

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

DANIELLE FÁTIMA D' ANGELIS

**ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS DE LEITES  
FERMENTADOS COM POTENCIAL PROBIÓTICO ADICIONADOS DE  
FARINHAS INTEGRAIS DE SORGO IRRADIADAS**

Belo Horizonte  
2020

DANIELLE FÁTIMA D' ANGELIS

**ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS DE LEITES  
FERMENTADOS COM POTENCIAL PROBIÓTICO ADICIONADOS DE  
FARINHAS INTEGRAIS DE SORGO IRRADIADAS**

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.

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

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Andreza Angélica Ferreira

Belo Horizonte  
2020

A582a D' Angelis, Danielle Fátima.  
Análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de leites fermentados com potencial probiótico adicionados de farinhas integrais de sorgo irradiadas / Danielle Fátima D' Angelis. – 2020.  
141 f. : il.

Orientadora: Inayara Cristina Alves Lacerda.  
Coorientadora: Andreza Angélica Ferreira.

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

1. Laticínios – Teses. 2. Cereais – Teses. 3. Compostos bioativos – Teses. 4. Prebióticos – Teses. 5. Sorgo – Teses. I. Lacerda, Inayara Cristina Alves. II. Ferreira, Andreza Angélica. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD 664.07



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

PPGCA

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS DE LEITES FERMENTADOS COM POTENCIAL PROBIÓTICO ADICIONADOS DE FARINHAS INTEGRAIS DE SORGO IRRADIADAS**

**DANIELLE FATIMA D'ANGELIS**

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 20 de fevereiro de 2020, pela banca constituída pelos membros:

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

Profa. Dra. Andreza Angélica Ferreira (Coorientadora)  
Faculdade de Farmácia - UFMG

Profa. Dra. Fernanda Cristina Esteves de Oliveira  
UNA/Sete Lagoas

Profa. Dra. Fátima de Cássia Oliveira Gomes  
CEFET-MG

Belo Horizonte, 20 de fevereiro de 2020.

*Dedico este trabalho a minha  
família e amigos que sempre  
estiveram ao meu lado.*

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Gilmar D'Angelis e Rosângela Fátima de Freitas D'Angelis pelo amor incondicional, e incentivo no início dessa jornada, essa conquista também é de vocês.

Às minhas irmãs Larissa e Ana Clara, amo vocês.

À minha avó Izaura Ribeiro Mendes e demais familiares, em especial ao meu tio Geraldo D' Angelis, e minhas tias Dalbery D' Angelis e Amarallice D' Angelis, por todo o apoio e ajuda, só tenho que agradecer a Deus por ter me presenteado com uma família tão unida e maravilhosa.

À minha orientadora Dr<sup>a</sup> Inayara Cristina Alves Lacerda, obrigada pelos ensinamentos, disponibilidade, paciência dedicada, amizade e apoio incondicional.

À minha coorientadora Dr<sup>a</sup> Andreza Angélica Ferreira pelo apoio e pela coorientação no trabalho.

Aos professores, Dr<sup>a</sup> Raquel Linhares, Dr. Washington Azevedo, Dr. Márcio Tadeu, Dr<sup>a</sup> Camila Argante Fante, pela disponibilização de equipamentos e dúvidas esclarecidas e em especial, a Dr<sup>a</sup> Verônica Ortiz Alvarenga pela ajuda concedida e pelas ótimas sugestões ao trabalho.

Aos técnicos de Laboratório Elaine Cristina, Ludmilla Lima, Maria José (Maju), Igor Hiroshi, Mariana Wanessa, Ronália Leite, Marina Ladeira e Edna, por auxiliarem nas análises desenvolvidas, sem vocês este trabalho não teria chegado ao fim.

Aos amigos que fiz no Programa de Pós Graduação em Ciências de Alimentos Pâmella Fronza, Udson Bruno, Camila Gonçalves, Elaine Carvalho, Viviane Medeiros, Ana Luiza Santos, Ana Paula da Costa, Jussara e Natália Cristina.

À Ana Luiza Coeli e Kellen Bragança, pelos ensinamentos e por me ajudarem nos momentos mais difíceis dessa caminhada, vocês são mais que colegas de bancada, são amigas que quero ter por toda a vida, obrigada por tudo.

À Vinícius Tadeu da Veiga Correia, amigo da graduação e irmão de coração, que me acompanhou nessa jornada, obrigada pela colaboração inestimável no desenvolvimento deste trabalho, e por alegrar meus dias com suas risadas e conversas.

À Jessica e Kênia, foi ótimo morar com vocês em Belo Horizonte, obrigada pelas conversas e boa convivência.

À Embrapa Milho e Sorgo, pela parceira, em especial à Dr<sup>a</sup> Valéria Queiroz, Rafael Miguel, Renata Regina e Quelle Teixeira pelas contribuições e auxílio nas análises desenvolvidas.

À banca avaliadora, na presença das professoras Dr<sup>a</sup> Fátima de Oliveira Gomes, Dr<sup>a</sup> Fernanda Cristina Esteves de Oliveira, e Dr<sup>a</sup> Raquel Linhares Bello de Araújo pela disponibilidade e contribuições passadas ao avaliar este trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro através da concessão da bolsa de estudos.

*“Se cheguei até aqui foi porque me  
apoei no ombro de gigantes”.*

Isaac Newton

## RESUMO GERAL

A busca por alimentos saudáveis, que além de nutrir apresentem propriedades funcionais tem se tornado cada vez maior ao longo dos anos, impulsionando o desenvolvimento de novos produtos, em especial com adição de probióticos, com destaque para aqueles em base láctea, como iogurtes e leites fermentados que são ricos em nutrientes e bastante consumidos pela população. A incorporação de cereais nestes tipos de alimentos tem sido estudada, por contribuir no aumento do consumo de fibras, além do enriquecimento com compostos bioativos, que apresentam propriedades antioxidantes. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do tratamento por radiação gama em baixas dosagens na qualidade de farinhas integrais de sorgo (FIS) dos genótipos BR 501 (sem tanino) e BRS 305 (com tanino), bem como selecionar as melhores farinhas para adição em leite fermentado potencialmente probiótico (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* e *Lactobacillus acidophilus* La-5). As FIS foram inicialmente irradiadas nas dosagens de 0 kGy (controle), 3 kGy e 5 kGy e submetidas a análises microbiológicas de bolores e leveduras, coliformes totais e termotolerantes (método NMP), *Bacillus cereus* e presença de *Salmonella* sp., assim como análises de pH, acidez, atividade de água, composição centesimal, cor instrumental, concentração de compostos bioativos, atividade antioxidante e de propriedades tecnológicas. As FIS irradiadas com 5 kGy, de ambos os genótipos, foram submetidas a análise de concentração de amido resistente e granulometria, sendo selecionadas para o desenvolvimento de cinco formulações de leite fermentado com potencial probiótico (*L. acidophilus* La-5), controle: sem FIS; 1% BR 501: adicionada de 1% de FIS BR 501; 2% BR 501: adicionada de 2% de FIS BR 501; 1% BRS 305: adicionada de 1% de FIS BRS 305 e 2% BRS 305: adicionada de 2% de FIS BRS 305. As formulações foram submetidas às análises de qualidade higiênico-sanitária, composição centesimal, cor e textura instrumental, concentração de compostos bioativos, atividade antioxidante (método ABTS), e aceitação sensorial/intenção de compra (com cento e dez avaliadores não treinados), além do monitoramento do pH, acidez e viabilidade de *L. acidophilus* La-5 durante os 28 dias de armazenamento sob refrigeração. Na análise microbiológica houve ausência de *Salmonella* sp. e valores inferiores ao limite de detecção do método aplicado para coliformes totais e termotolerantes em todas as farinhas, e ambas as dosagens de irradiação aplicadas (3 kGy e 5 kGy) eliminaram a presença de bolores e leveduras e de colônias sugestivas de *Bacillus cereus* encontradas no meio de cultura Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP) nas amostras controle. Houve alterações na cor com escurecimento nos dois genótipos de FIS

irradiadas, sem diferença significativa entre as dosagens de irradiação. Em todas as FIS não houve alteração significativa na composição centesimal, na concentração de compostos fenólicos, taninos e antocianinas, na atividade antioxidante e nos parâmetros tecnológicos de Índices de Absorção: de Água, de Óleo e de Leite e no Índice de Solubilidade de Água. A FIS do genótipo BRS 305 irradiada (5 kGy) se destacou com maior teor de amido resistente e menor granulometria. Foram obtidos leites fermentados com potencial probiótico por conterem quantidades adequadas de *Lactobacillus acidophilus* La-5 durante o armazenamento com estabilidade do pH e acidez durante os 28 dias. O processo de irradiação em baixas dosagens demonstrou ser eficiente no tratamento das FIS, com destaque na dosagem de 5 kGy que eliminou toda a carga microbiana inicial presente, sem provocar alterações na qualidade nutricional. A adição de FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305 irradiadas contribuiu para o aumento do parâmetro textural de coesividade, e no aumento da concentração de compostos bioativos e atividade antioxidante e manutenção da viabilidade de *L. acidophilus* La-5 ao longo dos 28 dias, com destaque para as formulações 1% BRS 305 e 2% BRS 305 que apresentaram boa aceitação sensorial e intenção de compra pelos avaliadores, o que abre perspectivas para a inserção de sorgo com tanino na alimentação humana. No geral o presente estudo permitiu o desenvolvimento de produtos alimentícios com potencial funcional, sendo boas opções para atender a demanda de mercado voltada para o consumo de alimentos saudáveis e que tragam benefícios a saúde.

