

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE FARMÁCIA

ANA LUIZA COELI CRUZ RAMOS

BEBIDA FERMENTADA COM POTENCIAL PROBIÓTICO À  
BASE DE EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA COM  
ADIÇÃO DE GRUMIXAMA (*Eugenia brasilienses*)

Belo Horizonte  
2020

ANA LUIZA COELI CRUZ RAMOS

BEBIDA FERMENTADA COM POTENCIAL PROBIÓTICO À  
BASE DE EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA COM  
ADIÇÃO DE GRUMIXAMA (*Eugenia brasilienses*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós  
Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de  
Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais,  
como requisito parcial à obtenção do grau de Mestra  
em Ciência de Alimentos.

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Inayara Cristina Alves  
Lacerda

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Raquel Linhares Bello de  
Araújo

Belo Horizonte, MG  
2020

R175b Ramos, Ana Luiza Coeli Cruz.  
Bebida fermentada com potencial probiótico à base de extrato hidrossolúvel de soja com adição de grumixama (*Eugenia brasilienses*) / Ana Luiza Coeli Cruz Ramos. – 2020.  
125 f. : il.

Orientadora: Inayara Cristina Alves Lacerda.  
Coorientadora: Raquel Linhares Bello de Araújo.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos.

1. Compostos fenólicos – Teses. 2. Fermentação – Teses. 3. Bebidas fermentadas – Teses. 4. Probióticos – Teses. 5. Alimentos funcionais – Teses. I. Lacerda, Inayara Cristina Alves. II. Araújo, Raquel Linhares Bello de. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD:664.6

**Elaborado por Darlene Teresinha Schuler – CRB-6/1759**

## Folha de Aprovação



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

PPCCA

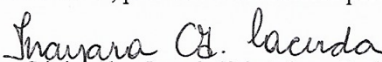
### FOLHA DE APROVAÇÃO

**BEBIDA FERMENTADA COM POTENCIAL PROBIÓTICO À BASE DE EXTRATO  
HIDROSSOLÚVEL DE SOJA COM ADIÇÃO DE GRUMIXAMA (Eugenia  
brasilienses)**

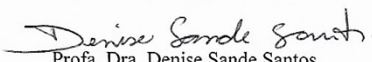
**ANA LUIZA COELI CRUZ RAMOS**

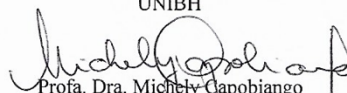
Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, área de concentração CIÊNCIA DE ALIMENTOS.

Aprovada em 11 de fevereiro de 2020, pela banca constituída pelos membros:

  
Prof. Dra. Inayara Cristina Alves Lacerda (Orientadora e Presidente da Comissão)  
Faculdade de Farmácia - UFMG

  
Prof. Dra. Raquel Linhares Bello de Araújo (Coorientadora)  
Faculdade de Farmácia - UFMG

  
Prof. Dra. Denise Sande Santos  
UNIBH

  
Prof. Dra. Michely Capobianco  
PUC-MG

Belo Horizonte, 11 de fevereiro de 2020.

*À minha mãe Jaina, minha  
madrinha Júlia e ao Rafa  
dedico este trabalho, por tudo  
que fazem por mim, eu amo  
você.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por estar sempre em meu caminho, me acompanhando em cada passo na minha vida.

À minha mãe Jaina e minha madrinha Júlia, por sempre me apoiarem a cada escolha e por nunca medirem esforços para que eu pudesse chegar até aqui e, à Neka Rubens e Deh por todo apoio.

Ao Rafa por ser a melhor pessoa do mundo e estar comigo em todos os momentos me apoiando, por todo amor, companheirismo e carinho compartilhado desde sempre, mil vezes obrigada.

À Ina e a Raquel obrigada por terem me acolhido, acreditado em meu potencial, pelos ensinamentos, orientação, pela paciência, por sempre me incentivarem, por serem humanas, vocês são muito especiais.

Ao Júlio por toda ajuda, por ser sempre tão disponível, paciente e por ter acreditado no meu potencial. À Verônica por toda colaboração durante o desenvolvimento deste trabalho, foi de extrema importância e aprendizado.

Às professoras Denise, Michely e Camila por terem aceitado o convite para participação na banca de defesa.

À Universidade Federal de Minas Gerais, ao Programa de Pós-Graduação e professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos pelos conhecimentos compartilhados e à CAPES pelo apoio financeiro.

Às minhas amigas de sempre Letícia, Numiá, Patrícia e Thammyrys por estarem sempre presentes na minha vida e por fazerem parte de mais uma conquista vocês são essenciais.

Aos técnicos dos laboratórios em especial à Elaine, Lud, Majú, Mari, Ronália e Dhione por toda paciência, dedicação, ensinamento, apoio e risadas.

Aos colegas Mauro, Vivi, Maria, Ana, Tássia, Pam, Bárbara e Flávia por todo ensinamento e amizade e aos melhores IC's do mundo Douglas e Deh vocês são incríveis.

Aos amigos maravilhosos que eu fiz na pós Dani, Kellen e Vinícius obrigada por tornarem meus dias melhores por todo companheirismo, ensinamento, apoio e amizade.

Ao Ítalo, Rodolfo, Lara, Rê, Gabi, Jeje, Rafa, Arê e Bruninha pela amizade mesmo quando não foi possível estar perto. E as novas amizades que este ciclo me proporcionou Jade, Paula, Fernandinha, Bella, Ana, Bi, Isa, Tarissa e Jô obrigada por terem me proporcionado dias leves.

À todos que de alguma forma contribuíram para ao longo desta caminhada, muito obrigada!

*“O sucesso nasce do querer, da  
determinação e persistência em se chegar a  
um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo,  
quem busca e vence obstáculos, no mínimo  
fará coisas admiráveis”*

José de Alencar



## RESUMO

O interesse pelo consumo de alimentos com potencial funcional tem aumentado, incentivado pela busca de melhoria da qualidade de vida. O extrato hidrossolúvel de soja (EHS) possui características nutricionais de grande valor, entretanto, seu consumo é pequeno devido às características sensoriais pouco atrativas. Em contrapartida, a fermentação do EHS permite melhorar essas características indesejáveis, e, neste sentido, é comum a utilização de probióticos na produção de diferentes bebidas fermentadas, a exemplo do *Lactobacillus acidophilus*, devido às suas propriedades benéficas à saúde humana. A fim de agregar valor nutricional e comercial a esta bebida, é possível adicionar prebióticos, como a inulina, e suplementos alimentares, como o *whey protein*, e ainda polpas de frutos, dentre outros ingredientes. Dentre estes últimos, destaca-se a grumixama *Eugenia brasiliensis*, que apresenta nutrientes e compostos bioativos de interesse funcional. Diante disso, o objetivo deste estudo foi produzir bebidas fermentadas com potencial funcional à base de extrato hidrossolúvel de soja (EHS) utilizando uma linhagem de probiótico *L. acidophilus-LA-5*, adicionada de polpa de grumixama, inulina e *whey protein*. Foi realizada a caracterização físico-química, atividade antioxidante e análise de compostos fenólicos totais para a polpa do fruto e bebida fermentada. A caracterização do perfil químico da polpa foi realizada empregando-se o *paper spray* PS/MS e a extração dos compostos orgânicos voláteis por meio de microextração em fase sólida e posterior separação e identificação por CG-MS. Em seguida foram elaboradas quatro formulações de bebida fermentada à base de EHS. Foram realizadas as análises de pH, acidez titulável e contagem microbiana do probiótico em diferentes tempos (a cada 1 hora) por um período de 12 horas de fermentação e durante a vida de prateleira de 28 dias. A polpa de grumixama destacou-se em relação à presença de fibra e o teor ácido característico de frutos do mesmo gênero. A polpa apresentou teores médio de compostos fenólicos totais ( $173,85 \pm 3,21$  mg/ 100 g de polpa) e atividade antioxidante ( $844,86 \pm 2,03$   $\mu$ M/100 g de polpa). Na tentativa de identificação, foram listados por PS/MS 46 compostos, destacando flavonoides, compostos fenólicos, carotenoides, açúcares, catequina, derivados da quercetina. A técnica do SPME permitiu identificar 19 compostos voláteis orgânicos pertencentes à classe dos terpenos, compostos responsáveis por diversas características sensoriais dos frutos. As bebidas apresentaram com elevado teor proteico variando de 2,70 a

4,80 g/100 g de bebida, e mostrou ser uma bebida mais ácida, com acidez média de 0,68 g ácido láctico/100 g bebida e baixo pH de 3,82 a 3,98. Já a viabilidade microbiana se mostrou satisfatória mantendo contagem do microrganismo probiótico de  $10^7$  a  $10^8$  UFC/mL ao fim dos 28 dias de armazenamento. Foi possível observar que as formulações foram promissoras pois apresentaram eficácia nos parâmetros avaliados para as bebidas e a combinação dos ingredientes utilizados foi favorável para o crescimento e viabilidade do microrganismo probiótico trazendo assim uma característica funcional a bebida fermentada.

**Palavras-chave:** Compostos fenólicos. Fermentação. Viabilidade celular. Alimento funcional.

## ABSTRACT

The interest in consumption of foods with functional potential has been increasingly encouraged by the pursuit of improving the quality of life. The water-soluble soy extract (SWE) has nutritional resources of great value, but its consumption is small due to unattractive sensory characteristics. In contrast, an SWE fermentation improves these unwanted and included resources, and it is common to use probiotics in different fermented drinks, such as *Lactobacillus acidophilus*, because of their beneficial properties on human health. In order to add nutritional and commercial value to this drink at the same time, it is possible to add practices such as inulin, and food supplements, such as whey protein, and fruit pulps, among other ingredients. Among the latter, the grumixama *Eugenia brasiliensis* stands out, which contains nutrients and other compounds of functional interest. Therefore, the objective of this study was to produce fermented beverages based on the potential of water-soluble soy extract (SWE), using a lineage of *L. acidophilus*-LA-5 probiotic, added with grumixama pulp, inulin and whey protein. A physical-chemical characterization, antioxidant activity and analysis of total phenolic compounds for pulp and fermented drink were carried out. A characterization of the chemical profile of the pulp was performed using the paper spray PS-MS and an extraction of volatile organic compounds by continuous and posterior microextraction and identification by CG-MS. Then, four formulations of fermented beverages based on EHS were elaborated. They were performed as analyzes of pH, titratable acidity and microbial count) at different times (every 1 hour) during the 12-hour fermentation period and during the 28-day shelf life. A grumixama pulp is highlighted by its high fiber content and the characteristic acid content of fruits of the same genus. A pulp has average levels of total phenolic compounds ( $173.85 \pm 3.21$  mg / 100g of pulp) and antioxidant activity ( $844.86 \pm 2.03\mu\text{M}$  / 100 g of pulp). In an attempt to identify, 46 compounds were listed by the PS / MS, including flavonoids, phenolic compounds, carotenoids, sugars, catechins, quecetin derivatives and the SPME technique, using 19 volatile drugs used by the terpene class, which were used by various sensory characteristics of the fruits. As outstanding drinks, with a high protein content ranging from 2.70 to 4.80 g / 100 g of drink and proved to be a more acidic drink with an average of 0.68 g citric acid / 100g of drink and low pH from 3.82 to 3.98. Microbial viability, on the other hand, demonstrated satisfaction in maintaining the probiotic microorganism count from  $10^7$  to  $10^8$  CFU / mL after 28 days of storage.

It was possible to observe that the formulations were promising because the following measures were used for drinks and a combination of ingredients that was used for the growth and viability of probiotic microorganisms, thus bringing a functional functionality to the fermented drink.

**Keywords:** Phenolic compounds. Fermentation. Cell viability, Functional food.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.1</b> Efeitos relacionados ao consumo de probióticos .....	26
<b>Figura 1.2</b> Grumixameira .....	30
<b>Figura 1.3</b> Estrutura química das principais classes de flavonóides .....	33
<b>Figura 2.1</b> Exemplos de frutos e da polpa comercializada de Grumixama .....	50
<b>Figura 2.2</b> . Diagrama do processo de ionização por <i>paper spray</i> .....	54
<b>Figura 2.3</b> Representação de PS (+) – MS da polpa de Grumixama .....	60
<b>Figura 2.4</b> Representação de PS (-) – MS da polpa de Grumixama .....	61
<b>Figura 2.5</b> Cromatograma dos compostos voláteis da polpa de grumixama .....	65
<b>Figura 3.1</b> Fluxograma de processamento das bebidas fermentadas .....	82
<b>Figura 3.2</b> Curva de crescimento do <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5 .....	89
<b>Figura 3.3</b> Curva de pH .....	91
<b>Figura 3.4</b> Viabilidade celular microbiana durante o tempo de armazenamento .....	92
<b>Figura 3.5</b> pH das bebidas durante o tempo de armazenamento .....	94
<b>Figura 3.6</b> Acidez das bebidas durante o tempo de armazenamento .....	95
<b>Figura 3.7</b> Bebidas fermentadas durante o período de armazenamento .....	96

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 2.1</b> Curva Padrão de ácido gálico.....	52
<b>Tabela 2.2</b> Curva de calibração do trolox .....	53
<b>Tabela 2.3</b> Composição físico-química da polpa de Grumixama .....	57
<b>Tabela 2.4</b> Fenólicos totais e atividade antioxidante de Grumixama.....	59
<b>Tabela 2.5</b> Perfil químico da amostra de polpa por PS-MS no modo positivo..	63
<b>Tabela 2.6</b> Perfil químico da amostra de polpa por PS-MS no modo negativo.	64
<b>Tabela 2.7</b> Compostos orgânicos voláteis da polpa de grumixama .....	66
<b>Tabela 3.1</b> Composição físico-química das bebidas fermentadas. ....	87
<b>Tabela 3.2</b> Fenólicos totais e atividade antioxidante das bebidas.....	88
<b>Tabela 3.3</b> Parâmetro de crescimento do <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5 .....	90

## LISTA DE SIGLAS

ABTS - 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

AGE - Ácido gálico equivalente

ANOVA - Análise de Variância

AOAC - *Association of Official Analytical Chemists*

B. - *Bifidobacterium*

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CG-MS - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa

COVs - Compostos orgânicos voláteis

DESI-MS - Espectrometria de massa de ionização por eletropulverização por dessorção

EHS - Extrato hidrossolúvel de soja

ELDI - Ionização a laser assistida por eletropulverização

F1 – Formulação 1

F2 – Formulação 2

F3 – Formulação 3

F4 – Formulação 4

FOSHU - Foods for Specified Health Use

HP-SPME - Microextração em fase sólida no modo *headspace*

L. – *Lactobacillus*

LA-5 - *Lactobacillus acidophilus* linhagem LA5

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MRS - *Man, Rogosa and Sharpe*

*m/z* – Massa/carga

MS – Espectrometria de massas

NIST - *National Institute of Standards and Technology*

P.A – Padrão Analítico

PDMS/DVB - Polidimetilsiloxano / Divinilbenzeno

PS-MS - Espectrometria de massa por ionização ambiente em *paper-spray*

SWE - Water-soluble soy extract

TROLOX - 6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico

UFC - Unidade formadora de colônia

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

UNICAMP - Universidade de Campinas



## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	18
Introdução.....	18
Objetivos.....	19
1    CAPÍTULO I .....	21
1.1    Revisão Bibliográfica .....	21
1.1.1    Alimentos Funcionais.....	21
1.1.2    Bebida fermentada à base de extrato hidrossolúvel de soja (EHS) ....	22
1.1.3    Probióticos .....	25
1.1.4    Prebióticos .....	27
1.1.5 <i>Whey protein</i> .....	28
1.1.6    Grumixama .....	29
1.1.7    Compostos bioativos .....	31
1.2    Referências.....	34
2    CAPÍTULO II .....	46
2.1    Introdução.....	48
2.2    Material e Métodos .....	50
2.2.1    Material vegetal .....	50
2.2.2    Métodos .....	50
2.3    Resultados e discussão .....	55
2.3.1    Determinação da caracterização físico-química.....	55
2.3.2    Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante .....	58
2.3.3    Perfil químico .....	60
2.3.4    Compostos voláteis .....	65
2.4    Conclusão .....	67
2.5    Referências.....	67
3    CAPÍTULO III .....	76
3.1    Introdução.....	78
3.2    Material e Métodos .....	79
3.2.1    Material .....	79

3.2.2	Métodos .....	80
3.3	Resultados e discussão .....	85
3.3.1	Análise físico-química.....	85
3.3.2	Composição fenólica total e atividade antioxidante.....	87
3.3.3	Comportamento microbiano durante o processo fermentativo.....	88
3.3.4	Análise da viabilidade de <i>L. acidophilus</i> LA-5 durante a vida de prateleira .....	91
3.4	Conclusão .....	96
3.5	Referências.....	97
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....		103
Considerações finais .....		103
REFERÊNCIAS.....		105

## INTRODUÇÃO GERAL

### Introdução

O interesse por uma alimentação saudável e as evidências científicas de que os alimentos funcionais são benéficos para a saúde, tornam o consumo desses alimentos um dos caminhos a seguir para a melhoria da qualidade de vida (PINHEIRO; CERQUEIRA; VICENTE, 2013). Componentes encontrados em diversos alimentos consumidos *in natura* são ótimas fontes de substâncias com alegações funcionais (DA SILVA; ORLANDELLI, 2019).

A *Foods for Specified Health Use* (FOSHU) é um sistema que foi introduzido como regulador para aprovar declarações sobre os efeitos dos alimentos no corpo humano (SHIMIZU, 2019). Este sistema propôs como alimentos funcionais aqueles que possuíam efeito específico sobre a saúde devido à sua constituição química, sem risco higiênico ou à saúde do consumidor (MORAES; COLLA, 2006). Este conceito é relativamente antigo e bastante difundido. A partir dele surgiu uma definição básica de alimentos funcionais, aqueles que possuem efeito potencialmente positivo sobre a saúde além da nutrição básica (GUARRERA; SAVO, 2013). Nesse contexto, a população tem optado pela busca de alimentos com essas características, dentre eles pode-se citar o uso da soja e seus derivados, de prebióticos e suplementos alimentares como *whey protein* (proteínas do soro de leite).

O extrato hidrossolúvel de soja (EHS) é obtido por meio de extração aquosa de grãos de soja (*Glycine max*). Nele estão dispersos diversos nutrientes, entretanto seu consumo não é muito popular devido as suas características sensoriais pouco atrativas (VIEIRA, 2017). Como alternativa a isso têm sido realizados processos fermentativos para melhorar as características indesejáveis bem como adição de polpa de fruto e outros ingredientes (BATTISTINI, 2015; MARIN et al., 2014; SANTOS et al., 2017). Bactérias do gênero *Lactobacillus*, como o *Lactobacillus acidophilus* tem sido utilizados em diferentes processos fermentativos (ROLIM, 2015; VILLALVA et al., 2017). Esta espécie é um microrganismo probiótico, que presentes em quantidades adequadas tem a capacidade de promover benefícios à saúde (FIRMO; SOUSA; CAVALCANTI, 2019).

Afim de agregar valor nutricional a produtos alimentícios, estudos tem sido feitos com a adição de outros ingredientes ditos funcionais em sua formulação (BESSA; SILVA, 2018), como a inulina e o *whey protein*. A inulina é um prebiótico responsável por favorecer o crescimento de bactérias benéficas sobre as prejudiciais a saúde humana (RKADIBAGIL, 2019). Já o *whey protein*, é um produto proveniente de um grupo de proteínas presentes no soro do leite que possui características únicas tornando-o ideal na formulação de uma ampla variedade de produtos alimentícios (KILARA; VAGHELA, 2018). A busca por uma alimentação rica e de fácil acesso faz com que haja a necessidade do desenvolvimento de novos produtos.

A *Eugenia brasiliensis Lamarck*, comumente conhecido como "grumixama", é o fruto proveniente de uma árvore das florestas brasileiras costeiras (FISCHER et al., 2005) distribuídas nas regiões sul e sudeste do país (FLORES et al., 2012). Suas variedades são consideradas boas fontes de compostos bioativos, particularmente antocianinas, elagitaninas e carotenoides (DE ARAÚJO et al., 2019), e tem despertado interesse devido aos seus efeitos benéficos nutricionais e terapêuticos, pela ação antioxidante de seus compostos funcionais.

## **Objetivos**

### **Geral**

Produzir bebidas fermentadas com potencial probiótico à base de extrato hidrossolúvel de soja (EHS), adicionada de polpa de grumixama (*Eugenia Brasilienses*), de inulina e de *whey protein*.

### **Específicos**

- (i) Caracterizar a polpa do fruto em relação a parâmetros físico-químicos;
- (ii) Determinar os compostos fenólicos totais, avaliar a atividade antioxidante *in vitro* da polpa de grumixama;
- (iii) Análisar do perfil químico quanto aos compostos fixos do fruto;
- (iv) Avaliar o perfil de compostos orgânicos voláteis da polpa de grumixama

(vi) Desenvolver quatro formulações de bebida fermentada a base de EHS contendo cultura probiótica (*Lactobacillus acidophilus La-5*), polpa de grumixama, inulina e *whey protein*;

(vii) Determinar a curva de crescimento microbiana para a produção da bebida fermentada a base de EHS;

(viii) Caracterizar por meio de análises físico-químicas as bebidas fermentadas a base de EHS;

(ix) Avaliar o pH, acidez titulável e viabilidade microbiana durante a vida de prateleira da bebida fermentada a base de EHS

## 1 CAPÍTULO I

### 1.1 Revisão Bibliográfica

#### 1.1.1 Alimentos Funcionais

O comportamento dos consumidores em relação aos alimentos mudou, eles estão mais preocupados com a relação entre dieta e saúde (SHORI, 2016). As baixas incidências de doenças em alguns povos vêm chamando a atenção para as suas dietas as quais são baseadas no consumo de frutos, vegetais e leguminosas (MORAES, 2007). Alimentos de origem vegetal, são fontes de energia, proteína, vitaminas e minerais e a única ou principal fonte de vitamina C, fibras alimentares e compostos bioativos, dos quais o metabolismo humano também é dependente (BASTOS; ROGERO; ARÊAS, 2009), e trazem benefícios a saúde do indivíduo que os consome.

O termo “Alimentos Funcionais” surgiu inicialmente nos anos 80 no Japão, estando relacionado a àqueles alimentos os quais além de apresentarem valor nutritivo auxiliam, por meio de algumas substâncias presentes, em diversas funções específicas do corpo. Nesta mesma época a *Foods for Specified Health Use* (FOSHU) propôs como alimentos funcionais aqueles que possuíam efeito específico sobre a saúde devido a sua constituição química, sem risco higiênico ou a saúde do consumidor (MORAES; COLLA, 2006). Embora este conceito seja relativamente antigo ele ainda é bastante difundido e a partir dele surgiu uma definição básica a qual dita que alimentos funcionais são aqueles que possuem efeito potencialmente positivo sobre a saúde além da nutrição básica, auxiliando assim na promoção de melhores condições de saúde e minimizando o risco de doenças não transmissíveis. É fato que atualmente é de amplo conhecimento que um grande número e variedades de plantas (ervas, frutas, folhas e cascas) e suas preparações caseiras e industriais, têm sido usadas mundialmente para redução do risco de doenças, prevenção e tratamento de diversas complicações de saúde (GUARRERA; SAVO, 2013), muitas vezes evidenciados por meio de estudos científicos (BAO et al., 2016; CHEN et al., 2016b).

Nesse contexto, tem-se evidenciado cada vez mais a busca ou produção de alimentos funcionais, que são aqueles que apresentam em sua composição um ou mais componentes que oferecem benefícios fisiológicos e bioquímicos, e não somente nutricionais (OLIVEIRA et al., 2013). Estes produtos utilizam matéria prima capaz de

atribuir estas características ao produto final, como a soja e seus derivados, frutos ricos em compostos bioativos de interesse, o uso de prebióticos e suplementos alimentares como *whey protein*. Assim, tudo isso associado a processos fermentativos por microrganismos probióticos, vem apresentando destaque por conferir tais características.

### **1.1.2 Bebida fermentada à base de extrato hidrossolúvel de soja (EHS)**

A *Glycine max* (L.) Merrill, a soja, é um vegetal originário da Ásia, distribuído em todo o mundo e possui um papel econômico importante. Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) o Brasil irá ultrapassar os Estados Unidos nos próximos anos como o maior produtor mundial de soja de acordo com um relatório de perspectivas agrícolas para o período de 2017 a 2026 (FAO, 2017).

A soja é frequentemente usada para preparar alimentos devido ao seu elevado teor de proteínas e gorduras (MICHELS et al., 2016). Apesar de sua composição poder variar bastante dependendo da variedade e das condições de crescimento, o grão típico contém em média 38% de proteína, 19% de gordura, 23% de carboidratos, 11% de umidade, 17% de fibras alimentares e cerca de 5% de minerais (KAGAWA, 1995). Dentre os últimos, os principais são: potássio, cálcio, magnésio, fósforo, cobre e zinco. Em relação aos lipídeos, destacam-se os ácidos graxos da série ômega, ômega-3 (n-3) e ômega-6 (n-6), que possuem um papel importante pois auxiliam na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, inflamatórias e autoimunes (MICHELS et al., 2016). É também fonte de vitaminas do complexo B, como a riboflavina e a niacina (ALENCAR, 2016). Além da presença destes nutrientes, é relatada também a presença de fitoesteróis, relacionada aos benefícios à saúde humana, apresentando tanto ação preventiva quanto terapêutica (VIEIRA, 2017), minimizando o risco de algumas doenças crônicas não transmissíveis (BENJAMIM et al., 2019).

Os derivados da soja têm recebido muita atenção em pesquisas devido ao fato de serem fonte de fibras, principalmente oligossacarídeos com potencial prebiótico (rafinose e estaquiose), vitaminas e minerais e proteínas (FUCHS et al., 2005; HAULY; FUCHS; PRUDENCIO-FERREIRA, 2005). Além da presença de componentes

bioativos como isoflavonas (um dos principais compostos bioativos), fitoesteróis e esteróis (MICHELS et al., 2016). Vários derivados de soja já são conhecidos e disponíveis para a comercialização tais como o extrato, integral ou desengordurado, a proteína concentrada, a proteína isolada, a proteína texturizada, a farinha ou o grão *in natura* (desde que tenham sofrido tratamento térmico e as enzimas tenham sido inativadas) (BATTISTINI, 2015).

Diversos derivados da soja podem ser empregados em produtos alimentícios, destacando-se o extrato hidrossolúvel de soja (EHS) que consiste em um dos produtos mais conhecidos e difundidos (POLYCARPO et al., 2012). Possui qualidades como a presença de açúcares fermentescíveis (sacarose, frutose, glicose, galactose), que permitem utilizá-lo como base para obtenção de produtos fermentados e, com características de aparência e valor nutritivo semelhantes ao leite de vaca, além de ser de baixo custo e fácil obtenção (BERNAL, 2009). É um extrato rico em proteínas, ferro e niacina, que não apresenta lactose assim como colesterol e possui baixo teor de gordura e carboidratos (RODRÍGUEZ-ROQUE et al., 2013).

Por ser tratar de uma fonte proteica de alta qualidade, baixo custo e aliado ao seu apelo nutricional e funcional, o uso deste extrato possibilitou o desenvolvimento de diversos novos produtos a partir dos quais a indústria vem incorporando-os progressivamente como ingrediente na produção de alimentos de elevado valor nutricional, expandido o mercado e apresentando outras alternativas ao consumo de proteínas vegetais (COURI et al., 2006; GENOVESE; LAJOLO, 2001; VIEIRA, 2017). Entretanto, o consumo de soja e seus derivados na dieta ocidental ainda é baixo devido principalmente ao gosto residual deste grão decorrente de compostos voláteis liberados durante a desintegração do mesmo com água (BRANCO et al., 2007). Assim, o processo fermentativo do EHS permite melhorar essas características indesejáveis, uma vez que os produtos da fermentação mascaram o sabor desagradável da soja permitindo o desenvolvimento de produtos com melhores sabores (CHAMPAGNE et al., 2009; HOU; YU; CHOU, 2000; MORAES et al., 2006).

As bebidas fermentadas são amplamente aceitas em todo mundo, pois representam uma parcela importante dos produtos produzidos e consumidos (RAMÍREZ-GUZMÁN et al., 2019). A fermentação é um processo não térmico onde ocorrem alterações químicas causadas por enzimas produzidas a partir de microrganismos (bactérias ou leveduras) e é uma das técnicas mais antigas utilizada



para a conservação de alimentos (VAN BOEKEL et al., 2010). Uma diversidade de alimentos e bebidas fermentadas são obtidas a partir de substratos alimentares, tais como grãos de cereais, legumes e leguminosas, raízes e tubérculos, frutas, folhas vegetais, leite e produtos lácteos, carnes e frutos do mar, e todos alimentos que estão abundantemente disponível em diferentes partes do mundo todo (TAMANG; WATANABE; HOLZAPFEL, 2016).

O consumo das bebidas fermentadas está bastante relacionado a características sensoriais atraentes como as variedades de sabores produzidos, devido a fatores organolépticos, para os quais contribuem em grande parte aos compostos voláteis. Isso pode proporcionar variações entre as espécies, na maturidade das matérias-primas (frutas, caules ou grãos, crus ou cozidos) utilizadas e no metabolismo dos microrganismos (leveduras e bactérias) utilizados na fabricação da bebida específica (HUGENHOLTZ, 2013; RAMÍREZ-GUZMÁN et al., 2019). Desta forma, a produção de bebidas fermentadas a partir de extratos hidrossolúveis vegetais vem sendo estudada principalmente com a finalidade de substituição de produtos de bases lácteas (BAÚ; GARCIA; IDA, 2015; GRANATO; MASSON; RIBEIRO, 2012; VIEIRA et al., 2018; ZHAO; SHAH, 2014).

Estudos apontam que a não persistência da lactase, ou intolerância à lactose, está presente em 65% da população mundial (INGRAM et al., 2009; PEREIRA FILHO; FURLAN, 2004)., assim as bebidas fermentadas com EHS são uma alternativa aos intolerantes a lactose ou alérgicos a proteína do leite visando o aumento do valor nutricional da alimentação humana. Diversos estudos têm demonstrado o uso da soja e seu extrato hidrossolúvel como uma boa base de bebidas fermentadas contribuindo para o desenvolvimento dos microrganismos assim como a manutenção da viabilidade dos mesmos. Neste sentido, destacam-se os estudos sobre: desenvolvimento de alimento simbiótico fermentado de soja (BERNAL, 2009), 'íogurte de soja' (ESTEVES, 2011), produção de bebida fermentada à base de extrato hidrossolúvel de soja adicionada de polpa de macauba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.) (VIEIRA, 2017), bebida fermentada simbiótica a base de soja (BATTISTINI et al., 2018) e estudo do processo fermentativo de bebida de soja (*Glycine max*) adicionada de frutose e sucralose (VIEIRA et al., 2018).

