa), obteve maior taxa de multiplicação que a formulação B (20% de leite, 15% de polpa), sendo estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Dentre os iogurtes a base de leite desnatado, a formulação H (20% de leite, 10% de polpa), apresentou maior taxa de multiplicação que a formulação G (20% de leite, 15% de polpa), sendo estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

Em relação à população de *L. bulgaricus*, não houve diferença estatisticamente relevante ( $p > 0,05$ ) entre as formulações de iogurte semidesnatado ao final da fermentação. O crescimento de *L. bulgaricus* é secundário à multiplicação de *S. thermophilus* pois é dependente dos produtos de metabolização deste, por este motivo, requer mais tempo para refletir na taxa de multiplicação.

### 5.2.3 Ensaio piloto 3 – viscosidade do produto ao final da fermentação

Para o iogurte integral, foram avaliadas as formulações B e C, com 20 % de leite em pó reconstituído e 15 e 10% de polpa de *S. cumini*, respectivamente. Igualmente, foram avaliadas as formulações de iogurte semidesnatado G e H, também elaboradas com 20% de leite e 15 e 10% de polpa de *S. cumini*, respectivamente. Os resultados de viscosidade expressos em milipascal por segundo (mPa s) estão apresentados na Tabela 5.7.

Tabela 5.7 – Viscosidade dos tratamentos ao final da fermentação (D0) e após sete dias de produção (D7). Resultados expressos em milipascal por segundo (mPa s).

N	Viscosidade em mPa s	
	D0	D7
Tratamentos		
B	1.515	9.277
C	2.209	10.503
G	1.280	8.077
H	1.400	11.066

Fonte: Dados de pesquisa.

Notas: Sinais convencionais utilizados:

B, C = Formulações à base de leite integral: B (20% leite, 15% polpa); C (20% leite, 10% polpa).

G, H = Formulações à base de leite desnatado: G (20% leite, 15% polpa); H (20% leite, 10% polpa).

A formulação C apresentou maior viscosidade ao final da fermentação e após sete dias de armazenamento refrigerado. Dentre as formulações semidesnatadas, a formulação a maior

viscosidade foi apresentada pela formulação H, tanto ao final da fermentação, quanto após sete dias de armazenamento refrigerado.

A viscosidade dos produtos fermentados de leite é resultante do processo de fermentação no qual é formada uma rede tridimensional composta pelas proteínas do leite. A rede é resultado da agregação de micelas de caseína e proteínas desnaturadas do soro do leite através de ligações hidrofóbicas e eletroestáticas (BALTHAZAR et al., 2015). A desnaturação pode ocorrer através do tratamento térmico do leite prévio ao processo de fermentação. O aquecimento do leite acima de 80 °C na fase de tratamento térmico desnatura as proteínas do soro do leite causando a exposição de grupos tiol, o que facilita a formação de ligações com outras proteínas do leite (SFAKIANAKIS; TZIA, 2014). O aquecimento da mistura leite-açúcar a 85 °C neste estudo facilitou a incorporação das proteínas do soro à matriz do coágulo formado com a fermentação do leite, o que favoreceu o aumento da viscosidade do iogurte obtido.

Não existem valores de referência na legislação exigidos para a viscosidade do iogurte; entretanto, foram observados valores de viscosidade maior nos produtos que demonstraram maior população das bactérias lácticas (formulações C e H), o que reforçou a escolha dessas formulações para os ensaios definitivos.

### 5.3 Ensaio definitivos

#### 5.3.1 Composição centesimal dos iogurtes com polpa de *Syzygium cumini*

Os resultados da composição centesimal dos iogurtes com polpa de *Syzygium cumini* são apresentados na Tabela 5.8.

Tabela 5.8 – Composição centesimal dos tratamentos de iogurte com polpa de *Syzygium cumini* (média ± desvio-padrão):

Parâmetros	Tratamentos	
	Integral	Semidesnatado
Umidade (g 100 g <sup>-1</sup> )	74,80±1,59 <sup>A</sup>	76,15±2,28 <sup>A</sup>
Sólidos totais (g 100 g <sup>-1</sup> )	25,20±1,59 <sup>A</sup>	23,85±2,28 <sup>A</sup>
Cinzas (g 100 g <sup>-1</sup> )	0,97±0,07 <sup>A</sup>	1,5±0,06 <sup>B</sup>
Proteína (g 100 g <sup>-1</sup> )	5,23±0,50 <sup>A</sup>	4,29±0,90 <sup>A</sup>
Lipídios (g 100 g <sup>-1</sup> )	4,95 ± 0,53 <sup>B</sup>	0,93 ± 0,35 <sup>A</sup>
Carboidratos (g 100 g <sup>-1</sup> )	16,41±2,69 <sup>A</sup>	14,70±1,63 <sup>A</sup>

Fonte: Dados de pesquisa.

<sup>A,B</sup> = Letras maiúsculas sobrescritas diferentes na mesma linha para um mesmo parâmetro indicam diferenças significativas (p < 0,05) entre os tratamentos.

Os teores de umidade, sólidos totais e carboidratos relatados neste trabalho não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os dois tratamentos. Em desenvolvimento de iogurte integral com suco de limão, Vieira et al. (2017) determinaram umidade de 76,47% ao se utilizar 8% do sumo. Braga, Neto e Vilhena (2012) encontraram umidade de 76,24% em iogurte integral adicionado de 10% de polpa de mangostão.

A determinação do teor de cinzas quantifica o material mineral restante após queima de toda a matéria orgânica presente no produto. Nos três lotes avaliados o iogurte integral apresentou teor de cinzas menor que o iogurte com leite desnatado. Isto se deve ao fato do maior conteúdo de lipídios do iogurte integral diluir proporcionalmente os minerais presentes na amostra.

Laticínios são boas fontes de proteína na alimentação diária e o teor de proteínas normalmente encontrado em iogurtes pode variar entre 3-6,5 g 100 g<sup>-1</sup> (KARAASLAN et al., 2011). A Instrução Normativa nº46 determina que o teor de proteína em iogurtes seja de no mínimo de 2,9 g 100 g<sup>-1</sup> (BRASIL, 2007). Os iogurtes semidesnatado e integral apresentam os teores de proteína mínimo exigidos. O teor de proteína foi ligeiramente aumentado no iogurte integral em relação ao iogurte semidesnatado, mas não apresentou diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). O teor menor de proteína no iogurte semidesnatado pode ser explicado pela perda de proteínas, em que parte delas passaram para o creme, durante o processo de desnate para a sua obtenção.

Observa-se que, de acordo com os níveis determinados na legislação em relação aos produtos fermentados lácteos, um iogurte é considerado integral quando o conteúdo de matéria gorda é no mínimo 3 g 100g<sup>-1</sup> de produto. Para ser classificado como iogurte desnatado o conteúdo de matéria gorda deve ser no máximo 0,5 g 100 g<sup>-1</sup> (BRASIL, 2007). O iogurte produzido com leite reconstituído desnatado, após fermentação com polpa de *Syzygium cumini*, apresentou 0,93% de matéria gorda, sendo classificado, de acordo com a legislação, como produto parcialmente desnatado ou semidesnatado, ou seja, os que apresentam de 0,5 até 2,9 g 100 g<sup>-1</sup> de conteúdo lipídico (BRASIL, 2007). O iogurte semidesnatado deste estudo apresentou uma redução de 81,21% do teor de gordura em relação ao iogurte integral.