**Palavras-chave:** Produtos lácteos. Cereais. Compostos bioativos. Prebióticos. Sorgo.

## ABSTRACT

The search for healthy foods, which in addition to nourishing has functional resources, has become increasingly greater over the years, boosting the developing new products, especially with the addition of probiotics, with emphasis on those with a dairy base, such as yogurts and fermented milks that they are rich in nutrients and widely consumed by the population. The incorporation of cereals in these types of foods has been studied, as it contributes to increase fiber consumption, in addition to enriching it with bioactive compounds, which exhibit antioxidant properties. The objective of this study was to evaluate the influence of the treatment by low dosage irradiation in quality of integral sorghum flours (FIS) of the genotypes BR 501 (without tannin) and BRS 305 (with tannin), as well as selecting the best flours for application in milk potentially probiotic fermentation (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* La-5). The FIS were irradiated at dosages of 0 kGy (control), 3 kGy and 5 kGy and was subjected to microbiological analysis of molds and yeasts, total and fecal coliforms (NMP method), *Bacillus cereus* and the presence of *Salmonella* sp., as well as indication of pH, acidity, water activity, centesimal composition, instrumental color, concentration of bioactive compounds, antioxidant activity and technological properties. The FIS radiated with 5 kGy, both genotypes were subjected to an analysis of resistant starch concentration and granulometry, being selected for the development of five formulations of fermented milk with probiotic potential (*L. acidophilus* La-5), control: without FIS; 1% BR 501: added 1% of the FIS BR 501; 2% of BR 501: added to 2% of FIS BR 501; 1% BRS 305: added 1% of FIS BRS 305 and 2% BRS 305: added 2% of FIS BRS 305. The formulations submitted to sanitary hygienic quality analysis, centesimal composition, instrumental color and texture, concentration of bioactive compounds, activity antioxidant (ABTS method), and sensory acceptance/purchase intention (with one hundred and ten evaluators), in addition to monitoring pH, acidity and viability of *L. acidophilus* La-5 during 28 days of storage under refrigeration. In the microbiological analysis, there was an absence of *Salmonella* sp. and values below the limit of detection of methods for total and fecal coliforms in all flours, and samples such as applied irradiation dosages (3 kGy and 5 kGy), eliminating the presence of molds and yeasts and suggested colonies of *Bacillus cereus* found in the culture medium Agar Mannitol Egg Yolk Polymyxin (MYP) in the samples controls. There were changes in color with darkening in the two genotypes of FIS irradiated, with no significant difference between irradiation dosages. In all the FIS there were no significant changes in the centesimal composition, in the concentration of phenolic

compounds, tannins and anthocyanins, in the antioxidant activity and in the technological methods of the absorption indices: water, oil and milk and water solubility index. FIS of the irradiated BRS 305 genotype (5 kGy) stood out with a higher content of resistant starch and less granulometry. Fermented milks with probiotic potential were obtained because they contain adequate amounts of *Lactobacillus acidophilus* La-5 during storage with pH stability and acidity for 28 days. The irradiation process at low dosages proved to be efficient in the treatment of FIS, with emphasis on the dosage of 5 kGy, which eliminated all the initial microbial load present, without causing changes in nutritional quality. The addition of FIS of the BR 501 and BRS 305 genotypes irradiated, contributions to the increase in the textural cohesiveness parameter, and without increasing the concentration of bioactive compounds and antioxidant activity and maintaining the viability of *L. acidophilus* La-5 and over 28 days, with emphasis on formulations 1% BRS 305 and 2% BRS 305 that present good sensory acceptance and purchase intention by the evaluators, that open perspectives for the insertion of sorghum with tannin in human food. In general, the present study allowed the development of food products with functional potential, being good options to meet the market demand focused on the consumption of healthy foods and that bring health benefits.

**Keywords:** Dairy products. Cereals. Bioactive compounds. Prebiotics. Sorghum.

## LISTA DE FIGURAS

### FIGURAS

#### CAPITULO I

- Figura 1-** Esquema do grão de sorgo, com detalhes das camadas do pericarpo..... 35
- Figura 2-** Produção de sorgo no Brasil..... 36
- Figura 3-** Símbolo RADURA..... 39

#### CAPITULO II

- Figura 1-** Moagem de grão de sorgo..... 58

#### CAPITULO III

- Figura 1-** Etapas de desenvolvimentos das formulações de leites fermentados..... 99
- Figura 2-** Distribuição granulométrica das farinhas dos genótipos BR 501 e BRS 305... 108
- Figura 3-** Variação do pH em função do tempo durante fermentação das formulações de leites fermentados..... 109
- Figura 4-** Variação da acidez em função do tempo durante fermentação das formulações de leites fermentados..... 110
- Figura 5-** Índice de aceitação (%) das formulações de leites fermentados..... 129
- Figura 6-** Escores da intenção de compra das formulações de leites fermentados..... 129
- Figura 7-** Intenção de compra das formulações de leites fermentados..... 130

## LISTA DE TABELAS

### CAPITULO I

<b>TABELA 1-</b> Tipos de leites fermentados definidos pela legislação.....	25
<b>TABELA 2-</b> Parâmetros microbiológicos para leites fermentados.....	27

### CAPITULO II

<b>TABELA 1-</b> Análise microbiológica das amostras de FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305 antes e após irradiação.....	68
<b>TABELA 2-</b> pH, acidez das amostras de FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305 antes e após irradiação em base úmida (b. u.) .....	70
<b>TABELA 3-</b> Atividade de água e Composição centesimal das FIS BR 501 e BRS 305 antes e após irradiação em base seca (b. s.).....	72
<b>TABELA 4-</b> Determinação dos parâmetros de cor para as FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305 antes e após irradiação em base úmida (b. u.).....	74
<b>TABELA 5-</b> Concentração de Antocianinas, Compostos fenólicos, Taninos e Atividade Antioxidante pelo método ABTS das farinhas integrais de sorgo BR 501 e BRS 305 antes e após irradiação em base seca (b. s.).....	76
<b>TABELA 6-</b> Propriedades tecnológicas das FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305 antes e após irradiação em base seca (b. s.).....	78

### CAPITULO III

<b>TABELA 1-</b> Concentrações de farinhas de sorgo dos genótipos BR 501 e BRS 305 adicionadas nas formulações de leites fermentados potencialmente probióticos.....	98
<b>TABELA 2-</b> Concentração de amido resistente e não resistente nas FIS BR 501 e BRS 305 em base seca (b. s.).....	106

<b>TABELA 3-</b>	Quantificação de Bactérias Ácido Láticas (BAL) e <i>L. acidophilus</i> La-5 no início e fim do processo fermentativo.....	112
<b>TABELA 4-</b>	Composição centesimal (%) das diferentes formulações de leites fermentados em base úmida (b. u.).....	113
<b>TABELA 5-</b>	Parâmetros ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ ) das formulações de leites fermentados (controle) e com adição de 1% e 2% de farinha integral de sorgo em base úmida (b. u.).....	115
<b>TABELA 6-</b>	Parâmetros de textura das formulações de leites fermentados em base úmida (b. u.).....	117
<b>TABELA 7-</b>	Atividade Antioxidante, teor de Antocianinas, Compostos fenólicos e Taninos condensados das formulações de leite fermentado convencional (controle) e com adição de 1% e 2% de farinha integral de sorgo, resultados em base seca (b. s.).....	119
<b>TABELA 8-</b>	Valores de pH dos leites fermentados ao longo de 28 dias de armazenamento a $5 \pm 2$ °C.....	121
<b>TABELA 9-</b>	Valores de acidez (g de ácido láctico/100 g) dos leites fermentados probióticos ao longo de 28 dias de armazenamento a $5 \pm 2$ °C.....	122
<b>TABELA 10-</b>	Valores da viabilidade celular (log UFC/mL) de <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 nos leites fermentados ao longo de 28 dias de armazenamento a $5 \pm 2$ °C.....	124
<b>TABELA 11-</b>	Análise microbiológica dos leites fermentados.....	126
<b>TABELA 12-</b>	Parâmetros de aceitação das formulações de leites fermentados após 7 dias armazenados a $5 \pm 2$ °C.....	127