O EHS é adequado para o crescimento de bactérias lácticas devido à presença de oligossacarídeos, aminoácidos e peptídeos (VIEIRA, 2017) e o emprego da

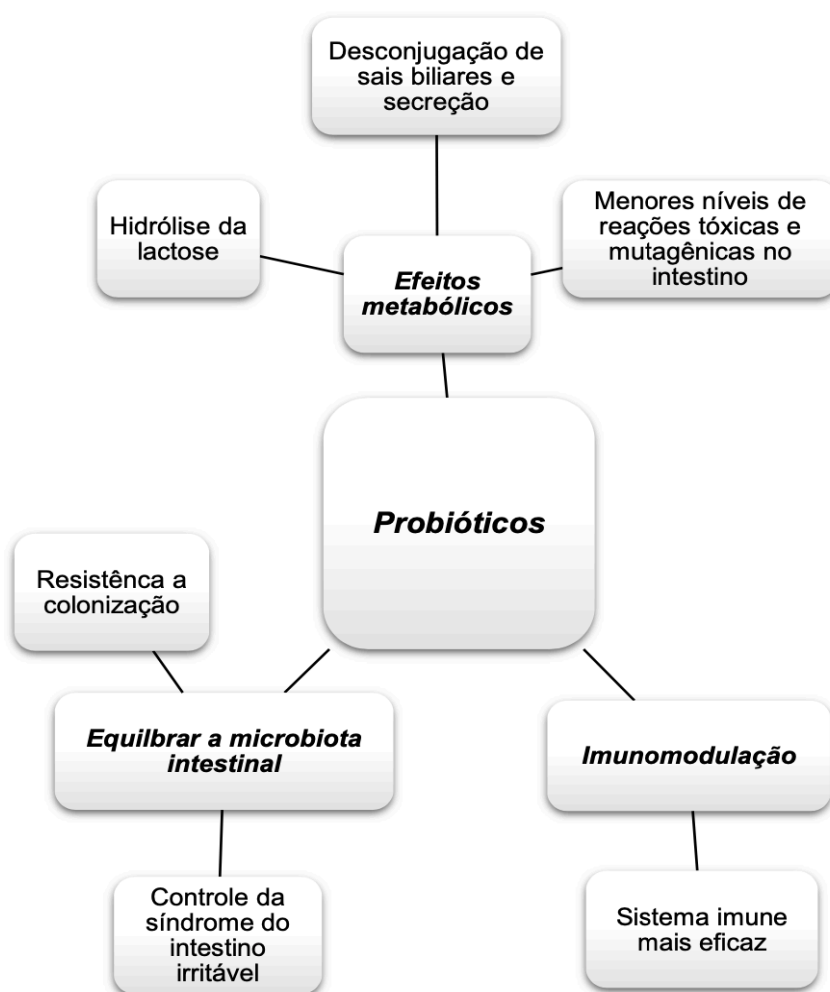
fermentação láctica, por ser uma técnica simples, de baixo custo e conhecida principalmente por melhorar as características sensoriais, nutricionais e funcionais dos alimentos, pode ser uma solução para aumentar o consumo do extrato de soja no Brasil (BATTISTINI, 2015; COURI et al., 2006).

Durante o processo de fermentação, os microrganismos ficam expostos aos substratos alimentares (NAJAFPOUR, 2006), o que leva à utilização dos nutrientes disponíveis nestes alimentos. Os nutrientes e compostos químicos orgânicos são utilizados como fontes de carbono, nitrogênio e energia, por meio de reações enzimáticas e bioquímicas, provocando mudanças desejáveis juntamente a produção de metabólitos que promovem benefícios funcionais (VAN BOEKEL et al., 2010). De forma benéfica, a fermentação microbiana contribui com o enriquecimento e a biodisponibilidade de nutrientes, auxiliam no desenvolvimento de sabor, aroma e textura atraentes, além de melhorar a digestibilidade de carboidratos e proteínas, bem como efeito conservante (BLANDINO et al., 2003; NOUT, 2009; VAN BOEKEL et al., 2010). Estes processos fermentativos são comumente realizados por meio da incorporação de culturas, geralmente bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, que além de fermentar as bebidas também agregam funcionalidade probiótica ao produto (BARCELOS et al., 2018).

### 1.1.3 Probióticos

Probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do indivíduo (SENGUPTA; PARAMASIVAN, 2019). As espécies pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são as mais usadas como probióticos. A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, algumas espécies como *E. Coli* (não patógenas) e espécies de *Bacillus* (*Bacillus clausii* e *Bacillus coagulans*) também podem ser utilizadas como agentes de fermentação de alimentos e, além disso, potencialmente transmitindo benefícios para a saúde (RKADIBAGIL, 2019). As espécies de maior interesse tem sido *Lactobacillus acidophillus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus murinus*, *Lactobacillus intestinalis*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plamtarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*,

*Bifidobacterium brevis* e *Bifidobacterium animalis* (BARRETO et al., 2003) e os efeitos benéficos relacionados a estas vão da melhoria da função intestinal ao suporte imunológico (LAWS; KEMP, 2019). Estes microrganismos estão correlacionados a diversos outros efeitos benéficos a saúde como a redução do colesterol, produção de vitaminas do complexo B, redução de patógenos intestinais, tratamento de diarreia, regulação da microbiota intestinal e aumento da biodisponibilidade de nutrientes (CUMMINGS, 2009; EVANGELISTA, 2011).



**Figura 1.1** Efeitos relacionados ao consumo de probióticos. Fonte: (VIEIRA, 2017).

O gênero *Lactobacillus* é um dos que consistem o grupo das bactérias do ácido láctico sendo caracterizadas como gram-positivo, incapazes de formar esporos, desprovido de flagelo, possuindo forma bacilar ou cocobacilar, podendo ser

aerotolerante, ou seja, suportam uma pequena quantidade de oxigênio ou a ausência de O<sub>2</sub> (STEFE; ALVES; RIBEIRO, 2008).

O *Lactobacillus acidophilus*, se destaca por desempenhar um papel importante na modulação da microbiota intestinal, supressão de bactérias nocivas, efeito hipocolesterolêmico e tolerância imunológica (XAVIER-SANTOS et al., 2019; ZHAO et al., 2015) e tem sido utilizado na fabricação de diversos produtos como iogurte, sorvete, queijo, mousses dentre outros. Possui crescimento ótimo em temperaturas de 37 a 41 °C. É homo fermentativo e algumas de suas linhagens podem melhorar o valor nutricional dos produtos aos quais foram adicionados devido a sua capacidade de sintetizar ácido fólico, niacina, riboflavina e vitamina K trazendo, também, benefícios à saúde os quais incluem a redução dos sintomas de intolerância a lactose, a inibição de microrganismos patogênicos e vírus, produção de vitaminas e a redução dos níveis de colesterol, (OLIVEIRA, 2007) modulação da microbiota intestinal, supressão de bactérias nocivas, efeito hipocolesterolêmico e tolerância imunológica (XAVIER-SANTOS et al., 2019; ZHAO et al., 2015). Além disso, o *L. acidophilus* possui a particularidade de tolerar valores mais baixos de pH e ser microaeróbio, apresentando crescimento em ambientes com pouca oxigenação, resultando em uma melhor resistência e facilidade de emprego durante a fabricação e armazenamento dos alimentos (SILVA, 2016).

Devido à recente tendência de produção e de produtos funcionais, associada a uma necessidade nutricional há uma forte tendência no desenvolvimento de produtos probióticos (BIGLIARDI; GALATI, 2013). Além disto outros ingredientes vêm sendo adicionados a bebidas fermentadas afim de agregar valor e ao mesmo tempo trazer benefícios a saúde, podendo ser citados neste contexto o uso de prebióticos, suplementos alimentares como *whey protein* e polpas de frutas (GUIMARÃES et al., 2018a; SANTOS et al., 2017).

#### 1.1.4 Prebióticos

Os prebióticos são substâncias alimentares, principalmente constituídas por polissacarídeos e oligossacarídeos de amido não digeridas completamente por enzimas humanas. Por este motivo, são capazes de nutrir um grupo selecionado de microrganismos que vivem no intestino, o que favorece o crescimento de bactérias

benéficas sobre as prejudiciais (RKADIBAGIL, 2019). A presença de ácidos graxos de cadeia curta sintetizados na microbiota intestinal permitem que os prebióticos tenham a capacidade de reduzir os níveis lipídicos na corrente sanguínea (SILVA et al., 2016). Além disso, os prebióticos são considerados ingredientes alimentares que estimulam seletivamente o crescimento e a atividade dos probióticos podendo também contribuir para a inibição de bactérias patogênicas, estimulação do sistema imunológico, prevenção do câncer de cólon, melhora da absorção de minerais e redução a incidência de doenças gastrointestinais (MIREMADI; SHERKAT; STOJANOVSKA, 2016; SILVA et al., 2016). Dentre os prebióticos comumente utilizados em formulações alimentares podemos citar a inulina.

A inulina, é um tipo linear de carboidratos polidisperso, sendo estes compostos essencialmente, se não exclusivamente, de ligações frutíl-frutose  $\beta$  (2  $\rightarrow$  1), ligações estas ocorridas entre um carbono anomérico de um monossacarídeo a qualquer monossacarídeo seguinte por meio de suas hidroxilas, com a saída de uma molécula de água (MAURO; ISHII; OLIVEIRA, 2018). Consiste de um ingrediente alimentar não digerível que pode ser usado em alimentos (GUIMARÃES et al., 2018b) como um substituto de gordura, e modificador de textura (ARCIA; COSTELL; TÁRREGA, 2011; DEBON et al., 2012; GUIMARÃES et al., 2018a), em especial devido à capacidade da inulina de formar géis (GUIMARÃES et al., 2018b). É também considerada funcional, pois possui características similares às fibras alimentares, interferindo beneficemente em vários processos fisiológicos e bioquímicos nos seres humanos, promovendo melhoria na saúde e redução no risco de muitas doenças (MAURO; ISHII; OLIVEIRA, 2018). Ela contribui assim, para a estabilidade dos produtos além das propriedades nutricionais e benefícios ao consumidor.

### **1.1.5 *Whey protein***

O *whey protein* ou proteínas de soro de leite, é um dos produtos do processamento de leite que podem ter várias aplicações nas indústrias de alimentos e saúde devido ao seu alto nutricional e propriedades específicas (KHAIRE; GOGATE, 2019). É composto por proteínas solúveis do leite sendo elas a  $\beta$ -lactoglobulina, a-lactalbumina, proteose peptona, albumina sérica e imunoglobulinas (GUO; WANG,

2019a). Elas são disponibilizadas comercialmente como ingrediente na forma de soro de leite em pó, concentrados de proteína de soro de leite e isolados de proteína de soro de leite que possuem características únicas que fazem destes o ingrediente ideal na formulação de uma ampla variedade de produtos alimentícios (KILARA; VAGHELA, 2018).

Estes compostos possuem um grande valor biológico na dieta humana fornecendo uma variedade de funcionalidades nos sistemas alimentares e quantidades consideráveis de aminoácidos essenciais para o crescimento (KHAIRE; GOGATE, 2019). Atualmente, o *whey protein* é muito utilizado como suplemento para nutrição esportiva. Ele fornece todos os nutrientes essenciais para aqueles que precisam substituir nutrição e energia. Também devido à sua alta qualidade, é amplamente utilizado no iogurte como espessante para melhorar a textura e diminuir a sinérese (GUO; WANG, 2019b). Sua utilização como substituinte do leite misturado com outros ingredientes também é ampla devido a aceitação pelos consumidores (GUIMARÃES et al., 2018b).

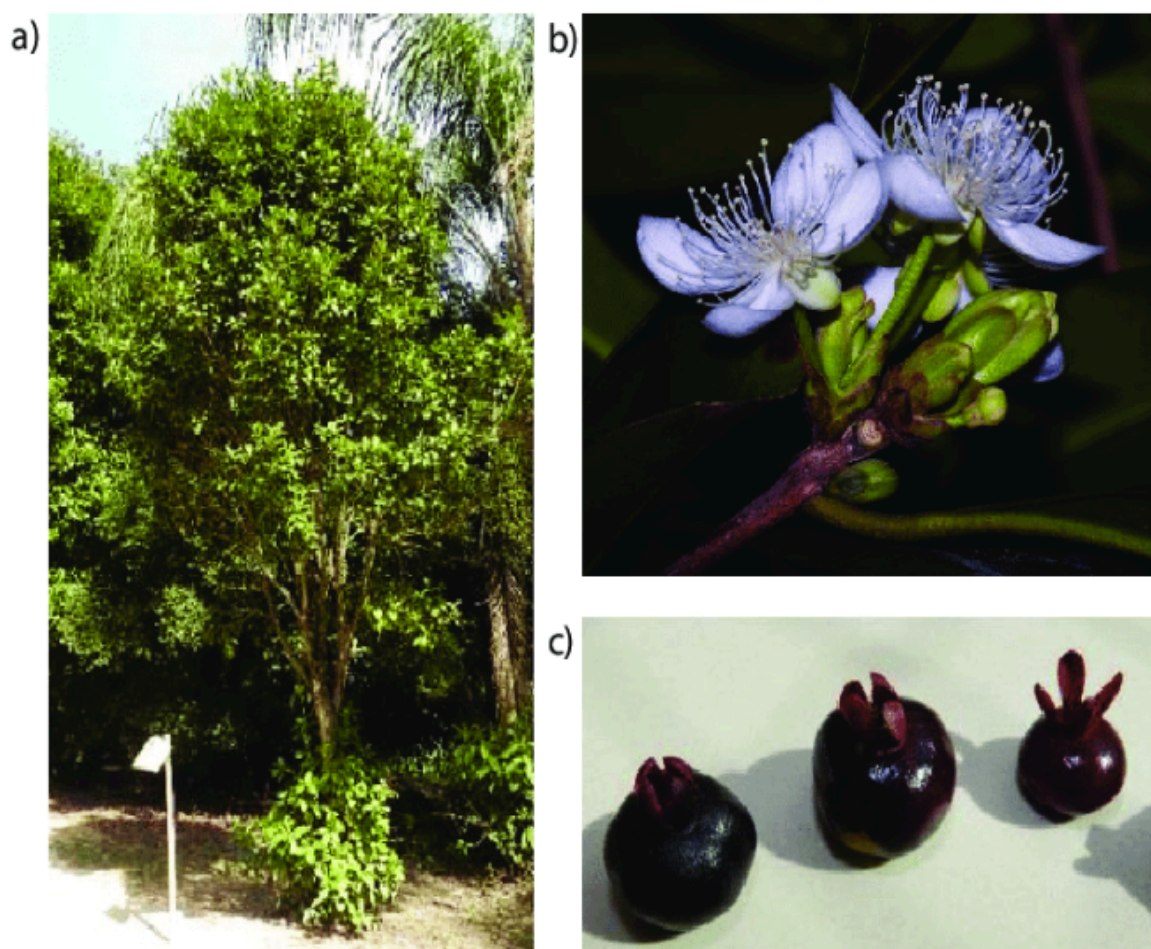
### 1.1.6 Grumixama

A família Myrtaceae é uma das mais características da flora brasileira, apresentando potencial e significativo interesse econômico para o Brasil (MORESCO, 2014). A Myrtaceae está entre as famílias com maior riqueza específica nas formações vegetais da costa oriental brasileira, especialmente na Mata Atlântica, sendo a identificação de suas espécies condição indispensável para a quantificação da biodiversidade desse ecossistema compreendendo cerca de 1.000 espécies no Brasil (MORAIS; LOMBARDI, 2006). Um extenso levantamento da flora brasileira que catalogou as espécies de plantas e fungos até 2016 aponta 795 espécies de Myrtaceae endêmicas do Brasil (SOBRAL et al., 2016). A família é reconhecida não apenas pela grande diversidade, mas também pela importância econômica uma vez que vários gêneros apresentam espécies com frutos comestíveis e comercializados como *Psidium* (goiabas), *Eugenia* (pitangas), *Plinia* (jabuticabas) e *Syzygium* (jambo e jmelão) (GIARETTA et al., 2016).

Dentre a família Myrtaceae, existem diversos gêneros, no qual se destaca *Eugenia* que representa um dos maiores da espécie. A *Eugenia brasiliensis* Lamarck,

comumente conhecido como "grumixama" ou cereja brasileira, é um fruto proveniente de uma árvore das florestas brasileiras costeiras (FISCHER et al., 2005) distribuídas nas regiões sul e sudeste do país (FLORES et al., 2012), englobando assim as regiões do Cerrado e Mata Atlântica, e floresce no final do mês de setembro até novembro, com amadurecimento dos frutos em novembro e dezembro (THITILERTDECHA; TEERAWUTGULRAG; RAKARIYATHAM, 2008).

A Grumixama tem seu nome derivado de a "guamicha" Tupi-Guarani", língua falada pelos indígenas que habitavam a costa brasileira, que significa "que deve pegar na língua" devido ao paladar bastante apreciável e adstringência (SCHAFFER, 2013). É um fruto muito semelhante a uma cereja (Figura 1.2), apresentando um diâmetro de aproximadamente 2.0 cm, apenas 1 semente, e uma casca grossa que pode ser roxa, vermelha ou amarela / branca dependendo da espécie / variedades (SILVA et al., 2014; TEIXEIRA et al., 2015).



**Figura 1.2** a) Grumixameira, árvore de Grumixama; b) Flores da Grumixameira; c) Frutos de Grumixama. Fonte: (NASCIMENTO et al., 2017a).

A distinção entre as três variedades de grumixama já identificadas, é feita de acordo com as cores dos frutos na existe distinção através da regulação bioquímica. A variedade roxa está presente uma via bioquímica que leva ao acúmulo de antocianidinas, notado pela cor roxo escuro do fruto, e na amarela, esses metabolitos não estão aparentemente presentes (MORENO et al., 2007). As características físico-químicas da grumixama são bastante variáveis. No geral foram encontrados na literatura que estudos que relataram que as polpas de *E. brasiliensis* possuem pH médio de 4,34, acidez total de 0,18 (g NaOH), 4,5° Brix, umidade de 91,05%, 0,34% de cinzas, 0,08% de lipídios, 0,41% proteínas e 2,56% de fibras totais (MEDEIROS; SABAA-SRUR; BARBOSA, 2015; TEIXEIRA et al., 2015; ZOLA et al., 2019).

Os efeitos benéficos do uso da grumixama e suas partes, polpa, cascas e folhas) são encontrados na literatura. As folhas, frutas e madeira de casca da grumixameira são adstringentes, diuréticas e usadas tradicionalmente como tratamento para o reumatismo (REVILLA, 2002). Pietrovski et al. (2008) relataram a inibição do edema da orelha do camundongo ao aplicarem, o extrato hidroalcoólico, frações e compostos isolados de *E. brasiliensis* comparando-se à aplicação tópica de óleo de cróton. Rodrigues et al. (2016) obtiveram resultados a partir do extrato do fruto que revelaram uma atividade positiva de detecção de *quorum-sensing*, que inibem as características de deterioração e virulência em bactérias transmitidas por alimentos. Em geral, as diversas variedades de *E. brasiliensis* são consideradas boas fontes de compostos bioativos, particularmente compostos fenólicos (antocianinas e elagitaninas) e carotenoides (DE ARAÚJO et al., 2019). Atividade anti-inflamatória, efeito anti-edematogênico, atividade antibiofilme contra patógenos importantes e baixa toxicidade *in vitro* e *in vivo* também foram relatadas associadas à presença de compostos polifenólicos presentes no suco de grumixama (TEIXEIRA et al., 2017).

### 1.1.7 Compostos bioativos

Os compostos bioativos são constituintes não nutricionais, que podem apresentar uma atividade antioxidante, capaz de impedir a formação de radicais livres ou até mesmo retardando o processo de oxidação que ocorre em plantas e seres vivos (COSTA-SINGHI; BITENCOURTII; JORGEI, 2012). São compostos naturalmente presentes em diversas frutas e hortaliças e a sua ingestão promove diversos



benefícios à saúde humana (ACHKAR et al., 2013; LOCATELI; KOEHLEI, 2015), prevenindo, o surgimento de várias doenças crônicas e degenerativas, como câncer, diabetes, hipertensão, mal de Alzheimer e doenças cardiovasculares (ALVAREZ-SUAREZ et al., 2010; ANGELO; JORGE, 2007; SILVA et al., 2013).

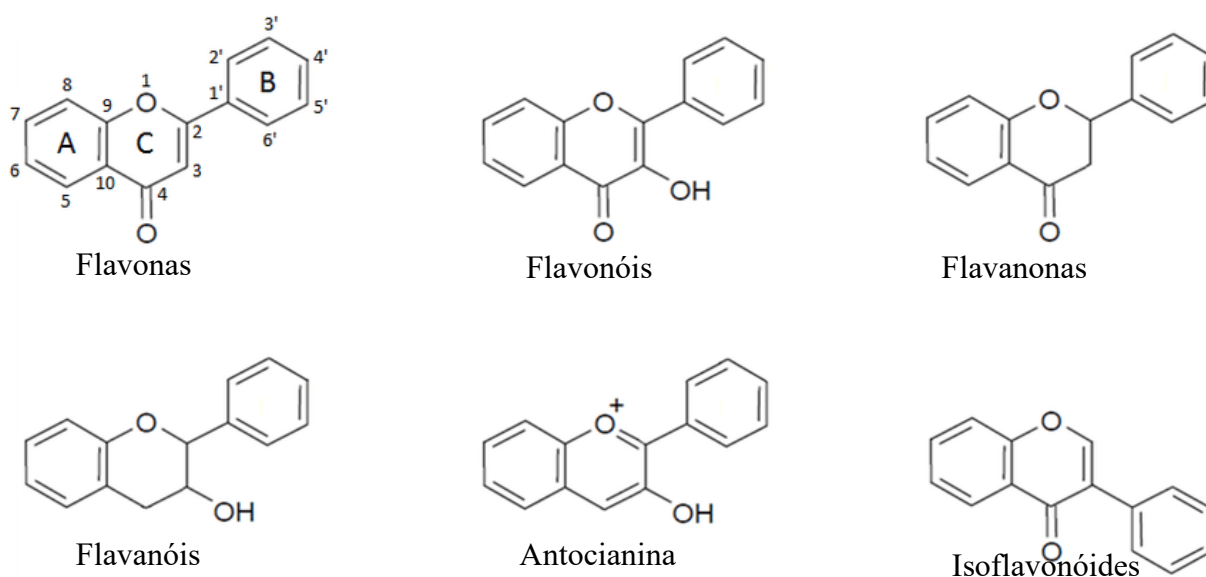
Frutas, vegetais e ervas medicinais, são conhecidas por possuírem uma variedade de propriedades e efeitos antioxidantes (KÄHKÖNEN et al., 1999; ZHENG; WANG, 2001). As frutas cítricas, como limão, laranja e tangerina são as principais fontes de compostos fenólicos. Outras frutas como a cereja, uva, ameixa, pêra, maçã e mamão, também são apontadas como fonte destes compostos sendo encontrados em maiores concentrações na polpa *in natura* quando comparado ao suco da fruta. Assim como as hortaliças pimenta-verde, brócolis, repolho roxo, cebola, alho e tomate também são excelentes fontes destas substâncias (PIMENTEL, C.V.M.B., FRANCKI, V.M., GOLLUCKE, 2005). Estes compostos ocorrem naturalmente também em diversas bebidas à base de frutas, podendo afetar de forma positiva ou negativa as características sensoriais dos alimentos, como cor, sabor e adstringência (JORDÃO, 2018).

A ação dos compostos fenólicos no organismo humano é efetuada por intermédio da atividade antioxidante e protetora de órgãos vitais (incluindo o sistema cardiovascular), modulando enzimas de detoxificação (como a peroxidase), reduzindo a agregação plaquetária e a prevalência de aterosclerose, alterando o metabolismo das frações do colesterol e na redução da pressão sanguínea (VIDAL et al., 2012). São definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (LEE et al., 2005), e englobam desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização (ANGELO; JORGE, 2007). Quando ingeridos por meio dos alimentos, já no organismo humano, são transformados em ácidos fenólicos ou estruturas de lactona pela microbiota intestinal, os quais produzem metabólitos com propriedades biológicas e atividade antioxidante (JORDÃO, 2018).

O efeito antioxidante dos compostos fenólicos é principalmente devido às suas propriedades redox e é o resultado de vários mecanismos possíveis: atividade sequestradora de radicais livres, atividade quelante de metais de transição e / ou capacidade de extinção de oxigênio singlete (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1997; SHAN et al., 2005).

Os fenólicos também são conhecidos por desempenhar um papel importante na estabilização da peroxidação lipídica e inibir vários tipos de enzimas oxidantes (COS et al., 1998; LAUGHTON et al., 1991). Os múltiplos mecanismos potenciais de ação antioxidante tornam o grupo diversificado de compostos fenólicos, um alvo interessante na busca de fitoquímicos benéficos à saúde e também oferecem a possibilidade de utilizar esses compostos ou extratos em alimentos ricos em lipídios para prolongar a vida de prateleira (YANISHLIEVA; MARINOVA, 2001). Estes constituintes podem, além de exercer atividade antioxidante, desenvolver atividade antiproliferativa e antimicrobiana, tendo a última sido atribuída ao seu uso na indústria de alimentos desempenhando importante papel no aumento da vida de prateleira dos alimentos (DUNG; KIM; KANG, 2008; THITILERTDECHA; TEERAWUTGULRAG; RAKARIYATHAM, 2008). Existem cerca de cinco mil fenóis, dentre eles, destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (SHAHIDI; NACZK, 1995).

Os flavonoides (Figura 1.3) possuem uma estrutura básica formada por C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Neste grupo encontram-se as antocianidinas, flavonas, flavonóis com menor frequência, isoflavonas, flavanas, flavanóis, dependendo do lugar, número e combinação dos grupamentos participantes da molécula (PINELA, 2012; SOARES, 2002).



**Figura 1.3** Estrutura química das principais classes de flavonóides. Fonte: Adaptado de (PINELA, 2012).

Outro composto que merece destaque são as antocianinas que também pertencem à classe dos compostos fenólicos (GRUZ et al., 2013). Dentre as variedades da grumixama, a roxa se destaca devido a sua coloração característica que indica a presença de pigmentos antocianínicos, o que ocorre com outros frutos da mesma família, como o jamelão (BANERJEE; DASGUPTA; BRATATI, 2005). Os pigmentos são compostos naturais que também têm despertado interesse por apresentarem efeitos nutricionais e terapêuticos, devido a sua ação antioxidante assim como a redução de radicais livres (OLIVEIRA et al., 2017). Possuem ação que pode prevenir ou combater diversas patologias, como câncer e aterosclerose e isso têm levado a crescente busca por fontes ainda não exploradas que possam atuar como antioxidantes, reduzindo dessa forma o desequilíbrio entre o sistema de defesa antioxidativo do organismo humano e os radicais livres (BOBBIO; SCAMPARINI, 1982; PIMENTEL, C.V.M.B., FRANCKI, V.M., GOLLUCKE, 2005). Nas plantas observa-se que os compostos contribuem para proteger contra o estresse biótico e minimizar o dano ultravioleta nos tecidos vegetais (REYNERTSON et al., 2008).

Diferentes compostos fenólicos, são responsáveis pelas características físico-químicas, sensoriais e nutricionais de frutos, bebidas e alimentos nos quais estão presentes, no entanto, a composição fenólica depende de vários fatores, como a forma de cultivar dos frutos, nível de maturidade de frutos, ambiente, práticas culturais, condições pós-colheita, técnicas de processamento e preservação (JORDÃO, 2018).

## 1.2 Referências

ACHKAR, M. T. et al. Propriedade antioxidante de compostos fenólicos: importância na dieta e na conservação de alimentos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 11, n. 2, p. 398–406, dez. 2013.

ALENCAR, E. R. DE. **Fabricação de bebidas fermentadas a partir de extrato hidrossolúvel de soja (*Glycine max*) e de castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*)**. [s.l.] Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Agronomia)—Universidade de Brasília, 2016.

ALVAREZ-SUAREZ, J. M. et al. Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 8–9, p. 2490–2499, ago. 2010.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Phenolic compounds in foods – A brief review. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.

ARCIA, P. L.; COSTELL, E.; TÁRREGA, A. Inulin blend as prebiotic and fat replacer in dairy desserts: Optimization by response surface methodology. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 5, p. 2192–2200, maio 2011.

BANERJEE, A.; DASGUPTA, N.; BRATATI, D. In vitro study of antioxidant activity of Syzygium cumini fruit. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 727–733, 2005.

BAO, L. et al. Hypolipidemic effects of flavonoids extracted from Lomatogonium rotatum. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 11, p. 1417–1424, 2016.

BARCELOS, S. C. DE et al. Viability of commercial and autochthonous strain of Lactobacillus rhamnosus in caprine milk drink with potentially probiotic grape juice. **Arquivos Brasileiros de Alimentação**, v. 3, n. 1, 2018.

BARRETO, G. P. DE M. et al. Quantificação de lactobacillus acidophilus, bifidobactérias e bacterias totais em produtos probioticos comercializados no brasil. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, p. 119–126, 2003.

BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 646–656, jul. 2009.

BATTISTINI, C. **Utilização de soja verde para a obtenção de bebida fermentada simbiótica**. [s.l.] (Dissertação de Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, SP, 2015.

BATTISTINI, C. et al. Development and characterization of an innovative synbiotic fermented beverage based on vegetable soybean. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 2, p. 303–309, abr. 2018.

BAÚ, T. R.; GARCIA, S.; IDA, E. I. Changes in soymilk during fermentation with kefir culture: oligosaccharides hydrolysis and isoflavone aglycone production. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 66, n. 8, p. 845–850, 17 nov. 2015.

BENJAMIM, C. J. R. et al. O consumo de ômega 3 e 6 e a sua relação com doenças crônicas não transmissíveis. **Revista E-Ciência**, v. 6, n. 2, 25 jan. 2019.

BERNAL, O. L. M. **Desenvolvimento de alimento simbiótico fermentado de soja**. [s.l.] (Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas)., 2009.

BIGLIARDI, B.; GALATI, F. Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 31, n. 2, p. 118–129, jun. 2013.

BLANDINO, A. et al. Cereal-based fermented foods and beverages. **Food Research International**, v. 36, n. 6, p. 527–543, jan. 2003.

BOBBIO, F.; SCAMPARINI, A. Carbohydrates, organic-acids and anthocyanin of Eugenia-Jambolana Lamarck. **Industrie Alimentari, Pinerolo**, v. 21, n. 4, p. 296–298, 1982.

BRANCO, I. G. et al. Avaliação da aceitabilidade sensorial de uma bebida à base de extrato hidrossolúvel de soja, polpa de morango e sacarose. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 9, n. 129–141, 2007.

CHAMPAGNE, C. P. et al. Selection of probiotic bacteria for the fermentation of a soy beverage in combination with *Streptococcus thermophilus*. **Food Research International**, v. 42, n. 5–6, p. 612–621, jun. 2009.

CHEN, W.-M. et al. Hepatoprotective effect of resveratrol against ethanol-induced oxidative stress through induction of superoxide dismutase in vivo and in vitro. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 11, p. 1231–1238, 2016.

COS, P. et al. Structure–Activity Relationship and Classification of Flavonoids as Inhibitors of Xanthine Oxidase and Superoxide Scavengers. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 1, p. 71–76, jan. 1998.

COSTA-SINGHI, T.; BITENCOURTII, T. B.; JORGEI, N. Physical-chemical characterization of bioactive compounds of the oil from cutia nut (*Couepia edulis*). **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 61–68, 2012.

COURI, S. et al. **Bebida Fermentada de Soja**. Brasília: [s.n.] 2006.

CUMMINGS, J. H. Probiotics: better health from ‘good’ bacteria? **Nutrition Bulletin**, v. 34, n. 2, p. 198–202, jun. 2009.

DE ARAÚJO, F. F. et al. Wild Brazilian species of *Eugenia* genera (Myrtaceae) as an innovation hotspot for food and pharmacological purposes. **Food Research International**, v. 121, p. 57–72, jul. 2019.

DEBON, J. et al. Storage stability of prebiotic fermented milk obtained from permeate resulting of the microfiltration process. **LWT - Food Science and Technology**, v. 47, n. 1, p. 96–102, jun. 2012.

DUNG, N. T.; KIM, J. M.; KANG, S. C. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 12, p. 3632–3639, dez. 2008.

ESTEVEZ, T. C. F. **Desenvolvimento de alimento de soja tipo “iogurte”**: **avaliação da estabilidade física**. [s.l.] (Dissertação de Mestrado em Ciências, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ), 2011.