Em estudo sobre a contribuição nutricional do consumo de produtos derivados do leite, Murphy et al. (2015) observaram que em todas as faixas etárias este grupo de alimentos é responsável por grande parte da gordura saturada ingerida diariamente. Visto que o maior consumo de alimentos ricos em gorduras saturadas é associado diretamente ao desenvolvimento de doenças crônicas cardiovasculares, os guias nutricionais estimulam a

alimentação com produtos “*low-fat*”, ou seja, com baixo teor de matéria gorda (MURPHY et al, 2015). De acordo com o guia alimentar para a população brasileira (BRASIL, 2014), para os adultos recomenda-se o consumo de iogurtes em versões sem ou com menos lipídios (desnatadas ou semidesnatadas).

### 5.3.2 Acidez e pH dos iogurtes durante o período de armazenamento

A acidez titulável e pH dos iogurtes foram medidos durante o período de armazenamento de 21 dias e os dados registrados estão apresentados na Tabela 5.9.

Tabela 5.9 – Parâmetros físico-químicos obtidos para as formulações dos iogurtes integral e semidesnatado no período de armazenamento de 21 dias.

Parâmetros	Tempo de armazenamento (dias)	Iogurte	
		Integral	Semidesnatado
Acidez (g de ácido láctico 100 g <sup>-1</sup> )	1	0,70 ± 0,04 <sup>Aa</sup>	0,73 ± 0,06 <sup>Aa</sup>
	7	0,75 ± 0,06 <sup>Aa</sup>	0,74 ± 0,04 <sup>Aa</sup>
	14	0,80 ± 0,10 <sup>Aab</sup>	0,80 ± 0,09 <sup>Aa</sup>
	21	0,90 ± 0,16 <sup>Ab</sup>	0,85 ± 0,12 <sup>Aa</sup>
pH	1	4,47 ± 0,03 <sup>Ab</sup>	4,98 ± 0,07 <sup>Ba</sup>
	7	4,44 ± 0,06 <sup>Ab</sup>	5,06 ± 0,27 <sup>Ba</sup>
	14	4,39 ± 0,05 <sup>Aa</sup>	5,16 ± 0,13 <sup>Ba</sup>
	21	4,37 ± 0,08 <sup>Aa</sup>	5,12 ± 0,45 <sup>Ba</sup>

Fonte: Dados de pesquisa.

Notas: Sinais convencionais utilizados:

<sup>A,B</sup> = Letras maiúsculas sobrescritas diferentes na mesma linha para um mesmo período de amostragem indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos.

a,b = Letras minúsculas sobrescritas diferentes na mesma coluna para um mesmo tratamento e parâmetro indicam diferenças significativas entre os períodos de amostragem ( $p < 0,05$ ).

A verificação das características físico-químicas do iogurte produzido durante o período de armazenamento visa verificar a sua vida de prateleira. De acordo com a Instrução normativa nº 46 do Ministério da agricultura (BRASIL, 2007), o iogurte deve apresentar acidez entre 0,6-1,5 g de ácido láctico 100 g<sup>-1</sup> de produto durante todo o seu período de validade.

Segundo Mühlbauer et al. (2012) é preciso observar o pH ideal próximo a 4,5 pois os valores inferiores podem ser uma causa de dessoramento do iogurte devido à formação de coágulos e diminuem a aceitabilidade dos consumidores. Por outro lado, de acordo com o autor, iogurtes com maior valor de pH favorecem o aparecimento de contaminações e

separação do soro. Durante o armazenamento o iogurte integral apresentou em média pH inferior ao do iogurte semidesnatado variando entre 4,4-4,7. O pH do iogurte a base de leite desnatado durante o armazenamento variou entre 4,98-5,16. Em ambos os tratamentos não foi observado dessoramento durante o período de armazenamento estudado.

Os valores de pH encontrados nos iogurtes com adição de polpa de *S. cumini* foram superiores ao relatado por Mühlbauer et al (2012) em iogurte a base de fruto da uvaia, a qual pertence à mesma família do *S. cumini*. O iogurte a base de uvaia composto por 10% de polpa apresentou pH entre 3,52-3,62. A acidez dos produtos apresentou aumento durante o período de armazenamento chegando a 0,90 g de ácido láctico 100g<sup>-1</sup> de produto no integral e 0,85 g de ácido láctico 100g<sup>-1</sup> no iogurte desnatado, estando portando de acordo com as exigências da legislação.

### 5.3.3 Determinação de fenólicos totais e capacidade antioxidante nas etapas de pré-fermentação e armazenamento do iogurte com polpa de *Syzygium cumini*

Na Tabela 5.10 são apresentados os dados de fenólicos totais e capacidade antioxidante nos iogurtes com polpa de *S. cumini*.

Tabela 5.10 – Fenólicos totais, EC<sub>50</sub> e capacidade antioxidante total para os componentes do iogurte com polpa de *Syzygium cumini* na etapa pré-fermentação e no produto final durante armazenamento por 21 dias (média±desvio-padrão).

Parâmetros	Item	Tratamento	
		Integral	Desnatado
Fenólicos totais (mg GAE 100g <sup>-1</sup> )	L	18,40 ±5,60 <sup>Aa</sup>	15,17±2,76 <sup>Ab</sup>
	LI	22,52±4,57 <sup>Ab</sup>	16,18±0,87 <sup>Aa</sup>
	LIP	30,71±7,96 <sup>Aab</sup>	27,39±6,09 <sup>Abc</sup>
	D1	35,36 ±12,36 <sup>Ab</sup>	34,85 ±9,08 <sup>Ac</sup>
	D7	38,55 ±9,04 <sup>Ab</sup>	33,55 ±7,54 <sup>Ac</sup>
	D14	21,79 ± 14,07 <sup>Aab</sup>	29,90 ± 6,31 <sup>Abc</sup>
	D21	21,83 ± 13,48 <sup>Aab</sup>	28,02 ± 5,75 <sup>Abc</sup>
EC50 (mg mL <sup>-1</sup> )	L	74,54±6,72 <sup>Ad</sup>	83,21±16,61 <sup>Ac</sup>
	LI	23,97±4,32 <sup>Ac</sup>	28,35±2,34 <sup>Ab</sup>
	LIP	16,04±2,36 <sup>Aa</sup>	18,58±8,62 <sup>Ab</sup>
	D1	16,62±2,88 <sup>Aa</sup>	23,61±6,37 <sup>Ab</sup>
	D7	19,08±4,56 <sup>Aabc</sup>	17,63±2,52 <sup>Aa</sup>
	D14	16,73±0,90 <sup>Aab</sup>	15,57±1,25 <sup>Aa</sup>
	D21	19,08±1,81 <sup>Ab</sup>	17,66±2,14 <sup>Aa</sup>
Capacidade antioxidante total (g amostra mg <sup>-1</sup> DPPH)	L	3,13±0,41 <sup>Ad</sup>	3,43±0,10 <sup>Ac</sup>
	LI	1,26±0,34 <sup>Ac</sup>	1,46±0,14 <sup>Ab</sup>
	LIP	0,82±0,05 <sup>Aa</sup>	0,96±0,46 <sup>Ab</sup>
	D1	0,83±0,17 <sup>Aa</sup>	1,00±0,25 <sup>Ab</sup>
	D7	0,92±0,26 <sup>Aabc</sup>	0,75±0,09 <sup>Aa</sup>
	D14	0,84±0,10 <sup>Aab</sup>	0,67±0,08 <sup>Aa</sup>
	D21	0,96±0,14 <sup>Ab</sup>	0,76±0,12 <sup>Aa</sup>

Fonte: Dados de pesquisa.