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABTS – Radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
- AMG – Amiloglucosidase
- ANOVA – Análise de Variância
- AOAC – Association of Official Analytical Chemist
- APHA – American Public Health Association
- AR – Amido resistente
- BAL – Bactérias Ácido Láticas
- B.O.D – Demanda Bioquímica de Oxigênio
- CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- CDTN – Centro de Desenvolvimento e Tecnologia Nuclear
- CE – Catequina equivalente
- CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento
- CNS – Conselho Nacional de Saúde
- DIC – Delineamento Inteiramente Casualizado
- DXAs – Desoxianocianinas
- E. – Esculeto
- E.E – Eixo embrionário
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- Eq. – Equivalente
- FAFAR – Faculdade de Farmácia
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations
- FIS – Farinha Integral de Sorgo
- GA – Ácido Gálico
- GOPOD – Reagente glicose oxidase/peroxidase
- Gy – Gray
- HCl – Ácido clorídrico
- IAA – Índice de Absorção em Água
- IAEA – Agência Internacional de Energia Atômica
- IAL – Instituto Adolfo Lutz
- IAL – Índice de Absorção em Leite
- IAO – Índice de Absorção em Óleo

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística  
ISA – Índice de Solubilidade em Água  
Kcal – Quilocalorias  
kGy – Kilogray  
KOH – Hidróxido de Potássio  
L\* – Luminosidade  
LASEC – Laboratório de Análise Sensorial e Estudos de Consumidor  
Log – logaritmo  
M – Molar  
MG – Minas Gerais  
Min. – Minutos  
MYP – Manitol Gema de Ovo Polimixina  
Nm – nanômetro  
NMP – Número mais provável  
OA – Osteoartrite  
OMS – Organização Mundial da Saúde  
PCR – Polymerase Chain Reaction  
pH – Potencial hidrogeniônico  
R.p.m. – Rotações por minuto  
TCLE – Termo de Consentimento Livre Esclarecido  
TROLOX – 6-Hidroxi-2, 5, 7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico.  
UFC – Unidade Formadora de Colônia  
UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais  
USD – United States Dollar  
WHO – World Health Organization

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	21
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	22
<b>CAPITULO I- REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	24
1 Leites Fermentados.....	24
2 Alimentos com alegação funcional.....	29
2.1 Probióticos.....	30
2.1.1 Legislação.....	30
2.1.2 Efeitos terapêuticos.....	31
2.1.3 <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	32
2.2 Prebióticos.....	32
2.2.1 Amido resistente.....	33
3 Sorgo.....	34
3.1 Cenário econômico.....	35
3.2 Composição nutricional.....	36
4 Radiação Gama na conservação de alimentos.....	38
5 Análise sensorial.....	40
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	42
<b>CAPÍTULO II - EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA NAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS, NUTRICIONAIS E FUNCIONAIS DE FARINHAS INTEGRAIS DE SORGO DOS GENÓTIPOS BR 501 E BRS 305</b> .....	51
<b>RESUMO</b> .....	52
<b>ABSTRACT</b> .....	54
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	56
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	58
2.1 Obtenção das Farinhas Integrais de Sorgo .....	58
2.2 Irradiação das FIS BR 501 e BRS 305.....	59
2.3 Análise microbiológica das FIS.....	59
2.4 Análises físico-químicas das FIS antes e após irradiação.....	60
2.4.1 Acidez total titulável.....	60
2.4.2 pH.....	60
2.4.3 Atividade de água.....	60
2.4.4 Composição centesimal.....	60
2.4.5 Análise Colorimétrica.....	61

2.4.6 Obtenção do extrato para análises de Compostos Fenólicos, Antocianinas Totais e de Atividade Antioxidante.....	61
2.4.6.1 Compostos Fenólicos.....	61
2.4.6.2 Antocianinas.....	62
2.4.6.3 Atividade Antioxidante por ABTS.....	62
2.4.7 Taninos Condensados.....	63
2.4.8 Análise das propriedades tecnológicas das FIS antes e após irradiação.....	64
2.4.8.1 Índice de Absorção em Água (IAA).....	65
2.4.8.2 Índice de Solubilidade em Água (ISA).....	65
2.4.8.3 Índice de Absorção em Óleo (IAO).....	66
2.4.8.4 Índice de Absorção em Leite (IAL).....	66
2.5 Análise Estatística.....	66
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>67</b>
3.1 Análise microbiológica das FIS antes e após irradiação.....	67
3.2 Análises físico-químicas das FIS antes e após irradiação.....	70
3.2.1 pH e acidez.....	70
3.2.2 Atividade de água e Composição centesimal.....	71
3.2.3 Análise Colorimétrica.....	74
3.3 Teores de Fenólicos Totais, Antocianinas, Taninos Condensados e Atividade Antioxidante.....	75
3.4 Propriedades Tecnológicas das FIS BR 501 e BRS 305 antes e após irradiação.....	78
<b>4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>80</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>81</b>
<b>CAPÍTULO III - INFLUÊNCIA DE FARINHAS INTEGRAIS DE SORGO IRRADIADAS NAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES, SENSORIAIS E VIABILIDADE DE <i>LACTOBACILLUS ACIDHOPILUS</i> LA-5 EM LEITES FERMENTADOS COM POTENCIAL PROBIÓTICO.....</b>	<b>87</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>88</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>90</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>92</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>95</b>
2.1 Material.....	95
2.1.1 Culturas microbianas.....	95
2.2 Métodos.....	95
2.2.1 Delineamento experimental.....	95
2.2.2 Análise de Amido Resistente nas FIS.....	96

2.2.3	Análise granulométrica das FIS.....	96
2.2.4	Preparo e ativação do inóculo das culturas lácteas para desenvolvimento dos leites fermentados.....	96
2.2.4.1	Cultura liofilizada Yo-Flex Mild 1.0 ( <i>Streptococcus thermophilus</i> e <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i> ).....	96
2.2.4.2	Cultura liofilizada <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5.....	97
2.2.5	Preparo das formulações de leites fermentados.....	97
2.2.6	Análises físico-químicas.....	100
2.2.6.1	Composição centesimal.....	100
2.2.7	Análise Colorimétrica.....	100
2.2.8	Textura Instrumental.....	100
2.2.9	Análise de Atividade Antioxidantes e da concentração de Compostos bioativos.....	101
2.2.9.1	Liofilização dos leites fermentados.....	101
2.2.9.2	Preparo do extrato para análises de Atividade Antioxidante e concentração de Compostos bioativos.....	101
2.2.9.3	Análise de Atividade Antioxidante e Teores de Antocianinas, Fenólicos Totais e Taninos Condensados.....	101
2.2.10	Avaliação da vida útil das formulações de leites fermentados.....	102
2.2.10.1	pH e Acidez titulável.....	102
2.2.10.2	Avaliação da viabilidade de <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5.....	103
2.2.11	Análise microbiológica.....	103
2.2.11.1	Qualidade higiênico – sanitária.....	103
2.2.12	Análise sensorial.....	104
2.3	Análise estatística.....	105
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>106</b>
3.1	Análise de Amido Resistente das FIS BR 501 e BRS 305.....	106
3.2	Análise de Granulometria das FIS BR 501 e BRS 305.....	107
3.3	Processos fermentativos dos leites fermentados.....	108
3.3.1	Avaliação do pH e acidez durante a fermentação.....	108
3.3.2	Quantificação de Bactérias Ácido Lácticas (BAL) e <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 durante a produção dos leites fermentados.....	111
3.4	Avaliação físico-química dos leites fermentados probióticos.....	113
3.4.1	Análise da composição centesimal.....	113
3.4.2	Análise Colorimétrica.....	114
3.4.3	Textura Instrumental.....	116
3.4.4	Teores de Antocianinas, Fenólicos Totais, Taninos Condensados e Atividade Antioxidante.....	118

3.5 Avaliação da vida útil dos leites fermentados sob refrigeração.....	121
3.5.1 pH e acidez titulável.....	121
3.5.2 Viabilidade de <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 durante armazenamento.....	123
3.6 Análise microbiológica.....	126
3.6.1 Qualidade higiênico-sanitária.....	126
3.7 Análise sensorial.....	126
<b>4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>131</b>
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>132</b>
<b>6 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>132</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>134</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Os leites fermentados são alimentos conhecidos mundialmente, possuem baixo custo, são fáceis de serem transportados, além de fazerem parte de forma rotineira da dieta da população, podendo ser encontrados em supermercados, padarias, farmácias, dentre outros, em uma variedade de sabores (FALEITO, 2015). Estes produtos podem ser definidos como preparados lácteos, obtidos a partir da fermentação do leite de diferentes espécies animais que têm suas características sensoriais alteradas (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005).

No Brasil são considerados leites fermentados, o iogurte, leite fermentado ou cultivado, leite acidófilo ou acidofilado, kefir, kumys e coalhada. O iogurte é obtido a partir da fermentação do leite pelas bactérias ácido-láticas *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, podendo ser adicionadas outras bactérias lácticas (BRASIL, 2007).