EVANGELISTA, S. R. **Estudo da fermentação e vida-de- prateleira de bebida simbiótica fermentada a base de soja**. [s.l.] Dissertação mestrado - Universidade Estadual de Campinas, 2011.

FAO, O. DAS N. U. PARA A A. E A A. **Perspectivas Agrícolas OCDE-FAO: Brasil vai ultrapassar os Estados Unidos como o maior produtor de soja até 2026**. Disponível em: <<http://www.fao.org/americas/noticias/ver/pt/c/992188/>>.2017.

FISCHER, D. C. H. et al. Essential oils from leaves of two *Eugenia brasiliensis* specimens from southeastern Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 17, n. 5, p. 499–500, 2005.

FLORES, G. et al. Anthocyanins from *Eugenia brasiliensis* edible fruits as potential therapeutics for COPD treatment. **Food Chemistry**, v. 134, n. 3, p. 1256–1262, out. 2012.

FUCHS, R. H. B. et al. “iogurte” de soja suplementado com oligofrutose e inulina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 175–181, mar. 2005.

GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Determinação de isoflavonas em derivados de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 86–93, jan. 2001.

GIARETTA, A. et al. Diversidade de Myrtaceae na reserva natural vale. In: EDITORA, R. (Ed.). **Floresta Atlântica de Tabuleiro: diversidade e endemismos na Reserva Natural Vale**. Belo Horizonte: [s.n.]. p. 496 0.2016.

GRANATO, D.; MASSON, M. L.; RIBEIRO, J. C. B. Sensory acceptability and physical stability evaluation of a prebiotic soy-based dessert developed with passion fruit juice. **Food Science and Technology**, v. 32, n. 1, p. 119–126, 24 jan. 2012.

GRUZ, A. P. G. et al. Recuperação de compostos bioativos a partir do bagaço de uva. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 1147–1157, dez. 2013.

GUARRERA, P. M.; SAVO, V. Perceived health properties of wild and cultivated food plants in local and popular traditions of Italy: A review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 146, n. 3, p. 659–680, abr. 2013.

GUIMARÃES, J. T. et al. Manufacturing a prebiotic whey beverage exploring the influence of degree of inulin polymerization. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 787–795, abr. 2018a.

GUIMARÃES, J. T. et al. Physicochemical changes and microbial inactivation after high-intensity ultrasound processing of prebiotic whey beverage applying different ultrasonic power levels. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 44, p. 251–260, jun. 2018b.

GUO, M.; WANG, C. Chemistry of Whey Proteins. In: **Whey Protein Production, Chemistry, Functionality, and Applications**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2019a. p. 39–65.

GUO, M.; WANG, G. Nutritional Applications of Whey Protein. In: **Whey Protein Production, Chemistry, Functionality, and Applications**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2019b. p. 141–156.

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

HOU, J.-W.; YU, R.-C.; CHOU, C.-C. Changes in some components of soymilk during fermentation with bifidobacteria. **Food Research International**, v. 33, n. 5, p. 393–397, jun. 2000.

HUGENHOLTZ, J. Traditional biotechnology for new foods and beverages. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 24, n. 2, p. 155–159, abr. 2013.

INGRAM, C. J. E. et al. Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence. **Human Genetics**, v. 124, n. 6, p. 579–591, 26 jan. 2009.

JORDÃO, A. Phenolic Compounds in Fruit Beverages. **Beverages**, v. 4, n. 2, p. 35, 1 maio 2018.

KAGAWA, A. **Standard table of food composition in Japan**. Tokyo: University of Nutrition for Women, 1995.

KÄHKÖNEN, M. P. et al. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 10, p. 3954–3962, out. 1999.

KHAIRE, R. A.; GOGATE, P. R. Whey Proteins. In: **Proteins: Sustainable Source, Processing and Applications**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 193–223.

KILARA, A.; VAGHELA, M. N. Whey proteins. In: **Proteins in Food Processing**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 93–126.

LAUGHTON, M. J. et al. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclooxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. **Biochemical Pharmacology**, v. 42, n. 9, p. 1673–1681, out. 1991.

LAWS, G.; KEMP, R. Probiotics and health: understanding probiotic trials. **The New Zealand medical journal**, v. 132, n. 1498, p. 90–96, 2019.

LEE, S. J. et al. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 131–7, 2005.

LOCATELI, G.; KOEHLEI, E. A. Ingestão Dietética de Fenólicos e Subclasses por Adultos Brasileiros e a Importância do Consumo de Frutas e Hortaliças. **Anais do SEPE-Seminário de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFFS**, v. 5, n. 1, 2015.



MAURO, M. DE O.; ISHII, P. L.; OLIVEIRA, R. J. O alimento funcional inulina e suas atividades biológicas. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v. 26, n. 51, p. 53–62, 2018.

MEDEIROS, A. T.; SABAA-SRUR, A. U. DE O.; BARBOSA, N. Determinação física e química da polpa de grumixama (*Eugenia brasiliensis*, Lam). **Journal of Fruits and Vegetables**, v. 1, n. 1, p. 67–70, 2015.

MICHELS, R. N. et al. Effects of Different Numbers of Fungicide Application on the Proximate Composition of Soybean. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2016.

MIREMADI, F.; SHERKAT, F.; STOJANOVSKA, L. Hypocholesterolaemic effect and anti-hypertensive properties of probiotics and prebiotics: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 25, p. 497–510, ago. 2016.

MORAES, R. M. DE et al. Efeito da desodorização nas características sensoriais de extratos hidrossolúveis de soja obtidos por diferentes processos tecnológicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 46–51, mar. 2006.

MORAES, F. P. Alimentos funcionais e nutraceuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109–122, 23 out. 2007.

MORAES, F. P.; COLLA, L. Functional foods and nutraceuticals: definition, legislation and health benefits. **Revista Eletronica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109–122, 2006.

MORAIS, P. O.; LOMBARDI, J. A. A família Myrtaceae na reserva particular do patrimônio natural da Serra do Caraça, Catas Altas, Minas Gerais, Brasil. **Lundiana**, v. 7, n. 1, p. 3–32, 2006.

MORENO, P. R. H. et al. Essential oil composition of fruit colour varieties of *Eugenia brasiliensis* Lam. **Scientia Agricola**, v. 64, n. 4, p. 428–432, ago. 2007.

MORESCO, H. H. **Estudo fitoquímico e biológico de quatro espécies da família Myrtaceae**. [s.l.] Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2014.

NAJAFPOUR, G. **Biochemical Engineering and Biotechnology**. [s.l.: s.n.].2006.

NASCIMENTO, L. et al. Characterization of Bioactive Compounds in *Eugenia brasiliensis*, Lam. (Grumixama). **Nutrition and Food Technology: Open Access**, v. 3, n. 3, 2017.

NOUT, M. J. R. Rich nutrition from the poorest – Cereal fermentations in Africa and Asia. **Food Microbiology**, v. 26, n. 7, p. 685–692, out. 2009.

OLIVEIRA, A. C. **Viabilidade de “Lactobacillus acidophilus e Bifidobacterium lactis”, microencapsulados por coacervação, seguida de secagem por “spray drying” e leite de jorro**. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, 15 fev. 2007.

OLIVEIRA, É. R. DE et al. Study of jambolan pulp bioactive compounds. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 3, p. 54–49, 2017.

PEREIRA FILHO, D.; FURLAN, S. A. Prevalência de intolerância à lactose em função da faixa etária e do sexo: experiência do laboratório Dona Francisca, Joinville (SC). **Revista Saúde e Ambiente/Health and Environment Journal**, v. 5, n. 1, p. 24–30, 2004.

PIETROVSKI, E. F. et al. Topical anti-inflammatory activity of *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) leaves. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 60, n. 4, p. 479–487, abr. 2008.

PIMENTEL, C. V. M. B.; FRANCKI, V. M.; GOLLUCKE, A. P. . **Alimentos funcionais: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos**. [s.l: s.n.].2005.

PINELA, J. **Efeito do processo de secagem no potencial antioxidante e na composição fitoquímica de plantas medicinais da família Fabaceae**. [s.l: s.n.].2012.

POLYCARPO, G. DO V. et al. Enriquecimento da dieta do bicho-da-seda com extrato hidrossolúvel de soja. **Ciência Rural**, v. 42, n. 9, p. 1669–1674, set. 2012.

RAMÍREZ-GUZMÁN, K. N. et al. Traditional Fermented Beverages in Mexico. In: **Fermented Beverages**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 605–635.

REVILLA, J. **Plantas úteis da Bacia Amazônica**. Manaus: [s.n.].2002.

REYNERTSON, K. A. et al. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 883–890, ago. 2008.

RICE-EVANS, C.; MILLER, N.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, v. 2, n. 4, p. 152–159, abr. 1997.

RKADIBAGIL, V. Prebiotics and probiotics in Ayurveda. **International Journal of Advanced Research**, v. 7, n. 4, p. 833–836, 30 abr. 2019.

RODRIGUES, A. C. et al. Anti-quorum sensing activity of phenolic extract from *Eugenia brasiliensis* (Brazilian cherry). **Food Science and Technology**, v. 36, n. 2, p. 337–343, 29 abr. 2016.

RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J. et al. Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 136, n. 1, p. 206–212, jan. 2013.

SANTOS, P. A. DOS et al. Bebida fermentada a base de soja com sabor de ameixa e suplementada com inulina em substituição ao iogurte tradicional. **Veterinária e Zootecnia**, v. 24, n. 4, p. 724–733, 2017.

SCHAFFER, C. C. **Grumixama, a surpresa de natal da mata atlântica.**

SENGUPTA, K.; PARAMASIVAN, P. Probiotics and Biofilms. In: **Biofilms in Human Diseases: Treatment and Control**. Cham: Springer International Publishing, 2019. p. 263–271.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. **Lancaster: Technomic Publishing Co**, p. 235–273, 1995.

SHAN, B. et al. Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of Their Phenolic Constituents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 20, p. 7749–7759, out. 2005.

SHORI, A. B. Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. **Food Bioscience**, v. 13, p. 1–8, mar. 2016.

SILVA, A. C. C. et al. Alimentos contendo ingredientes funcionais em sua formulação: revisão de artigos publicados em revistas brasileiras. **Conexão Ciência (Online)**, v. 11, n. 2, p. 133–144, 7 dez. 2016.

SILVA, N. A. DA et al. Phenolic Compounds and Carotenoids from Four Fruits Native from the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 22, p. 5072–5084, 4 jun. 2014.

SILVA, T. M. DA. **Microencapsulação de Bifidobacterium lactis e Lactobacillus acidophilus por coacervação complexa: estudo da produção, caracterização e viabilidade**. [s.l.] (Dissertação de Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, 2016.

SILVA, T. M. S. et al. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, n. 1, p. 10–18, fev. 2013.

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

SOBRAL, M. et al. **Myrtaceae: lista de espécies da Flora do Brasil**. 2016.

STEFE, C. A.; ALVES, M. A. R.; RIBEIRO, R. L. Probióticos, prebióticos e simbióticos – Artigo de Revisão. **Saúde e Ambiente em Revista**, v. 3, n. 1, p. 16–33, 2008.

TAMANG, J. P.; WATANABE, K.; HOLZAPFEL, W. H. Review: Diversity of Microorganisms in Global Fermented Foods and Beverages. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 24 mar. 2016.

TEIXEIRA, L. DE L. et al. Identification of Ellagitannins and Flavonoids from *Eugenia brasiliensis* Lam. (Grumixama) by HPLC-ESI-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 22, p. 5417–5427, 10 jun. 2015.

TEIXEIRA, L. L. et al. Potential antiproliferative activity of polyphenol metabolites against human breast cancer cells and their urine excretion pattern in healthy subjects following acute intake of a polyphenol-rich juice of grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam.). **Food & Function**, v. 8, n. 6, p. 2266–2274, 2017.

THITILERTDECHA, N.; TEERAWUTGULRAG, A.; RAKARIYATHAM, N. Antioxidant and antibacterial activities of *Nephelium lappaceum* L. extracts. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 10, p. 2029–2035, dez. 2008.

VAN BOEKEL, M. et al. A review on the beneficial aspects of food processing. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 54, n. 9, p. 1215–1247, set. 2010.

VIDAL, A. M. et al. A ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para a diminuição da incidência de doenças. **Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n. 15, p. 43–52, 2012.

VIEIRA, J. P. et al. Estudo do processo fermentativo de bebida de soja (*Glycine max*) adicionada de frutose e sucralose. **Revista Eixo**, v. 7, n. 17–25, 2018.

VIEIRA, M. C. **Produção de bebida fermentada à base de extrato hidrossolúvel de soja adicionada de polpa de macauba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.) utilizando cultura láctea tradicional do iogurte e linhagem probiótica.** [s.l.] (Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2017.

XAVIER-SANTOS, D. et al. *L. acidophilus* La-5, fructo-oligosaccharides and inulin may improve sensory acceptance and texture profile of a synbiotic diet mousse. **LWT**, v. 105, p. 329–335, maio 2019.

YANISHLIEVA, N. V.; MARINOVA, E. M. Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 103, n. 11, p. 752–767, nov. 2001.

ZHAO, D.; SHAH, N. P. Changes in antioxidant capacity, isoflavone profile, phenolic and vitamin contents in soymilk during extended fermentation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 2, p. 454–462, out. 2014.

ZHAO, Y. et al. Construction and immunogenicity of the recombinant *Lactobacillus acidophilus* pMG36e-E0-LA-5 of bovine viral diarrhea virus. **Journal of Virological Methods**, v. 225, p. 70–75, dez. 2015.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5165–5170, nov. 2001.

ZOLA, F. G. et al. Mineral and centesimal contents, antioxidant activity and antimicrobial action of phenolic compounds from *Eugenia Brasiliensis* Lam. Pulp. **Food Science and Technology**, 18 abr. 2019.

## 2 CAPÍTULO II

### **Caracterização físico-química e de compostos fixos e voláteis de polpa de *Eugenia brasiliensis* (Grumixama)**

#### **Resumo**

A *Eugenia brasiliensis* conhecida como grumixama é um fruto nativo da biodiversidade brasileira e possui características de interesse como a presença de compostos bioativos. O presente estudo teve como objetivo caracterizar por meio de análises físico-químicas a polpa de grumixama, assim como avaliar o potencial antioxidante e traçar o perfil químico e de compostos orgânicos voláteis deste fruto. Para isto foram realizadas análises de acidez titulável, pH, umidade, proteínas, cinzas, fibras, açúcares totais e lipídeos. A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada pelo método do *Folin-Ciocalteu* e a atividade antioxidante utilizou teste com o radical ABTS. A caracterização do perfil químico consistiu na obtenção de *fingerprints* empregando-se o *paper spray* PS/MS e a extração dos compostos orgânicos voláteis por meio de microextração em fase sólida (SPME) e posterior separação e identificação por CG-MS. As características físico-químicas da polpa demonstraram valores próximos ou maiores que em frutos do mesmo gênero se destacando por ser um fruto ácido e elevado teor de fibras (20,34 g/100 g de polpa). A polpa apresentou teores médios de compostos fenólicos totais ( $173,85 \pm 3,21$  mg/100 g de polpa) e atividade antioxidante ( $844,86 \pm 2,03$   $\mu$ M/100 g de polpa). Nesta tentativa de identificação, foram listados por PS/MS 46 compostos, destacando flavonoides, compostos fenólicos, carotenoides, açúcares, catequina e derivados da quercetina. A técnica do SPME permitiu identificar 19 compostos voláteis orgânicos pertencentes à classe dos terpenos, compostos estes que são responsáveis por diversas características sensoriais dos frutos. Os resultados descritos permitiram identificar a atividade antioxidante da polpa do fruto, e conhecer os principais compostos químicos, como os flavonoides e voláteis como os sesquiterpenos. Desta forma, é possível constatar que a polpa da grumixama possui características interessantes e benéficas, podendo ser adicionada em diversos produtos aumentando seu valor nutricional e funcional.

**Palavras-chave:** *Myrtaceae*, compostos orgânicos voláteis, atividade antioxidante, cereja brasileira.

### **Abstract**

*Eugenia brasiliensis* known as grumixama is a native fruit of Brazilian biodiversity and has very relevant characteristics such as the presence of bioactive compounds of interest to science. The present study aimed to characterize the grumixama pulp by means of physical chemical analyzes, as well as to evaluate the antioxidant potential and to trace the chemical profile and volatile compounds of this fruit. For this, analyzes of titratable acidity, pH, moisture, proteins, ash, fibers, total sugars and lipids were performed. The determination of total phenolic compounds was performed using the Folin-Ciocalteu method and the antioxidant activity using ABTS. The characterization of the chemical profile consisted of obtaining fingerprints using paper spray PS-MS and the extraction of volatile organic compounds by means of solid phase microextraction and subsequent separation and identification by CG-MS. The physical-chemical characteristics of the pulp were satisfactory, with values close to or greater than in fruits of the same genus, standing out for being an acidic fruit with high fiber content. The pulp showed average levels of total phenolic compounds ( $173.85 \pm 3.21$  mg / 100g of pulp) and antioxidant activity ( $844.86 \pm 2.03\mu\text{M}$  / 100 g of pulp). In this attempt to identify, 46 compounds were listed by PS / MS, highlighting flavonoids, phenolic compounds, carotenoids, catechin, sugars and quercetin derivatives by means of paper spray. The SPME technique allowed the identification of 19 volatile organic compounds belonging to the class of terpenes, compounds that are responsible for several sensory characteristics of the fruits. The results described allowed to identify the antioxidant activity of the fruit pulp, and to know the main chemical compounds, such as flavonoids and volatiles such as sesquiterpenes. In this way, it is possible to verify that the grumixama pulp has interesting and beneficial characteristics, being able to be added in several products, increasing its nutritional and functional value.

**Keywords:** *Myrtaceae*, volatile organic compounds, antioxidant activity, Brazilian cherry.



## 2.1 Introdução

A família *Myrtaceae* é uma das mais importantes da flora brasileira, apresentando potencial e conseqüentemente significativo interesse econômico para o Brasil. A Grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck), comumente conhecida como cereja brasileira, pertence à família *Myrtaceae* e é um fruto proveniente de árvores das florestas brasileiras distribuídas nas regiões sul e sudeste do país (FLORES et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2015), tendo presença significativa no bioma da Mata Atlântica (PELLIS, 2019). No Brasil, a produção comercial pode ser encontrada principalmente na região do “Vale do Paraíba”, no estado de São Paulo (TEIXEIRA; HASSIMOTTO; LAJOLO, 2018).

Este fruto possui características como adstringência, ricos em compostos fenólicos e compostos orgânicos voláteis (COVs) e tradicionalmente são utilizados para a produção de geleias, de tortas e de licores (FLORES et al., 2012). O aroma dos frutos é uma das características mais apreciadas pelos consumidores que deve-se à composição de COVs que são principalmente ácidos carboxílicos, álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres e terpenos (BICAS et al., 2011; SILVA et al., 2019a). O conjunto de COVs é específico para cada espécie e variedade de frutos, e é responsável pela formação do aroma peculiar (EL HADI et al., 2013) e por isso há a necessidade da melhor caracterização de frutos, tal como a grumixama. Vários métodos de extração como destilação a vácuo, destilação e concentração simultânea dos voláteis, análises do *headspace* estático e dinâmico (QUEIROGA et al., 2005), podem ser utilizados e dentre estes destaca-se a microextração em fase sólida no modo *headspace* (HP-SPME). A HP-SPME se torna um método de extração vantajoso por ser um método rápido, simples, sem a utilização de solvente, e também sensível, fornecendo assim resultados lineares para uma ampla faixa de concentrações e analitos (MERKLE; KLEEBERG; FRITSCHÉ, 2015) no qual a detecção dos voláteis é realizada por meio da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS).

A grumixama, também possui compostos fixos, como fenilpropanóides, flavonoides, polifenóis, carotenóis, açúcares, vitaminas entre outros, que são de interesse por trazerem diversos benefícios à saúde humana e necessitam do uso de outras técnicas para serem identificados. Uma característica marcante em uma variedade da grumixama é a coloração roxa a qual é um atributo importante e indica

a presença de pigmentos antociânicos, o que também ocorre em outros frutos da mesma família, como o jamelão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels), (BANERJEE; DASGUPTA; BRATATI, 2005), pitanga (*Eugenia Uniflora*), jaborcaba (*Myrciaria jaborcaba* (Vell) O. Berg) e jambo (*Syzygium malaccense*). As antocianinas tem despertado interesse devido aos seus efeitos terapêuticos, pela ação antioxidante em reduzir radicais livres provocando efeitos positivos sobre a manifestação de diversas patologias, como câncer e aterosclerose têm levado a crescente busca por fontes ainda não exploradas que possam atuar como antioxidantes, reduzindo dessa forma o desequilíbrio entre o sistema de defesa antioxidativo do organismo humano e os radicais livres (PIMENTEL, C.V.M.B., FRANCKI, V.M., GOLLUCKE, 2005).

Além das antocianinas, outros compostos como flavonoides, elagitaninos e carotenoides também podem estar presentes em grumixama (MACHADO et al., 2017; SILVA et al., 2014). Estudos mostram a identificação e efeitos benéficos destes compostos presentes em suas folhas, cascas, semente, polpa e extrato bruto da grumixama (DE ARAÚJO et al., 2019; FLORES et al., 2012; INFANTE et al., 2016; MAGINA et al., 2010; SIEBERT et al., 2017). Para uma caracterização mais detalhada do fruto na maioria das vezes, a identificação é realizada utilizando técnicas que incluem cromatografia líquida de alta eficiência, dessorção / ionização a laser assistida por eletropulverização (ELDI), espectrometria de massa de ionização por eletropulverização por dessorção (DESI-MS) e *paper spray* (FLORES et al., 2012; REYNERTSON et al., 2008; SIEBERT et al., 2017; SILVA et al., 2014, 2019b; TEIXEIRA et al., 2015), no qual o *paper-spray* (PS/MS) vem se destacando, por permitir uma análise ampla de substâncias presentes em matrizes complexas possibilitando obter a impressão digital da amostra em amplas faixas de massa (SILVA et al., 2019b).

Diante do exposto o objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização físico-química das polpas do fruto de grumixama, assim como avaliação do potencial antioxidante, traçando o seu perfil químico, utilizando a técnica de espectrometria de massa por ionização ambiente em *paper-spray* (PS-MS) e a extração dos de COVs por HP-SPME com a separação e identificação por cromatografia gasosa acoplada a detector de espectrometria de massa (GC-MS).

## 2.2 Material e Métodos

### 2.2.1 Material vegetal

As polpas congeladas de grumixama da marca “Sítio do Bello” localizado na cidade de São Paulo – Brasil (23° 27'53.94” sul e 45° 42'31.88” oeste), foram adquiridas via comércio no mês de dezembro de 2018. Foram utilizadas aproximadamente 3 Kg de polpas do mesmo lote e mesmo grau de maturação, segundo informações do fabricante, as quais permaneceram sob temperatura de congelamento de -18 °C e ao abrigo da luz até o momento do uso.



**Figura 2.1** Exemplos de frutos e da polpa comercializada de Grumixama

### 2.2.2 Métodos

#### 2.2.2.1 Caracterização físico-química da polpa de grumixama

A caracterização físico-química da polpa dos frutos de Grumixama envolveu as análises de acidez titulável, cinzas, fibras, pH, proteínas e umidade foram determinados, em triplicata, segundo os métodos descritos pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2012); os lipídeos foram analisados de acordo com o método de extração de Bligh & Dyer (1959), empregando-se metanol, clorofórmio e água. A pesquisa de açúcares (totais, redutores e não redutores) em polpa foi

determinado segundo metodologias descritas pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (2005) e *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2012).

Todas as análises foram realizadas em triplicata no Laboratório de Química de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.

### **2.2.2.2 Obtenção dos extratos da polpa**

Os extratos da polpa foram obtidos conforme metodologia descrita por Rufino et al., (2010) com adaptações. Foram pesados 0,5 gramas da polpa de grumixama, previamente homogeneizada, em seguida adicionou-se à amostra 1 mL da solução de metanol a 50% e a amostra foi agitada em agitador do tipo vórtex por 20 segundos e prosseguiu com incubação da mesma durante 1 hora em temperatura ambiente e ao abrigo de luz. Após o tempo de incubação, a amostra foi centrifugada durante 15 minutos a 4 °C com rotação de 15000 xg em centrífuga. Em seguida o sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico de 5 mL. No mesmo *ependorff* adicionou-se 1 mL de solução de acetona a 70%. Novamente foi realizada agitação e ressuspensão, prosseguindo com a incubação e centrifugação conforme citado acima. O sobrenadante foi transferido para o mesmo balão volumétrico (5 mL) e seu volume completado com água deionizada. Os extratos foram armazenados em temperatura de congelamento até o momento do uso para as análises de composição fenólica total, atividade antioxidante e perfil químico PS/MS.

### **2.2.2.3 Análise de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante**

#### **2.2.2.3.1 Análise de compostos fenólicos totais**

Os compostos fenólicos foram determinados no extrato da polpa por espectrofotometria utilizando reagente de *Folin-Ciocalteu* conforme descrito por Rufino et al., (2010). Um volume de 750 µL do extrato da amostra com 3,5 mL de água destilada e 250 µL de *Folin-Ciocalteu* foram misturados em tubo de ensaio e incubados à temperatura ambiente por 3 minutos. Em seguida, adicionou-se 500 µL de solução de carbonato de sódio 7,5%. Após 1 h de incubação, as amostras foram lidas no espectrofotômetro a 750 nm na ausência de luz, e os dados expressos como

mg de ácido gálico (AGE)/100 g de polpa. Para construção da curva analítica de calibração empregou-se uma solução estoque de ácido gálico de concentração 200 µg/mL (P.A, Vetec) e foram realizadas diluições a fim de se obter as concentrações necessárias (2-7 mg/L) conforme demonstrada na Tabela 2.1 abaixo.

**Tabela 2.1** Curva analítica de ácido gálico

Volume do padrão (µL)	Volume de metanol 50% (µL)	Concentração final (mg/L)
BRANCO	750	----
100	650	2
150	600	3
200	550	4
250	500	5
300	450	6
350	400	7

#### **2.2.2.3.2 Análise da atividade antioxidante pelo radical ABTS**

Em um tubo de ensaio adicionou-se 30 µL do extrato da polpa (item 2.2.2.2) e 3 mL de radical ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)). Após 6 minutos de incubação à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 734 nm. A partir de uma solução padrão de 6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico (trolox) (Sigma- Aldrich), procedeu-se a diluição da mesma em etanol de modo a construir a curva analítica utilizada na análise. Esta curva foi composta por 5 pontos correspondentes as concentrações de 100 a 2000 µM conforme demonstrada na Tabela 2.2. A atividade antioxidante foi expressa em µM trolox/ 100 g polpa (RUFINO et al., 2007).

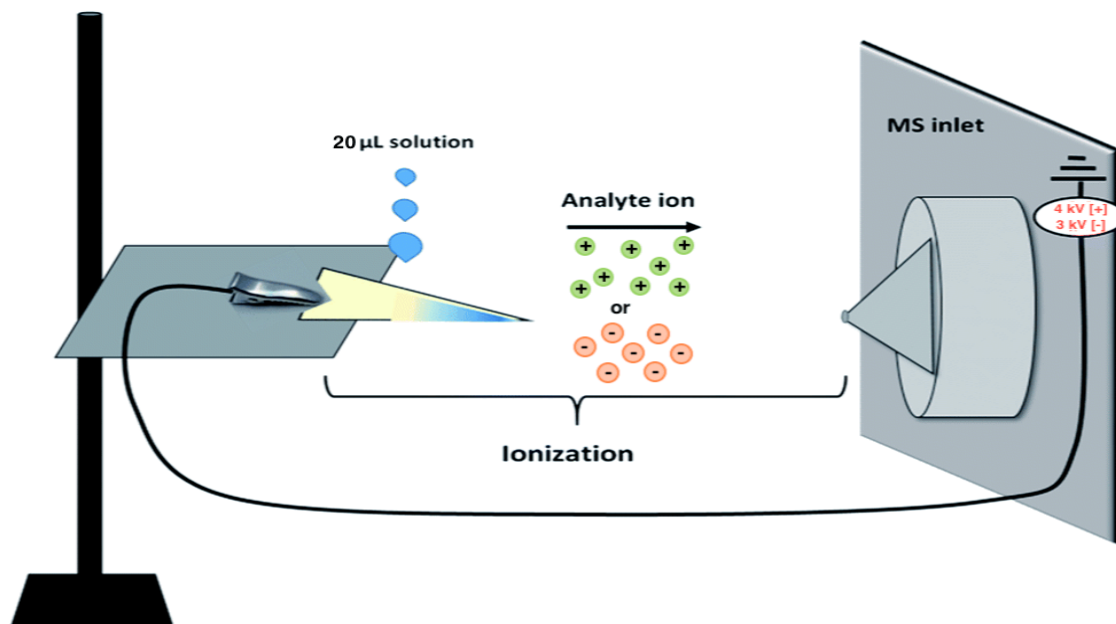
**Tabela 2.2** Curva analítica do trolox

Volume do padrão (mL)	Volume de etanol 95% (mL)	Concentração final ( $\mu\text{M}$ )
0,5	9,5	100
2,5	7,5	500
5,0	5,0	1000
7,5	2,5	1500
10,0	0	2000

#### 2.2.2.4 Perfil químico da polpa de Grumixama por *paper spray* – MS

A análise do perfil químico das amostras foi conduzida empregando-se o espectrômetro de massas LCQ *Fleet* (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA) equipado com uma fonte de ionização ambiente por *paper spray* e foi realizada em triplicatas nos modos de ionização positivos e negativos, conforme Silva et al. (2019). Para a realização das análises, 2  $\mu\text{L}$  das amostras e 40  $\mu\text{L}$  de metanol foram aplicadas no triângulo de papel cromatográfico acoplado ao equipamento, e a fonte de voltagem foi ligada para aquisição dos dados (Figura 2.2). As condições instrumentais das análises foram: voltagem da fonte PS-MS igual a + 4 kV (modo positivo) e – 3 kV (modo negativo); voltagem do capilar de 40 V; temperatura do tubo de transferência de 275 °C; voltagem das lentes do tubo de 120 V; faixa de carga massa de 100 a 1000  $m/z$  nos modos positivo e negativo. Os íons foram fragmentados usando energia de colisão de 15 a 45 eV.

Os resultados referentes aos espectros de massas obtidos foram processados utilizando o software Xcalibur versão 2.1 (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA). Os espectros PS-MS médios dos modos positivo e negativo foram determinados utilizando Excel, 2016 (Microsoft, Redmond, WA, EUA). Para a tentativa de identificação dos compostos realizou-se a comparação das razões massa carga de dados da literatura com os sinais instrumentais obtidos e a subsequente fragmentação por meio da espectrometria de massas sequencial.



**Figura 2.2** . Diagrama do processo de ionização por *paper spray*. Adaptado de (ALMEIDA DE PAULA et al., 2015)

### 2.2.2.5 Perfil de compostos voláteis

A extração dos compostos orgânicos voláteis foi realizada por meio do método de microextração em fase sólida no modo *headspace* (HS-SPME) conforme descrito por Silva et al., (2019c) utilizando a fibra Polidimetilsiloxano/ Divinilbenzeno semipolar (PDMS/DVB). Os COVs extraídos foram separados e identificados no cromatógrafo a gás (Trace GC Ultra) acoplado a um espectrômetro de massa (Polaris Q) (GC-MS), com analisador do tipo “*ion-trap*”.