Notas: Sinais convencionais utilizados:

L- leite puro LI- leite e inóculo LIP- leite, inóculo e polpa.

a, b, c= Letras minúsculas sobrescritas diferentes na mesma coluna para um mesmo tratamento e característica indicam diferenças significativas entre os períodos de amostragem (p<0,05).

<sup>A,B</sup> = Letras maiúsculas sobrescritas diferentes na mesma linha para um mesmo período de amostragem indicam diferenças significativas (p < 0,05) entre os tratamentos.

A polpa de *Syzygium cumini*, como observado na Tabela 5.3, tem alto potencial antioxidante e alto conteúdo de fenólicos. No entanto, os fenólicos interagem com proteínas, o que pode refletir no poder antioxidante da fruta ao ser fermentada, junto ao leite para obtenção do iogurte (TRIGUEROS, WOJDYLO; SENDRA, 2014).

A fim de observar a influência do processo de fermentação láctica na concentração de fenólicos totais e capacidade antioxidante, foram feitas análises com os ingredientes do

iogurte antes de submetidos ao processo de fermentação e após o período de armazenamento estudado.

A concentração de fenólicos totais previamente ao processo de fermentação e até o sétimo dia de armazenamento tendeu a ser maior no iogurte integral; entretanto a diferença encontrada em comparação ao iogurte semidesnatado não foi estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Como a decomposição das proteínas do leite pelas bactérias pode reduzir os níveis de compostos fenólicos normalmente presentes no leite, a adição de produtos ricos em compostos fenólicos pode agregar maior valor ao produto (KARAASLAN et al., 2011), como é o caso do fruto de *S. cumini*.

Através da avaliação de antioxidantes antes da fermentação e durante o armazenamento observou-se que a capacidade antioxidante do produto integral tende a ser maior que a do produto semidesnatado até o primeiro dia de armazenamento, a partir do qual, o tratamento com leite desnatado tendeu a apresentar maior capacidade antioxidante. Porém a diferença encontrada não foi estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) e, portanto, ambos os tratamentos apresentaram desempenho estatisticamente semelhante.

A atividade sequestradora de DPPH (EC50) do iogurte integral durante armazenamento variou entre 16,62-19,08 mg mL<sup>-1</sup>, enquanto a do iogurte semidesnatado variou entre 15,57-23,61 mg mL<sup>-1</sup>. Pereira, Barros e Ferreira (2013) realizaram um estudo comparativo do potencial antioxidantes de iogurtes comerciais adicionados com pedaços de frutas variados. Em comparação com os resultados deste trabalho, os iogurtes a base de *S. cumini* tiveram desempenho antioxidante semelhante aos iogurtes com polpa de mirtilo (*blueberry*) o qual obteve capacidade antioxidante de 11,95 mg mL<sup>-1</sup>, e ao iogurte com polpa de amora 19,09 mg mL<sup>-1</sup>. A menor atividade sequestradora de DPPH, naquele trabalho, foi encontrada no iogurte com polpa de ameixa (EC50 82,01 mg mL<sup>-1</sup>).

Os fenólicos do fruto de *Syzygium cumini* são representados em grande parte pelas antocianinas responsáveis pela coloração do fruto. Estudos sugerem que as antocianinas são absorvidas principalmente na sua forma glicosídica e atingem rapidamente o sistema circulatório. Menos de 0,1% da dose administrada aparece na urina; porém estudos dos efeitos protetores *in vitro* e *in vivo* indicam que estes fenólicos têm alta bioeficácia (SAXENA; GAUTAM; SHARMA, 2013). A presença de fenólicos no organismo, mesmo em baixas concentrações, forneceria efeitos protetores contra as espécies reativas liberadas pelo estresse oxidativo, além de redução da apoptose e mudanças na resposta inflamatória, as quais estão associadas ao desenvolvimento de doenças crônicas (BORNSEK et al., 2012).

Os resultados encontrados mostram que os iogurtes desenvolvidos apresentam compostos fenólicos durante o período de armazenamento estudado, que podem contribuir com o sistema antioxidante do organismo, aumentando a proteção contra espécies reativas de oxigênio.

### 5.3.4 Viabilidade das bactérias lácticas durante armazenamento

Os dados de viabilidade das bactérias lácticas nas formulações de iogurte integral e semidesnatado são apresentados na Tabela 5.11.

Tabela 5.11 – Viabilidade do *S. thermophilus* e *Lactobacillus* sp. obtida para os tratamentos do iogurte com polpa de *Syzygium cumini* ao longo do armazenamento de 21 dias.

Bactéria láctica	Tempo de armazenamento (dias)	Tratamentos	
		Integral	Semidesnatado
<i>S. thermophilus</i> (log UFC g <sup>-1</sup> )	1	8,82 ± 2,01 <sup>Aa</sup>	9,73 ± 1,01 <sup>Aa</sup>
	7	10,43 ± 1,82 <sup>Ab</sup>	11,37 ± 1,08 <sup>Ab</sup>
	14	10,13 ± 1,06 <sup>Aab</sup>	11,26 ± 1,34 <sup>Ab</sup>
	21	10,95 ± 1,57 <sup>Ab</sup>	11,18 ± 2,15 <sup>Ab</sup>
<i>Lactobacillus</i> sp. (log UFC g <sup>-1</sup> )	1	6,05 ± 1,11 <sup>Ab</sup>	5,40 ± 0,23 <sup>Ac</sup>
	7	4,81 ± 0,09 <sup>Aa</sup>	4,65 ± 0,20 <sup>Ab</sup>
	14	4,13 ± 0,81 <sup>Aa</sup>	4,77 ± 1,71 <sup>Abc</sup>
	21	4,23 ± 0,78 <sup>Aa</sup>	2,66 ± 0,35 <sup>Aa</sup>

Fonte: Dados de pesquisa.

Notas: Sinais convencionais utilizados:

<sup>A,B</sup> = Letras maiúsculas sobrescritas diferentes na mesma linha para um mesmo período de amostragem indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos.

a,b,c = Letras minúsculas sobrescritas diferentes na mesma coluna para um mesmo tratamento e parâmetro indicam diferenças significativas entre os períodos de amostragem ( $p < 0,05$ ).

A estrutura e características do iogurte se deve à ação das culturas bacterianas lácticas que trabalham em simbiose e devem ser viáveis e abundantes no momento do consumo (SFAKIANAKIS; TZIA, 2014).

Os resultados apresentados em log UFC g<sup>-1</sup> mostram que em ambos tratamentos apresentam contagem de bactérias lácticas acima de 10<sup>7</sup> UFG g<sup>-1</sup> de produto durante os 21 dias de armazenamento.