Essas outras bactérias ácido-láticas adicionadas podem incluir as culturas lácticas probióticas como *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, dentre outros (NUNES; GARRIDO, 2018). Esses microrganismos vivos são responsáveis por contribuir para o apelo funcional dos produtos, trazendo benefícios à saúde como melhora das condições intestinais, por meio da prevenção do desenvolvimento de patógenos infecciosos no intestino e a melhora de doenças inflamatórias (SÁNCHEZ *et al.*, 2017).

A adição de cereais aos leites fermentados também apresenta grande relevância, pelo fato dos cereais serem alimentos ricos em nutrientes e fibras, capazes de conferirem benefícios à saúde como redução do risco de doenças cardiovasculares, sobrepeso, obesidade, diabetes mellitus tipo 2 (CHO *et al.*, 2013) e atuarem como nutrientes para os probióticos em nível intestinal, o que contribui para o aumento da viabilidade desses microrganismos nos alimentos e melhora das condições gerais de saúde do indivíduo (CASAROTTI; CARNEIRO; PENNA, 2014). Dentre os diversos cereais existentes no mercado pode-se citar o sorgo. Este grão é utilizado na alimentação animal no país (ANUNCIAÇÃO *et al.*, 2017; CARDOSO *et al.*, 2014), mas vem sendo inserido na alimentação humana, devido ao fato de não possuir glúten, ser rico em vários nutrientes e fibras (ANUNCIAÇÃO *et al.*, 2017; HAMAD *et al.*, 2018; MARSTON; KHOURYIEH; ARAMOUNI, 2016). Adicionalmente, alguns genótipos de sorgo apresentam uma variedade de compostos bioativos, como taninos condensados (ANYANGO; TAYLOR, 2019), polifenóis especialmente ácido fenólico e os flavonoides, os

quais possuem alegação funcional, sendo superior em comparação a outros cereais (AWIKA; ROSE; SIMSEK, 2018; GIRARD; AWIKA, 2018).

Deste modo, o desenvolvimento de leites fermentados com potencial probiótico adicionados de farinha de sorgo torna-se uma alternativa viável e inovadora que irá de encontro à demanda da população por este tipo de produto, proporcionando ainda, uma maior inserção do sorgo na alimentação humana.

Entretanto para que o sorgo possa ser inserido com segurança na alimentação humana, é necessário que este passe por algum tipo de processamento, sendo importante escolher um método que garanta a sua inocuidade e aumento da vida útil, sem alteração da sua composição nutricional. Dentre os métodos existentes, a radiação gama é uma boa opção, por eliminar a carga microbiana, e conseqüentemente aumentar o prazo de validade e a qualidade dos alimentos (XAVIER *et al.*, 2018).

## 2. OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do tratamento por radiação gama nas dosagens de 3 kGy e 5 kGy na carga microbiana e propriedades físico-químicas e atividade antioxidante em farinhas integrais de sorgo (FIS) dos genótipos BR 501 (sem tanino) e BRS 305 (com tanino), bem como selecionar as melhores FIS para adição em leite fermentado potencialmente probiótico.

Para atingir estes objetivos buscou-se,

- i) analisar a influência das diferentes dosagens de irradiação gama nas FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305 sobre os parâmetros físico-químicos de pH, acidez, atividade de água, composição centesimal, cor, concentração de compostos fenólicos, taninos, antocianinas e na atividade antioxidante pelo método ABTS, Índice de Absorção de Água (IAA), Índice de Solubilidade de Água (ISA), Índice de Absorção de Óleo (IAO), Índice de Absorção de Leite (IAL);
- ii) determinar o teor de amido resistente e granulometria nas FIS BRS 305 e BR 501;
- iii) avaliar o processo fermentativo das formulações de leites fermentados quanto ao pH, acidez e a concentração de bactérias ácido-láticas totais (*S. Thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* La-5) e da cultura probiótica *L. acidophilus* La-5;

- iv) avaliar a composição centesimal, cor e textura das formulações de leites fermentados probióticos desenvolvidas;
- v) avaliar os parâmetros de acidez, pH e a viabilidade de *L. acidophilus* La-5 nas formulações de leites fermentados durante o período de armazenamento de 1, 7, 14, 21 e 28 dias;
- vi) avaliar a qualidade higiênico-sanitária das formulações de leite fermentado desenvolvidas;
- vii) comparar os valores obtidos das análises físico-químicas e microbiológicas com a legislação vigente para leites fermentados;
- viii) avaliar sensorialmente as formulações de leites fermentados com potencial probiótico.

Este trabalho foi dividido em três capítulos: revisão de literatura (Capítulo I), que foi precedido pela parte experimental que compreendeu o tratamento de FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305 com irradiação gama nas dosagens de 3 kGy e 5 kGy (Capítulo II) e o desenvolvimento de formulações de leite fermentado com potencial probiótico adicionados de diferentes concentrações de FIS irradiadas (Capítulo III). Finalmente, apresentam-se as considerações finais, correlacionando os principais resultados e perspectivas desse trabalho.

## CAPITULO I

### REVISÃO DA LITERATURA

#### 1. Leites Fermentados

O desenvolvimento de leites fermentados data a mais de 10.000 anos a. C., ou seja, desde o início das civilizações realizava-se a fermentação espontânea do leite por culturas naturais desconhecidas e existentes em bolsas de peles de animais nas quais o leite era armazenado, o que acarretaria a produção de ácidos orgânicos com modificações nas características sensoriais e nutricionais, contribuindo para uma maior conservação do produto (KHEDKAR; KALYANKAR; DEOSARKAR, 2016).

Os benefícios à saúde associados ao consumo de leites fermentados começaram a ter maior relevância devido à teoria da longevidade de Metchnikoff no século XX, que considerava o consumo rotineiro destes produtos na dieta poderia contribuir para lentificar o processo de envelhecimento, baseando-se na longevidade dos camponeses do Balcãs que consumiam leites fermentados com frequência (JANKOVIC *et al.*, 2010; YAMAMOTO, 2016).

Os conhecimentos sobre a bioquímica e o processo de fermentação do leite e os avanços tecnológicos tornaram possível o controle no desenvolvimento industrial de leites fermentados, na obtenção de produtos seguros para consumo e de qualidade (KHEDKAR; KALYANKAR; DEOSARKAR, 2016). A variedade de leites fermentados existente no mercado é elevada, sendo encontrados em diferentes marcas, sabores, e direcionados para diferentes faixas etárias (CONTI-SILVA; SOUZA-BORGES, 2019).

Leites fermentados são “produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do pH do leite, ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de microrganismos específicos. Estes microrganismos específicos devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade” (BRASIL, 2007). A tabela 1 representa os leites fermentados reconhecidos pela legislação brasileira.

**Tabela 1- Tipos de leites fermentados definidos pela legislação**

Tipos de leites fermentados	
Iogurte, Yogur ou Yoghurt	Produto incluído na definição de leites fermentados, cuja fermentação se realiza com cultivos protosimbióticos de <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> e <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i> , quais se podem acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final.
Leite Fermentado ou Cultivado	Produto incluído na definição de leites fermentados, cuja fermentação se realiza com um ou vários dos seguintes cultivos: <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Bifidobacterium</i> sp., <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> e/ou outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final.
Leite Acidófilo ou Acidofilado	Produto incluído na definição de leites fermentados, cuja fermentação se realiza exclusivamente com cultivos de <i>Lactobacillus acidophilus</i> .

---

Fonte: BRASIL (2007) adaptado

**Tabela 1- Tipos de leites fermentados definidos pela legislação (Continuação)**

Tipos de leites fermentados	
Kefir	Produto incluído na definição de leites fermentados, cuja fermentação se realiza com cultivos ácido-lácticos elaborados com grãos de Kefir, <i>Lactobacillus kefir</i> , espécies dos gêneros <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactococcus</i> e <i>Acetobacter</i> com produção de ácido láctico, etanol e dióxido de carbono.
Kumys	Produto incluído na definição de leites fermentados, cuja fermentação se realiza com cultivos de <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> e <i>Kluyveromyces marxianus</i> .
Coalhada ou Cuajada	Produto incluído na definição de leites fermentados, cuja fermentação se realiza por cultivos individuais ou mistos de bactérias mesofílicas produtoras de ácido láctico.

Fonte: BRASIL (2007) adaptado.

A Instrução Normativa nº 46 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) determina que a consistência do iogurte deve ser líquida, pastosa ou gelificada, de cor branca ou de acordo com as substâncias e/ou corantes alimentícios que foram adicionados, além de apresentar odor e sabor característicos (BRASIL, 2007).

Embora o iogurte seja menos perecível que o leite, este produto pode sofrer alterações microbiológicas e físico-químicas, sendo relevante ser submetido a análises laboratoriais, como avaliação do pH e da acidez, concentração de probióticos e demais bactérias lácticas existentes, de modo a se determinar a vida útil no mercado, bem como as condições ideais de armazenamento. Além disso, o alimento deve atender às exigências de qualidade determinadas pela legislação vigente durante o período de validade (COELHO *et al.*, 2009).