Para a extração dos COVs, pesou-se 2,0 g de polpa *in natura* em frascos de *headspace* com capacidade de 20 mL e lacrados com lacre de alumínio. Em seguida, os frascos foram pré-aquecidos em chapa aquecedora sem agitação por 5 minutos e após esse tempo, a fibra foi inserida no frasco e exposta a amostra por 10 minutos. Em sequência a fibra foi removida do frasco e inserida manualmente no GC-MS a uma temperatura no injetor de 250 °C, por um tempo de dessorção de 5 minutos, temperatura da fonte de íons de 200 °C e interface de 275 °C. O gás de arraste utilizado foi o gás hélio com uma vazão de 1 mL.min<sup>-1</sup>, e os COVs foram separados usando uma coluna capilar (HP-5ms) fenil a 5% e metilpolisiloxano a 95% (30 mx 0,25 mm x 0,25 µm; Agilent Technologies Inc., Alemanha). Inicialmente, a coluna foi

mantida a 40 °C por 5 min e, em seguida, a temperatura foi aumentada a uma taxa de 2,5 °C min<sup>-1</sup> até 125 °C, seguida de um aumento de 10 °C.min<sup>-1</sup> até 245 °C e mantida por 3 min. A aquisição dos dados ocorreu no modo de varredura completa por ionização por impacto eletrônico (EI) e potência de 70 eV com um intervalo de 50 a 300 *m/z*.

A identificação dos compostos voláteis foi baseada na relação massa-carga (*m/z*) dos fragmentos de íons da amostra analisada, mediante cada espectro de massa na faixa de 50 a 300 *m/z*. Utilizando o *software Xcalibur* versão 2.1 (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA), realizou-se uma comparação dos espectros de massas correspondente a cada pico observado no cromatograma com os dados obtidos pela biblioteca NIST (National Institute of Standards and Technology) considerando nível de similaridade (reverso índice de pesquisa, RSI) maior que 600.

#### **2.2.2.6 Análise dos resultados**

Os resultados referentes aos espectros de massas obtidos foram processados utilizando o *software Xcalibur* versão 2.1 (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA). Os espectros PS-MS médios dos modos positivo e negativo para cada amostra foram determinados utilizando *Excel*, 2016 (Microsoft, Redmond, WA, EUA). A análise de resultados dos compostos voláteis foi realizada através do *software design expert* versão 12.

### **2.3 Resultados e discussão**

#### **2.3.1 Determinação da caracterização físico-química**

Os resultados da composição físico-química da polpa de Grumixama estão apresentados na Tabela 2.3.

A grumixama apresentou valor médio de pH de 3,23, sendo classificada como uma fruta ácida, podendo esta afirmação ser enfatizada com a acidez encontrada nas polpas do fruto deste estudo com média de 11,34 g ácido cítrico/100 g de polpa. Esta característica de baixo pH e alta acidez estão relacionadas com o sabor característico



ácido de um fruto (CAMLOFSKI, 2008). O pH é importante tanto no processamento e na industrialização de alimentos quanto no uso destes *in natura*, uma vez que este parâmetro pode representar, em alguns casos, uma característica vantajosa pois permite aos frutos prolongar a vida útil bem como inibir a alteração microbiana (CECCHI, 2003; HELT; NAVAS; GONÇALVES, 2018; NUNES et al., 2014)

O teor médio de umidade encontrado nas amostras de polpa de grumixama foi de 91,66%. Esses resultados corroboram com aqueles encontrados em grumixama por Nascimento et al. (2017), Silva et al. (2014) e Zola et al. (2019) que foram, respectivamente, 90,70; 90,80 e 90,15% e apresentou valor inferior (95,29%) que aquele descrito por Medeiros; Sabaa-Srur; Barbosa (2015) em polpas de grumixama provenientes do estado do Rio de Janeiro. Em geral, os teores de umidade de frutas e hortaliças correspondem a 80% a 95% de sua composição (CHITARRA; CHITARRA, 2005), sendo que nas frutas o teor de umidade pode sofrer alterações durante a maturação (HUI et al., 2006).

Em relação ao teor de lipídeos em base úmida do fruto foi determinado 0,14 g/100 g de polpa. Este valor é superior aqueles descritos por ZOLA et al., (2019) ao estudarem polpas de grumixama provenientes da cidade de Ouro Preto-MG e obtiveram teor lipídico de 0,02%, também em base úmida e muito próximo ao relatado em um outro estudo de frutos obtidos do municípios de Resende, Itatiaia e Itaboraí, no estado do Rio de Janeiro, de 0,14% (MEDEIROS DE AGUIAR; UBIRAJARA OLIVEIRA SABAA-SRUR; E. SMITH, 2016). Entretanto, no trabalho desenvolvido por Silva et al. (2014) não foi possível a detecção deste nutriente demonstrando assim que em geral o teor de lipídeos para polpas de grumixama são relativamente baixos ou não detectáveis.

Em relação ao teor proteico, no presente estudo determinou-se 0,41 g/100 g de polpa. Este valor corrobora com aquele descrito por Zola et al. (2019) que em seu estudo sobre frutos de grumixama provenientes da cidade de Ouro Preto, Minas Gerais, apresentou teor de proteína de 0,39 g/100 g e são superiores aos descritos por Medeiros; Sabaa-Srur; Barbosa, (2015) que relataram teor igual a 0,27 g/100 g. Entretanto, valores acima dos encontrados no presente estudo também foram relatados, como aqueles descritos por Teixeira et al. (2015) de 0,66, 0,50 e 0,54 g/100 g que avaliou frutos provenientes das regiões sul e sudeste do Brasil, e ao teor proteico relatado por (SILVA et al., 2014) de 0,5 g/100 g também da região sudeste

do Estado de Minas Gerais, Brasil. Os resultados encontrados foram como esperados uma vez que no geral o teor de proteína relatado em diversos estudos é relativamente baixo.

**Tabela 2.3** Composição físico-química da polpa de Grumixama, em base úmida

Parâmetro	Polpa de Grumixama
Acidez titulável (g ácido cítrico/100 g de polpa)	11,34 ± 0,13
Açúcares totais (g/100 g de polpa)	3,93 ± 0,30
Açúcares redutores (g/100 g de polpa)	2,78 ± 0,18
Açúcares não redutores (g/100 g de polpa)	1,15 ± 0,42
Cinzas (%)	0,34 ± 0,01
Fibras Insolúveis (g/100 g de polpa)	14,75 ± 0,09
Fibras Solúveis (g/100 g de polpa)	5,59 ± 0,19
Lipídeos (g/100 g de polpa)	0,14 ± 0,02
pH	3,23 ± 0,06
Proteínas (g/100 g de polpa)	0,41 ± 0,02
Teor de sólidos solúveis (°Brix)	6,03 ± 0,06
Umidade (%)	91,66 ± 0,13

Valores médios de triplicatas ± desvio padrão expressos em base úmida.

Os minerais totais determinados representam 0,34% da polpa dos frutos analisados. Estes resultados estão próximos aos descritos na literatura de 0,56; 0,44 e 0,31 para frutos de grumixama provenientes de diferentes regiões do Brasil (TEIXEIRA et al., 2015); 0,23% (MEDEIROS; SABAA-SRUR; BARBOSA, 2015; TEIXEIRA; HASSIMOTTO; LAJOLO, 2018) e 0,36% (ZOLA et al., 2019). Medeiros de Aguiar; Ubirajara Oliveira Sabaa-Srur; E. Smith, (2016) mostrou valores de 0,23 e além da Grumixama, outros frutos da família das *Myrtaceae*s também apresentaram valores relativamente baixos para teor de minerais como jabuticaba 0,34%; jamelão 0,62% e cambuci 0,23% pelo mesmo autor. As diferenças encontradas na composição físico-química podem estar ligadas a fatores como solo, água de irrigação, condições climáticas estágio de maturação entre outros.

Na polpa analisada o teor de fibras totais foi de 20,34% sendo deste total 5,59% correspondendo a fibras solúveis e 14,75% correspondendo a fibras insolúveis. As fibras nas espécies da família das *Myrtaceae*, se caracterizam como do tipo insolúvel em sua maioria (SCHIMIDT, 2018). Em um estudo referente a frutos da Mata Atlântica do Brasil, a grumixama apresentou teor de fibras totais igual a 10,8% (SILVA et al., 2014) valor abaixo dos encontrados no presente estudo assim como um teor de 12,69% quando avaliados frutos provenientes da cidade de Ouro Preto–MG (ZOLA et al., 2019), valores estes expressos em base úmida assim como no presente estudo.

Os valores do presente estudo de 6,03 °Brix se divergem da faixa descrita na literatura citada anteriormente. Entretanto, apresenta valores um pouco menores corroborando com outros trabalhos os quais apresentaram valores iguais a 5 °Brix (MEDEIROS; SABAA-SRUR; BARBOSA, 2015; MEDEIROS DE AGUIAR; UBIRAJARA OLIVEIRA SABAA-SRUR; E. SMITH, 2016; ZOLA et al., 2019), e também maior que os relatados por Teixeira et al. (2015) no qual descreveu valores iguais a 2,98, 2,69 e 3,53 °Brix ao avaliar frutos de Grumixama provenientes de diferentes regiões do Brasil. Os teores de sólidos solúveis variam entre espécies, cultivares, ponto de maturação e clima. Em frutos como *Eugenia uniflora*, também pertencentes a família das Myrtaceae, os valores médios geralmente estão entre 8 e 14% (CHITARRA; CHITARRA, 2005; HELT; NAVAS; GONÇALVES, 2018).

Neste trabalho o teor de açúcares totais foi igual a 3,93% sendo que 2,78% representam os açúcares redutores e 1,15% os açúcares não redutores. Segundo a Instrução Normativa nº01, de 07 de janeiro de 2000 (MAPA, 2000), que descreve sobre o regulamento técnico geral para fixação dos padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruto, existem valores mínimos e máximos de açúcar exigidos para alguns frutos. No caso, a grumixama não possui uma legislação específica para este, entretanto esta mesma legislação dita que para o teor de açúcares totais para polpa de pitanga, também pertencente ao gênero *Eugenia*, não são exigidos valores máximos e mínimos.

### 2.3.2 Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante

O teor de compostos fenólicos totais encontrado na polpa de grumixama foi igual a 173,85 mg AGE/100g de polpa conforme demonstrado na Tabela 2.4. Vasco;

Ruales; Kamal-Eldin, (2008) classificam os frutos como de teores baixo <100 mg AGE/100 g, médio de 100 a 500 mg de AGE/100 g) e alto >500 mg AGE/100 g. Portanto, de acordo com os resultados encontrados nesse estudo a polpa do fruto apresenta teores médios de compostos fenólicos totais. Estes resultados são relativamente menores que outros estudos correlacionados ao mesmo fruto que encontraram 225,45 mg de AGE / 100 g de polpa (ZOLA et al., 2019) e 268,51 a 469,18 mg AGE/ 100 g (NEHRING, 2016). Entretanto, em todos os estudos a polpa de grumixama classificou-se como de médio teor de compostos fenólicos sendo o presente trabalho com resultados satisfatórios. O solvente orgânico utilizado para a elaboração do extrato vegetal pode influenciar no conteúdo extraído devido a polaridade do solvente e dos compostos presentes podendo assim resultar em uma maior ou uma menor extração. O estágio de maturação também é um importante fator a ser considerado, uma vez que, quando estudados os conteúdos totais de fenólicos em diferentes estágios para os frutos como morango (ORNELAS-PAZ et al., 2013), jambolão (BRANDÃO et al., 2011) e jaborcaba (LIMA et al., 2011), eram maiores no início da maturação quando comparados com o fim desta.

**Tabela 2.4** Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante da polpa de Grumixama

Parâmetro	Polpa de Gumixama
Compostos fenólicos totais (mg AGE/ 100g de polpa)	173,85 ± 3,21
Atividade antioxidante ABTS ( $\mu$ M trolox/100 g de polpa)	844,86 ± 2,03

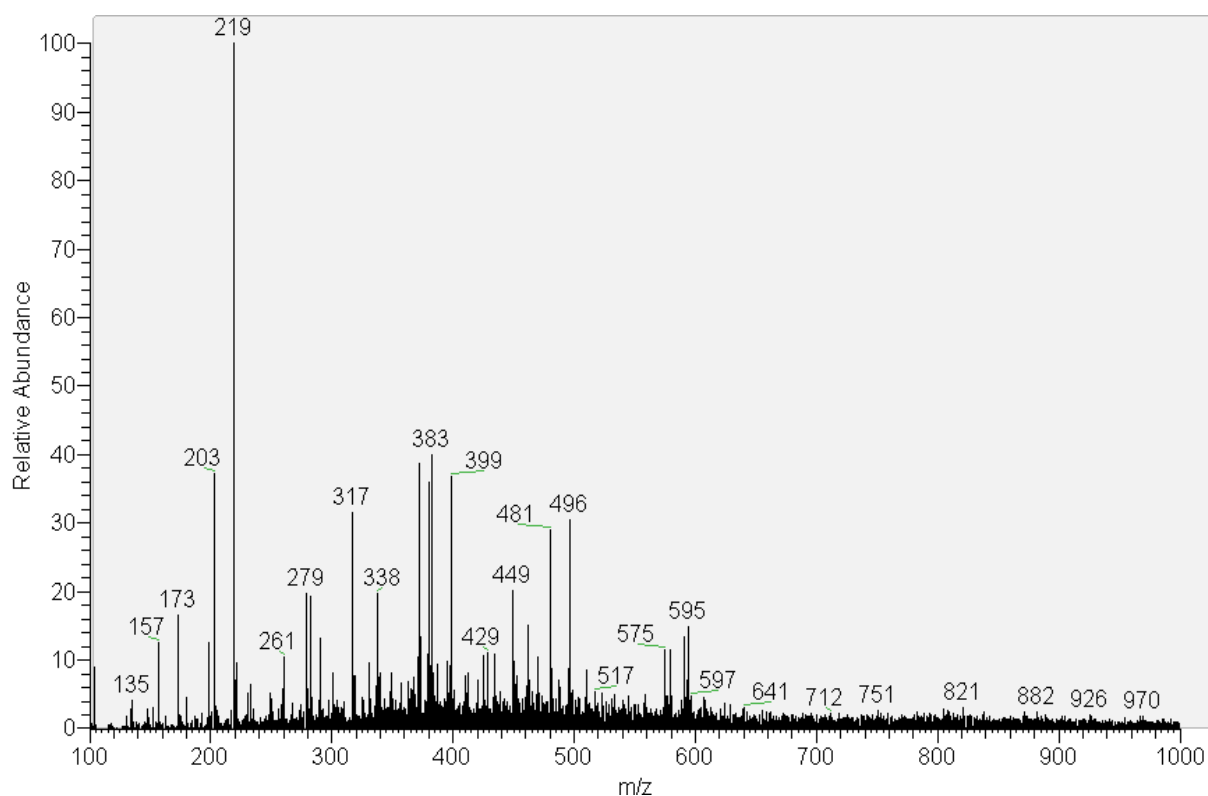
Valores médios de triplicatas  $\pm$  desvio padrão.

Os frutos e outras espécies vegetais, são constituídas por uma ampla diversidade química de compostos antioxidantes naturais (PINELA, 2012). A atividade antioxidante pelo método da captura do radical ABTS da polpa de grumixama foi de 844,86  $\mu$ M trolox/100 g de polpa (Tabela 3.2). Zola et al. (2019) observou valores iguais a 1159,00  $\mu$ M trolox/100 g em polpa de grumixama pela mesma metodologia e 883,00  $\mu$ mol trolox/100g de polpa em pitanga, que também é uma eugenia, sendo

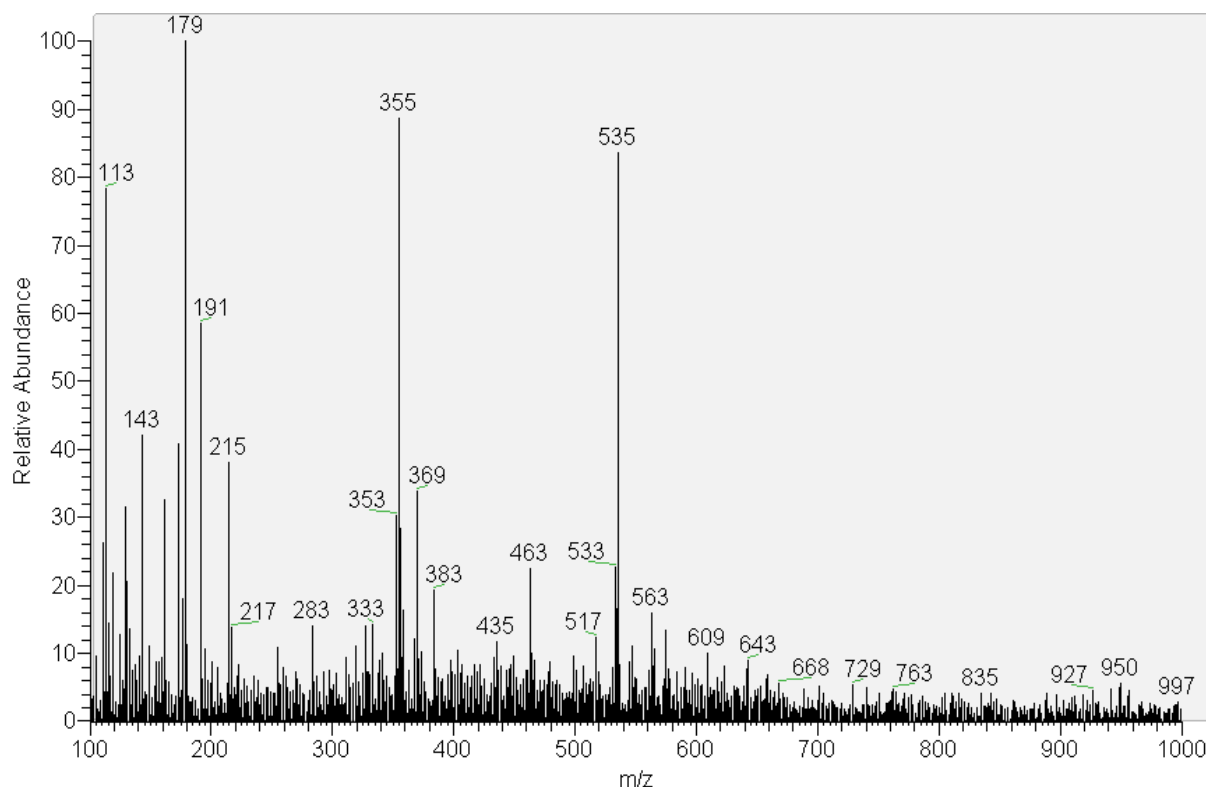
este resultado muito próximo ao encontrado no presente estudo. Na literatura há uma escassez de estudos da atividade antioxidante pelo método ABTS como a presente pesquisa. As variações de um estudo para o outro pode ser explicada pela diferença do clima, composição do solo, grau de maturação dos frutos, localização geográfica (HAMINIUK et al., 2012), bem como o solvente e sua quantidade utilizado para a elaboração dos extratos pode exercer grande influência (FLORES et al., 2012).

### 2.3.3 Perfil químico

Os espectros do perfil químico da amostra de polpa de grumixama nos modos positivo e negativo estão apresentados nas Figuras 2.3 e 2.4 respectivamente. Por meio da tentativa de identificação foi possível listar 46 compostos na polpa de grumixama através do *PS-MS* sendo que no modo de ionização positivo foram 18 compostos e 28 compostos no modo negativo. Seu perfil é composto em sua maioria por flavonoides (48%) seguido de compostos fenólicos (26%) e outros compostos (256) que incluem, açúcar e carotenoides.



**Figura 2.3** Representação de PS modo positivo – MS da amostra de polpa de Grumixama



**Figura 2.4** Representação de PS modo negativo – MS da amostra de polpa de Grumixama

Os possíveis compostos identificados na impressão digital da amostra, estão representados na Tabela 2.5 para o modo positivo de ionização e na Tabela 2.6 para o modo negativo de ionização. Em sua maioria foram detectados compostos fenólicos, e flavonoides.

Dentre os flavonoides, desta tentativa de identificação, destacam a catequina ( $m/z = 291$ ); derivados da quercetina como monoglucuronido de quercetina ( $m/z = 479$ ), éter dimetílico de quercetina ( $m/z = 329$ ), 3-glucosídeo de quercetina ( $m/z = 463$ ), hexósido de quercetina ( $m/z = 463$ ), acetil-hexósido de quercetina ( $m/z = 505$ ); e também a galocatequina ( $m/z = 305$ ). Essas substâncias são comumente encontradas na grumixama (MAGINA et al., 2012a; SILVA et al., 2014; TEIXEIRA et al., 2015). Existem benefícios relacionados a estes compostos, como por exemplo atividade antioxidante, em especial correlacionada a quercetina (MAGINA et al., 2012b), comumente encontrada em frutos como araçá (*Psidium cattleianum*), uvaia (*Eugenia pyriformis*) (SILVA et al., 2014) e jussara (*Euterpe edulis*) (DA SILVA CAMPELO BORGES et al., 2011).

A detecção do composto cianidina 3-galactósido ( $m/z = 449$ ) confirma a presença de antocianinas nas polpas de grumixama, assim como em outros estudos do mesmo fruto (NASCIMENTO et al., 2017b; TEIXEIRA et al., 2015). As antocianinas, também são flavonoides, geralmente responsáveis pelos pigmentos vermelhos, amplamente distribuídos no reino vegetal, que quimicamente são constituídas por uma molécula de antocianidina à qual o açúcar está ligado através de uma ligação  $\beta$ -glicosídica (AGUILERA-ORTÍZ et al., 2011). Frutos como a jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell) O. Berg), também pertencente a família das *Myrtaceae*, considerados ricos neste composto, apresentam grandes efeitos antioxidantes e benefícios à saúde, como auxílio na redução da obesidade e na resistência à insulina (LENQUISTE et al., 2012). Segundo Nascimento et al. (2017), a grumixama também pode ser considerada uma nova fonte de antocianinas agregando valor a esse fruto que ainda é pouco explorado. No geral, as variedades de *E. brasiliensis* são consideradas fontes boas de compostos bioativos em especial antocianinas, elagitaninas e carotenoides. (DE ARAÚJO et al., 2019).

Carotenoides como all-trans-zeaxantina ( $m/z = 569$ ) e all-trans-luteína ( $m/z = 569$ ) foram listados na tentativa de identificação da amostra em estudo e estão entre os pigmentos lipossolúveis mais comuns encontrados na natureza com ação antioxidante (MOELLER; JACQUES; BLUMBERG, 2000). Estes compostos também foram identificados em frutos como jussara (*Euterpe edulis*), araçá (*Psidium cattleianum*) e uvaia (*Eugenia pyriformis*), entretanto, ainda há poucas pesquisas que mostram a presença destes compostos em frutas de casca escura o que pode ser justificado pela intensidade desta coloração que pode vir a mascarar a cor característica dos carotenoides (NASCIMENTO et al., 2017b).

Nas amostras de grumixama listou-se o açúcar sucrose, tanto no modo positivo ( $m/z = 365$ ) quanto no modo negativo ( $m/z = 387$ ) de ionização. Conforme esperado, outro composto identificado na polpa de grumixama foi o ácido cítrico ( $m/z = 191$ ), uma vez que este é uma fonte natural de ácido orgânico, encontrada em todas as frutas cítricas (AGHERA; BHATT, 2019), o que também foi confirmado pelas análises de acidez titulável e pH.

**Tabela 2.5** Perfil químico da amostra de polpa de Grumixama por PS-MS no modo positivo.

nº	Tentativa de identificação	$m/z$ [ ] <sup>+</sup>	MS/MS	Referência
<b>Compostos fenólicos</b>				
1	Éster de galoil-glicose	355	263 233	(FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011)
2	Ácido dihidrossinápico	475	457	(PAUDEL et al., 2013)
<b>Flavonoide</b>				
3	Cianidina 3-galactósido	449	287	(TEIXEIRA et al., 2015)
4	Catequina	291	273	(STEFOVA; IVANOVA, 2011)
5	Diosmetina	301	286	(WANG et al., 2017)
6	Kaempferol rhamnoside	433	415	(LEE; JOHNSON; TALCOTT, 2005)
7	Myricetin rhamnoside	465	447	(LEE; JOHNSON; TALCOTT, 2005)
8	Quercetina-monoglucuronida	479	435 303	(MASCHERPA et al., 2012)
9	Miricetina-glucósido	481	335	(MASCHERPA et al., 2012)
10	Micricetina-3-glcA	395	319	(STEFOVA; IVANOVA, 2011)
11	5- piranopelargonidina-3-O-glucósido	501	295	(KAJDŽANOSKA; GJAMOVSKI; STEFOVA, 2010)
12	Syringetin-3-glc	509	481	(STEFOVA; IVANOVA, 2011)
<b>Outros compostos</b>				
13	Triptofano	205	188	(KOSINSKA et al., 2013)
14	Ácido licanico	293	257	(WANG et al., 2017)
15	Sacarose	365	203	(GUO et al., 2017)
16	Gomphrenin	551	389	(GARCÍA-CRUZ et al., 2017)
17	All-trans-zeaxantina	569	551	(FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011; SILVA et al., 2014)
18	All-trans-luteína	593	345 507	(GARCÍA-CRUZ et al., 2017)



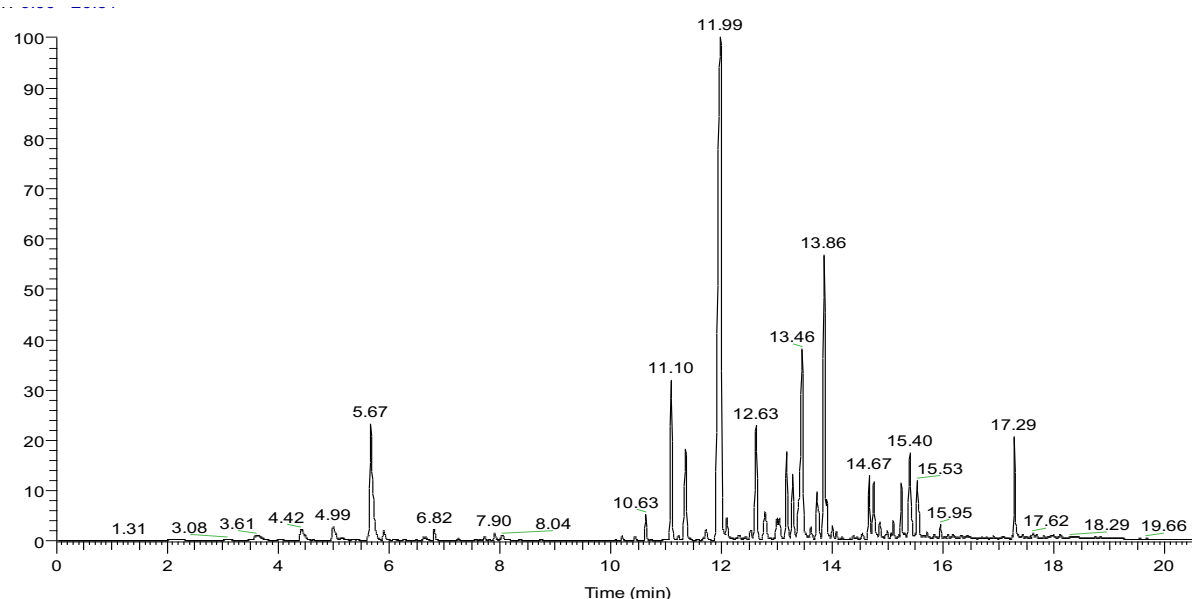
**Tabela 2.6** Perfil químico da amostra de polpa de Grumixama por PS-MS no modo negativo.

nº	Tentativa de identificação	m/z [ ]	MS/MS	Referência
<b>Compostos fenólicos</b>				
19	Ácido ferulol málico	309	291	(SPÍNOLA; PINTO; CASTILHO, 2015)
20	Hexosídeo do ácido p-coumarico	325	145, 163	(KAJDŽANOSKA; GJAMOVSKI; STEFOVA, 2010)
21	Ácido cafeoil-2-hidroxi-etano-1,1,2-tricarboxílico	339	295 251	(BEN SAID et al., 2017)
22	Ácido cafeico-3-glucósido	341	305	(WANG et al., 2017)
23	Di-hidro-cafeoil-O-glucoside	343	181	(EL-SAYED et al., 2017)
24	Ácido 4-O-cafeoil quínico (ácido criptoclorogenico)	353	353	(HUANG et al., 2017b)
25	Ácido cafeoil-gluconico	371	209	(EL-SAYED et al., 2017)
26	Derivados do ácido cafeico	443	245 443	(HUANG et al., 2017b)
27	Hidroxi-metoxifenil-O- (O-galoil) -hexose	453	169, 313	(ABU-REIDAH et al., 2015)
28	Tinosposídeo A	535	517	(JIAO et al., 2018)
<b>Flavonoide</b>				
29	Kaempferol	285	241, 217, 213, 197	(BEN SAID et al., 2017)
30	Luteolina	285	285, 267, 241, 217, 213, 197	(EL-SAYED et al., 2017)
31	Taxifolina	303	285 241 199 125	(CHEN et al., 2016a)
32	Galocatequina	305	137, 261	(WANG et al., 2017)
33	Éter dimetílico de quercetina	329	314	(BEN SAID et al., 2017)
34	quercetina 3-glucósido	463	301/151	(TEIXEIRA et al., 2015).
35	Hexosídeo de quercetina	463	301	(SILVA et al., 2014)
36	3', 4-Di-hidroxi-5,6-dimetoxi-7-O-glucósido	491	473	(GOUVEIA; CASTILHO, 2010)
37	Quercetina acetil-hexósido	505	301	(BEN SAID et al., 2017)
38	Vitexina	521	341	(KOOLEN et al., 2013; WANG et al., 2017)
39	Di-glucósido de di-hidro-miricetina	643	481	(FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011)
40	Metil-di-hidro-miricetina glucoside	657	477	(FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011)
<b>Outros compostos</b>				
41	Ácido cítrico	191	173, 111	(SILVA et al., 2019b; WANG et al., 2017)

42	Ácido palmítico	255	237	(WANG et al., 2017)
43	sacarose	387	341	(GABBANINI et al., 2010)
44	Sweroside lactona	403	167	(GUO et al., 2017)
45	Derivado do ácido glucárico	409	209	(DÍAZ-DE-CERIO et al., 2018)
46	Pentil-di-hexose	411	249	(EL SAYED et al., 2016)

### 2.3.4 Compostos voláteis

O cromatograma referente a análise de voláteis na polpa de grumixama está apresentado na Figura 2.5



**Figura 2.5** Cromatograma dos compostos voláteis da polpa de grumixama por CG-MS

Foi possível identificar 19 COVs por meio da comparação dos espectros de massas correspondente a cada pico com os dados obtidos pela biblioteca NIST, os quais estão demonstrados na Tabela 2.7. Pode-se observar, que em sua maioria, foram identificados compostos da classe dos terpenos sendo eles sesquiterpenos e um monoterpene. Os  $C_{10}$  (monoterpenos) e  $C_{15}$  (sesquiterpenos) estão dentre os compostos voláteis mais importantes presente nos frutos (SCHWAB; DAVIDOVICH-

RIKANATI; LEWINSOHN, 2008) considerados os mais abundantes e principais responsáveis pela determinação do aroma característico (EL HADI et al., 2013).