As contagens de bactérias lácticas estão de acordo com estudo de Saccaro et al. (2012). Neste estudo sobre meios seletivos para cultura de bactérias lácticas, foi realizada a contagem



de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* presentes em iogurte natural. Foram utilizados os meios M-17 e MRS acidificado a pH 5,4 e a contagem realizada durante um período de armazenamento de 21 dias. Para o *Lactobacillus* foi observada a contagem de 7,95 log UFC g<sup>-1</sup> de iogurte no primeiro dia de incubação, o qual foi decrescendo durante o armazenamento até não ser observado crescimento ao final do período. O *Streptococcus thermophilus* apresentou uma contagem inicial de 10,48 log UFC g<sup>-1</sup> de iogurte no primeiro dia de incubação e 6,48 log UFC g<sup>-1</sup> ao final do período de armazenamento.

Sabe-se que as culturas utilizadas na fermentação do iogurte apresentam como efeito benéfico à saúde, a redução de sintomas causados pela não metabolização de lactose. Esse benefício se deve à presença de lactase no arsenal nas culturas ácido-láticas utilizadas na fermentação, e não requer que as células bacterianas se reproduzam durante o trânsito intestinal, mas que estejam viáveis no momento da ingestão do produto (MORELLI, 2014)

### 5.3.5 Análise de contaminantes microbiológicos durante armazenamento

Na Tabela 5.12 são apresentados os resultados da análise de contaminantes microbiológicos durante o período de armazenamento de 21 dias.

Tabela 5.12 – Análise microbiológica durante o período de armazenamento (21 dias) para contaminantes.

Parâmetros	Tempo (dias)	Iogurte	
		Integral	Semidesnatado
Coliformes 35°C (NMP g <sup>-1</sup> )	1	<3,00	<3,00
	7	<3,00	<3,00
	14	<3,00	<3,00
	21	<3,00	<3,00
Coliformes 45°C (NMP g <sup>-1</sup> )	1	ND	ND
	7	ND	ND
	14	ND	ND
	21	ND	ND
Bolores e leveduras	1	<1,0x10	1,0x10
	7	<1,0x10	1,0x10
	14	<1,0x10	1,0x10
	21	<1,0x10	1,0x10
<i>Salmonella</i> sp*	1	Ausente	Ausente
	7	Ausente	Ausente
	14	Ausente	Ausente
	21	Ausente	Ausente

Fonte: Dados de pesquisa.

Notas: Sinais convencionais utilizados:

NMP g<sup>-1</sup>= número mais provável por grama de iogurte. ND= não detectado.

\* Análise realizada para os lotes destinados à sensorial.

Os resultados deste estudo estiveram de acordo com os critérios estabelecidos pela legislação brasileira, a qual estabelece tolerância de 200 UFC g<sup>-1</sup> para bolores e leveduras. No iogurte a análise de contaminantes coliformes a 45 e 35°C os resultados foram expressos como Número Mais Provável por g de produto (NMP g<sup>-1</sup>) e foram <3,00 NMP g<sup>-1</sup>. As bactérias do gênero *Salmonella* foram ausentes em 25 g dos produtos, também em conformidade com o exigido pela legislação (BRASIL, 2007).

Os principais contaminantes bacterianos que podem ser encontrados no leite durante os estágios de processamento do iogurte incluem: espécies de *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* e *Coxiella burnetti*. Todos eles são eliminados através do tratamento térmico mais comum na produção de iogurte, o aquecimento do leite a 85°C por 20 minutos (SFAKIANAKIS; TZIA, 2014). Dessa forma, os cuidados

realizados nos produtos deste estudo foram efetivos para garantir a sua segurança microbiológica.

### 5.3.6 Análise sensorial

As notas atribuídas aos atributos sensoriais (cor, odor, acidez, sabor, consistência e aceitação global) dos produtos integral e semidesnatado estão apresentadas na Tabela 5.13.

Tabela 5.13 – Notas atribuídas às características cor, odor, acidez, sabor, consistência e aceitação global avaliadas nos iogurtes integral e semidesnatado adicionados de polpa de *S. cumini* (média  $\pm$  desvio-padrão).

Parâmetro	Tempo de armazenamento (dias)	Tratamento	
		Integral	Semidesnatado
Cor	7	7,86 $\pm$ 1,47 <sup>Aa</sup>	7,67 $\pm$ 2,04 <sup>Aa</sup>
	14	7,97 $\pm$ 1,52 <sup>Aa</sup>	7,56 $\pm$ 1,72 <sup>Aa</sup>
	21	7,50 $\pm$ 1,84 <sup>Aa</sup>	7,47 $\pm$ 1,44 <sup>Aa</sup>
Odor	7	8,44 $\pm$ 1,23 <sup>Bb</sup>	6,57 $\pm$ 2,06 <sup>Aa</sup>
	14	8,22 $\pm$ 1,31 <sup>Bab</sup>	7,88 $\pm$ 1,38 <sup>Ab</sup>
	21	7,75 $\pm$ 1,78 <sup>Ba</sup>	7,15 $\pm$ 1,76 <sup>Aab</sup>
Acidez	7	5,44 $\pm$ 2,17 <sup>Aa</sup>	4,57 $\pm$ 2,25 <sup>Aa</sup>
	14	4,63 $\pm$ 2,15 <sup>Aa</sup>	4,49 $\pm$ 2,10 <sup>Aa</sup>
	21	4,39 $\pm$ 2,05 <sup>Aa</sup>	4,39 $\pm$ 2,05 <sup>Aa</sup>
Sabor	7	6,83 $\pm$ 1,94 <sup>Ba</sup>	4,97 $\pm$ 2,11 <sup>Aa</sup>
	14	8,14 $\pm$ 1,24 <sup>Bb</sup>	6,91 $\pm$ 2,08 <sup>Ab</sup>
	21	8,12 $\pm$ 1,88 <sup>Bb</sup>	6,25 $\pm$ 2,16 <sup>Ab</sup>
Consistência	7	7,33 $\pm$ 1,94 <sup>Aa</sup>	7,55 $\pm$ 1,72 <sup>Aa</sup>
	14	8,29 $\pm$ 1,35 <sup>Ab</sup>	7,34 $\pm$ 2,22 <sup>Aa</sup>
	21	7,90 $\pm$ 2,20 <sup>Aab</sup>	6,97 $\pm$ 2,08 <sup>Aa</sup>
Aceitação global	7	7,18 $\pm$ 1,59 <sup>Ba</sup>	5,81 $\pm$ 1,83 <sup>Aa</sup>
	14	8,09 $\pm$ 1,03 <sup>Bb</sup>	7,23 $\pm$ 1,80 <sup>Ab</sup>
	21	7,86 $\pm$ 1,49 <sup>Bb</sup>	6,52 $\pm$ 1,64 <sup>Aab</sup>

Fonte: Dados de pesquisa.

Notas: Sinais convencionais utilizados:

<sup>A,B</sup> = Letras maiúsculas sobrescritas diferentes na mesma linha para um mesmo período de amostragem indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos.

a,b,c = Letras minúsculas sobrescritas diferentes na mesma coluna para um mesmo tratamento e característica indicam diferenças significativas entre os períodos de amostragem ( $p < 0,05$ ).

A avaliação da cor dos produtos não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os dois tratamentos ( $p>0,05$ ). Ambos os produtos foram avaliados positivamente em relação a esta característica o que pode ser explicado pela coloração natural do *S. cumini*.

O atributo odor recebeu maiores notas para o iogurte integral nos três lotes em relação ao iogurte semidesnatado, sendo a diferença estatisticamente significativa ( $p<0,05$ ).