## CAPITULO I

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de leites fermentados estabelece parâmetros microbiológicos, com limites para coliformes totais e termotolerantes, bolores e leveduras (Tabela 2) (BRASIL, 2007).

**Tabela 2- Parâmetros microbiológicos para leites fermentados**

Microrganismo	Critério de aceitação	
Coliformes/g (30/35 °C)	n=5	c=2
	m=10	M=100
Coliformes/g (45 °C)	n=5	c=2
	m<3	M=10
Bolores e leveduras/g	n=5	c=2
	m=50	M=200

n= número de unidades a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote, c= número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites de m e M (limites de aceitação (UFC)), m = é o limite que, em um plano de três classes, separa o lote aceitável do produto ou o lote com qualidade intermediária, M = é o limite que, em plano de duas classes, separa o produto aceitável do inaceitável.

**Fonte: BRASIL (2007).**

O consumo de leites fermentados permite uma melhor digestibilidade e absorção de proteínas, auxilia na maior absorção de minerais como o cálcio, possui efeitos anti-hipertensivos, anticancerígenos e anti-alergênicos (YAMAMOTO, 2016).

Dentre os exemplos de leites fermentados, pode-se citar o iogurte como um dos produtos mais populares, sendo este considerado saudável e nutritivo, por ser obtido a partir de uma matéria prima rica em nutrientes, como proteínas, cálcio, fósforo, riboflavina, tiamina, vitamina B12, ácido fólico, niacina, magnésio e zinco (GAHRUIE *et al.*, 2015). Por ser fermentado, o iogurte é mais facilmente digerido que o leite, devido ao menor conteúdo de lactose, uma vez que parte desse dissacarídeo é hidrolisado durante o processo pelas bactérias ácido lácticas adicionadas ao leite, sendo indicado o seu consumo para indivíduos intolerantes a este carboidrato (FU *et al.*, 2018; GAHRUIE *et al.*, 2015; YAMAMOTO, 2016).

Durante a fermentação do iogurte, a acidez do leite e a presença de alguns aminoácidos livres (especialmente valina) produzidos pelo *Lactobacillus delbrückii*, subsp. *bulgaricus* favorecem o crescimento do *Streptococcus thermophilus*. Este microrganismo por

## CAPITULO I

sua vez libera formiato no meio pelo metabolismo da lactose e CO<sub>2</sub> a partir da ureia presente no leite, que favorece o crescimento dos lactobacilos, havendo assim uma simbiose (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005).

Entretanto, com a produção de ácido láctico cada vez maior, além de outros metabolitos liberados durante a fermentação, ocorre o aumento da acidez, até chegar ao ponto de inibir *S. thermophilus*, e *L. bulgaricus*, por ser mais resistente a acidez, aumenta em número e ultrapassa a multiplicação de *S. thermophilus* (FERREIRA, 2005).

Durante o processo de fermentação ocorre a formação do gel, devido a desestabilização dos complexos de caseína quando o pH do leite reduz para valores de 5,3 a 5,2, havendo a precipitação em valores de pH iguais a 4,7 e 4,6 (SERT; MERCAN; DERTLI, 2017).

A fermentação é interrompida após a acidez desejada ser atingida, com resfriamento do produto. O gel desenvolvido durante fermentação tem grande influência na textura do iogurte a ser alcançada, permitindo a obtenção de três tipos de iogurte. O primeiro corresponde ao iogurte tradicional, este possui um gel firme com consistência similar à de pudim, sendo possível a sua obtenção devido ao gel manter-se íntegro e por ser um produto já incubado no envase. O segundo tipo de iogurte corresponde ao batido, esse produto tem uma textura menos firme que o iogurte tradicional, que pode ser justificado devido a incubação do mesmo em um tanque de fermentação, seguindo-se à quebra do gel para envase, e o último tipo de iogurte é conhecido como líquido, visto que, sua textura é líquida, devido à realização da quebra do gel com o produto ainda quente (FERREIRA, 2005).

Caso o pH seja inferior a 4,6, durante fermentação do leite poderá ocorrer a redução da hidratação das proteínas, com contração do coágulo, provocando dessoramento (BRANDÃO, 1995). Essa separação de fases devido à acidificação elevada afeta o aspecto visual do produto, tornando o leite fermentado indesejável para consumo (VINDEROLA; BAILO; REINHEIMER, 2000).

Outro problema que a acidez elevada pode causar é a redução da viabilidade das culturas microbianas durante armazenamento (VOGADO *et al.*, 2018), podendo descaracterizar o produto perante o padrão de identidade e qualidade, que exige concentração de no mínimo 7 Log UFC/g de bactérias ácido-láticas totais, e acidez de 0,6 g de ácido láctico/100 g de produto a 1,5 g de ácido láctico/100 g de produto, o qual devem ser mantidos durante toda a vida útil do iogurte (BRASIL, 2007). Portanto, destaca-se a importância de um controle rigoroso dos parâmetros de pH e acidez durante a fermentação, além da avaliação da

## CAPITULO I

concentração da cultura láctica no produto final (BRASIL, 2007), para a obtenção de produtos de qualidade, com atributos sensoriais desejáveis.

A adição de bactérias probióticas em iogurtes e outros tipos de leites fermentados também tem sido muito estudada devido aos benefícios que podem trazer a saúde do consumidor; essas culturas probióticas incluem espécies pertencentes ao gênero *Lactobacillus* assim como espécies do gênero *Bifidobacterium*, como nos trabalhos de Abdollahzadeh *et al.* (2018); Batista *et al.* (2017); Cruz *et al.* (2013); Demirci *et al.* (2017); Gallina; Ormenese; Garcia (2019); Gonçalves *et al.* (2018); Kumar; Kumar (2016); Leite *et al.* (2018); Liu *et al.* (2017); Machado *et al.* (2017); Mani-López; Palou; López-Malo (2014); Ozturkoglu-Budak *et al.* (2019); Pinto *et al.* (2017).

A inclusão de cereais em leites fermentados vem sendo estudada nos últimos anos como os trabalhos de Lorusso *et al.* (2018); Mousavi *et al.* (2019); Oliveira *et al.* (2020); Santos; Cruz; Almeida (2017), com o intuito de contribuir com o aumento da ingestão de fibras pela população.

### **2. Alimentos com alegação funcional**

Alimentos funcionais podem ser definidos como alimentos ou ingredientes que além de conceder funções nutricionais básicas, produzem efeitos metabólicos e/ou fisiológicos, devendo ser seguros para o consumo humano sem supervisão médica (BRASIL, 1999).

A demanda por alimentos com alegação funcional está cada vez maior, devido à preocupação da população em consumir alimentos mais saudáveis (BUSTAMANTE *et al.*, 2015). O aumento da procura por alimentos e bebidas com alegação funcional tem contribuído para o crescimento econômico, com indústrias multibilionárias com previsão de arrecadar mais de US\$ 192 bilhões (USD) em todo o mundo até 2020 (KAUR; SINGH, 2017). Dentre os produtos com alegação funcional mais populares, destacam-se aqueles adicionados de probióticos, prebióticos, ricos em compostos bioativos, vitaminas e minerais (OZEN; SANDAL; DINLEYICI, 2014).

Com isso o mercado de produtos lácteos busca desenvolver produtos inovadores, que possam trazer benefícios à saúde dos consumidores e contribuir para uma vida mais saudável (LEITE *et al.*, 2018). Em particular, o desenvolvimento de leites fermentados com a adição de probióticos ou prebióticos, ou de ambos, também conhecidos como simbióticos, e a incorporação de compostos bioativos de fontes naturais, com a finalidade de melhorar o valor

## CAPITULO I

nutricional, perfil sensorial, as características físico-químicas, reológicas e o fornecimento de propriedades terapêuticas (FAZILAH *et al.*, 2018).

### 2.1 Probióticos

#### 2.1.1 Legislação

Os produtos alimentícios com potencial probiótico têm crescido cada vez mais no mercado, isto pode ser justificado pela demanda dos consumidores por alimentos que proporcionam benefícios à saúde nas últimas décadas (BUSTAMANTE *et al.*, 2015). Sendo os leites fermentados os produtos mais comuns como veículo para probióticos (OLIVEIRA *et al.*, 2017). Os probióticos são definidos internacionalmente como “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FAO/WHO, 2002; HILL *et al.*, 2014). Outra definição similar corresponde a da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) na qual os probióticos são considerados “microrganismos vivos que são capazes de melhorar o equilíbrio microbiológico intestinal trazendo efeitos benéficos à saúde” (BRASIL, 2008).

Para que os probióticos possam trazer tais benefícios à saúde, estes microrganismos devem estar viáveis nos produtos, garantindo a ação alegada dentro do prazo de validade (BRASIL, 2002). Na legislação brasileira, anteriormente, para que um produto pudesse ser considerado probiótico era necessário conter uma quantidade mínima viável entre  $10^8$  UFC a  $10^9$  UFC na porção diária do produto pronto para consumo (BRASIL, 2008).