**Tabela 2.7** Compostos orgânicos voláteis identificados na polpa de grumixama

Número	TR	Composto	Classe
1	5.67	D-limoneno	monoterpeno
2	10.63	$\alpha$ -Cubebeno	Sesquiterpeno
3	11.1	Copaeno	Sesquiterpeno
4	11.35	Longifoleno	Sesquiterpeno
5	11.99	$\beta$ -Guaieno	Sesquiterpeno
6	12.63	Guaia-1 (10), 11-dieno	Sesquiterpeno
7	12.78	Longifoleno-(V4)	Sesquiterpeno
8	13,00	Cadina – (10) 4-dieno	Sesquiterpeno
9	13.18	Isoleodeno	Sesquiterpeno
10	13.29	Cariofileno	Sesquiterpeno
11	13.46	(+) -Ciclosativeno	Sesquiterpeno
12	13.61	1,1 4a-Trimetil-5-6-dimetileno-deca-hidronaftaleno	Sesquiterpeno
13	13.72	$\alpha$ -Elemeno	Sesquiterpeno
14	13.86	Cadina-3,9-dieno	Sesquiterpeno
15	14.67	(+) – Ledeno	Sesquiterpeno
16	14.75	Allo-aromadendreno	Sesquiterpeno
17	15.25	Tujopseno	Sesquiterpeno
18	15.4	Patchouleno	Sesquiterpeno
19	15.53	Eudesm-7 (11) -en-4-ol	Sesquiterpeno

O monoterpeno identificado foi o D-limoneno. Este é o componente majoritário encontrado em óleos das cascas de laranja, sendo correlacionado a prevenção da desidratação e a inibição de crescimento microbiano nos vegetais (MULLER, 2011). Este composto é muito utilizado na indústria de alimentos como componente aromático e para dar sabor, ainda usado na obtenção de sabores artificiais como menta e hortelã, na fabricação de doces, balas e gomas de mascar (SANTOS; SERAFINI; CASSEL, 2003). A polpa apresentou um perfil bastante complexo de sesquiterpenos com 18 compostos identificados. O composto nº 2,  $\alpha$ -cubebeno também foi identificado em amostras de arça-boi (*Eugenia stipitada*) (FRANCO; SHIBAMOTO, 2000). Em pitangas (*Eugenia uniflora* L) com diferentes biótipos de cor (laranja, vermelha e amarelo) foram detectados os  $\alpha$ -cubeben e allo-aromadendreno e  $\beta$ -guaieno assim como no presente estudo (MESQUITA et al., 2017).

## 2.4 Conclusão

O fruto de grumixama apresentou valores de atividade antioxidante e compostos fenólicos totais (173,85 mg AGE/ 100g de polpa) satisfatórios. O conhecimento a cerca do seu perfil químico torna-se de extrema importância, uma vez que os compostos fenólicos totais pela atividade antioxidante exercida podem promover efeitos benéficos. O *finger print* do *paper spray* corrobora com os dados da ação antioxidante e compostos fenólicos totais, pois foi possível identificar diversos compostos com conhecidas atividades. A técnica também se mostrou eficiente para uma tentativa de identificação rápida do perfil químico da polpa de grumixama uma vez que permitiu listar diversas classes de compostos fenólicos que são de extrema importância e sendo estes os resultados para o estudo dos seus possíveis efeitos sobre a saúde humana e a biodisponibilidade. Em paralelo este trabalho mostra que, o HS-SPME acoplado ao GC-MS utilizando a fibra PDMS/DVB semipolar mostrou ser uma técnica eficiente para extração com identificação de COVs presentes na polpa de grumixama com auxílio da biblioteca NIST, permitindo a identificação de 19 compostos sendo em sua maioria sesquiterpenos (94%). Tal resultado mostra a importância deste estudo na identificação dos compostos voláteis que são fundamentais no que se relaciona às características como o flavor do fruto e sua aceitação pelo consumidor. Vale ressaltar que a técnica se mostrou bastante eficiente na extração destes compostos uma vez que a mesma não faz uso de outros solventes. Desta forma, os resultados deste trabalho mostraram que a polpa da grumixama é promissora com intuito de ser explorada e tem potencial para ser introduzida em produtos alimentares.

## 2.5 Referências

ABU-REIDAH, I. M. et al. HPLC–DAD–ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits. **Food Chemistry**, v. 166, p. 179–191, jan. 2015.

AGHERA, P. R.; BHATT, N. S. **Citric Acid: Biosynthesis, Properties and Application**. [s.l.] LAP LAMBERT Academic Publishing, 2019.

AGUILERA-OTÍZ, M. et al. Propiedades funcionales de las antocianinas. **BIOTecnica**, v. 13, n. 2, p. 16, 30 ago. 2011.

ALMEIDA DE PAULA, C. C. et al. Paper spray mass spectrometry applied to the detection of cocaine in simulated samples. **Analytical Methods**, v. 7, n. 21, p. 9145–9149, 2015.

AOAC, A. OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 19. ed. Washington D.C.: [s.n.]. 2012

BANERJEE, A.; DASGUPTA, N.; BRATATI, D. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 727–733, 2005.

BEN SAID, R. et al. Tentative Characterization of Polyphenolic Compounds in the Male Flowers of *Phoenix dactylifera* by Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry and DFT. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 3, p. 512, 2 mar. 2017.

BICAS, J. L. et al. Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1843–1855, ago. 2011.

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

BRANDÃO, T. S. DE O. et al. Changes in enzymes, phenolic compounds, tannins, and vitamin C in various stages of jambolan (*Syzygium cumini* Lamark) development. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2011.

CAMLOFSKI, A. M. DE O. **Caracterização do fruto de cerejeira (*Eugenia involucrata* DC) visando seu aproveitamento tecnológico**. [s.l.] (Dissertação de Mestrado Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos ) Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2008.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. [s.l.] Editora da Unicamp, 2003.

CHEN, G. et al. Analysis of Flavonoids in *Rhamnus davurica* and Its Antiproliferative Activities. **Molecules**, v. 21, n. 10, p. 1275, 23 set. 2016.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças**. 2. ed. [s.l.] Universidade Federal de Lavras, 2005.

DA SILVA CAMPELO BORGES, G. et al. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2128–2133, ago. 2011.

DE ARAÚJO, F. F. et al. Wild Brazilian species of *Eugenia* genera (Myrtaceae) as an innovation hotspot for food and pharmacological purposes. **Food Research International**, v. 121, p. 57–72, jul. 2019.

DÍAZ-DE-CERIO, E. et al. Characterization of bioactive compounds of *Annona cherimola* L. leaves using a combined approach based on HPLC-ESI-TOF-MS and NMR. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 410, n. 15, p. 3607–3619, 9 jun. 2018.

EL-SAYED, M. A. et al. Phytoconstituents, LC-ESI-MS profile, antioxidant and antimicrobial activities of citrus X limon L. Burm. F. cultivar variegated pink lemon. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 9, n. 4, p. 375–392, 2017.

EL HADI, M. et al. Advances in Fruit Aroma Volatile Research. **Molecules**, v. 18, n. 7, p. 8200–8229, 11 jul. 2013.

EL SAYED, A. M. et al. In vivo diabetic wound healing effect and HPLC–DAD–ESI–MS/MS profiling of the methanol extracts of eight *Aloe* species. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 3, p. 352–362, maio 2016.

FARIA, A. F.; MARQUES, M. C.; MERCADANTE, A. Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1571–1578, jun. 2011.

FLORES, G. et al. Anthocyanins from *Eugenia brasiliensis* edible fruits as potential therapeutics for COPD treatment. **Food Chemistry**, v. 134, n. 3, p. 1256–1262, out. 2012.

FRANCO, M. R. B.; SHIBAMOTO, T. Volatile Composition of Some Brazilian Fruits: Umbu-caja (*Spondias citherea*), Camu-camu (*Myrciaria dubia*), Araça-boi (*Eugenia stipitata*), and Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 4, p. 1263–1265, abr. 2000.

GABBANINI, S. et al. Anomeric discrimination and rapid analysis of underivatized lactose, maltose, and sucrose in vegetable matrices by U-HPLC-ESI-MS/MS using porous graphitic carbon. **S. Gabbanini, E. Lucchi, F. Guidugli, R. Matera and L. Valgimigli**, v. 45, p. 1012–1018, 2010.

GARCÍA-CRUZ, L. et al. Betalains and phenolic compounds profiling and antioxidant capacity of pitaya ( *Stenocereus* spp.) fruit from two species ( *S. Prinosus* and *S. stellatus* ). **Food Chemistry**, v. 234, p. 111–118, nov. 2017.

GOUVEIA, S. C.; CASTILHO, P. C. Characterization of phenolic compounds in *Helichrysum melaleucum* by high-performance liquid chromatography with on-line ultraviolet and mass spectrometry detection. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 24, n. 13, p. 1851–1868, 15 jul. 2010.

GUO, Y. et al. Rapid Analysis of Corni fructus Using Paper Spray-Mass Spectrometry. **Phytochemical Analysis**, v. 28, n. 4, p. 344–350, jul. 2017.

HAMINIUK, C. W. I. et al. Phenolic compounds in fruits - an overview. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 10, p. 2023–2044, out. 2012.

HELT, K. M. P.; NAVAS, R.; GONÇALVES, E. M. Características físico-químicas e compostos antioxidantes de frutos de pitanga da região de Capão Bonito, SP. **Revista de Ciências Agroambientais**, v. 16, n. 1, p. 96–102, 2018.

HUANG, W. et al. Comprehensive MS and Solid-State NMR Metabolomic Profiling Reveals Molecular Variations in Native Periderms from Four *Solanum tuberosum* Potato Cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 10, p. 2258–2274, 15 mar. 2017.

HUI, Y. H. et al. **Handbook of Fruits and Fruit Processing**. 1. ed. [s.l.] Blackwell Publishing, 2006.

INFANTE, J. et al. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Unexplored Brazilian Native Fruits. **PLOS ONE**, v. 11, n. 4, p. e0152974, 6 abr. 2016.

JIAO, Q.-S. et al. Rapid Characterization and Identification of Non-Diterpenoid Constituents in *Tinospora sinensis* by HPLC-LTQ-Orbitrap MSn. **Molecules**, v. 23, n. 2, p. 274, 29 jan. 2018.

KAJDŽANOSKA, M.; GJAMOVSKI, V.; STEFOVA, M. HPLC-DAD-ESI-msn identification of phenolic compounds in cultivated strawberries from Macedonia. **Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering**, v. 29, n. 2, p. 181–194, 2010.

KOOLEN, H. H. F. et al. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 467–473, maio 2013.

KOSINSKA, A. et al. Phenolic compounds profile of strawberry fruits of Charlotte cultivar. **Journal of Berry Research**, v. 3, p. 15–23, 2013.

LEE, J.-H.; JOHNSON, J. V.; TALCOTT, S. T. Identification of Ellagic Acid Conjugates and Other Polyphenolics in Muscadine Grapes by HPLC-ESI-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 15, p. 6003–6010, jul. 2005.

LENQUISTE, S. A. et al. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 153–160, nov. 2012.

LIMA, A. DE J. B. et al. Sugars, organic acids, minerals and lipids in jaboticaba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 540–550, jun. 2011.

MACHADO, A. P. D. F. et al. Recovery of anthocyanins from residues of *Rubus fruticosus*, *Vaccinium myrtillus* and *Eugenia brasiliensis* by ultrasound assisted extraction, pressurized liquid extraction and their combination. **Food Chemistry**, v. 231, p. 1–10, set. 2017.

MAGINA, M. A. et al. Atividade antioxidante de três espécies de *Eugenia* (Myrtaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, n. 2, p. 376–82, 2010.

MAGINA, M. D. A. et al. Bioactive triterpenes and phenolics of leaves of *Eugenia brasiliensis*. **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1184–1188, 2012.

MAPA, M. DA A. P. E A. **Regulamento Técnico Geral para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta.**, 2000. Disponível em: <<https://ibravin.org.br/admin/arquivos/leis/1456251935.pdf>>

MASCHERPA, D. et al. Identification of Phenolic Constituents in *Cichorium endivia* Var. *crispum* and Var. *latifolium* Salads by High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Electrospray Ionization Tandem



Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 49, p. 12142–12150, 12 dez. 2012.

MEDEIROS, A. T.; SABAA-SRUR, A. U. DE O.; BARBOSA, N. Determinação física e química da polpa de grumixama (*Eugenia brasiliensis*, Lam). **Journal of Fruits and Vegetables**, v. 1, n. 1, p. 67–70, 2015.

MEDEIROS DE AGUIAR, T.; UBIRAJARA OLIVEIRA SABAA-SRUR, A.; E. SMITH, R. Study of Grumixama (*Eugenia Brasiliensis*, Lam) Fruit Pulp and Development of a Jelly: Rheological, Sensorial and Colorimetric Evaluation. **The Natural Products Journal**, v. 6, n. 2, p. 142–151, 19 maio 2016.

MERKLE, S.; KLEEBERG, K.; FRITSCH, J. Recent Developments and Applications of Solid Phase Microextraction (SPME) in Food and Environmental Analysis—A Review. **Chromatography**, v. 2, n. 3, p. 293–381, 30 jun. 2015.

MESQUITA, P. R. R. et al. Discrimination of *Eugenia uniflora* L. biotypes based on volatile compounds in leaves using HS-SPME/GC–MS and chemometric analysis. **Microchemical Journal**, v. 130, p. 79–87, jan. 2017.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Manual Operacional de Bebidas e Vinagre, onde constam o modelo de manual da qualidade, o protocolo de validação de métodos físico-químicos, o protocolo de cálculo da incerteza associada às medições e os métodos de análise de bebidas fermentadas, destilada**, 2005.

MOELLER, S. M.; JACQUES, P. F.; BLUMBERG, J. B. The Potential Role of Dietary Xanthophylls in Cataract and Age-Related Macular Degeneration. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, n. sup5, p. 522S-527S, out. 2000.

MULLER, P. S. **Microencapsulação do óleo essencial de laranja**. [s.l.] (Dissertação de mestrado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Paraná., 2011.

NASCIMENTO, L. et al. Characterization of Bioactive Compounds in *Eugenia brasiliensis*, Lam. (Grumixama). **Nutrition and Food Technology: Open Access**, v. 3, n. 3, 2017.

NEHRING, P. **Avaliação da capacidade antioxidante e compostos fenólicos em diferentes estádios de maturação da grumixama (*Eugenia***

**brasiliensis Lamarck**). [s.l.] (Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2016.

NUNES, J. S. et al. Collection and physico-chemical characterization of pulp blemish (*Myrciaria cauliflora* Berg) frozen. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n. 1, p. 234–237, 2014.

ORNELAS-PAZ, J. DE J. et al. Physical attributes and chemical composition of organic strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch, Cv. Albion) at six stages of ripening. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 372–381, maio 2013.

PAUDEL, L. et al. Nonanthocyanin Secondary Metabolites of Black Raspberry (*Rubus occidentalis* L.) Fruits: Identification by HPLC-DAD, NMR, HPLC-ESI-MS, and ESI-MS/MS Analyses. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 49, p. 12032–12043, 11 dez. 2013.

PELLIS, V. F. **A família Myrtaceae juss. no parque municipal da Lagoa do Peri, Santa Catarina, Brasil**. [s.l.] (Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso)- Universidade Federal de Santa Catarina, 2019.

PIMENTEL, C. V. M. B.; FRANCKI, V. M.; GOLLUCKE, A. P. . **Alimentos funcionais: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos**. [s.l: s.n.]2005.

PINELA, J. **Efeito do processo de secagem no potencial antioxidante e na composição fitoquímica de plantas medicinais da família Fabaceae**. [s.l: s.n.].2012.

QUEIROGA, R. DE C. R. E. et al. Otimização das condições de extração de compostos voláteis em leite caprino utilizando a técnica de extração e concentração simultânea. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 64, n. 1, p. 97–103, 2005.

REYNERTSON, K. A. et al. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 883–890, ago. 2008.

RUFINO, M. DO S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, ago. 2010.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia Científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela método de captura do radical livre ABTS\*+.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agroindustria-tropical/busca-de-publicacoes/-/publicacao/426954/metodologia-cientifica-determinacao-da-atividade-antioxidante-total-em-frutas-pela-captura-do-radical-livre-abts>>. 2007.

SANTOS, A. C. A. DOS; SERAFINI, L. A.; CASSEL, E. **Estudo de Processos de Extração de Óleos Essenciais e Bioflavonoides de Frutas Cítricas.** Caxias do Sul: [s.n.]. 2003.

SCHIMIDT, H. **Caracterização físico-química, nutricional e de compostos bioativos de sete espécies da família Myrtaceae nativas da região sul do Brasil.** [s.l.] (Dissertação Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018.

SCHWAB, W.; DAVIDOVICH-RIKANATI, R.; LEWINSOHN, E. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. **The Plant Journal**, v. 54, n. 4, p. 712–732, maio 2008.

SIEBERT, D. A. et al. Determination of phenolic profile by HPLC-ESI-MS/MS and anti-inflammatory activity of crude hydroalcoholic extract and ethyl acetate fraction from leaves of *Eugenia brasiliensis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 4, p. 459–465, jul. 2017.

SILVA, N. A. DA et al. Phenolic Compounds and Carotenoids from Four Fruits Native from the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 22, p. 5072–5084, 4 jun. 2014.

SILVA, M. et al. Evaluation of the Influence of Extraction Conditions on the Isolation and Identification of Volatile Compounds from Cagaita (*Eugenia dysenterica*) Using HS-SPME/GC-MS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2019a.

SILVA, M. et al. Antioxidant Activity and Metabolomic Analysis of Cagaitas (*Eugenia dysenterica*) using Paper Spray Mass Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2019b.

SPÍNOLA, V.; PINTO, J.; CASTILHO, P. C. Identification and quantification of phenolic compounds of selected fruits from Madeira Island by HPLC-DAD–ESI-MSn

and screening for their antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 173, p. 14–30, abr. 2015.

STEFOVA, M.; IVANOVA, V. Analytical Methodology for Characterization of Grape and Wine Phenolic Bioactives. In: **Fruit and Cereal Bioactives**. [s.l.] CRC Press, 2011. p. 409–427.

TEIXEIRA, L. DE L. et al. Identification of Ellagitannins and Flavonoids from *Eugenia brasiliensis* Lam. (Grumixama) by HPLC-ESI-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 22, p. 5417–5427, 10 jun. 2015.

TEIXEIRA, L. DE L.; HASSIMOTTO, N. M. A.; LAJOLO, F. M. Grumixama—*Eugenia brasiliensis* Lam. In: **Exotic Fruits**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 219–224.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, n. 4, p. 816–823, 15 dez. 2008.

WANG, J. et al. Analysis of Chemical Constituents of *Melastoma dodecandrum* Lour. by UPLC-ESI-Q-Exactive Focus-MS/MS. **Molecules**, v. 22, n. 3, p. 476, 17 mar. 2017.

ZOLA, F. G. et al. Mineral and centesimal contents, antioxidant activity and antimicrobial action of phenolic compounds from *Eugenia Brasiliensis* Lam. Pulp. **Food Science and Technology**, 18 abr. 2019.

### 3 CAPÍTULO III

#### **Bebida fermentada à base de extrato hidrossolúvel de soja (EHS) com potencial probiótico adicionada de polpa de grumixama, inulina e *whey protein***

##### **Resumo**

Os hábitos alimentares vêm sendo modificados ao longo do tempo e as bebidas fermentadas são amplamente aceitas e consumidas no mundo devido as suas características organolépticas. O extrato hidrossolúvel de soja (EHS) possui características nutricionais de grande valor, entretanto seu consumo é pequeno devido suas características sensoriais pouco atrativas. Neste sentido, os processos fermentativos vêm como uma estratégia interessante para suprir esta necessidade. O *Lactobacillus acidophilus* é um microrganismo probiótico comumente utilizado em diferentes processos fermentativos, incluindo em produtos de soja devido à suas propriedades benéficas a saúde humana. Outra importante estratégia é a adição de frutos que também têm se mostrado uma favorável alternativa para melhorar a palatabilidade. A fim de agregar valor nutricional a produtos alimentares como bebidas, ingredientes ditos funcionais, como inulina e *whey protein*, tem sido adicionados em diferentes produtos. Desta forma, o objetivo deste estudo foi a elaboração e caracterização físico-química de quatro formulações de bebida fermentada com potencial probiótico, a base de EHS, com adição de polpa de grumixama, e avaliação do desenvolvimento do *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) na presença de inulina e *whey protein*. Para isto foram efetuadas análises de acidez titulável, cinzas, lipídeos, proteína, pH, umidade além da atividade antioxidante e composição fenólica total das bebidas fermentadas. Foram realizadas análises (pH, acidez e contagem microbiana) em diferentes tempos durante 12 horas de fermentação e durante a vida de prateleira 28 dias. A linhagem *L. acidophilus* LA-5 se manteve em altas contagens, de  $10^7$  a  $10^{13}$  UFC/mL, durante todo o processo fermentativo. Os resultados obtidos referentes às análises físico-químicas de todas as bebidas fermentadas com o potencial probiótico à base de EHS em estudo foram satisfatórios. É importante destacar os observou-se que as bebidas F2 e F4 adicionadas de *whey protein*, apresentaram um teor proteico mais alto. Em relação à viabilidade microbiana as contagens se mantiveram de  $10^7$  a  $10^8$  UFC/mL no período

dos 28 dias de armazenamento, exceto para F3. Foi possível observar que as formulações sugeridas como promissoras apresentaram eficácia nos parâmetros avaliados para as bebidas que foram adicionadas dos ingredientes como a inulina e o *whey protein*.

**Palavras-chave:** probiótico, fermentação, viabilidade celular.

### **Abstract**

Human eating habits have been modified over time and fermented drinks are widely accepted and consumed worldwide due to their organoleptic characteristics. The water-soluble soy extract (SWE) has nutritional characteristics of great value, however its consumption is small due to its unattractive sensory characteristics. In this sense, fermentative processes are an interesting strategy to meet this need. *Lactobacillus acidophilus* is a probiotic microorganism commonly used in the production of different fermented drinks due to its beneficial properties to human health, as well as the addition of fruits has also been shown to be a favorable alternative to improve palatability. In order to add nutritional value to food products such as beverages, so-called functional ingredients, such as inulin and whey protein, have been added in some different products. Thus, the objective of this study was the elaboration and physicochemical characterization of four fermented drink formulations with probiotic potential, based on water-soluble soy extract, with addition of grumixama fruit pulp, and evaluation of the development of *Lactobacillus acidophilus* in the presence of inulin and whey protein. For this, analyzes of titratable acidity, ashes, lipids, protein, pH, moisture, in addition to antioxidant activity and total phenolic composition were performed. Analyzes (pH, acidity and microbial count) were performed at different times during 12 hours of fermentation and during the shelf life 28 days. The *L. acidophilus* LA-5 strain maintained in high counts, from  $10^7$  to  $10^{13}$  CFU / mL, throughout the fermentation process. The results obtained regarding the physical-chemical analyzes of all fermented drinks with the probiotic potential based on SWE under study were satisfactory. It is important to highlight the results regarding the protein values, which ranged from 2.70 to 4.80 g / 100 g of fermented beverage, as it was possible to observe that the drinks F2 and F4 that contained the whey protein, presented a protein content more high. Regarding microbial viability, the counts remained from  $10^7$  to  $10^8$  CFU / mL in the period of 28 days of storage except for F3.

It was possible to observe that the promising formulations presented efficacy in the parameters evaluated for the drinks that were added to the ingredients, such as inulin and whey protein.

**Keywords:** *probiotic, fermentation, cell viability.*

### 3.1 Introdução

Os hábitos alimentares vêm sendo modificados ao longo do tempo e atualmente os consumidores tem buscado por alimentos mais saudáveis, práticos e saborosos (VIEIRA et al., 2018). As bebidas fermentadas são amplamente aceitas no mundo e as características que mais as atraem para o consumo estão relacionadas às ofertas de diferentes sabores produzidos, devido a variadas concentrações de fatores organolépticos como aroma, sabor e odor (HUGENHOLTZ, 2013; RAMÍREZ-GUZMÁN et al., 2019).

O extrato hidrossolúvel de soja (EHS) é obtido por meio de extração aquosa de grãos de soja (*Glycine max*). Nesse extrato estão dispersos proteínas, carboidratos, lipídeos e alguns minerais, e seu consumo não é muito popular devido as suas características sensoriais, como adstringência e o sabor característico de feijão cru, não desejáveis (VIEIRA, 2017). Os processos fermentativos apresentam resultados relevantes na melhoria dos atributos sensoriais de produtos à base de soja e o EHS é considerado um meio adequado para o crescimento de bactérias lácticas devido à presença de oligossacarídeos, aminoácidos e peptídeo (HAULY; FUCHS; PRUDENCIO-FERREIRA, 2005). O gênero *Lactobacillus* é um dos mais utilizados em processos fermentativos (ROLIM, 2015; VILLALVA et al., 2017) sendo o *Lactobacillus acidophilus* uma linhagem considerada probiótica que quando consumido em quantidades suficientes pelo hospedeiro, tem a capacidade de modular a atividade metabólica do indivíduo, melhorar a composição da microbiota intestinal, aumentar a resposta imunológica e promover benefícios à saúde do ser humano (FIRMO; SOUSA; CAVALCANTI, 2019).

A adição de frutos à bebida, também tem se mostrado uma alternativa favorável, pois proporciona características sensoriais relevantes como aroma e sabor característicos, uma vez que a soja não apresenta normalmente uma boa

aceitabilidade (BRAGA; ASSIS NETO; VILHENA, 2012). A *Eugenia brasiliensis*, popularmente conhecida como grumixama ou cereja brasileira, é um fruto da família *Myrtaceae* (RODRIGUES et al., 2016) que possui características sensoriais atraentes e benefícios associados à saúde (ZOLA et al., 2019). Afim de agregar valor nutricional a produtos alimentícios, estudos tem sido feitos com a adição de ingredientes ditos funcionais em sua formulação (BESSA; SILVA, 2018). Deste modo surge a possibilidade da adição de prebióticos, como a inulina, que são componentes alimentares não viáveis que conferem benefícios à saúde do hospedeiro associados com a modulação da sua microbiota (PINEIRO et al., 2008). Assim como a inulina, o *whey protein* também tem surgido como alternativa de ingrediente que pode agregar valor ao produto. Estes contêm proteínas reconhecidas por suas propriedades nutricionais, principalmente relacionados à concentração de aminoácidos essenciais e de cadeia ramificada (YADAV et al., 2015).

Atualmente, há uma forte tendência para o desenvolvimento de produtos funcionais, probióticos e prebióticos (BIGLIARDI; GALATI, 2013). Dessa maneira, neste estudo o objetivo foi produzir uma bebida fermentada probiótica a base de extrato hidrossolúvel de soja com adição de grumixama, inulina e *whey protein*, bem como avaliar o desenvolvimento do *Lactobacillus acidophilus* LA-5 frente a adição destes ingredientes.

## **3.2 Material e Métodos**

### **3.2.1 Material**

#### **3.2.1.1 Matéria prima**

Para o desenvolvimento da formulação base da bebida fermentada, utilizou-se o Extrato Hidrossolúvel de Soja (EHS) marca Provesol SM-N, doados pela empresa Olvebra®, açúcar cristal adquirido no comércio local, estabilizante Goma arábica (Biogum) gentilmente doada pela empresa Biotecsul, polpas congeladas em São Paulo SP – Brasil (23° 27'53.94" sul e 45° 42'31.88" oeste), as quais permaneceram congeladas a -18 °C até o momento do uso. O *whey protein* utilizado foi o Lacprodan 9224, cedido pela Arla Foods Ingredients e a inulina da Orafiti GR, cedida pela SweetMix.



### 3.2.1.2 Cultura microbiana liofilizada

A cultura pura liofilizada utilizada para produção da bebida fermentada à base de EHS foi o *Lactobacillus acidophilus* (LA-5, Chr. Hansen), a qual foi gentilmente doada pelo Laboratório de Microbiologia Quantitativa de Alimentos pertencente ao Departamento de Ciência de Alimentos da Universidade de Campinas (UNICAMP), que permaneceu sob temperatura de congelamento à -18 °C até o momento do uso.

### 3.2.2 Métodos

#### 3.2.2.1 Padronização e obtenção do inóculo para elaboração das bebidas fermentadas à base de EHS e determinação do número de células viáveis

A padronização do inóculo para elaboração das bebidas fermentadas foi realizada conforme descrito por Bernucci et al. (2017). A partir da cultura liofilizada, um estoque de 7 log UFC. mL<sup>-1</sup> foi preparado, no qual foram feitas três ativações sucessivas do microrganismo à 24, 48 e 72 horas em 10, 20 e 300 mL de caldo Man, Rogosa & Sharp (MRS) (Acumedia, Lansing, MI, EUA) e incubados em estufa à 37 °C em condições de microaerofilia. A fim de garantir uma concentração do inóculo microbiano final mais alta com no mínimo 8 Log UFC.mL<sup>-1</sup>, a cultura foi centrifugada (Sigma 2K15, Osterode, Alemanha) por 15 minutos a 2792 xg, lavada com água destilada estéril e ressuspensa em 3 mL de água peptonada a 0,1%. A partir disso 1 mL da cultura foi congelada a -80 °C em tubos de 1,5 mL contendo 25% de glicerol.

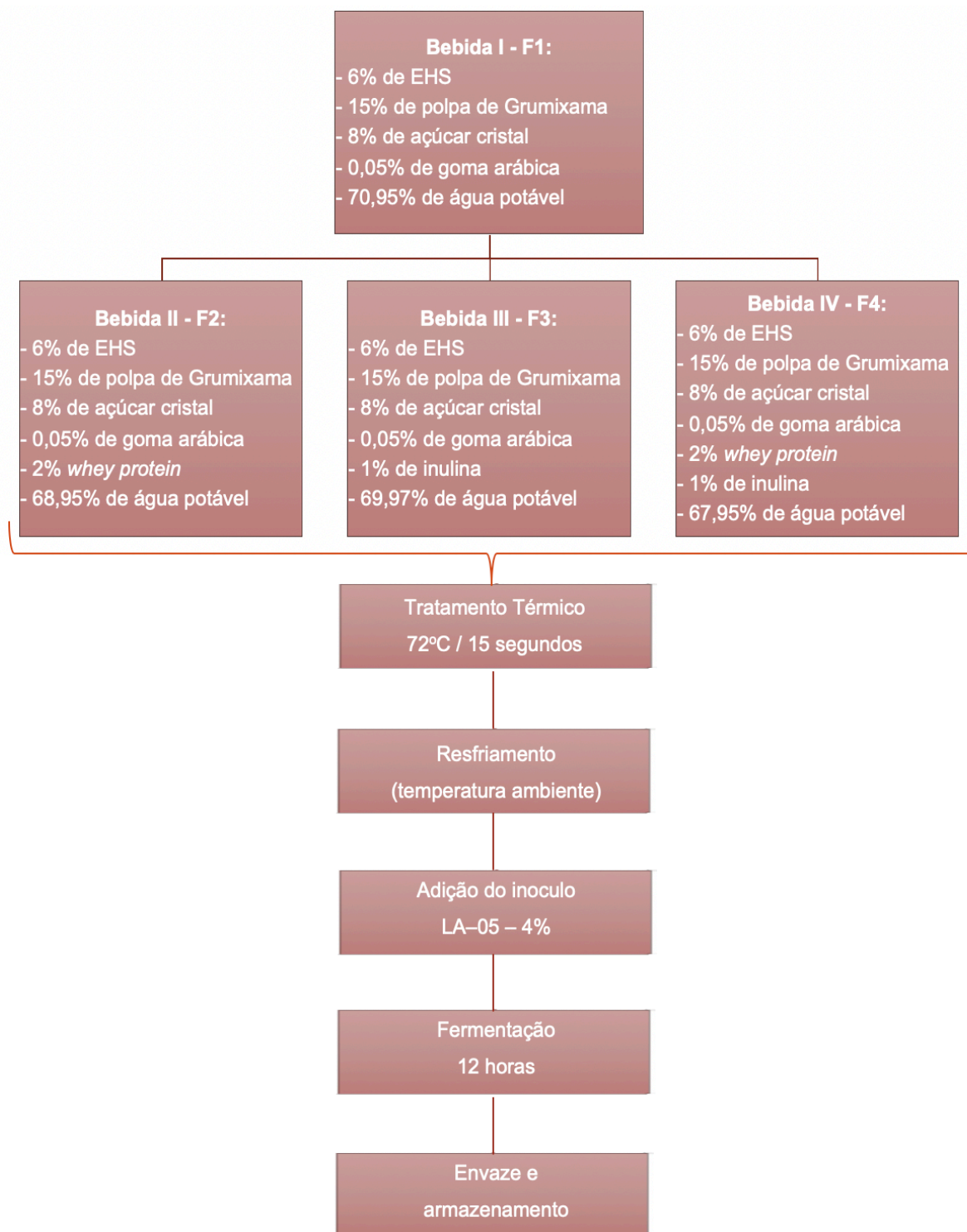
O número de células viáveis foi determinado conforme metodologia descrita por Vieira, (2017). Um tubo com volume de 1,5 mL da cultura probiótica congelada foi reativada em 10 mL de caldo MRS (Acumedia, Lansing, USA) por 24 h à 37 °C em microaerofilia. Após o período de ativação uma alíquota de 1 mL da cultura ativada foi adicionada em 9,0 mL de água peptonada (0,1%) estéril. As amostras foram homogeneizadas e a partir da diluição obtida (10<sup>-2</sup>) procedeu-se as diluições decimais seriadas, seguidas de plaqueamento em profundidade (*pourplate*) em meio MRS agar para contagem. As placas foram incubadas por 48 horas a 37 °C em condições de microaerofilia. Foram realizadas contagens do número de células viáveis por mililitros de células (UFC.mL<sup>-1</sup>).