De acordo com a atribuição das notas, a acidez em ambos os produtos elaborados foi considerada fraca pelos provadores nos três dias de amostragem. O resultado é compatível com a determinação da acidez durante o armazenamento a qual demonstrou tendência de aumento com o tempo, mas sem diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre o primeiro e último dia sob refrigeração para ambos os tratamentos (Capítulo 5).

Os dados indicados na Tabela 5.13 mostram que em relação ao sabor, houve diferença de aceitação entre os dois tratamentos. O iogurte integral recebeu melhores notas nos três dias avaliados. O produto com sete dias de armazenamento foi o que obteve menor aprovação tanto para o tratamento integral, quanto para o tratamento semidesnatado.

A consistência foi um dos atributos mais bem avaliados no iogurte semidesnatado e não apresentou diferença significativa entre os três dias de amostragem ( $p>0,05$ ).

As notas de aceitação global para o iogurte integral foram maiores após 14 dias de armazenamento ( $8,09\pm 1,03$ ), apresentando diferença estatística em relação ao produto com 7 dias de armazenamento ( $p<0,05$ ). Em relação ao produto semidesnatado o produto com 14 dias de armazenamento também obteve maiores notas em relação às amostras com 7 e 21 dias de armazenamento ( $p<0,05$ ). Ao se correlacionar a aceitação global dos produtos com a acidez estudada durante o armazenamento, é possível correlacionar uma melhor aceitação do produto à acidez de  $0,80 \text{ g de ácido láctico } 100 \text{ g}^{-1}$ , conforme registrado na Tabela 5.8.

As citações das atributos que mais agradaram e menos agradaram os julgadores estão apresentadas na Tabela 5.14.

Tabela 5.14 – Citações das características que mais gostaram (+) e que menos gostaram (-) atribuídas pelos provadores aos tratamentos de iogurte na análise sensorial.

Característica	Tempo (dias)	Atribuição	Tratamento	
			Integral	Semidesnatado
			Número de citações – n (%)	
Cor	7	+	2 (22,22)	10 (90,91)
		-	7 (77,78)	1 (9,09)
	14	+	1 (10,00)	5 (41,67)
		-	9 (90,00)	7 (58,33)
	21	+	2 (12,50)	5 (55,56)
		-	14 (87,50)	4 (44,44)
Odor	7	+	13 (100,00)	7 (77,78)
		-	0 (0,00)	2 (22,22)
	14	+	2 (28,57)	9 (100,00)
		-	5 (71,43)	0 (0,00)
	21	+	3 (50,00)	6 (100,00)
		-	3 (50,00)	0 (0,00)
Acidez	7	+	0 (0,00)	0 (0,00)
		-	7 (100,00)	4 (100,00)
	14	+	0 (0,00)	0 (0,00)
		-	0 (0,00)	6 (100,00)
	21	+	3 (27,27)	2 (33,33)
		-	8 (72,73)	4 (66,67)
Sabor	7	+	17 (54,84)	4 (11,76)
		-	14 (45,16)	30 (88,24)
	14	+	28 (87,50)	19 (61,29)
		-	4 (12,50)	12 (38,71)
	21	+	34 (79,07)	18 (64,29)
		-	9 (20,93)	10 (35,71)
Consistência	7	+	13 (54,17)	19 (70,37)
		-	11 (45,83)	8 (29,63)
	14	+	14 (58,33)	22 (53,66)
		-	10 (41,67)	19 (46,34)
	21	+	16 (55,17)	18 (47,37)
		-	13 (44,83)	20 (52,63)

Fonte: Dados de pesquisa.

N = soma do total de provadores que citaram determinada característica como sendo a que mais gostaram ou a que menos gostaram dividido pelo total de provadores que citaram o atributo vezes 100 em cada dia de armazenamento.

Em relação à coloração, na avaliação descritiva, os julgadores observaram que o produto poderia ter uma coloração mais acentuada, especialmente o iogurte integral, para o qual a cor foi a característica que menos agradou os provadores.

Em relação ao atributo do odor, o resultado descritivo refletiu a atribuição das notas, uma vez que houve avaliação de forma mais positiva nos três dias de armazenamento do iogurte integral em relação ao iogurte semidesnatado.

Na avaliação descritiva o atributo acidez foi citado como característica negativa 15 vezes para o iogurte integral e 14 vezes para o desnatado. A menção da acidez como característica negativa dentro de um mesmo dia de amostragem foi percebida tanto como forte ou fraca e pode demonstrar a preferência pessoal dos provadores em relação a este atributo.

Segundo os julgamentos descritivos, as avaliações negativas em relação ao sabor do iogurte semidesnatado foram atribuídas ao pouco dulçor do produto em relação ao sabor da fruta. Buriti, Cardarelli e Saad (2008) relatam a diminuição da percepção do sabor em produtos reduzidos em gordura quando comparados às suas versões integrais devido à ausência de compostos lipossolúveis que auxiliam na percepção do sabor dos alimentos e que são liberados durante o processo de mastigação.

Na análise descritiva, o atributo que mais agradou os provadores foi a consistência do produto, principalmente após 14 dias de armazenamento. Em ambos os tratamentos, a presença de pedaços de fruta foi a causa das avaliações negativas relacionadas à textura do produto nas avaliações descritivas. Estes resultados estão compatíveis com a atribuição das notas conforme Tabela 5.13.

Os iogurtes com 14 e 21 dias de armazenamento foram os mais bem avaliados em ambos os tratamentos, conforme se observa pela frequência com que os julgadores mencionaram o sabor como sendo uma característica positiva na avaliação descritiva.

## 6 CONCLUSÃO

Com relação à caracterização físico-química dos frutos, os resultados encontrados estiveram de acordo com os dados relatados por outros autores que estudaram o fruto de *Syzygium cumini*. Por outro lado, o teor de proteínas apresentou variação que pode estar relacionada às diferentes condições de solo nas regiões estudadas. Verificou-se ainda que houve uma tendência de diminuição do teor de fenólicos com o tratamento térmico, mas não foi estatisticamente significativo.

Diante dos resultados obtidos com os ensaios-piloto, foi possível concluir que em ambos os tratamentos, as formulações com 20% de leite e 10% de polpa apresentaram os melhores desempenhos em acidez, contagem de bactérias lácticas e viscosidade, sendo escolhidas para os ensaios definitivos.

Os produtos finais se encontraram dentro do exigido para teores de proteína de acordo com a legislação nacional específica. O iogurte produzido a partir de leite desnatado foi classificado como semidesnatado quanto ao conteúdo lipídico. Durante o período de armazenamento estudado, houve aumento de acidez com conseqüente diminuição no pH em ambas formulações. O nível de acidez manteve-se dentro do exigido pela legislação brasileira. Em relação à capacidade antioxidante dos iogurtes obtidos, observou-se que os produtos têm aproximadamente 10% da capacidade antioxidante da polpa, a mesma diluição do fruto no iogurte.

As bactérias lácticas estiveram viáveis durante todo período de armazenamento, estando de acordo com o preconizado pela legislação brasileira. Os produtos também estiveram em conformidade quanto aos microrganismos indicadores de qualidade sanitária estabelecidos pela legislação nacional específica, estando, portanto, garantidos em relação à sua segurança microbiológica.

Os atributos mais bem avaliados na análise sensorial dos iogurtes integral e semidesnatado foram o sabor e a consistência, respectivamente. A versão integral obteve boa aceitação por parte dos julgadores, o que a torna uma boa opção para introdução do fruto de *S. cumini* na alimentação diária.