Entretanto houve uma atualização na legislação no ano de 2016, na qual foi retirado o valor mínimo de unidades formadoras de colônia como padrão específico de microrganismos viáveis, sendo exigida comprovação pela empresa com relação à eficácia do probiótico, por meio de estudos científicos como estudos clínicos, randomizados, duplo cego e placebo controlados, que comprovem a relação entre consumo do produto e efeito funcional alegado, além disso, as alegações de saúde devem estar baseadas em estudos epidemiológicos. Cada produto considerado probiótico deve apresentar um laudo que comprove a quantidade mínima viável do microrganismo para exercer o efeito funcional até o final do prazo de validade do produto, assim como nas condições de uso, armazenamento e distribuição (BRASIL, 2016).

## CAPITULO I

### 2.1.2 Efeitos terapêuticos

A composição da microbiota intestinal apresenta grande relevância sobre as funções gastrointestinais e imunológicas, assim como na digestão adequada de nutrientes (PETROVA; PETROV, 2017). Para indivíduos saudáveis essa composição pode se manter estável, entretanto existem vários fatores que podem afetar esse equilíbrio, ocasionando o desenvolvimento de patógenos e surgimento de infecção bacteriana (MARTINI *et al.*, 2009; ZIEMER; GIBSON, 1998). A aplicação de bactérias probióticas é um método que contribui para a manutenção do equilíbrio da microbiota intestinal (PETROVA; PETROV, 2017).

Deste modo, os probióticos correspondem a “microbiota transitória”, por estarem presentes em um curto período de tempo no organismo, devido a sua colonização permanente ser impedida pela microbiota residente, mas podem modificar a composição microbiana intestinal e sua capacidade metabólica (DERRIEN; VLIEG, 2015). Portanto, para que os probióticos tragam benefícios em longo prazo para a saúde, é relevante que os mesmos sejam consumidos diariamente por meio da suplementação contínua na dieta, de acordo com a tolerância de cada indivíduo (BARRETO, 2003).

Ao atuarem no intestino, os probióticos possuem a capacidade de estimular o sistema imunológico, auxiliando assim na redução da microbiota patogênica existente, o que contribui para reduzir a incidência e a gravidade da diarreia. Estudos em modelos animais mostram que o uso de probióticos reduz o risco de câncer de cólon, o que pode ser justificado provavelmente pela capacidade desses microrganismos benéficos de inibir a atividade de certas enzimas bacterianas que são capazes de elevar os níveis de pró-carcinógenos (QUIGLEY, 2010; NUNES; GARRIDO, 2018).

Os probióticos mais conhecidos no mundo são os dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, sendo, portanto, os mais utilizados no desenvolvimento de produtos probióticos (CHEN *et al.*, 2017). Entretanto, é importante o uso de culturas probióticas em conjunto com outras bactérias em um processo fermentativo, pois a maioria destes microrganismos multiplica-se lentamente devido à falta de atividade proteolítica essencial e baixo desempenho na acidificação. Portanto, o uso de culturas iniciadoras como *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*, juntamente com culturas probióticas auxilia no menor tempo de fermentação (FAZILAH *et al.*, 2018).

Os lactobacilos podem ser definidos como bactérias gram-positivas e anaeróbicas facultativas, predominantes no intestino delgado, e que são capazes de competir com bactérias patogênicas por locais de ligação de nutrientes, além de produzirem ácidos orgânicos durante

## CAPITULO I

o metabolismo provocando reduções do pH intestinal (NUNES; GARRIDO, 2018). Dentre as espécies desse gênero comumente usadas como probióticos podem-se citar *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei defensis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus johnsonii* (GRANATO *et al.*, 2010).

### 2.1.3 *Lactobacillus acidophilus*

*Lactobacillus acidophilus* faz parte da microbiota intestinal humana, sendo encontrado no intestino delgado (BARRETO, 2003). Ao ser consumido nos alimentos é relevante que essas bactérias cheguem ao intestino vivas na concentração de 6 a 7 log UFC/g para conferir benefícios à saúde (JANUÁRIO *et al.*, 2017; KUMAR; KUMAR, 2016; OZCAN *et al.*, 2017). São muitos os estudos com *L. acidophilus* isolado ou combinado com outras culturas probióticas.

Ejtahed *et al.* (2012) consideraram o *L. acidophilus* La-5 um agente promissor para o controle do diabetes mellitus tipo 2; ao observarem melhoras na glicemia de jejum e aumento na atividade antioxidante em pacientes que passaram a consumir iogurte com a presença desse probiótico juntamente com *Bifidobacterium lactis* BB12. Brasili *et al.* (2013) verificaram em estudo animal que a suplementação de *L. acidophilus* La-5 na dieta acarretava uma modulação positiva do perfil metabólico urinário e fecal, indicando um provável efeito na prevenção e/ou redução da disfunção metabólica relacionada à idade.

Outro benefício associado à suplementação alimentar com *L. acidophilus* está no alívio da dor associada à osteoartrite (OA), o que pode contribuir no atraso da progressão da doença, inibindo a produção pró-inflamatória de citocinas, bem como redução de danos à cartilagem (LEE *et al.*, 2018). Ao ser consumido por meio de leites fermentados este probiótico também pode apresentar influência em curto prazo na composição da microbiota intestinal de adultos com síndrome do intestino irritável (MATIJAŠIĆ *et al.*, 2016).

## 2.2 Prebióticos

De acordo com FAO, prebióticos podem ser definidos como “um componente alimentar não viável que confere um benefício para a saúde do hospedeiro associado à modulação da microbiota intestinal” (FAO/WHO, 2002). São carboidratos de diversos

## CAPITULO I

tamanhos, englobando monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos, embora não sejam absorvíveis pelo intestino delgado, servem de substrato para bactérias endógenas, auxiliam no crescimento seletivo e metabolismo principalmente de lactobacilos e bifidobactérias (DENIPOTE; TRINDADE; BURINI, 2010).

Em leites fermentados probióticos a presença de prebióticos influencia no aumento do potencial funcional do produto, além de manter estável a viabilidade dessas bactérias até o final do prazo de validade (BATISTA *et al.*, 2017). Apresentando grande relevância, visto que, a viabilidade de culturas probióticas adicionadas em produtos alimentícios podem apresentar decréscimo durante a vida útil, devido a vários fatores como tipo de armazenamento, o conteúdo de nutrientes, acidez, pH e metabólitos inibidores secretados como ácidos orgânicos e bacteriocinas (JANKOVIC *et al.*, 2010, MEIRA *et al.*, 2015).

Os prebióticos também protegem os microrganismos probióticos da ação ácida do estômago, o que impede o ácido clorídrico de degradar as cepas em indivíduos saudáveis (NUNES; GARRIDO, 2018) e contribui para o aumento da viabilidade, sobrevivência e permanência no sistema gastrointestinal (MATIJAŠIĆ *et al.*, 2016).

O consumo de prebióticos pode ainda promover benefícios à saúde de indivíduos obesos; sendo uma das hipóteses a diminuição da ingestão energética, o que permite a redução de peso e gordura corporal principalmente e melhoria nos parâmetros inflamatórios e metabólicos (FROTA *et al.*, 2015).

Os principais oligossacarídeos e polissacarídeos considerados prebióticos e utilizados na indústria de alimentos são a inulina, frutooligossacarídeos, galactooligossacarídeos, amido resistente (BALTHAZAR *et al.*, 2017; VERSPREET *et al.*, 2016), quitooligossacarídeos, entre outros (GIBSON *et al.*, 2017).

Na indústria de laticínios, a adição de prebióticos possui importância não apenas relacionados aos seus benefícios à saúde, mas também relacionadas às suas vantagens tecnológicas (GUIMARÃES *et al.*, 2018). Segundo Larrauri (1999) fibras de diferentes fontes ao serem adicionadas em alimentos possuem capacidade de retenção de água, aumento do rendimento de produção, melhoria da textura e redução do conteúdo calórico.

### 2.2.1 Amido resistente

O amido resistente (AR) é um carboidrato que se assemelha a fibra alimentar de origem natural, sendo encontrado em alimentos ricos em amido. É classificado em 5 subtipos: AR1 (fisicamente inacessível a digestão), AR2 (grânulos de amido nativo), AR3 (amido

## CAPITULO I

fisicamente modificado), AR4 (amido quimicamente modificado) e AR5 (complexos amilose-lipídios) (NASRIN; ANAL, 2014; RAIGOND; EZEKIEL; RAIGOND, 2015).

A definição de amido resistente se baseia na incapacidade de enzimas digestivas em provocar a hidrólise de formas físicas e químicas de amido em alimentos, *in vivo* ou por métodos *in vitro*. Por não ser digerido o AR pode ser fermentado pela microbiota do intestino. Possui sabor suave, cor branca e alta capacidade de ligação de água, sendo relevante a sua aplicação em diferentes formulações de alimentos funcionais (HOMAYOUNI *et al.*, 2014).