### 3.2.2.2 Pré-ativação do probiótico e elaboração das bebidas fermentadas à base de EHS

Para o desenvolvimento das bebidas fermentadas a base de EHS, o inóculo do *Lactobacillus acidophilus* LA-5 foi utilizado como cultura única, entretanto fez-se necessário uma pré ativação do mesmo antes de ser adicionado na bebida. A pré ativação foi feita conforme descrita por Pereira; Maciel e Rodrigues (2011) onde foram transferidos assepticamente um tubo do estoque preparado anteriormente, com a cultura LA-5 para um tubo de ensaio contendo 10 mL de caldo MRS estéril. Os tubos foram incubados em estufa a 37 °C por 24 horas em microaerofilia. Após o tempo de incubação adicionou-se o inóculo diretamente nas bebidas na proporção de 4% do volume total produzido de bebida (VIEIRA, 2017). As formulações utilizadas para a elaboração das bebidas fermentadas foram definidas conforme testes prévios seguindo metodologia descrita por Guimarães et al. (2018) com modificações dos ingredientes. Foram desenvolvidas quatro formulações conforme Figura 3.1, sendo a bebida base (Bebida I – F1) composta por 6% de EHS, 15% de polpa de Grumixama, 8% de açúcar cristal, 0,05% de goma arábica/acácia, 4% da cultura microbiana do *Lactobacillus acidophilus* e o restante foi completado com água potável. A bebida II (F2) continha 6% de EHS, 15% de polpa de Grumixama, 8% de açúcar cristal, 0,05% de goma arábica/acácia, 4% da cultura microbiana do *Lactobacillus acidophilus*, 2% de *whey protein* e o restante foi completado com água potável. Já a terceira formulação (Bebida III – F3), foi composta de 6% de EHS, 15% de polpa de Grumixama, 8% de açúcar cristal, 0,05% de goma arábica/acácia, 4% da cultura microbiana do *Lactobacillus acidophilus*, 1% de inulina e o restante foi completado com água potável. Por fim, a bebida IV (F4) teve em sua formulação 6% de EHS, 15% de polpa de Grumixama, 8% de açúcar cristal, 0,05% de goma arábica/acácia, 4% da cultura microbiana do *Lactobacillus acidophilus*, 2% de *whey protein*, 1% de inulina e o restante foi completado com água potável.

Os ingredientes utilizados para a elaboração das bebidas, exceto a cultura microbiana, foram pesados e homogeneizados com agitador do tipo *mixer* (Suggar, MX2021BR). Aplicou-se em seguida tratamento térmico a 75 °C por 15 segundos. Após resfriamento a temperatura ambiente, o probiótico foi inoculado e a bebida incubada a 37 °C por 12 horas em agitador do tipo *shaker* (Tecnal – TE-424) sob agitação de 122 rpm. Aproximadamente 40 mL das amostras foram envasadas em

frascos de polipropileno previamente higienizados, tampados e armazenados sob temperatura de refrigeração 7 °C, de onde as amostras foram retiradas nos tempos de 0, 7, 14, 21 e 28 dias para a realização das análises referentes a viabilidade.



**Figura 3.1** Fluxograma de processamento das bebidas fermentadas a base de EHS

### 3.2.2.3 Análise físico-química

As análises físico-químicas da polpa das bebidas fermentadas foram realizadas no Laboratório de Química de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. Os lipídeos foram analisados empregando-se a mistura de metanol, clorofórmio e água de acordo com o método de extração de Bligh & Dyer (1959). A acidez titulável, cinzas, pH, proteínas e umidade foram determinados, em triplicata, segundo os métodos descritos pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2012).

### 3.2.2.4 Determinação do teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante

Uma extração prévia foi realizada conforme Rufino et al. (2010), pesando 25 g da bebida em um tubo graduado e adicionado de 40 mL de solução de metanol a 50%. Após 1 hora de repouso a amostra foi centrifugada a 5.000  $g$  durante 22 minutos e o sobrenadante transferido para um balão volumétrico de 100 mL. Em seguida adicionou-se 40 mL de solução de acetona a 70% e o procedimento foi repetido. O sobrenadante foi adicionado ao obtido da primeira extração e o volume completado para 100 mL.

A determinação do teor de compostos fenólicos totais foi realizada utilizando reagente de *Follin-Ciocalteu*. Adicionou-se em um tubo de ensaio 0,75 mL do extrato da amostra, 3,5 mL de água destilada e 0,25 mL do reagente de *Folin-Ciocalteu* seguido de agitação em agitador tipo vortex. Após 3 min foram adicionados 0,5 mL da solução de carbonato de sódio a 7,5% seguido de agitação. Após o período de 1 hora de repouso ao abrigo da luz, foi realizada a leitura no espectrofotômetro a 750 nm (RUFINO et al., 2010).

A capacidade antioxidante pelo radical ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) foi realizada de acordo com o método de Rufino et al., (2007). Em um tubo de ensaio foram adicionados 30  $\mu$ L do extrato da amostra e 3 mL de radical ABTS. Após 6 min de incubação à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, foi realizada a leitura no espectrofotômetro a 734 nm das amostras e da curva de calibração do *trolox*.

### 3.2.2.5 Análise da viabilidade de *L. acidophilus* LA 5 durante a vida de prateleira

A análise da viabilidade de *L. acidophilus* LA-5 na bebida fermentada a base de EHS foi realizada durante a vida de prateleira do produto final nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias. Uma alíquota de 1 mL das amostras nos diferentes tempos foi diluída em 9 mL água peptonada tamponada 0,1% (diluição  $10^{-1}$ ). Em sequência foram realizadas as diluições decimais seriadas das amostras e em seguida o plaqueamento utilizando a técnica *pour plate* em ágar MRS. As placas foram incubadas em estufa a  $37\pm 1$  °C por 48 horas em condições de microaerofilia. Após o tempo de incubação realizou-se a contagem celular microbiana e os resultados foram expressos em UFC.mL<sup>-1</sup> de bebida.

### 3.2.2.6 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata. O conjunto de dados das bebidas fermentadas correspondentes às variáveis dependentes foi submetido à análise de normalidade pelo teste de *Shapiro-Wilk*, e para avaliar a homocedasticidade os dados foram submetidos a análise pelo teste *Bartlett* ambos ao nível de 5% de significância. Quando as variáveis atendem aos requisitos de normalidade e homocedasticidade maior que 0,05, aplica-se ANOVA e teste de *Tukey*, quando as variáveis não apresentam homocedasticidade e normalidade aplica-se teste de *Kruskal-Wallis*. Para a análise dos dados e tratamento estatístico utilizou-se o *software* R versão 3.5.1 (R CORE TEAM, 2018). Para a determinação de parâmetros cinéticos da fermentação para descrever o comportamento da multiplicação microbiana os dados foram submetidos a análise no programa *DMFit*.

### 3.3 Resultados e discussão

#### 3.3.1 Análise físico-química

Os resultados das análises físico-químicas das quatro formulações das bebidas fermentadas à base de EHS com potencial probiótico podem ser observados conforme dados apresentados na Tabela 3.1.

Os teores de umidade variaram de 81,92 a 84,52%. A formulação F4 apresentou menor teor de umidade, este resultado já era esperado, uma vez que esta formulação apresentava maior conteúdo de ingredientes sólidos (17,05% dos ingredientes da formulação). Estes valores são relativamente maiores que os encontrados por Santos et al. (2017) de 76,42% e Haully; Fuchs; Prudencio-Ferreira, (2005) de 77,85% em bebidas fermentadas elaboradas à base de soja. Os teores de umidade do presente estudo foram próximos à aqueles encontrados por Lehn; Kolling e Souza (2014) que observaram 85,41% de umidade na elaboração de bebidas do tipo “iogurte” de soja. As diferenças encontradas em relação aos parâmetros avaliados, tanto entre as quatro formulações do presente estudo, quanto na comparação com outros trabalhos, podem ser explicadas devido à quantidade de ingredientes utilizadas nas formulações estabelecidas como também pela forma de produção, ou seja, pelas condições de fermentação e pelo tipo de matéria prima utilizada. Não houve diferença significativa entre as amostras F1, F2 e F3 nem entre F2, F3 e F4 entretanto as formulações F1 e F4 apresentaram diferença estatística significativa entre si provavelmente porque a F4 continha os dois ingredientes inulina e *whey*, mostrando que os mesmos exerceram influência em relação a umidade.

O teor de proteína variou de 2,7 a 4,80 g/100 g de bebida. As formulações F2 e F4 apresentaram valores relativamente maiores que as demais, o que já era esperado pois nestas foram adicionadas quantidades de *whey protein* em suas formulações. Este ingrediente é caracterizado por ser composto pelas proteínas presentes no soro do leite (VASCONCELO; BACHUR; ARAGÃO, 2018) exercendo, assim, um efeito benéfico de aumento do teor de proteínas quando associado a bebida. Além disso o teor proteico do EHS, também usado na elaboração das bebidas, pode vir a contribuir neste parâmetro dependendo da sua forma de extração (VIEIRA, 2017). Estatisticamente apenas a formulação F2 se diferiu da F1, estes resultados eram esperados pois esta bebida apresentava como ingrediente adicional o *whey*.

Desta forma, pode-se sugerir que este ingrediente contribui de forma positiva, uma vez que pode agregar valor proteico a bebida. Estes resultados também foram observados por Rocha et al. (2017) em bebidas formuladas com *whey protein* onde mostraram que quanto maior a quantidade deste ingrediente adicionado maior foi o teor proteico obtido.

Quanto ao teor de lipídeos, os valores variaram de 1,74 a 2,01. Estes valores são relativamente menores aos apresentados na literatura, como observado no estudo de Gazola et al. (2016) que encontraram valores de 0,21 a 0,23 % para bebidas elaboradas a partir de soja, porém com formulações diferentes (ingredientes e quantidades) o que explica a distinção de valores. Houve diferença significativa entre as amostras F1 e F4, sendo que as demais não demonstraram diferença estatística significativa. Isto pode ser explicado devido ao fato da bebida F4 possuir todos os ingredientes propostos e a F1 elaborada apenas a partir da formulação base. Além disto, o próprio EHS, bem como os demais ingredientes possuem baixo teor de lipídeos e são ricos em proteínas, ferro, niacina e possui baixo teor de carboidratos (RODRÍGUEZ-ROQUE et al., 2013).

As bebidas apresentaram teor de cinzas variando de 0,35 a 0,46%, havendo diferença significativa apenas entre as formulações F1 e F4. Estes valores são relativamente menores que aqueles encontrados na literatura, de 0,79 a 2,07% (GAZOLA et al., 2016; VIEIRA, 2017), para bebidas fermentadas a base de extrato hidrossolúvel de soja por bactérias lácteas contudo com diferentes formulações. Por outro lado, os resultados encontrados são maiores que os teores descritos por Marin et al. (2014) em bebida fermentada probiótica de soja, de 0,13%, mostrando mais uma vez que, a matéria prima que compõe a formulação é um fator crucial no perfil das bebidas.

As bebidas após as 12 h do processo fermentativo apresentaram baixos valores de pH variando de 3,82 a 3,98 sem diferença significativa entre as formulações. Na elaboração de bebidas fermentadas a base de EHS, o pH final deve ser próximo de 4,6, uma vez que as proteínas se tornam insolúveis, atingindo maior estabilidade do gel formado (VIEIRA, 2017). Todas as formulações apresentaram esta característica. A acidez variou de 0,59 a 0,78 g de ácido láctico/100 g de bebida, sendo que a formulação F2 (0,59) diferiu estatisticamente apenas da F1 (0,78). A acidez e o pH são inversamente proporcionais, quanto menor o valor de pH maior será a acidez.

As formulações corroboram com esta afirmação pois, quando os valores de pH foram menores, F1 e F3, os valores de acidez foram maiores assim como quando o pH foi maior, F2 e F4, os valores de acidez se apresentaram menores. Valores mais baixos de pH e maiores de acidez contribuem para a conservação das bebidas (RINALDI et al., 2017), pois poucos microrganismos possuem a capacidade de se desenvolver em meio ácido sendo assim mais sensíveis a estas condições (SPOLIDORIO; DUQUE, 2013)

**Tabela 3.1** Composição físico-química das bebidas fermentadas, em base úmida.

Observação	Formulação I F1	Formulação II F2	Formulação III F3	Formulação IV F4
Acidez titulável (g ácido láctico/100 g de bebida)	0,78 <sup>a</sup> ± 0,02	0,59 <sup>b</sup> ± 0,02	0,71 <sup>a,b</sup> ± 0,02	0,64 <sup>a,b</sup> ± 0,00
Cinzas (%)	0,35 <sup>a</sup> ± 0,03	0,44 <sup>a,b</sup> ± 0,01	0,38 <sup>a,b</sup> ± 0,03	0,46 <sup>b</sup> ± 0,01
Lipídeos (g/100 g de bebida)	1,74 <sup>a</sup> ± 0,06	1,74 <sup>a,b</sup> ± 0,04	1,88 <sup>a,b</sup> ± 0,01	2,01 <sup>b</sup> ± 0,06
pH	3,82 <sup>a</sup> ± 0,06	3,98 <sup>a</sup> ± 0,08	3,82 <sup>a</sup> ± 0,08	3,92 <sup>a</sup> ± 0,03
Proteínas (g/100 g de bebida)	2,70 <sup>a</sup> ± 0,05	4,80 <sup>b</sup> ± 0,11	3,09 <sup>a,b</sup> ± 0,09	4,52 <sup>a,b</sup> ± 0,05
Umidade (%)	84,52 <sup>a</sup> ± 0,10	82,40 <sup>a,b</sup> ± 0,14	83,87 <sup>a,b</sup> ± 0,14	81,92 <sup>b</sup> ± 0,19

Valores médios de triplicatas ± desvio padrão expressos em base úmida.

### 3.3.2 Composição fenólica total e atividade antioxidante

A composição fenólica total e a atividade antioxidante das bebidas estão representadas na Tabela 3.2.

A composição fenólica total variou de 20,02 a 25,41 mg/100 g de polpa. A F2 apresentou valor ligeiramente maior que as demais (25,41) e a F4 menor (20,02), porém, não houve diferença estatística entre elas. Desta forma, observa-se que a adição de outros ingredientes não exerceu influência negativa ou positiva nos resultados relacionados à composição fenólica total das bebidas.

Para a atividade antioxidante das bebidas variou de 351,21 a 1583,91  $\mu\text{M}/100$  g de polpa. Com exceção da F1, as formulações apresentaram comportamento



parecido não havendo diferença estatística significativa entre si ( $p < 0,05$ ). A F1 apresentou atividade antioxidante bem menor que as demais 351,21  $\mu\text{M}/100\text{ g}$  de polpa. Coincidentemente esta era a formulação base que não teve a adição da inulina e nem do *whey protein*. A F3 apresentou o maior teor de atividade antioxidante (1583,91  $\mu\text{M}/100\text{ g}$  de polpa) quando comparada com as demais, esta bebida tinha em sua formulação a adição do prebiótico inulina. Esses resultados corroboram com o descrito por Silva, (2019) para bebida fermentada a base de soja, nas quais as formulações que contiveram o prébiotico apresentaram aumento na capacidade antioxidante, mostrando a relação da adição da inulina com a atividade antioxidante.

**Tabela 3.2** Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante das bebidas fermentadas

Observação	Formulação I F1	Formulação II F2.	Formulação III F3	Formulação IV F4
Compostos fenólicos totais (mg/100g de polpa)	21,72 <sup>a</sup> $\pm$ 0,65	25,41 <sup>a</sup> $\pm$ 0,49	23,84 <sup>a</sup> $\pm$ 0,08	20,02 <sup>a</sup> $\pm$ 0,37
Atividade antioxidante ( $\mu\text{M}/100\text{ g}$ de polpa)	351,21 <sup>a</sup> $\pm$ 3,95	1269,14 <sup>a</sup> $\pm$ 4,15	1583,91 <sup>a</sup> $\pm$ 5,92	1314,39 <sup>a</sup> $\pm$ 11,64

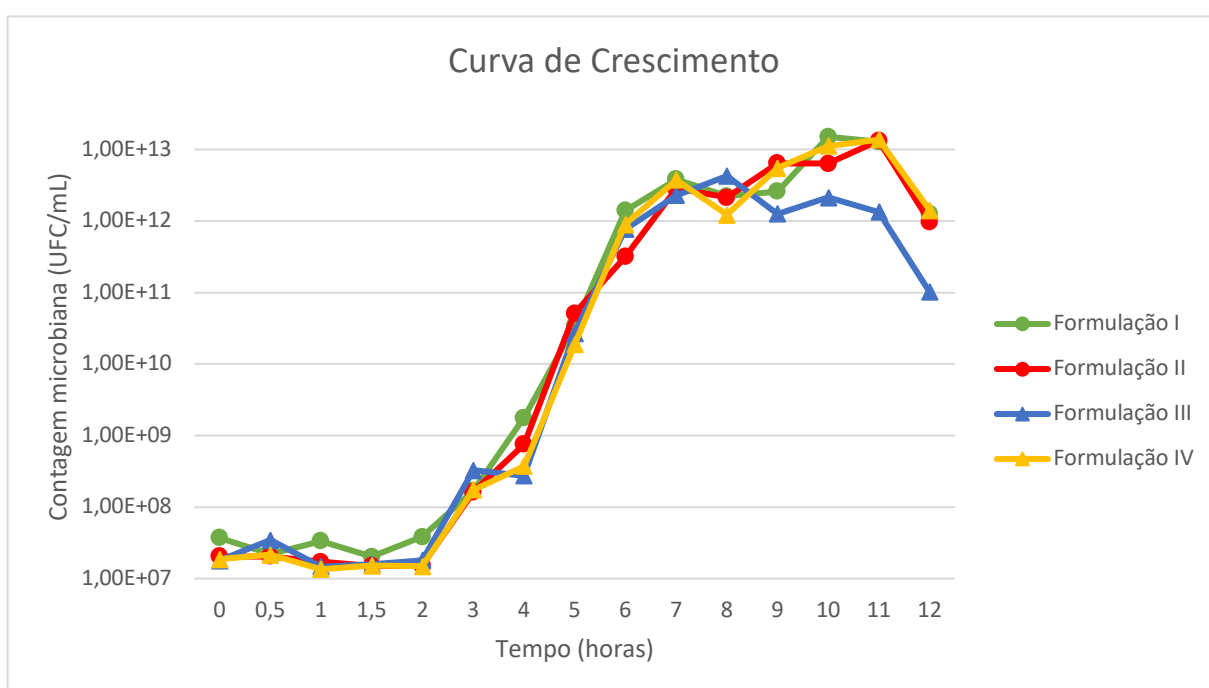
Valores médios de triplicatas  $\pm$  desvio padrão.

### 3.3.3 Comportamento microbiano durante o processo fermentativo

O processo fermentativo consiste em três fases a fase LAG, fase log e estacionária. A fase de latência ou LAG é caracterizada pela adaptação do microrganismo ao novo meio realizada através da inoculação da cultura. Esta fase depende da composição da matriz, que quando estes encontram as condições ideais para a sua multiplicação, dá-se o fim da fase lag e inicia-se a fase logarítmica (log), na qual inicia-se o crescimento progressivo até que o número de células viáveis seja igual ao de células não viáveis. Por fim, identifica-se a fase estacionária quando inicia a fase de declínio, ou seja, quando há o fim do ciclo microbiano e diminuição do número de células (CARVALHO, 2010; VÁZQUEZ-LIMA et al., 2014).

Durante o processo de fermentação para a produção da bebida fermentada a base de EHS foi construída uma curva referente ao crescimento microbiano da

linhagem de *L. acidophilus* LA-5 conforme apresentado na Figura 3.2. Pode-se observar que a multiplicação microbiana deu início a partir de duas horas de fermentação. As formulações apresentaram resultados semelhantes observando um desenvolvimento microbiano constante até o período de 8 horas de fermentação. Após este período a F3 apresentou declínio na multiplicação microbiana mostrando um comportamento diferente em relação as outras formulações, enquanto as demais apresentaram diminuição da contagem microbiana a partir de 11 horas.



**Figura 3.2** Curva de crescimento da linhagem *Lactobacillus acidophilus* LA-5

Os resultados da contagem microbiana obtida por meio de plaqueamento em meio MRS foram transformados em base logarítmica e submetidos a modelagem matemática no programa DMFit, o qual permite avaliar parâmetros de multiplicação microbiana conforme Tabela 3.3.

Não foi observada diferença significativa entre as formulações, entretanto a F4 apresentou taxa de crescimento maior que as demais. O tempo médio de adaptação foi de 2,95 horas sendo que a F4 também apresentou o maior tempo de adaptação. A curva de crescimento microbiano (Figura 3.2), teve início com uma contagem de  $10^7$  UFC.mL<sup>-1</sup> alcançando uma população final de aproximadamente a  $10^{13}$  UFC.mL<sup>-1</sup>.

Observa-se que o *L. acidophilus* LA-5 teve uma adaptação e desenvolvimento favorável nas diferentes formulações bem como nas condições de fermentação. Infere-se também, que a inulina exerceu melhor influência sobre a multiplicação desta linhagem probiótica quando presente na mesma formulação que havia *whey protein*.

Outro parâmetro avaliado foi o coeficiente de determinação  $R^2$  que representa o erro médio calculado, sendo que valores de  $R^2$  próximos a 1 sugerem que o modelo caracteriza-se como o que mais se adequa ao comportamento de multiplicação do microrganismo (PERINI, 2014). Para as formulações avaliadas este parâmetro variou de 0,94 a 0,98 demonstrando mais uma vez que as formulações propostas foram adequadas para o processo de fermentação. A F1 que apresentou valor mais próximo a 1 e a F3 com valor menor quando comparada as demais, entretanto ainda pode ser considerada uma formulação com condições adequadas para o processo fermentativo.

**Tabela 3.3** Parâmetro de crescimento da linhagem de *Lactobacillus acidophilus* LA-5

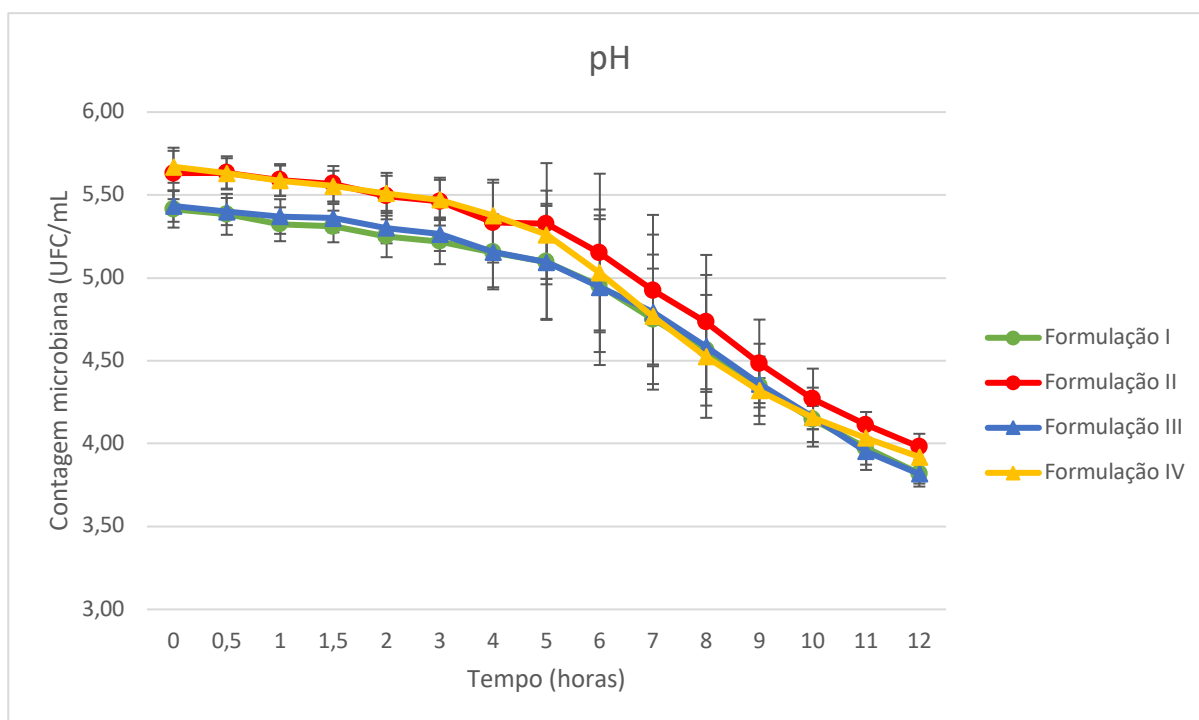
Observação	Formulação I	Formulação II	Formulação III	Formulação IV
	F1	F2	F3	F4
Rate (Taxa de crescimento)	1,77 <sup>a</sup> ± 0,56	1,36 <sup>a</sup> ± 0,26	1,49 <sup>a</sup> ± 0,44	2,00 <sup>a</sup> ± 0,58
Lag (Tempo de adaptação)	2,61 <sup>a</sup> ± 0,66	2,71 <sup>a</sup> ± 0,28	3,07 <sup>a</sup> ± 0,48	3,44 <sup>a</sup> ± 0,48
R2 (coeficiente de determinação)	0,98	0,97	0,94	0,97

Valores médios de triplicatas ± desvio padrão.

Em processos fermentativos, o pH é utilizado como fator de monitoramento da evolução da fermentação, assim como durante o armazenamento do produto final (VIEIRA, 2017). Avaliando o comportamento do pH durante a fermentação pode-se observar, conforme Figura 3.3, que este foi diminuindo ao longo das horas. Este parâmetro variou de aproximadamente 5,7 até o pH final de 3,82, como mostrado no

item 3.3.1, e todas as formulações se comportaram de forma similar. O *Lactobacillus acidophilus* LA-5 possui pH ótimo de crescimento na faixa de 5,5 a 6,0 e temperatura ótima de 35 a 40 °C (RADDATZ, 2018) valores estes garantidos neste estudo.

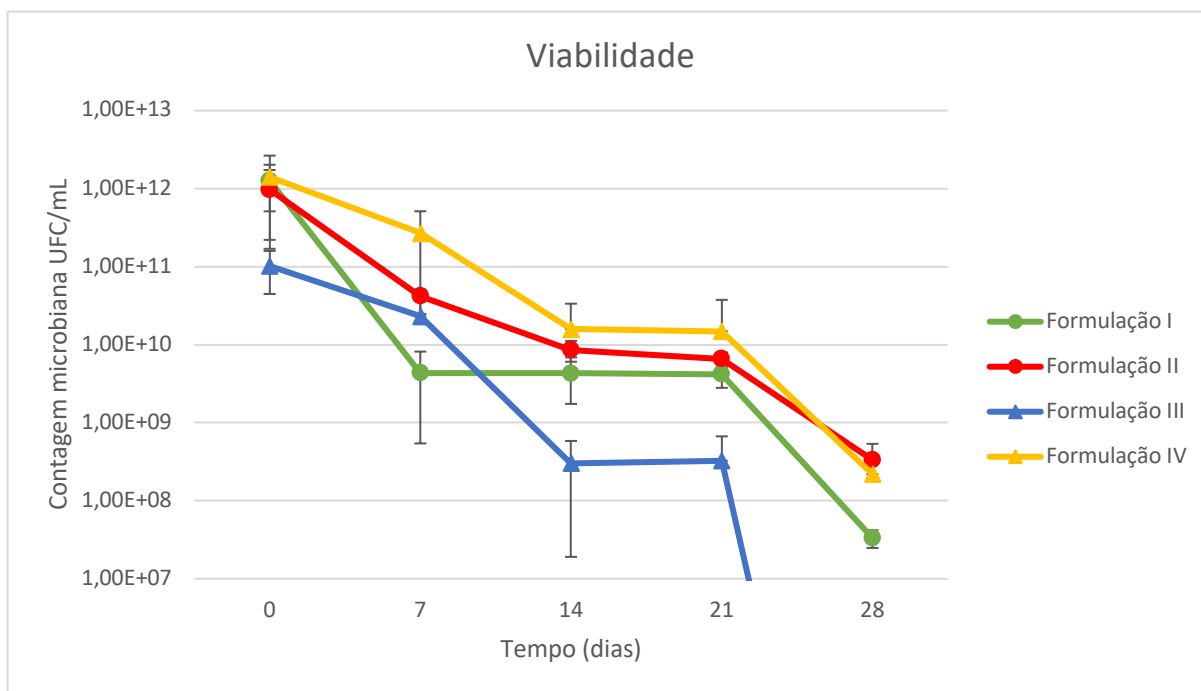
O *Lactobacillus* é um dos gêneros mais empregados na indústria de alimentos (SOUZA, 2014) e em pesquisas como bebidas a base de castanha de caju (FIRMO; SOUSA; CAVALCANTI, 2019), bebida a base de extrato hidrossolúvel de amêndoa de baru (FIORAVANTE; HIANE; BRAGA NETO, 2017), água de coco (BANDALAN; GALVEZ, 2016), bebida de soja (BATTISTINI, 2015; MARIN et al., 2014), suco misto de manga e uva (SOUZA, 2014) e chocolates (MAZETTI et al., 2014).



**Figura 3.3** Curva de pH

### 3.3.4 Análise da viabilidade de *L. acidophilus* LA-5 durante a vida de prateleira

A viabilidade celular da linhagem *L. acidophilus* LA-5 utilizada para a produção da bebida fermentada neste estudo foi avaliada ao longo dos 28 dias de armazenamento sob refrigeração 4 °C (Figura 3.4).