Portanto, os iogurtes desenvolvidos encontraram-se dentro dos parâmetros exigidos para comercialização pela legislação vigente e a adição de polpa de *S. cumini* ao iogurte, aumentou a sua capacidade antioxidante conferindo valor funcional ao produto.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION. Position of the american dietetic association: functional foods. **Journal of American Dietetic Association**. Chicago, v. 104, p. 814-826, 2004.

AQIL, F.; GUPTA, A.; MUNAGALA, R.; JEYABALAN, J.; KAUSAR, H.; SHARMA, R. J.; SINGH, I. P.; GUPTA, R.C. Antioxidant and antiproliferative activities of anthocyanin/ellagitannin-enriched extracts from *Syzygium cumini* L. (Jamun, the indian blackberry). **Nutrition and Cancer**, Mahwah, v. 64, n 3, p. 428-438, 2012.

ATAMIAN, S.; OLABI, A.; BAGHDADI, O. K.; TOUFEILI, I. The characterization of the physicochemical and sensory properties of full-fat, reduced-fat and low-fat bovine, caprine, and ovine Greek yogurt (Labneh). **Food Science and Nutrition**, Malden, v. 2, n. 2, p. 164-173, 2014.

AYYANAR, M.; SUBASH-BABU, P. *Syzygium cumini* (L.) Skeels: A review of its phytochemical constituents and traditional uses. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, Haikou, v. 2, n. 3, p. 240-246, 2012.

BALTHAZAR, C. F.; GAZE, L.V.; SILVA, H. L. A.; PEREIRA, C. S.; FRANCO, R. M.; CARLOS ADAM CONTE-J UNIOR, FREITAS, M. Q.; SILVA, A. C. O. Sensory evaluation of ovine milk yoghurt with inulin addition. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 68, n. 2, p. 281-290, 2015.

BARCIA, M. T. **Composição centesimal e de fitoquímicos em *S. cumini* (*Syzygium cumini*)**. 2009. 159 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2009.

BORNSEK, S. M.; ZIBERNA, L.; POLAK, T.; VANZO, A.; ULRIH, N. P.; ABRAM, V.; TRAMER, F.; PASSAMONTI, S. Bilberry and blueberry anthocyanins act as powerful intracellular antioxidants in mammalian cells. **Food Chemistry**, London, v.134, p. 1878–1884, 2012.

BRAGA, A. C. C.; NETO, E. F. A.; VILHENA, M. J. V. Elaboração e caracterização de iogurtes adicionados de polpa e de xarope de mangostão (*Garcinia mangostana* L.). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande, v.14, n.1, p.77-84, 2012



BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Gabinete do Ministro. Instrução Normativa nº 46, de 23 de Outubro de 2007. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 Out 2007. Seção 1, pág. 4-7.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de atenção à saúde. Departamento de atenção básica. **Guia alimentar para a população brasileira**. 2. ed. Brasília, 2014. 156 p.

BURITI, F. C. A.; CARDARELLI, H. R.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental e avaliação sensorial de queijo fresco cremoso simbiótico: implicações da adição de *Lactobacillus paracasei* e inulina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 1, jan./mar., 2008.

CHANDAN, R. C.; WHITE, C. H.; KILARA, A.; HUI, Y. H. **Manufacturing yogurt and fermented milks**. London: Blackwell, 2006. 364 p.

CINBAS, A.; YAZICI, F. Effect of the addition of blueberries on selected physicochemical and sensory properties of yoghurts. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v. 46, n. 4, p. 434–441, 2008.

FERNANDEZ, M. A.; MARETTE, A. Potential health benefits of combining yogurt and fruits based on their probiotic and prebiotic properties. **Advances in Nutrition**, Bethesda, v. 8, p. 155S-164S, 2017. Supplement.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 226, p.497-509, 1957.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Food energy**: methods of analysis and conversion factors. Report of a technical workshop. Rome: 2003. (FAO Food and Nutrition Paper 77)..

GOPU, V.; KPTHANDAPANI, S.; SHETTY, P.H. Quorum quenching activity of *Syzygium cumini* (L.) Skeels and its anthocyanin malvidin against *Klebsiella pneumonia*. **Microbial Pathogenesis**, London, v.79, p. 61-69, 2015.

HELMSTÄDTER, A. *Syzygium cumini* (L) Skeels (Myrtaceae) against diabetes – 125 years of research. **Pharmazie**, München, v. 63, n. 2, p. 91-101, 2008.

HOPPERT, K.; ZANH, S.; JÄNECKE, L.; MAI, R.; HOFFMANN, S.; ROHM, H. Consumer acceptance of regular and reduced-sugar yogurt enriched with different types of dietary fiber. **International Dairy Journal**, Barking, v. 28, p. 1-7, 2013.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed., 1 ed. digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009**: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. . Rio de Janeiro: IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento, 150 p., 2011.

JACQUES, P. F.; WANG, H. Yogurt and weight management. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 99, p. 1229S-1234S, 2014. Supplement.

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

LAGO, E.S.; GOMES, E.; SILVA, R. Produção de geléia de *S. cumini* (*Syzygium cumini* - Lamarck): Processamento, parâmetros físico-químicos e avaliação sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, p. 847-852, 2006.

LI, Y.; XU, J.; YUAN, C.; MAC, H.; LIU, T.; LIU, F.; SEERAM, N. P.; MUA, X.; HUANG, X.; LI, L. Chemical composition and anti-hyperglycaemic effects of triterpenoid enriched *Eugenia jambolana* Lam. berry extract. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 28, p. 1-10. 2017.

MACIEL, M.C.G.; FARIAS, J.C.; MALUF, M.J.; GOMES, E.A.; PEREIRA, P.V.S.; ARAGÃO-FILHO, W.C.; FRAZÃO, J.B.; COSTA, G.C.; SOUSA, S.M.; SILVA, L.A.; AMARAL, F.M.M.; RUSSO, M.; GUERRA, R.N.M.; NASCIMENTO, F.R.F. *Syzygium jambolanum* treatment improves survival in lethal sepsis induced in mice. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, Bethesda, v. 8, e.57, 7 p., 2008.

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

MORELLI, L. Yogurt, living cultures and gut health. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 99, p. 1248S-1250S, 2014. Supplement.

MÜHLBAUER, F.B.; CESAR, G.M.; JUNQUEIRA, P.C.L.G.; SOUZA, A.D.; FURLAN, M.R. Avaliação das características físicas e químicas da polpa e do iogurte de uvaia. **THESIS**, São Paulo, ano 4, n.17. p. 60-77, 1º Semestre, 2012.

MURPHY, M. M.; BARRAJ, L. M.; TOTH, L. D.; HARKNESS, L. S.; BOLSTE, D. R. Daily intake of dairy products in Brazil and contributions to nutrient intakes: a cross-sectional study. **Public Health Nutrition**, Wallingford, v. 19, n. 3, p. 393–400, 2015.

PEREIRA, E.; BARROS, L.; FERREIRA, I.C.F.R. Relevance of the mention of antioxidant properties in yogurt labels: in vitro evaluation and chromatographic analysis. **Antioxidants**, Basel, v.2, p. 62-76, 2013.