O amido resistente apresenta importância na prevenção de doenças, como modulação do índice glicêmico, diminuição de colesterol, diabetes e obesidade (SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006).

Dentre os alimentos com fonte de amido resistente pode-se citar o sorgo. De acordo com estudos de Lopes *et al.* (2018) e Rossi *et al.* (2016), a fermentação de fibras e de amido resistente por bactérias anaeróbias, contribui no aumento da quantidade de ácidos graxos de cadeia curta no organismo, auxiliam no equilíbrio da microbiota intestinal, bem como na integridade da mucosa intestinal.

Em outro estudo, foram avaliados os efeitos do amido resistente do sorgo sobre alterações no peso corporal, lipídeos no sangue e na população da microbiota intestinal em ratos obesos e com sobrepeso alimentados com dieta rica em gordura e foram observados redução da gordura corporal, melhoria nos níveis de lipídeos e da microbiota intestinal, comprovando os benefícios que o consumo de amido resistente desse cereal pode ter para a prevenção e tratamento da obesidade (SHEN *et al.*, 2015).

Lopes *et al.* (2018) investigaram a composição química e nutricional de cereal matinal à base de sorgo integral e o efeito de sua associação com o leite probiótico não fermentado em pacientes com doença renal crônica, e observaram alívio da inflamação e do estresse oxidativo.

### **3. Sorgo**

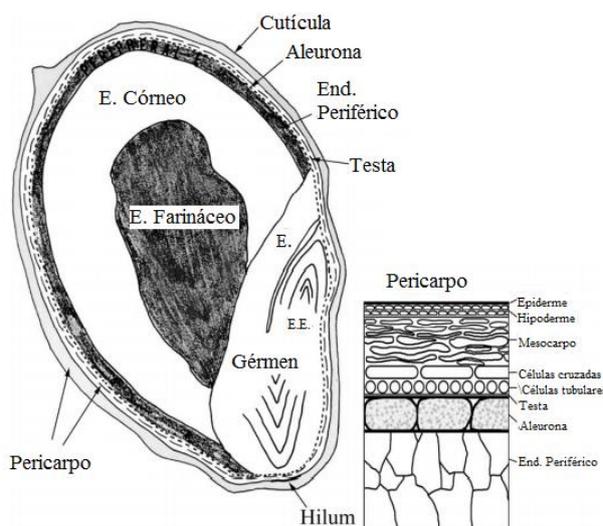
O sorgo é classificado em quatro grupos: Granífero, Silagem e/ou Sacarino, Forrageiro e Vassoura, possui um ciclo de vida que varia de 90 a 120 dias dependendo da cultivar. No Brasil, o sorgo granífero tem sua maior expressão econômica (CONAB, 2019a). Como todo grão de cereal, o sorgo possui três partes distintas correspondentes ao pericarpo (camada externa), endosperma (tecido de armazenamento) e germe (embrião) (ANYANGO; TAYLOR, 2019; CARDOSO *et al.*, 2017).

## CAPITULO I

O pericarpo representa 4,3% a 8,7% do grão de sorgo, sendo subdividido em três tecidos: epicarpo, mesocarpo e endocarpo. No epicarpo está localizado a maioria dos pigmentos responsáveis pela cor no grão, enquanto que no mesocarpo contém grânulos de amido (ANYANGO; TAYLOR, 2019).

O endosperma é rico em amido e proteína, representando 82% a 87% dos grãos, é constituído pela camada de aleurona, a área periférica e as áreas córneas (duras) e farináceas (moles). Os sorgos com uma maior proporção de endosperma córneo produzem uma farinha mais áspera, por causa da maior adesão entre os grânulos de amido e as proteínas circundantes (ANYANGO; TAYLOR, 2019). A Figura 1 apresenta a estrutura física do grão de sorgo.

**Figura 1- Esquema do grão de sorgo, com detalhes das camadas do pericarpo. E. E. = eixo embrionário; E.= Escutelo**



**FONTE: Adaptado de Earp; McDonough e Rooney (2004, p. 22).**

Algumas cultivares de sorgo possuem testa pigmentada entre o pericarpo e o endosperma, contendo taninos condensados, que são responsáveis por proteger os grãos de sorgos contra insetos, pássaros e ataques de fungos (ANYANGO; TAYLOR, 2019).

### 3.1 Cenário econômico

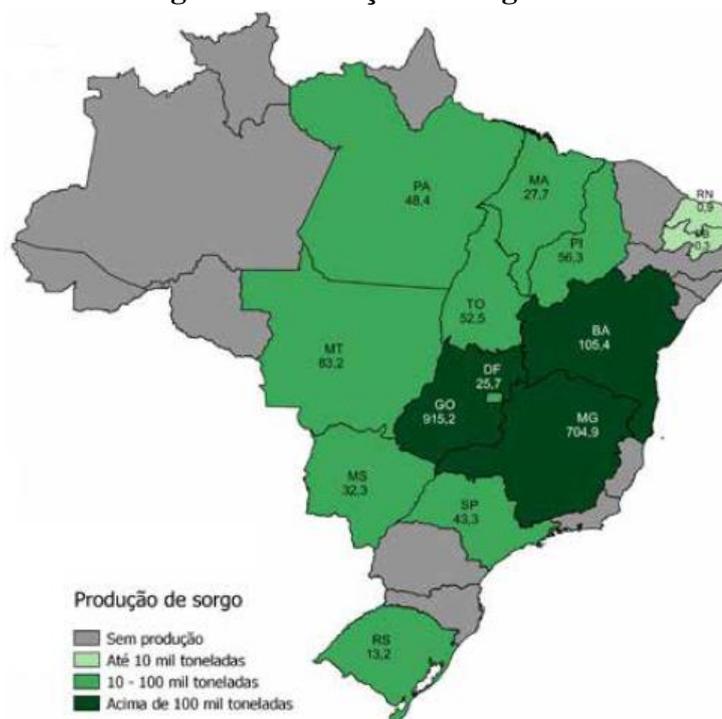
No cenário mundial a produção de sorgo no ano de 2019 correspondeu a 57 milhões de toneladas. Sendo o continente africano o maior produtor de sorgo, com destaque para os países Burquina Faso, Etiópia, Nigéria e Sudão. Os principais importadores de sorgo

## CAPITULO I

correspondem a China, Japão, México, União Europeia e Sudão, enquanto os principais países exportadores são Estados Unidos da América, Etiópia, Austrália, Sudão e Argentina (FAO, 2019).

No cenário Brasileiro o sorgo encontra-se em décimo terceiro lugar com base na safra obtida em dezembro de 2019 (IBGE, 2020). Os estados que se destacam na produção de sorgo são Goiás, Minas Gerais, Bahia e Distrito Federal com valores acima de cem mil toneladas (CONAB, 2019b). O estado de Goiás é responsável por 33,2% do sorgo produzido no país, sendo cultivado no mês de março após o fechamento da janela de plantio do milho segunda safra (CONAB, 2019a). A Figura 2 apresenta a produção de sorgo no Brasil.

**Figura 2- Produção de sorgo no Brasil**



Fonte: CONAB (2019b).

### 3.2 Composição nutricional

O sorgo é um cereal rico em amido e proteínas, enquanto o teor de lipídeos é baixo e está presente na forma de ácidos graxos poli-insaturados; a quantidade de minerais e vitaminas se assemelha ao do milho, com destaque para o fósforo e potássio, e as vitaminas lipossolúveis A, D, E e K e do complexo B (MARTINO *et al.*, 2012; CARDOSO *et al.*, 2017).

## CAPITULO I

Além da presença de amido resistente que traz benefícios similares às fibras, o sorgo também é rico em compostos bioativos que trazem benefícios a saúde, principalmente devido a atividade antioxidante que possuem com ação na eliminação de radicais livres. O perfil de compostos fenólicos presentes no sorgo se destaca em comparação a outros cereais, sendo ricos em ácidos fenólicos (GIRARD; AWIKA, 2018; PRZYBYLSKA-BALCEREK; FRANKOWSKI; STUPER-SZABLEWSKA, 2019). A presença de flavonoides também é elevada, com destaque para as antocianinas denominadas 3-desoxianocianinas (3-DXAs) (DE OLIVEIRA *et al.*, 2017).

Os genótipos de sorgo que contém taninos condensados em altas concentrações impactam em um maior conteúdo de compostos fenólicos, o que refletem um aumento de aproximadamente 19% da atividade antioxidante, promovendo benefícios à saúde (CARDOSO *et al.*, 2017), como atividade imunomoduladora, anticancerígena, anti-inflamatória, cardioprotetora, vasodilatadora e antitrombótica (QUEIROZ *et al.*, 2018; WU *et al.*, 2012).