**Figura 3.4** Viabilidade celular microbiana durante o tempo de armazenamento

Observa-se na Figura 3.4 que para cada formulação houve um comportamento diferente, apesar de que todas as formulações apresentaram um decréscimo na contagem microbiana ao longo do tempo. Entretanto a F3 obteve uma diminuição mais rápida apresentando contagem apenas até o 21º dia de armazenamento. Isto mostra que a adição de apenas a inulina sozinha não foi eficiente para manter a viabilidade do microrganismo durante os 28 dias de armazenamento. Porém, quando a inulina foi adicionada juntamente com o *whey protein* (F4), houve um comportamento satisfatório em relação a manutenção da contagem das células, mostrando que quando adicionados os dois ingredientes o resultado é melhor que quando utilizados separadamente. Isto também foi observado para os resultados referentes à taxa de crescimento. Este comportamento corrobora com a afirmação de que a inulina e o *whey protein* quando adicionados na formulação de bebidas criam um ambiente protetor permitindo a sobrevivência das células microbianas (GUIMARÃES et al., 2018b). Tal fato contribui para que haja a manutenção de uma das características probióticas do produto que é a contagem microbiana adequada.

Ainda, ao avaliar as formulações, um melhor desempenho foi observado na F4, na qual houve a adição conjunta de inulina e *whey protein*. O comportamento do microrganismo frente a adição dos ingredientes de forma separada, como na F2

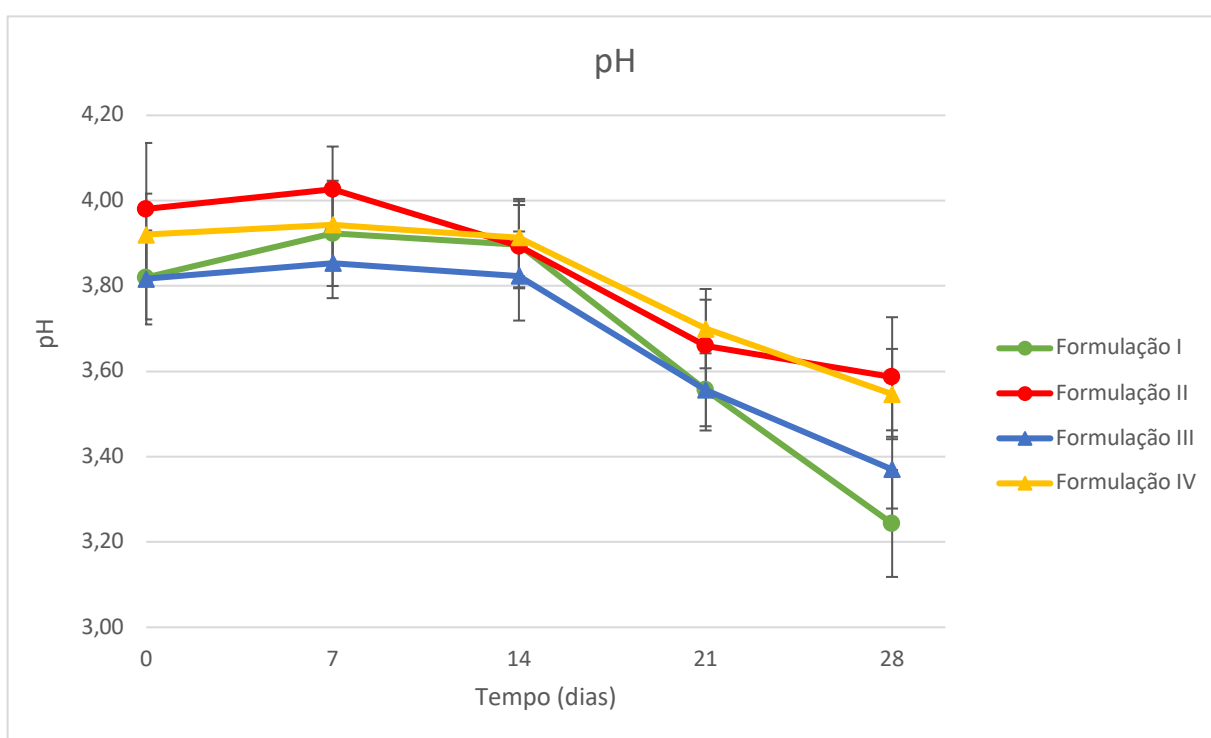
(somente com *whey protein*) foi possível observar um comportamento muito parecido com a F4. Entretanto a F3 (que continha apenas inulina) se comportou diferente da F4. Por mais que a inulina seja conhecida como um agente de contribuição do crescimento microbiano e protetor das células (GUIMARÃES et al., 2018b; PERDANA et al., 2014) viabilizando assim as características da bebida, este resultado pode ser explicado pois ao longo do armazenamento a bebida estava sob refrigeração e o *whey* além das propriedades citadas, é também considerado um agente protetor a baixas temperaturas usado em crioprotetores (LI et al., 2019) fazendo com que as formulações F2 e F4 apresentem melhor manutenção da viabilidade.

Avaliando a formulação F1, esta também apresentou um comportamento satisfatório quanto a manutenção da viabilidade das células apesar de um pouco diferente da F2 e bem próxima as demais (F3 e F4). Este comportamento pode ser devido a presença do EHS, goma arábica/acácia e da polpa do fruto que podem também contribuir com os fatores de viabilidade do microrganismo (HUANG et al., 2017<sup>a</sup>). A contagem celular microbiana teve um decréscimo drástico entre o tempo 0 (zero) e o tempo 7 (sete) de 3 ciclos log. Após sete dias de armazenamento houve uma estabilidade no comportamento dos microrganismos até o 21<sup>o</sup> dia no qual a contagem diminuiu mais uma vez passando de  $10^9$  para  $10^7$  UFC.mL<sup>-1</sup>. Esta formulação (F1) não continha nenhum dos ingredientes, *whey protein* e inulina, o que pode ter contribuído para este comportamento. Foi possível observar também que a F4 apresentou melhor viabilidade da cultura ao longo do tempo de armazenamento, bebida esta que continha inulina e *whey protein* em sua formulação.

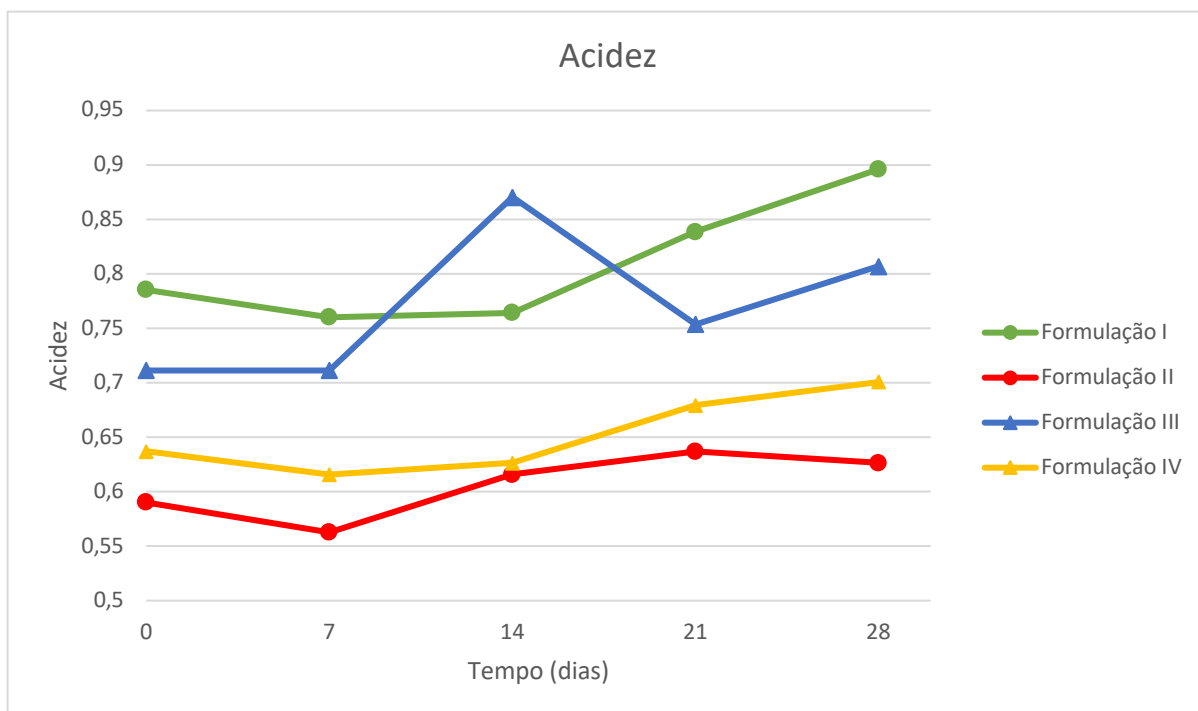
Todas as formulações apresentaram um declínio no número de células microbianas ao longo do tempo de armazenamento conforme esperado. Estes resultados estão de acordo com aqueles observados em outros estudos relatados na literatura, que também realizaram monitoramento da contagem microbiana em bebidas fermentadas a base de soja e do extrato hidrossolúvel de soja durante a vida de prateleira (EVANGELISTA, 2011; KOPPER, 2009; VIEIRA, 2017). Segundo Jay (2005) a medida que há um aumento do número de bactérias, a quantidade de nutrientes ficará menor e mais rapidamente os nutrientes começarão a diminuir, resultando na redução do metabolismo, logo as bactérias começarão a morrer entrando para a fase de declínio. Da mesma forma, Mondragón-Bernal (2004), relata que quando o *L.acidophilus* é utilizado em altas concentrações celulares, estes

consomem com alta eficácia os substratos presentes, ocorrendo uma queda ainda mais rápida do pH e conseqüentemente aumento da acidez, o que provoca um declínio do crescimento celular.

O pH e acidez durante o período de estocagem também são aspectos importantes a serem observados. Durante este período, os valores de pH diminuíram enquanto a acidez aumentou ou conforme pode ser observado nas Figuras 3.5 e 3.6 respectivamente.



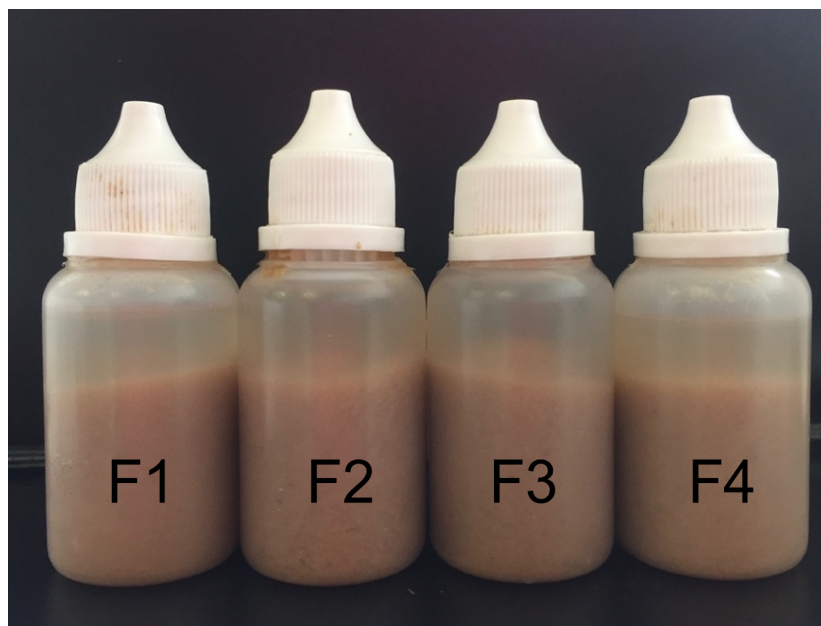
**Figura 3.5** pH das bebidas durante o tempo de armazenamento



**Figura 3.6** Acidez das bebidas durante o tempo de armazenamento

Essa diminuição do pH ao longo do estudo de viabilidade microbiana das bebidas fermentadas durante a vida de prateleira chegou a uma média de 3,44 no 28º dia no qual observou-se uma separação de fases em todos os produtos como demonstrado na Figura 3.7. Este fenômeno pode ser explicado pelo fato de que em pH abaixo de 4,0 o produto torna-se muito ácido fazendo com que ocorra a precipitação das proteínas presentes no extrato hidrossolúvel de soja (PEREIRA, M. O., BAMPI, M., RODRIGUES, F.T., SANTA, O. R. D., DALLA SANTA, H. S., RIGO, 2009). Desta forma, o tempo de fermentação prolongado contribuiu ainda mais para a redução do pH promovendo fenômeno de separação de fases das bebidas, devido a desestabilização das estruturas proteicas e consequente sinérese.





**Figura 3.7** Bebidas fermentadas durante o período de armazenamento (28 dias)

### 3.4 Conclusão

A adição dos ingredientes inulina e *whey protein* nas formulações das bebidas à base de EHS em estudo contribuíram de forma positiva após a fermentação no que diz respeito aos parâmetros físico-químicos, funcionais e de viabilidade analisados, podendo ser observado resultados melhores quando utilizados juntos na mesma formulação. Podemos assim dar destaque ao teor proteico das bebidas ao fim do processo fermentativo (12 horas) e a viabilidade do microrganismo probiótico ao fim de 28 dias de armazenamento.

No que diz respeito a atividade antioxidante, ao adicionar a polpa de grumixama esperava-se que este parâmetro apresentasse valor bem elevado, uma vez que esta possui indicativo de melhoria quanto a esse parâmetro. Isto pode ser justificado pela pequena quantidade da polpa adicionada à formulação (15%) que não foi possivelmente suficiente. Entretanto, em relação aos ingredientes inulina e *whey* adicionados nas formulações foi observado uma melhoria em todos os resultados físico-químicos, funcionais e de viabilidade.

Durante o processo fermentativo todas as formulações apresentaram crescimento dos microrganismos probióticos (LA-5) satisfatório, ou seja, houve a multiplicação do microrganismo ao longo do tempo, o mesmo foi observado ao fim da

fermentação onde as contagens apresentaram valores adequados, segundo a literatura, sendo estes acima de  $10^7$  UFC/mL.

Desta forma, conclui-se que as formulações são promissoras para o desenvolvimento de bebidas fermentadas a base de extrato hidrossolúvel de soja, uma vez que, apresentaram eficácia no desenvolvimento e viabilidade do microrganismo probiótico durante o período de armazenamento 28 dias sob refrigeração. Além disso, houve um efeito positivo dos ingredientes adicionados como inulina e *whey protein* em fatores nutricionais avaliados. No entanto, novos estudos com relação a efetividade dos efeitos probióticos e funcionais das bebidas com outros testes, e um estudo sobre a estabilidade afim de evitar o fenômeno de sinérese da bebida faz se necessárias para esses tipos de produtos antes da comercialização.

### 3.5 Referências

AOAC, A. OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 19. ed. Washington D.C.: [s.n.]. 2012.

BANDALAN, E.; GALVEZ, L. Optimization of Coconut Water Beverage Fermented with *Lactobacillus acidophilus*. **Annals of Tropical Research**, p. 196–202, 1 jul. 2016.

BATTISTINI, C. **Utilização de soja verde para a obtenção de bebida fermentada simbiótica**. [s.l.] (Dissertação de Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, SP, 2015.

BERNUCCI, B. S. P. et al. Effect of microencapsulation conditions on the viability and functionality of *Bifidobacterium longum* 51A. **LWT**, v. 80, p. 341–347, jul. 2017.

BESSA, M. M.; SILVA, A. G. F. DA. Elaboração e caracterização físico-química e sensorial de iogurte prebiótico de tamarindo. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, n. 4, p. 185–195, 14 maio 2018.

BIGLIARDI, B.; GALATI, F. Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 31, n. 2, p. 118–129, jun. 2013.

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

BRAGA, A. C. C.; ASSIS NETO, E. F.; 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**, v. 14, n. 1, p. 77–84, 30 mar. 2012.

CARVALHO, I. T. DE. **Microbiologia básica**. Recife: [s.n.]. 2010.

EVANGELISTA, S. R. **Estudo da fermentação e vida-de-prateleira de bebida simbiótica fermentada a base de soja**. [s.l.] Dissertação mestrado - Universidade Estadual de Campinas, 2011.

FIORAVANTE, M. B.; HIANE, P. A.; BRAGA NETO, J. A. Elaboration, sensorial acceptance and characterization of fermented flavored drink based on water-soluble extract of baru almond. **Ciência Rural**, v. 47, n. 9, 2017.

FIRMO, A. Q.; SOUSA, M. M. DE; CAVALCANTI, M. D. S. Desenvolvimento e caracterização de bebidas produzidas à base de castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 1, p. 84911645, 1 jan. 2019.

GAZOLA, M. B. et al. Elaboração e caracterização de bebidas à base de extrato hidrossolúvel de soja com polpa de pitanga, amora e mirtilo. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 34, n. 2, 9 jun. 2016.

GUIMARÃES, J. T. et al. Physicochemical changes and microbial inactivation after high-intensity ultrasound processing of prebiotic whey beverage applying different ultrasonic power levels. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 44, p. 251–260, jun. 2018.

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

HUANG, S. et al. Spray drying of probiotics and other food-grade bacteria: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 63, p. 1–17, maio 2017.

HUGENHOLTZ, J. Traditional biotechnology for new foods and beverages. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 24, n. 2, p. 155–159, abr. 2013.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. Sexta ed. [s.l.: s.n.]. 2005.

KOPPER, Â. C. **Bebida simbiótica elaborada com farinha de Bocaiúva (Acrocomia aculeata) e Lactobacillus acidophilus incorporadas ao extrato hidrossolúvel de soja**. [s.l.] (Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná), 2009.

LEHN, D. N.; KOLLING, A.; SOUZA, C. F. V. DE. Elaboração, caracterização e aceitabilidade de “iogurte” de soja com adição de prebiótico. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 8, n. 2S, 28 dez. 2014.

LI, W. et al. Encapsulation of *Lactobacillus plantarum* in cellulose based microgel with controlled release behavior and increased long-term storage stability. **Carbohydrate Polymers**, v. 223, p. 115065, nov. 2019.

MARIN, M. et al. Caracterização físico-química e sensorial de bebida probiótica de soja. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 32, n. 1, 26 jun. 2014.

MAZETTI, A. A. et al. **Estudo da viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* na produção de chocolate probiótico e características do produto**. Anais do X Congresso Brasileiro de Engenharia Química. **Anais...**São Paulo: Editora Edgard Blücher, dez. 2014. Disponível em: <<http://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/11137>>

MONDRAGÓN-BERNAL, O. **Desenvolvimento de uma bebida fermentada a partir de extrato hidrossolúvel de soja, contendo agentes prebióticos e probióticos**. [s.l.] Dissertação( Mestre em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, 2004.

PERDANA, J. et al. Interactions between formulation and spray drying conditions related to survival of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. **Food Research International**, v. 56, p. 9–17, fev. 2014.

PEREIRA, M. O., BAMPI, M., RODRIGUES, F.T., SANTA, O. R. D., DALLA SANTA, H. S., RIGO, M. Elaboração de uma bebida probiótica fermentada a partir de extrato hidrossolúvel de soja com sabor de frutas. **Ambilencia**, v. 5, n. 3, p. 475–487, 2009.

PEREIRA, A. L. F.; MACIEL, T. C.; RODRIGUES, S. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1276–1283, jun. 2011.

PERINI, F. O. **Avaliação da multiplicação de *Bacillus thuringiensis* no leite UHT por meio de modelagem matemática e microbiologia preditiva**. [s.l.] (Trabalho de Conclusão de curso - Engenharia de Alimentos) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2014.

PINEIRO, M. et al. FAO Technical Meeting on Prebiotics. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 42, p. S156–S159, set. 2008.

RADDATZ, G. C. **Estudo da adição de diferentes prebióticos em micropartículas simbióticas contendo *Lactobacillus acidophilus* LA-5 obtidas por gelificação iônica interna**. [s.l.] (Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, 2018.

RAMÍREZ-GUZMÁN, K. N. et al. Traditional Fermented Beverages in Mexico. In: **Fermented Beverages**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 605–635.

RINALDI, M. M. et al. Utilização de ácido cítrico para a conservação pós-colheita de raízes de mandioca. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, 2017.

RODRIGUES, A. C. et al. Anti-quorum sensing activity of phenolic extract from *Eugenia brasiliensis* (Brazilian cherry). **Food Science and Technology**, v. 36, n. 2, p. 337–343, 29 abr. 2016.

RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J. et al. Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 136, n. 1, p. 206–212, jan. 2013.

ROLIM, P. M. Development of prebiotic food products and health benefits. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 35, n. 1, p. 3–10, mar. 2015.

RUFINO, M. DO S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, ago. 2010.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia Científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela método de captura do radical livre ABTS\*+.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agroindustria-tropical/busca-de-publicacoes/-/publicacao/426954/metodologia-cientifica-determinacao-da-atividade-antioxidante-total-em-frutas-pela-captura-do-radical-livre-abts>>. 2007.

SANTOS, P. A. DOS et al. Bebida fermentada a base de soja com sabor de ameixa e suplementada com inulina em substituição ao iogurte tradicional. **Veterinária e Zootecnia**, v. 24, n. 4, p. 724–733, 2017.

SILVA, J. C. DE M. **Bebida à base de soja fermentada com kefir suplementada com polpa de bocaiúva (*Acrocomia aculeata*) e inulina.** [s.l.] (Dissertação Mestrado em Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Instituto Federal Goiano, 2019.

SOUZA, R. S. DE. **Elaboração de bebida probiótica sabor manga e uva com *Lactobacillus acidophilus*.** [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2014.

SPOLIDORIO, D. M. P.; DUQUE, C. **Microbiologia e Imunologia Geral e Odontológica.** 1. ed. [s.l.] Artes Médicas, 2013.

TEAM, R. C. **A language and environment for statistical computing.** 2018.

VASCONCELO, Q. D. J. S.; BACHUR, T. P. R.; ARAGÃO, G. F. Whey protein: composition, use and benefits – a narrative review. **European Journal of Physical Education and Sport Science**, v. 4, n. 1, p. 173–183, 2018.

VÁZQUEZ-LIMA, F. et al. Use of chemostat cultures mimicking different phases of wine fermentations as a tool for quantitative physiological analysis. **Microbial Cell Factories**, v. 13, n. 1, p. 85, 2014.

VIEIRA, J. P. et al. Estudo do processo fermentativo de bebida de soja (Glycine max) adicionada de frutose e sucralose. **Revista Eixo**, v. 7, n. 17–25, 2018.

VIEIRA, M. C. **Produção de bebida fermentada à base de extrato hidrossolúvel de soja adicionada de polpa de macauba (*Acrocomia aculeata***

**(Jacq.) Lodd. ex Mart.) utilizando cultura láctea tradicional do iogurte e linhagem probiótica.** [s.l.] (Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2017.

VILLALVA, F. J. et al. Formulation of a peach ice cream as potential symbiotic food. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 3, p. 456–461, 23 fev. 2017.

YADAV, J. S. S. et al. Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 6, p. 756–774, nov. 2015.

ZOLA, F. G. et al. Mineral and centesimal contents, antioxidant activity and antimicrobial action of phenolic compounds from *Eugenia Brasiliensis* Lam. Pulp. **Food Science and Technology**, 18 abr. 2019.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

### Considerações finais

O interesse por uma alimentação saudável e as evidências científicas de que os alimentos funcionais são benéficos para a saúde, tornam a busca por estes alimentos um dos caminhos a seguir para a melhoria da qualidade de vida.

O conhecimento a cerca do perfil químico do fruto de grumixama torna-se de extrema importância uma vez que os compostos fenólicos totais de atividade antioxidante exercida pelos compostos presentes causam efeitos benéficos. O *finger print* do *paper spray* corrobora com os dados da ação antioxidante e compostos fenólicos totais, pois permitiu identificar diversos compostos como as diversas classes dos fenólicos. Em paralelo, este trabalho mostra que, o HS-SPME acoplado ao GC-MS utilizando a fibra PDMS/DVB semipolar provou ser uma técnica eficiente para extração com identificação de compostos orgânicos voláteis presentes na polpa de grumixama com auxílio da biblioteca NIST, em sua maioria sesquiterpenos, compostos estes relacionados à características sensoriais possibilitando sua inserção em diversos produtos alimentícios.

O desenvolvimento das bebidas fermentadas a base de EHS apresentou resultados relevantes no qual a adição dos ingredientes inulina e *whey protein* nas formulações contribuíram de forma positiva nas características nutricionais e a atividade antioxidante. Entretanto a adição da polpa de grumixama não impactou de forma esperada uma vez que se observou que esta tem um conjunto extenso de compostos bioativos na sua composição, porém isto pode ser justificado pela pequena quantidade da polpa adicionada na formulação que não foi possivelmente suficiente.

Durante o processo fermentativo todas as formulações apresentaram crescimento do microrganismo probiótico (LA-05) satisfatório quanto a multiplicação do microrganismo ao longo do tempo. O mesmo foi observado ao fim da fermentação onde as contagens apresentaram valores adequados sendo estes acima de  $10^7$  UFC.mL<sup>-1</sup> e para a viabilidade do mesmo ao fim de 28 dias de armazenamento, afirmando mais uma vez que as formulações desenvolvidas são promissoras para bebidas fermentadas.



Desta forma, conclui-se que resultados deste trabalho mostraram que a polpa da grumixama é promissora com intuito de ser explorada e tem potencial para ser introduzida em produtos alimentares e que as formulações são promissoras para o desenvolvimento de bebidas fermentadas a base de extrato hidrossolúvel de soja. No entanto, novos estudos com relação a efetividade da funcionalidade dos compostos presentes na polpa do fruto e dos efeitos probióticos das bebidas com outros testes faz se necessárias para esses tipos de produtos antes da comercialização.

**REFERÊNCIAS****Referências bibliográficas**

ABU-REIDAH, I. M. et al. HPLC–DAD–ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits. **Food Chemistry**, v. 166, p. 179–191, jan. 2015.

ACHKAR, M. T. et al. Propriedade antioxidante de compostos fenólicos: importância na dieta e na conservação de alimentos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 11, n. 2, p. 398–406, dez. 2013.

AGHERA, P. R.; BHATT, N. S. **Citric Acid: Biosynthesis, Properties and Application**. [s.l.] LAP LAMBERT Academic Publishing, 2019.

AGUILERA-OTÍZ, M. et al. Propiedades funcionales de las antocianinas. **BIOtecnia**, v. 13, n. 2, p. 16, 30 ago. 2011.

ALENCAR, E. R. DE. **Fabricação de bebidas fermentadas a partir de extrato hidrossolúvel de soja (*Glycine max*) e de castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*)**. [s.l.] Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Agronomia)—Universidade de Brasília, 2016.

ALMEIDA DE PAULA, C. C. et al. Paper spray mass spectrometry applied to the detection of cocaine in simulated samples. **Analytical Methods**, v. 7, n. 21, p. 9145–9149, 2015.

ALVAREZ-SUAREZ, J. M. et al. Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 8–9, p. 2490–2499, ago. 2010.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Phenolic compounds in foods – A brief review. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.

AOAC, A. OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 19. ed. Washington D.C.: [s.n.]. 2012.

ARCIA, P. L.; COSTELL, E.; TÁRREGA, A. Inulin blend as prebiotic and fat replacer in dairy desserts: Optimization by response surface methodology. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 5, p. 2192–2200, maio 2011.

BANDALAN, E.; GALVEZ, L. Optimization of Coconut Water Beverage Fermented with *Lactobacillus acidophilus*. **Annals of Tropical Research**, p. 196–202, 1 jul. 2016.

BANERJEE, A.; DASGUPTA, N.; BRATATI, D. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 727–733, 2005.

BAO, L. et al. Hypolipidemic effects of flavonoids extracted from *Lomatogonium rotatum*. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 11, p. 1417–1424, 2016.

BARCELOS, S. C. DE et al. Viability of commercial and autochthonous strain of *Lactobacillus rhamnosus* in caprine milk drink with potentially probiotic grape juice. **Arquivos Brasileiros de Alimentação**, v. 3, n. 1, 2018.

BARRETO, G. P. DE M. et al. Quantificação de *Lactobacillus acidophilus*, bifidobactérias e bacterias totais em produtos probióticos comercializados no Brasil. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, p. 119–126, 2003.

BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 646–656, jul. 2009.

BATTISTINI, C. **Utilização de soja verde para a obtenção de bebida fermentada simbiótica**. [s.l.] (Dissertação de Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, SP, 2015.

BATTISTINI, C. et al. Development and characterization of an innovative synbiotic fermented beverage based on vegetable soybean. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, n. 2, p. 303–309, abr. 2018.

BAÚ, T. R.; GARCIA, S.; IDA, E. I. Changes in soymilk during fermentation with kefir culture: oligosaccharides hydrolysis and isoflavone aglycone production. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 66, n. 8, p. 845–850, 17 nov. 2015.

BEN SAID, R. et al. Tentative Characterization of Polyphenolic Compounds in the Male Flowers of *Phoenix dactylifera* by Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry and DFT. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 3, p. 512, 2 mar. 2017.

BENJAMIM, C. J. R. et al. O consumo de ômega 3 e 6 e a sua relação com doenças crônicas não transmissíveis. **Revista E-Ciência**, v. 6, n. 2, 25 jan. 2019.

BERNAL, O. L. M. **Desenvolvimento de alimento simbiótico fermentado de soja**. [s.l.] (Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas)., 2009.

BERNUCCI, B. S. P. et al. Effect of microencapsulation conditions on the viability and functionality of *Bifidobacterium longum* 51A. **LWT**, v. 80, p. 341–347, jul. 2017.

BESSA, M. M.; SILVA, A. G. F. DA. Elaboração e caracterização físico-química e sensorial de iogurte prebiótico de tamarindo. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, n. 4, p. 185–195, 14 maio 2018.

BICAS, J. L. et al. Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1843–1855, ago. 2011.

BIGLIARDI, B.; GALATI, F. Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 31, n. 2, p. 118–129, jun. 2013.

BLANDINO, A. et al. Cereal-based fermented foods and beverages. **Food Research International**, v. 36, n. 6, p. 527–543, jan. 2003.

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

BOBBIO, F.; SCAMPARINI, A. Carbohydrates, organic-acids and anthocyanin of *Eugenia-Jambolana Lamarck*. **Industrie Alimentari, Pinerolo**, v. 21, n. 4, p. 296–298, 1982.

BRAGA, A. C. C.; ASSIS NETO, E. F.; 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**, v. 14, n. 1, p. 77–84, 30 mar. 2012.

BRANCO, I. G. et al. Avaliação da aceitabilidade sensorial de uma bebida à base de extrato hidrossolúvel de soja, polpa de morango e sacarose. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 9, n. 129–141, 2007.

BRANDÃO, T. S. DE O. et al. Changes in enzymes, phenolic compounds, tannins, and vitamin C in various stages of jambolan (*Syzygium cumini* Lamark) development. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2011.

CAMLOFSKI, A. M. DE O. **Caracterização do fruto de cerejeira (*Eugenia involucrata* DC) visando seu aproveitamento tecnológico**. [s.l.] (Dissertação de Mestrado Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos ) Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2008.

CARVALHO, I. T. DE. **Microbiologia básica**. Recife: [s.n.]. 2010.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. [s.l.] Editora da Unicamp, 2003.

CHAMPAGNE, C. P. et al. Selection of probiotic bacteria for the fermentation of a soy beverage in combination with *Streptococcus thermophilus*. **Food Research International**, v. 42, n. 5–6, p. 612–621, jun. 2009.

CHEN, G. et al. Analysis of Flavonoids in *Rhamnus davurica* and Its Antiproliferative Activities. **Molecules**, v. 21, n. 10, p. 1275, 23 set. 2016a.

CHEN, W.-M. et al. Hepatoprotective effect of resveratrol against ethanol-induced oxidative stress through induction of superoxide dismutase in vivo and in vitro. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 11, p. 1231–1238, 2016b.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças**. 2. ed. [s.l.] Universidade Federal de Lavras, 2005.

COS, P. et al. Structure–Activity Relationship and Classification of Flavonoids as Inhibitors of Xanthine Oxidase and Superoxide Scavengers. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 1, p. 71–76, jan. 1998.