PEREIRA, M. C.; STEFFENS, R. S.; JABLONSKI, A.; HERTZ, P. F.; RIOS, A. O.; VIZZOTO, M.; FLÔRES, S. H. Characterization and antioxidant potential of brazilian fruits from the myrtaceae family. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 60, 3061–3067, 2012.

PROCHÁZKOVÁ, D.; BOUŠOVÁ, I.; WILHELMOVÁ, N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. **Fitoterapia**, Amsterdam, n. 82, p. 513–523, 2011.

RAMÍREZ-SUCRE, M. O.; VÉLEZ-RUIZ, J. F. Physicochemical, rheological and stability characterization of a caramel flavored yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, Amsterdam, v. 51 p. 233-241, 2013.

REYNERTSON, K. A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J.; Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chemistry*, London, v. 109, p. 883–890, 2008.

RODRIGUES, K.A.F.; AMORIM, L.V.; DIAS, C.N.; MORAES, D.F.C.; CARNEIRO, S.M.P.; CARVALHO, F.A.A. *Syzygium cumini* (L.) Skeels essential oil and its major constituent  $\alpha$ -pinene exhibit anti-Leishmania activity through immunomodulation *in vitro*. *Journal of Ethnopharmacology*, New York, v. 160, p. 32–40, 2015.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J; SAURA-CALIXTO, F.D. **Metodologia científica:** determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Fortaleza, Julho, 2007. (Comunicado técnico *on line*, 127). Disponível em:  
<<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/426953/1/Cot127.pdf>> Acesso em 20 ago. 2017, 19:30:00.

SACCARO, D. M.; HIROTA, C. Y.; TAMIME, A. Y.; OLIVEIRA, M. N. Evaluation of different selective media for enumeration of probiotic micro-organisms in combination with yogurt starter cultures in fermented milk. *African Journal of Microbiology Research*, Nairobi, v. 6, n. 10, p. 2239-2246, 2012.

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

SAXENA, S.; GAUTAM, S.; SHARMA, A. Comparative Evaluation of antimutagenicity of commonly consumed fruits and activity-guided identification of bioactive principles from the most potent fruit, java plum (*Syzygium cumini*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Washington, v. 61, p. 10033-10042, 2013.

SCHLEIFER, K. H.; EHRMANN, M.; KRUSCH, U.; NEVE, H. Revival of the species *Streptococcus thermophilus* (ex-Orla Jensen, 1919) nom rev. *Systematic and Applied Microbiology*, Basinstoke, v.4, n 4, p. 386-388, 1991

SFAKIANAKIS, P.; TZIA, C. Conventional and innovative processing of milk for yogurt manufacture; development of texture and flavor: a review. **Foods**, Basel, v. 3, p.177-193, 2014

SIANI, A.C.; SOUZA, M.C.; HENRIQUES, M.G.O.; RAMOS, M.F.S. Anti-inflammatory activity of essential oils from *Syzygium cumini* and *Psidium guajava*. **Pharmaceutical Biology**, Philadelphia, v. 51, n. 7, p. 881-887, 2013.

SINGH, J.P.; KAUR, S.; SINGH, N.; NIM, L.; SHEKVANI, K.; KAUR, H.; AROR, D.S. In vitro antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 65, p.1025-1030, 2016.

SONG, W.; DERITO, C. M.; LIU, M. K.; HE, X.; DONG, M.; LIU, R. H. Cellular antioxidant activity of common vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, p. 6621–6629, 2010.

TAVARES, I.M.C.; LAGO-VANZELA, E.S.; REBELLO, L.P.G.; RAMOS, A.M.; GÓMEZ-ALONSO, S.; GARCÍA-ROMERO, E.; DA-SILVA, R.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Comprehensive study of the phenolic composition of the edible parts of jambolan fruit (*Syzygium cumini* (L) Skeels). **Food Research International**, Ottawa, v. 82. p. 1-13, 2016.

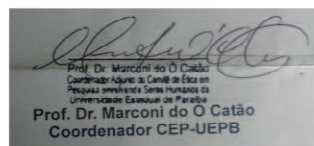
TRIGUEROS, L.; WOJDYLO, A.; SENDRA, E. Antioxidant activity and protein –polyphenol interactions in a pomegranate (*Punica granatum* L.) yogurt. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 62, p. 6417–6425, 2014.

VEDAMUTHU, E.R. Starter cultures for yogurt and fermented milks. In: CHANDAN, R. C.; WHITE, C. H.; KILARA, A.; HUI, Y. H. **Manufacturing yogurt and fermented milks**. London: Blackwell, 2006. p. 89-93.

VIEIRA, A. F.; SILVA, R. R. L.; ALVES, D. E. G.; MORAIS, H. M. B. R.; SANTOS, D; C. Processamento e caracterização de iogurte de limão. **Revista Brasileira de Tecnologia Agrindustrial**, Ponta Grossa, v.11, n. 2, p. 2402-2436, 2017.

VILLANUEVA, N. D. M.; DA SILVA, M. A. A. P. Comparative performance of the nine-point hedonic, hybrid and self-adjusting scales in the generation of internal preference maps. **Food Quality and Preference**, Amsterdam, v.20, p. 1–12, 2009.

## ANEXO – I – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



**PARECER DO RELATOR: 23**

**Número do CAAE Plataforma Brasil: 71569717.0.0000.5187**

**Data da 1ª relatoria PARECER DO AVALIADOR: 31 de Julho de 2017**

**Data da 2ª relatoria: 21 de Agosto de 2017**

**Pesquisadora Responsável: Eliane Rolim Florentino**

**Situação do projeto: APROVADO.**

**Apresentação do Projeto:** O projeto é intitulado: "Fruto do jambolão (*Syzygium cumini*) caracterização físico-química e desenvolvimento de produtos lácteos". Trata-se de um projeto de pesquisa aprovado pelo Edital 2015 PRPGP/UEPB PROPESQ.

**Objetivo da Pesquisa:** O objetivo geral da pesquisa é avaliar o fruto do jambolão (*Syzygium cumini*) visando identificar a composição físico-química, e seu aproveitamento para o desenvolvimento de iogurte. Dentre os objetivos específicos estão: caracterizar a polpa do fruto quanto aos parâmetros físico-químicos; elaborar formulações de iogurte com adição do fruto; caracterizar os produtos formulados quanto aos parâmetros físico-químicos e composição nutricional; verificar estabilidade dos produtos formulados quanto à vida de prateleira e avaliar a aceitabilidade dos produtos formulados.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:** A pesquisadora relata risco mínimo, já que as amostras que estiverem fora dos parâmetros de qualidade microbiológica e físico-química não serão oferecidas na análise sensorial; e as pessoas que não estejam em condições físicas adequadas (acometidas por alguma doença, gripe, desconforto, etc.) ou que apresentem alergia ou restrições aos componentes do produto não serão recrutadas.

Quanto aos benefícios, a pesquisadora destaca que estudos recentes têm mostrado que a incorporação de ingredientes fontes de compostos fenólicos (como os frutos do jambolão) em alimentos pode resultar em benefícios ao produto e ao consumidor, e ressalta que a utilização do fruto do jambolão vai aumentar o potencial antioxidante dos alimentos produzidos e vai disponibilizar produtos novos no mercado.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:** O Projeto tem relevância para as áreas de produção de alimentos, nutrição, ciência e tecnologia de alimentos. Apresenta resumo, introdução, hipóteses objetivos e metas, metodologia detalhada, cronograma de execução e financeiro, considerações éticas, referências e apêndices (termos de apresentação obrigatória e modelo de ficha para análise sensorial). São apresentadas 5 hipóteses relacionadas principalmente às características físico-químicas e microbiológicas do produto. Como desfecho primário, a pesquisadora acredita que os produtos elaborados terão impacto sobre: a promoção da saúde (por ser alimento funcional com potencial antioxidante); a diversificação do ramo alimentício (produto inovador); geração de renda (fortalecimento do cultivo do jambolão, contribuindo para a fixação do homem no campo). Em relação à metodologia: trata-se de um estudo experimental quantitativo. Foram definidos: a obtenção dos frutos, caracterização da polpa do fruto, elaboração dos iogurtes, quantificação das bactérias lácticas, caracterização dos produtos formulados, avaliação da estabilidade dos produtos lácteos ao longo do armazenamento, quantificação dos compostos fenólicos totais e avaliação da atividade antioxidante, e análise sensorial com critérios de inclusão e exclusão bem definidos.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória e Parecer do Avaliador:** Encontram-se anexados: a Declaração de Concordância com Projeto de Pesquisa, assinada pela pesquisadora responsável e pela orientanda, o Termo de Compromisso da Pesquisadora Responsável, e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Na segunda apreciação ética foram acostados ao projeto de Pesquisa O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e o Termo de Autorização Institucional emitido pela UFCG.

**Recomendações:** O referido projeto encontra-se em sua segunda apreciação, não permanecendo recomendações.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:** Em sua segunda apreciação ética, não se se identificou novas pendências. Devendo seu pesquisador seguir o cronograma previsto.



## APÊNDICE I – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO-TCLE

(OBS: para o caso de pessoas maiores de 18 anos e que não estejam inseridas nas hipóteses de vulnerabilidade que impossibilitam o livre discernimento com autonomia para o exercício dos atos da vida civil).

Pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido eu, \_\_\_\_\_, em pleno exercício dos meus direitos me disponho a participar da Pesquisa “Fruto do jambolão (*Syzygium cumini*) caracterização físico-química e desenvolvimento de produtos lácteos”. Declaro ser esclarecido e estar de acordo com os seguintes pontos:

- a) o trabalho terá como objetivo geral avaliar o fruto do jambolão (*Syzygium cumini*) visando identificar a composição físico-química, e seu aproveitamento para o desenvolvimento de iogurte;
- b) ao voluntário só caberá a autorização para a participação da análise sensorial e preenchimento da ficha do teste de diferença e não haverá nenhum risco ou desconforto ao voluntário;
- c) ao pesquisador caberá o desenvolvimento da pesquisa de forma confidencial; entretanto, quando necessário for, poderá revelar os resultados ao médico, indivíduo e/ou familiares, cumprindo as exigências da Resolução N°. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde;
- d) o voluntário poderá se recusar a participar, ou retirar seu consentimento a qualquer momento da realização do trabalho ora proposto, não havendo qualquer penalização ou prejuízo para o mesmo;
- e) será garantido o sigilo dos resultados obtidos neste trabalho, assegurando assim a privacidade dos participantes em manter tais resultados em caráter confidencial;
- f) não haverá qualquer despesa ou ônus financeiro aos participantes voluntários deste projeto científico e não haverá qualquer procedimento que possa incorrer em danos físicos ou financeiros ao voluntário e, portanto, não haveria necessidade de indenização por parte da equipe científica e/ou da Instituição responsável;
- g) qualquer dúvida ou solicitação de esclarecimentos, o participante poderá contatar a equipe científica no número (083) 33153360 e (083) 988819340 com Eliane Rolim Florentino.
- h) ao final da pesquisa, se for do meu interesse, terei livre acesso ao conteúdo da mesma, podendo discutir os dados, com o pesquisador, vale salientar que este documento será impresso em duas vias e uma delas ficará em minha posse;
- i) desta forma, uma vez tendo lido e entendido tais esclarecimentos e, por estar de pleno acordo com o teor do mesmo, dato e assino este termo de consentimento livre e esclarecido.

---

Assinatura do pesquisador responsável

---

Assinatura do Participante

## APÊNDICE II – FICHA PARA TESTE DE ACEITAÇÃO

### Ficha para teste de aceitabilidade e escala do ideal

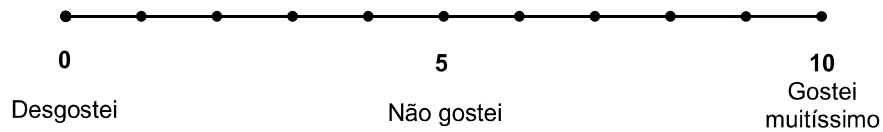
Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_/\_\_/\_\_\_\_

Sexo: Masc. ( ) Fem. ( ) Idade: \_\_\_\_\_

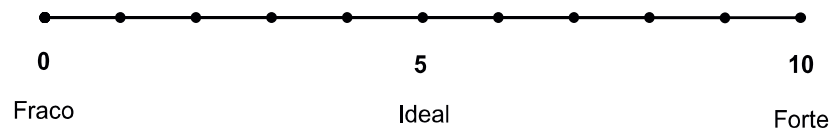
**Produto:** logurte de jambolão - **Código:** \_\_\_\_\_

Prove a amostra e marque com um X nas escalas abaixo a sua nota para cada característica (sabor, consistência, aparência, cor e aceitação global).

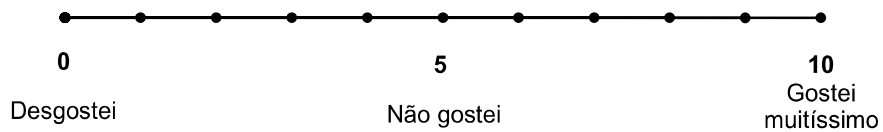
#### SABOR:



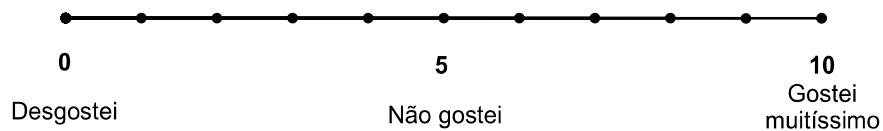
#### GOSTO ÁCIDO:



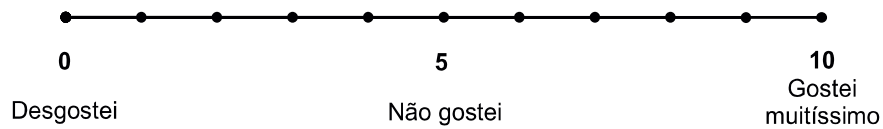
#### CONSISTÊNCIA:



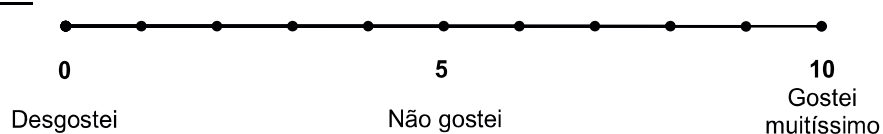
#### ODOR:



#### COR:



#### ACEITAÇÃO GLOBAL:



Cite a característica que você **mais** gostou na amostra. Comente.



Cite a característica que você **menos** gostou na amostra. Comente.