COSTA-SINGHI, T.; BITENCOURTII, T. B.; JORGEI, N. Physical-chemical characterization of bioactive compounds of the oil from cutia nut (*Couepia edulis*). **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 61–68, 2012.

COURI, S. et al. **Bebida Fermentada de Soja**. Brasília: [s.n.].

CUMMINGS, J. H. Probiotics: better health from ‘good’ bacteria? **Nutrition Bulletin**, v. 34, n. 2, p. 198–202, jun. 2009.

DA SILVA CAMPELO BORGES, G. et al. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2128–2133, ago. 2011.

DA SILVA, V. S.; ORLANDELLI, R. C. Desenvolvimento de alimentos funcionais nos últimos anos: uma revisão. **Revista Uningá**, v. 56, n. 2, p. 182–194, 2019.

DE ARAÚJO, F. F. et al. Wild Brazilian species of *Eugenia* genera (Myrtaceae) as an innovation hotspot for food and pharmacological purposes. **Food Research International**, v. 121, p. 57–72, jul. 2019.

DEBON, J. et al. Storage stability of prebiotic fermented milk obtained from permeate resulting of the microfiltration process. **LWT - Food Science and Technology**, v. 47, n. 1, p. 96–102, jun. 2012.

DÍAZ-DE-CERIO, E. et al. Characterization of bioactive compounds of *Annona cherimola* L. leaves using a combined approach based on HPLC-ESI-TOF-MS and NMR. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 410, n. 15, p. 3607–3619, 9 jun. 2018.

DUNG, N. T.; KIM, J. M.; KANG, S. C. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 12, p. 3632–3639, dez. 2008.

EL-SAYED, M. A. et al. Phytoconstituents, LC-ESI-MS profile, antioxidant and antimicrobial activities of citrus X limon L. Burm. F. cultivar variegated pink lemon. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 9, n. 4, p. 375–392, 2017.

EL HADI, M. et al. Advances in Fruit Aroma Volatile Research. **Molecules**, v. 18, n. 7, p. 8200–8229, 11 jul. 2013.

EL SAYED, A. M. et al. In vivo diabetic wound healing effect and HPLC–DAD–ESI–MS/MS profiling of the methanol extracts of eight Aloe species. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 3, p. 352–362, maio 2016.

ESTEVES, T. C. F. **Desenvolvimento de alimento de soja tipo “íogurte”:** **avaliação da estabilidade física**. [s.l.] (Dissertação de Mestrado em Ciências, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ), 2011.

EVANGELISTA, S. R. **Estudo da fermentação e vida-de- prateleira de bebida simbiótica fermentada a base de soja**. [s.l.] Dissertação mestrado - Universidade Estadual de Campinas, 2011.

FAO, O. DAS N. U. PARA A A. E A A. **Perspectivas Agrícolas OCDE-FAO: Brasil vai ultrapassar os Estados Unidos como o maior produtor de soja até 2026**. Disponível em: <<http://www.fao.org/americas/noticias/ver/pt/c/992188/>>.2017.

FARIA, A. F.; MARQUES, M. C.; MERCADANTE, A. Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1571–1578, jun. 2011.

FIORAVANTE, M. B.; HIANE, P. A.; BRAGA NETO, J. A. Elaboration, sensorial acceptance and characterization of fermented flavored drink based on water-soluble extract of baru almond. **Ciência Rural**, v. 47, n. 9, 2017.

FIRMO, A. Q.; SOUSA, M. M. DE; CAVALCANTI, M. D. S. Desenvolvimento e caracterização de bebidas produzidas à base de castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 1, p. 84911645, 1 jan. 2019.

FISCHER, D. C. H. et al. Essential oils from leaves of two *Eugenia brasiliensis* specimens from southeastern Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 17, n. 5, p. 499–500, 2005.

FLORES, G. et al. Anthocyanins from *Eugenia brasiliensis* edible fruits as potential therapeutics for COPD treatment. **Food Chemistry**, v. 134, n. 3, p. 1256–1262, out. 2012.

FRANCO, M. R. B.; SHIBAMOTO, T. Volatile Composition of Some Brazilian Fruits: Umbu-caja ( *Spondias citherea* ), Camu-camu ( *Myrciaria dubia* ), Araça-boi ( *Eugenia stipitata* ), and Cupuaçu ( *Theobroma grandiflorum* ). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 4, p. 1263–1265, abr. 2000.

FUCHS, R. H. B. et al. “logurte” de soja suplementado com oligofrutose e inulina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 175–181, mar. 2005.

GABBANINI, S. et al. Anomeric discrimination and rapid analysis of underivatized lactose, maltose, and sucrose in vegetable matrices by U-HPLC-ESI-MS/MS using porous graphitic carbon. **S. Gabbanini, E. Lucchi, F. Guidugli, R. Matera and L. Valgimigli**, v. 45, p. 1012–1018, 2010.

GARCÍA-CRUZ, L. et al. Betalains and phenolic compounds profiling and antioxidant capacity of pitaya ( *Stenocereus* spp.) fruit from two species ( *S. Pruinus* and *S. stellatus* ). **Food Chemistry**, v. 234, p. 111–118, nov. 2017.

GAZOLA, M. B. et al. Elaboração e caracterização de bebidas à base de extrato hidrossolúvel de soja com polpa de pitanga, amora e mirtilo. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 34, n. 2, 9 jun. 2016.

GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Determinação de isoflavonas em derivados de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 86–93, jan. 2001.

GIARETTA, A. et al. Diversidade de Myrtaceae na reserva natural vale. In: EDITORA, R. (Ed.). **Floresta Atlântica de Tabuleiro: diversidade e endemismos na Reserva Natural Vale**. Belo Horizonte: [s.n.]. p. 496 0.2016.

GOUVEIA, S. C.; CASTILHO, P. C. Characterization of phenolic compounds in *Helichrysum melaleucum* by high-performance liquid chromatography with on-line ultraviolet and mass spectrometry detection. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 24, n. 13, p. 1851–1868, 15 jul. 2010.

GRANATO, D.; MASSON, M. L.; RIBEIRO, J. C. B. Sensory acceptability and physical stability evaluation of a prebiotic soy-based dessert developed with passion fruit juice. **Food Science and Technology**, v. 32, n. 1, p. 119–126, 24 jan. 2012.

GRUZ, A. P. G. et al. Recuperação de compostos bioativos a partir do bagaço de uva. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 1147–1157, dez. 2013.



GUARRERA, P. M.; SAVO, V. Perceived health properties of wild and cultivated food plants in local and popular traditions of Italy: A review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 146, n. 3, p. 659–680, abr. 2013.

GUIMARÃES, J. T. et al. Manufacturing a prebiotic whey beverage exploring the influence of degree of inulin polymerization. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 787–795, abr. 2018a.

GUIMARÃES, J. T. et al. Physicochemical changes and microbial inactivation after high-intensity ultrasound processing of prebiotic whey beverage applying different ultrasonic power levels. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 44, p. 251–260, jun. 2018b.

GUO, M.; WANG, C. Chemistry of Whey Proteins. In: **Whey Protein Production, Chemistry, Functionality, and Applications**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2019a. p. 39–65.

GUO, M.; WANG, G. Nutritional Applications of Whey Protein. In: **Whey Protein Production, Chemistry, Functionality, and Applications**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2019b. p. 141–156.

GUO, Y. et al. Rapid Analysis of Corni fructus Using Paper Spray-Mass Spectrometry. **Phytochemical Analysis**, v. 28, n. 4, p. 344–350, jul. 2017.

HAMINIUK, C. W. I. et al. Phenolic compounds in fruits - an overview. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 10, p. 2023–2044, out. 2012.

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

HELT, K. M. P.; NAVAS, R.; GONÇALVES, E. M. Características físico-químicas e compostos antioxidantes de frutos de pitanga da região de Capão Bonito, SP. **Revista de Ciências Agroambientais**, v. 16, n. 1, p. 96–102, 2018.

HOU, J.-W.; YU, R.-C.; CHOU, C.-C. Changes in some components of soymilk during fermentation with bifidobacteria. **Food Research International**, v. 33, n. 5, p. 393–397, jun. 2000.

HUANG, S. et al. Spray drying of probiotics and other food-grade bacteria: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 63, p. 1–17, maio 2017a.

HUANG, W. et al. Comprehensive MS and Solid-State NMR Metabolomic Profiling Reveals Molecular Variations in Native Periderms from Four *Solanum tuberosum* Potato Cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 10, p. 2258–2274, 15 mar. 2017b.

HUGENHOLTZ, J. Traditional biotechnology for new foods and beverages. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 24, n. 2, p. 155–159, abr. 2013.

HUI, Y. H. et al. **Handbook of Fruits and Fruit Processing**. 1. ed. [s.l.] Blackwell Publishing, 2006.

INFANTE, J. et al. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Unexplored Brazilian Native Fruits. **PLOS ONE**, v. 11, n. 4, p. e0152974, 6 abr. 2016.

INGRAM, C. J. E. et al. Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence. **Human Genetics**, v. 124, n. 6, p. 579–591, 26 jan. 2009.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. Sexta ed. [s.l.: s.n.]. 2005.

JIAO, Q.-S. et al. Rapid Characterization and Identification of Non-Diterpenoid Constituents in *Tinospora sinensis* by HPLC-LTQ-Orbitrap MSn. **Molecules**, v. 23, n. 2, p. 274, 29 jan. 2018.

JORDÃO, A. Phenolic Compounds in Fruit Beverages. **Beverages**, v. 4, n. 2, p. 35, 1 maio 2018.

KAGAWA, A. **Standard table of food composition in Japan**. Tokyo: University of Nutrition for Women, 1995.

KÄHKÖNEN, M. P. et al. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 10, p. 3954–3962, out. 1999.

KAJDŽANOSKA, M.; GJAMOVSKI, V.; STEFOVA, M. HPLC-DAD-ESI-msn identification of phenolic compounds in cultivated strawberries from Macedonia. **Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering**, v. 29, n. 2, p. 181–194, 2010.

KHAIRE, R. A.; GOGATE, P. R. Whey Proteins. In: **Proteins: Sustainable Source, Processing and Applications**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 193–223.

KILARA, A.; VAGHELA, M. N. Whey proteins. In: **Proteins in Food Processing**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 93–126.

KOOLEN, H. H. F. et al. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 467–473, maio 2013.

KOPPER, Â. C. **Bebida simbiótica elaborada com farinha de Bocaiúva (*Acrocomia aculeata*) e *Lactobacillus acidophilus* incorporadas ao extrato hidrossolúvel de soja**. [s.l.] (Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná), 2009.

KOSINSKA, A. et al. Phenolic compounds profile of strawberry fruits of Charlotte cultivar. **Journal of Berry Research**, v. 3, p. 15–23, 2013.

LAUGHTON, M. J. et al. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclooxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. **Biochemical Pharmacology**, v. 42, n. 9, p. 1673–1681, out. 1991.

LAWS, G.; KEMP, R. Probiotics and health: understanding probiotic trials. **The New Zealand medical journal**, v. 132, n. 1498, p. 90–96, 2019.

LEE, J.-H.; JOHNSON, J. V.; TALCOTT, S. T. Identification of Ellagic Acid Conjugates and Other Polyphenolics in Muscadine Grapes by HPLC-ESI-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 15, p. 6003–6010, jul. 2005.

LEE, S. J. et al. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 91, n. 1, p. 131–7, 2005.

LEHN, D. N.; KOLLING, A.; SOUZA, C. F. V. DE. Elaboração, caracterização e aceitabilidade de “iogurte” de soja com adição de prebiótico. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 8, n. 2S, 28 dez. 2014.

LENQUISTE, S. A. et al. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 153–160, nov. 2012.

LI, W. et al. Encapsulation of *Lactobacillus plantarum* in cellulose based microgel with controlled release behavior and increased long-term storage stability. **Carbohydrate Polymers**, v. 223, p. 115065, nov. 2019.

LIMA, A. DE J. B. et al. Sugars, organic acids, minerals and lipids in jaboticaba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 540–550, jun. 2011.

LOCATELI, G.; KOEHLEI, E. A. Ingestão Dietética de Fenólicos e Subclasses por Adultos Brasileiros e a Importância do Consumo de Frutas e Hortaliças. **Anais do SEPE-Seminário de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFFS**, v. 5, n. 1, 2015.

MACHADO, A. P. D. F. et al. Recovery of anthocyanins from residues of *Rubus fruticosus*, *Vaccinium myrtillus* and *Eugenia brasiliensis* by ultrasound assisted extraction, pressurized liquid extraction and their combination. **Food Chemistry**, v. 231, p. 1–10, set. 2017.

MAGINA, M. A. et al. Atividade antioxidante de três espécies de *Eugenia* (Myrtaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, n. 2, p. 376–82, 2010.

MAGINA, M. D. A. et al. Bioactive triterpenes and phenolics of leaves of *Eugenia brasiliensis*. **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1184–1188, 2012.

MAPA, M. DA A. P. E A. **Regulamento Técnico Geral para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta.**, 2000. Disponível em: <<https://ibravin.org.br/admin/arquivos/leis/1456251935.pdf>>

MARIN, M. et al. Caracterização físico-química e sensorial de bebida probiótica de soja. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 32, n. 1, 26 jun. 2014.

MASCHERPA, D. et al. Identification of Phenolic Constituents in *Cichorium endivia* Var. *crispum* and Var. *latifolium* Salads by High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 49, p. 12142–12150, 12 dez. 2012.

MAURO, M. DE O.; ISHII, P. L.; OLIVEIRA, R. J. O alimento funcional inulina e suas atividades biológicas. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v. 26, n. 51, p. 53–62, 2018.

MAZETTI, A. A. et al. **Estudo da viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* na produção de chocolate probiótico e características do produto.** Anais do X Congresso Brasileiro de Engenharia Química. **Anais...**São Paulo: Editora Edgard

Blücher, dez. 2014Disponível em: <<http://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/11137>>

MEDEIROS, A. T.; SABAA-SRUR, A. U. DE O.; BARBOSA, N. Determinação física e química da polpa de grumixama (*Eugenia brasiliensis*, Lam). **Journal of Fruits and Vegetables**, v. 1, n. 1, p. 67–70, 2015.

MEDEIROS DE AGUIAR, T.; UBIRAJARA OLIVEIRA SABAA-SRUR, A.; E. SMITH, R. Study of Grumixama (*Eugenia Brasiliensis*, Lam) Fruit Pulp and Development of a Jelly: Rheological, Sensorial and Colorimetric Evaluation. **The Natural Products Journal**, v. 6, n. 2, p. 142–151, 19 maio 2016.

MERKLE, S.; KLEEBERG, K.; FRITSCHE, J. Recent Developments and Applications of Solid Phase Microextraction (SPME) in Food and Environmental Analysis—A Review. **Chromatography**, v. 2, n. 3, p. 293–381, 30 jun. 2015.

MESQUITA, P. R. R. et al. Discrimination of *Eugenia uniflora* L. biotypes based on volatile compounds in leaves using HS-SPME/GC–MS and chemometric analysis. **Microchemical Journal**, v. 130, p. 79–87, jan. 2017.

MICHELS, R. N. et al. Effects of Different Numbers of Fungicide Application on the Proximate Composition of Soybean. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2016.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Manual Operacional de Bebidas e Vinagre, onde constam o modelo de manual da qualidade, o protocolo de validação de métodos físico-químicos, o protocolo de cálculo da incerteza associada às medições e os métodos de análise de bebidas fermentadas, destilada**, 2005.

MIREMADI, F.; SHERKAT, F.; STOJANOVSKA, L. Hypocholesterolaemic effect and anti-hypertensive properties of probiotics and prebiotics: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 25, p. 497–510, ago. 2016.

MOELLER, S. M.; JACQUES, P. F.; BLUMBERG, J. B. The Potential Role of Dietary Xanthophylls in Cataract and Age-Related Macular Degeneration. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, n. sup5, p. 522S-527S, out. 2000.

MONDRAGÓN-BERNAL, O. **Desenvolvimento de uma bebida fermentada a partir de extrato hidrossolúvel de soja, contendo agentes prebióticos e**

**probióticos**. [s.l.] Dissertação( Mestre em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, 2004.

MORAES, R. M. DE et al. Efeito da desodorização nas características sensoriais de extratos hidrossolúveis de soja obtidos por diferentes processos tecnológicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 46–51, mar. 2006.

MORAES, F. P. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109–122, 23 out. 2007.

MORAES, F. P.; COLLA, L. Functional foods and nutraceuticals: definition, legislation and health benefits. **Revista Eletronica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109–122, 2006.

MORAIS, P. O.; LOMBARDI, J. A. A família Myrtaceae na reserva particular do patrimônio natural da Serra do Caraça, Catas Altas, Minas Gerais, Brasil. **Lundiana**, v. 7, n. 1, p. 3–32, 2006.

MORENO, P. R. H. et al. Essential oil composition of fruit colour varieties of *Eugenia brasiliensis* Lam. **Scientia Agricola**, v. 64, n. 4, p. 428–432, ago. 2007.

MORESCO, H. H. **Estudo fitoquímico e biológico de quatro espécies da família Myrtaceae**. [s.l.] Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2014.

MULLER, P. S. **Microencapsulação do óleo essencial de laranja**. [s.l.] (Dissertação de mestrado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Paraná., 2011.

NAJAFPOUR, G. **Biochemical Engineering and Biotechnology**. [s.l.: s.n.].2006.

NASCIMENTO, L. et al. Characterization of Bioactive Compounds in *Eugenia brasiliensis*, Lam. (Grumixama). **Nutrition and Food Technology: Open Access**, v. 3, n. 3, 2017.

NEHRING, P. **Avaliação da capacidade antioxidante e compostos fenólicos em diferentes estádios de maturação da grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck)**. [s.l.] (Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2016.

NOUT, M. J. R. Rich nutrition from the poorest – Cereal fermentations in Africa and Asia. **Food Microbiology**, v. 26, n. 7, p. 685–692, out. 2009.

NUNES, J. S. et al. Collection and physico-chemical characterization of pulp blemish (*Myrciaria cauliflora* Berg) frozen. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n. 1, p. 234–237, 2014.

OLIVEIRA, A. C. **Viabilidade de “Lactobacillus acidophilus e Bifidobacterium lactis”, microencapsulados por coacervação, seguida de secagem por “spray drying” e leite de jorro**. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, 15 fev. 2007.

OLIVEIRA, É. R. DE et al. Study of jambolan pulp bioactive compounds. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 3, p. 54–49, 2017.

ORNELAS-PAZ, J. DE J. et al. Physical attributes and chemical composition of organic strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch, Cv. Albion) at six stages of ripening. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 372–381, maio 2013.

PAUDEL, L. et al. Nonanthocyanin Secondary Metabolites of Black Raspberry (*Rubus occidentalis* L.) Fruits: Identification by HPLC-DAD, NMR, HPLC-ESI-MS, and ESI-MS/MS Analyses. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 49, p. 12032–12043, 11 dez. 2013.

PELLIS, V. F. **A família Myrtaceae juss. no parque municipal da Lagoa do Peri, Santa Catarina, Brasil**. [s.l.] (Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso)- Universidade Federal de Santa Catarina, 2019.

PERDANA, J. et al. Interactions between formulation and spray drying conditions related to survival of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. **Food Research International**, v. 56, p. 9–17, fev. 2014.

PEREIRA, M. O., BAMPI, M., RODRIGUES, F.T., SANTA, O. R. D., DALLA SANTA, H. S., RIGO, M. Elaboração de uma bebida probiótica fermentada a partir de extrato hidrossolúvel de soja com sabor de frutas. **Ambilencia**, v. 5, n. 3, p. 475–487, 2009.

PEREIRA, A. L. F.; MACIEL, T. C.; RODRIGUES, S. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1276–1283, jun. 2011.

PEREIRA FILHO, D.; FURLAN, S. A. Prevalência de intolerância à lactose em função da faixa etária e do sexo: experiência do laboratório Dona Francisca, Joinville (SC). **Revista Saúde e Ambiente/Health and Environment Journal**, v. 5, n. 1, p. 24–30, 2004.

PERINI, F. O. **Avaliação da multiplicação de *Bacillus thuringiensis* no leite UHT por meio de modelagem matemática e microbiologia preditiva**. [s.l.] (Trabalho de Conclusão de curso - Engenharia de Alimentos) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2014.

PIETROVSKI, E. F. et al. Topical anti-inflammatory activity of *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) leaves. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 60, n. 4, p. 479–487, abr. 2008.

PIMENTEL, C. V. M. B.; FRANCKI, V. M.; GOLLUCKE, A. P. . **Alimentos funcionais: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos**. [s.l.: s.n.].2005.

PINEIRO, M. et al. FAO Technical Meeting on Prebiotics. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 42, p. S156–S159, set. 2008.

PINELA, J. **Efeito do processo de secagem no potencial antioxidante e na composição fitoquímica de plantas medicinais da família Fabaceae**. [s.l.: s.n.].2012.

PINHEIRO, A. C.; CERQUEIRA, M. A.; VICENTE, A. A. Nanotecnologia como ferramenta para produzir novos alimentos funcionais: vantagens e precauções. **Tecnohospital : Revista de Engenharia e Gestão da Saúde**, v. 59, p. 22–25, 2013.

POLYCARPO, G. DO V. et al. Enriquecimento da dieta do bicho-da-seda com extrato hidrossolúvel de soja. **Ciência Rural**, v. 42, n. 9, p. 1669–1674, set. 2012.

QUEIROGA, R. DE C. R. E. et al. Otimização das condições de extração de compostos voláteis em leite caprino utilizando a técnica de extração e concentração simultânea. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 64, n. 1, p. 97–103, 2005.

RADDATZ, G. C. **Estudo da adição de diferentes prebióticos em micropartículas simbióticas contendo *Lactobacillus acidophilus* LA-5 obtidas por gelificação iônica interna**. [s.l.] (Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, 2018.



RAMÍREZ-GUZMÁN, K. N. et al. Traditional Fermented Beverages in Mexico. In: **Fermented Beverages**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 605–635.

REVILLA, J. **Plantas úteis da Bacia Amazônica**. Manaus: [s.n.].2002.

REYNERTSON, K. A. et al. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 883–890, ago. 2008.

RICE-EVANS, C.; MILLER, N.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, v. 2, n. 4, p. 152–159, abr. 1997.

RINALDI, M. M. et al. Utilização de ácido cítrico para a conservação pós-colheita de raízes de mandioca. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, 2017.

RKADIBAGIL, V. Prebiotics and probiotics in Ayurveda. **International Journal of Advanced Research**, v. 7, n. 4, p. 833–836, 30 abr. 2019.

RODRIGUES, A. C. et al. Anti-quorum sensing activity of phenolic extract from *Eugenia brasiliensis* (Brazilian cherry). **Food Science and Technology**, v. 36, n. 2, p. 337–343, 29 abr. 2016.

RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J. et al. Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 136, n. 1, p. 206–212, jan. 2013.

ROLIM, P. M. Development of prebiotic food products and health benefits. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 35, n. 1, p. 3–10, mar. 2015.

RUFINO, M. DO S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, ago. 2010.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia Científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela método de captura do radical livre ABTS\*+.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agroindustria-tropical/busca-de-publicacoes/-/publicacao/426954/metodologia-cientifica-determinacao-da-atividade-antioxidante-total-em-frutas-pela-captura-do-radical-livre-abts>>. 2007.

SANTOS, A. C. A. DOS; SERAFINI, L. A.; CASSEL, E. **Estudo de Processos de Extração de Óleos Essenciais e Bioflavonoides de Frutas Cítricas**. Caxias do Sul: [s.n.]. 2003.

SANTOS, P. A. DOS et al. Bebida fermentada a base de soja com sabor de ameixa e suplementada com inulina em substituição ao iogurte tradicional. **Veterinária e Zootecnia**, v. 24, n. 4, p. 724–733, 2017.

SCHAFFER, C. C. **Grumixama, a surpresa de natal da mata atlântica**.

SCHIMIDT, H. **Caracterização físico-química, nutricional e de compostos bioativos de sete espécies da família Myrtaceae nativas da região sul do Brasil**. [s.l.] (Dissertação Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018.

SCHWAB, W.; DAVIDOVICH-RIKANATI, R.; LEWINSOHN, E. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. **The Plant Journal**, v. 54, n. 4, p. 712–732, maio 2008.

SENGUPTA, K.; PARAMASIVAN, P. Probiotics and Biofilms. In: **Biofilms in Human Diseases: Treatment and Control**. Cham: Springer International Publishing, 2019. p. 263–271.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. **Lancaster: Technomic Publishing Co**, p. 235–273, 1995.

SHAN, B. et al. Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of Their Phenolic Constituents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 20, p. 7749–7759, out. 2005.

SHIMIZU, M. History and current status of functional food regulations in Japan. In: **Nutraceutical and Functional Food Regulations in the United States and around the World**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 337–344.

SHORI, A. B. Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. **Food Bioscience**, v. 13, p. 1–8, mar. 2016.

SIEBERT, D. A. et al. Determination of phenolic profile by HPLC-ESI-MS/MS and anti-inflammatory activity of crude hydroalcoholic extract and ethyl acetate fraction

from leaves of *Eugenia brasiliensis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 4, p. 459–465, jul. 2017.

SILVA, A. C. C. et al. Alimentos contendo ingredientes funcionais em sua formulação: revisão de artigos publicados em revistas brasileiras. **Conexão Ciência (Online)**, v. 11, n. 2, p. 133–144, 7 dez. 2016.

SILVA, N. A. DA et al. Phenolic Compounds and Carotenoids from Four Fruits Native from the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 22, p. 5072–5084, 4 jun. 2014.

SILVA, T. M. DA. **Microencapsulação de Bifidobacterium lactis e Lactobacillus acidophilus por coacervação complexa: estudo da produção, caracterização e viabilidade**. [s.l.] (Dissertação de Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, 2016.

SILVA, J. C. DE M. **Bebida à base de soja fermentada com kefir suplementada com polpa de bocaiúva (*Acrocomia aculeata*) e inulina**. [s.l.] (Dissertação Mestrado em Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Instituto Federal Goiano, 2019.

SILVA, M. et al. Evaluation of the Influence of Extraction Conditions on the Isolation and Identification of Volatile Compounds from Cagaita (*Eugenia dysenterica*) Using HS-SPME/GC-MS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2019a.

SILVA, M. et al. Antioxidant Activity and Metabolomic Analysis of Cagaitas (*Eugenia dysenterica*) using Paper Spray Mass Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2019b.

SILVA, T. M. S. et al. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, n. 1, p. 10–18, fev. 2013.

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

SOBRAL, M. et al. **Myrtaceae: lista de espécies da Flora do Brasil**. 2016.

SOUZA, R. S. DE. **Elaboração de bebida probiótica sabor manga e uva com Lactobacillus acidophilus**. [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2014.

SPÍNOLA, V.; PINTO, J.; CASTILHO, P. C. Identification and quantification of phenolic compounds of selected fruits from Madeira Island by HPLC-DAD–ESI-MSn and screening for their antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 173, p. 14–30, abr. 2015.

SPOLIDORIO, D. M. P.; DUQUE, C. **Microbiologia e Imunologia Geral e Odontológica**. 1. ed. [s.l.] Artes Médicas, 2013.

STEFE, C. A.; ALVES, M. A. R.; RIBEIRO, R. L. Probióticos, prebióticos e simbióticos – Artigo de Revisão. **Saúde e Ambiente em Revista**, v. 3, n. 1, p. 16–33, 2008.

STEFOVA, M.; IVANOVA, V. Analytical Methodology for Characterization of Grape and Wine Phenolic Bioactives. In: **Fruit and Cereal Bioactives**. [s.l.] CRC Press, 2011. p. 409–427.

TAMANG, J. P.; WATANABE, K.; HOLZAPFEL, W. H. Review: Diversity of Microorganisms in Global Fermented Foods and Beverages. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 24 mar. 2016.

TEAM, R. C. **A language and environment for statistical computing**. 2018.

TEIXEIRA, L. DE L. et al. Identification of Ellagitannins and Flavonoids from *Eugenia brasiliensis* Lam. (Grumixama) by HPLC-ESI-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 22, p. 5417–5427, 10 jun. 2015.

TEIXEIRA, L. DE L.; HASSIMOTTO, N. M. A.; LAJOLO, F. M. Grumixama—*Eugenia brasiliensis* Lam. In: **Exotic Fruits**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 219–224.

TEIXEIRA, L. L. et al. Potential antiproliferative activity of polyphenol metabolites against human breast cancer cells and their urine excretion pattern in healthy subjects following acute intake of a polyphenol-rich juice of grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam.). **Food & Function**, v. 8, n. 6, p. 2266–2274, 2017.

THITILERTDECHA, N.; TEERAWUTGULRAG, A.; RAKARIYATHAM, N. Antioxidant and antibacterial activities of *Nephelium lappaceum* L. extracts. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 10, p. 2029–2035, dez. 2008.

VAN BOEKEL, M. et al. A review on the beneficial aspects of food processing. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 54, n. 9, p. 1215–1247, set. 2010.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, n. 4, p. 816–823, 15 dez. 2008.

VASCONCELO, Q. D. J. S.; BACHUR, T. P. R.; ARAGÃO, G. F. Whey protein: composition, use and benefits – a narrative review. **European Journal of Physical Education and Sport Science**, v. 4, n. 1, p. 173–183, 2018.

VÁZQUEZ-LIMA, F. et al. Use of chemostat cultures mimicking different phases of wine fermentations as a tool for quantitative physiological analysis. **Microbial Cell Factories**, v. 13, n. 1, p. 85, 2014.

VIDAL, A. M. et al. A ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para a diminuição da incidência de doenças. **Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n. 15, p. 43–52, 2012.

VIEIRA, J. P. et al. Estudo do processo fermentativo de bebida de soja (*Glycine max*) adicionada de frutose e sucralose. **Revista Eixo**, v. 7, n. 17–25, 2018.

VIEIRA, M. C. **Produção de bebida fermentada à base de extrato hidrossolúvel de soja adicionada de polpa de macauba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.) utilizando cultura láctea tradicional do iogurte e linhagem probiótica.** [s.l.] (Dissertação de Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2017.

VILLALVA, F. J. et al. Formulation of a peach ice cream as potential symbiotic food. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 3, p. 456–461, 23 fev. 2017.

WANG, J. et al. Analysis of Chemical Constituents of *Melastoma dodecandrum* Lour. by UPLC-ESI-Q-Exactive Focus-MS/MS. **Molecules**, v. 22, n. 3, p. 476, 17 mar. 2017.

XAVIER-SANTOS, D. et al. *L. acidophilus* La-5, fructo-oligosaccharides and inulin may improve sensory acceptance and texture profile of a synbiotic diet mousse. **LWT**, v. 105, p. 329–335, maio 2019.

YADAV, J. S. S. et al. Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 6, p. 756–774, nov. 2015.

YANISHLIEVA, N. V.; MARINOVA, E. M. Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 103, n. 11, p. 752–767, nov. 2001.

ZHAO, D.; SHAH, N. P. Changes in antioxidant capacity, isoflavone profile, phenolic and vitamin contents in soymilk during extended fermentation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 2, p. 454–462, out. 2014.

ZHAO, Y. et al. Construction and immunogenicity of the recombinant *Lactobacillus acidophilus* pMG36e-E0-LA-5 of bovine viral diarrhea virus. **Journal of Virological Methods**, v. 225, p. 70–75, dez. 2015.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5165–5170, nov. 2001.

ZOLA, F. G. et al. Mineral and centesimal contents, antioxidant activity and antimicrobial action of phenolic compounds from *Eugenia Brasiliensis* Lam. Pulp. **Food Science and Technology**, 18 abr. 2019.