Entretanto, a concentração desses compostos antioxidantes é influenciada por fatores genéticos que regulam a cor e a espessura do pericarpo, bem como a presença de testa pigmentada (CARDOSO *et al.*, 2015; TALEON *et al.*, 2012). Condições atmosféricas e estressores bióticos também são fatores relevantes de interferência na concentração destes compostos (PRZYBYLSKA-BALCEREK; FRANKOWSKI; STUPER-SZABLEWSKA, 2019).

Devido aos vários benefícios que o sorgo pode proporcionar à saúde é relevante que esse grão seja inserido na alimentação humana, visto que, no Brasil esse cereal tem sido utilizado principalmente na alimentação animal (ANUNCIACÃO *et al.*, 2017; CARDOSO *et al.*, 2014). Além dos grãos de sorgo, a sua farinha também é uma boa opção a ser inserida na alimentação, podendo ser utilizada no desenvolvimento de novos produtos como pão de forma sem glúten (PEREIRA *et al.*, 2017), pães e bolos sem glúten (MARSTON; KHOURYIEH; ARAMOUNI, 2016), bebida em pó com baixo teor calórico (QUEIROZ *et al.*, 2018), cereal matinal (ANUNCIACÃO *et al.*, 2017) e carne de hambúrguer (DO PRADO *et al.*, 2019).

É necessário que o sorgo passe por algum tipo de tratamento antes de ser consumido, entretanto o tipo de processamento realizado pode afetar principalmente a composição de compostos bioativos presentes no mesmo (CARDOSO *et al.*, 2014).

Cardoso *et al.* (2015) avaliaram os efeitos do calor seco em forno convencional e do cozimento por extrusão no perfil de compostos fenólicos do sorgo e observaram redução de

## CAPITULO I

alguns desses compostos, sendo as flavonas e flavanonas de sorgo mais sensíveis ao cozimento por extrusão do que ao calor seco em forno convencional.

Para preservar o conteúdo de compostos bioativos presentes no sorgo, técnicas de inativação não térmica têm sido uma questão relevante de pesquisa, como a irradiação gama, o que pode permitir a obtenção de alimentos seguros sem provocar alterações significativas na sua composição química e nutricional (ALIGHOURCHI; BARZEGAR; ABBASI, 2008).

### **4. Radiação Gama na conservação de alimentos**

A irradiação de alimentos apresenta mais de 100 anos de história, mas foi aplicada como processamento de alimentos no século XX. Ao ser utilizada de forma adequada essa tecnologia pode ser uma forma eficaz de diminuir a incidência de doenças de origem alimentar ao eliminar microrganismos patogênicos em níveis considerados seguros e por inativar microrganismos deteriorantes, como bactérias, fungos e leveduras, além de manter a qualidade dos alimentos (ALIGHOURCHI; BARZEGAR; ABBASI, 2008; MOREHOUSE, 2002; XAVIER *et al.*, 2018).

Este método consiste em expor o alimento a uma quantidade de radiação ionizante (XAVIER *et al.*, 2018), que possui alta energia, com capacidade de provocar a remoção de elétrons em um átomo, obtendo-se partículas com desequilíbrio entre prótons nucleares e elétrons orbitais. As fontes de alta energia são raios X, raios  $\gamma$  e elétrons acelerados, sendo os raios gama ( $\gamma$ ) emitidos a partir do núcleo de átomos radioativos conhecidos como radionuclídeos (BREWER, 2004).

Os radionuclídeos permitidos na irradiação de alimentos correspondem ao  $^{137}\text{Cs}$  (césio radioativo) e  $^{60}\text{Co}$  (cobalto radioativo) (BRASIL, 2001). Os raios gama ( $\gamma$ ) destroem células que crescem rapidamente (microrganismos) nos alimentos, sem deixar o produto radioativo (LAGUNAS-SOLAR, 1995).

A determinação da quantidade de dose a ser aplicada em um alimento se baseia na energia que o produto irá absorver. A unidade de medida utilizada é o Gray (Gy) ou Kilogray (kGy), no qual um Gray equivale a um Joule de energia por quilograma de alimento irradiado (XAVIER *et al.*, 2018).

Em 1997, o comitê conjunto da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO), Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA) e Organização Mundial da Saúde (OMS) declararam que a dose de no máximo 10 kGy é ideal na irradiação de alimentos, sendo segura e sem provocar alterações no conteúdo de nutrientes e nas

## CAPITULO I

características sensoriais do alimento (XAVIER *et al.*, 2018). Segundo Ahmed *et al.* (2018) e Brewer (2009) doses inferiores a 10 kGy são consideradas ideais por não provocar mudanças nas propriedades nutricionais do alimento, mantendo os macronutrientes e micronutrientes estáveis.

No Brasil, a Agência Nacional de vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Resolução RDC nº 21 define irradiação de alimentos como “Processo físico de tratamento que consiste em submeter o alimento, já embalado ou a granel, a doses controladas de radiação ionizante, com finalidades sanitária, fitossanitária e ou tecnológica”, sendo o alimento irradiado definido como “todo alimento que tenha sido intencionalmente submetido ao processo de irradiação com radiação ionizante” (BRASIL, 2001).

A Legislação também determina que a indústria que irradiar alimentos deve fazer constar ou garantir que conste a indicação de que o alimento foi tratado pelo processo de irradiação (BRASIL, 2001).

**Figura 3- Símbolo RADURA**

**Fonte: Maherani *et al.* (2016).**

O símbolo Radura mostrado pela figura 3 representa que foi realizado o tratamento de irradiação, através do desenho de uma planta (ponto e duas folhas), em embalagem fechada (círculo), irradiado com raios ionizantes que passam através da embalagem para a comida (linhas tracejadas). A adição do símbolo RADURA nos rótulos dos alimentos é opcional, de acordo com o padrão do Codex Alimentarius (MAHERANI *et al.*, 2016), mas é relevante a presença desse símbolo em rótulos alimentares por facilitar a identificação pelos consumidores.

No geral a irradiação gama está se tornando uma das melhores técnicas utilizadas na conservação de alimentos (SURIYA *et al.*, 2017). Além de representar uma tecnologia prática e eficaz (PEREIRA *et al.*, 2015).

## CAPITULO I

**5. Análise sensorial**

A análise sensorial pode ser considerada uma ciência interdisciplinar por envolver vários campos como psicologia, fisiologia, estatística, linguística, ciência de alimentos, nutrição, medicina, química, física, sociologia, antropologia, dentre outros (CHAMBERS, 2019). Essa ciência busca relacionar as percepções sensoriais humanas e respostas afetivas a uma variedade de alimentos, bebidas e seus componentes, que avançaram devido a precisão de uma avaliação sensorial cientificamente sólida e sistemática (TUORILA; MONTELEONE, 2009; YANG; LEE, 2019).

Essas percepções sensoriais envolvem os cinco sentidos: visão, olfato, tato, paladar e audição, permitindo assim uma compreensão de como os seres humanos percebem e respondem aos vários estímulos nos alimentos (CROFTON *et al.*, 2019; YANG; LEE, 2019). A aplicação da análise sensorial em indústrias de alimentos tem apresentado grande relevância por facilitar o processo de seleção e aprimoramento de matérias-primas e processos, bem como no desenvolvimento de produtos, sistemas de embalagem, rotulagem, entre outros (MILLER, 2017).

A avaliação da qualidade sensorial em alimentos envolve dois tipos de dados, correspondentes a testes do consumidor (teste afetivo ou hedônico) e painel analítico treinado (teste descritivo ou analítico); estes testes auxiliam na obtenção de produtos com perfis sensoriais adequados ao mercado-alvo (GARCÍA-GÓMEZ *et al.*, 2019).

Os testes afetivos acessam a opinião de consumidores, buscando avaliar as suas preferências e gostos. Para a realização do teste é necessário um elevado número de avaliadores, não havendo a necessidade de se realizar o treinamento dos mesmos. Além disso, os testes afetivos podem ser classificados em duas categorias: de preferência (escolha) e de aceitação (IAL, 2008).

No teste afetivo de aceitação é muito utilizado a escala hedônica, cujo objetivo consiste em medir o nível de aceitação de produtos alimentícios por uma população, por meio da avaliação do gostar e o desgostar de cada atributo sensorial do alimento. As escalas mais utilizadas são as de 7 e 9 pontos, onde tem-se termos situados entre gostei e desgostei muitíssimo, além de conter como ponto intermediário nem gostei, nem desgostei. Os dados obtidos no teste podem ser avaliados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA) e comparação das médias pelo teste de Tukey (quando são avaliadas várias amostras) (IAL, 2008).

## CAPITULO I

Outro teste de grande relevância é a escala de atitude (FACT) que avalia a aceitação do produto com base nas atitudes do consumidor em relação a intenção em consumi-lo e comprá-lo. A escala é verbal e normalmente é estruturada por 5 pontos, variando os termos de “certamente não compraria” a “certamente compraria”, e com termo intermediário “talvez compraria, talvez não compraria” (IAL, 2008). Estes testes são considerados uma boa opção na avaliação de novos produtos alimentícios para verificar se os mesmos seriam consumidos ao serem colocados à venda.

## CAPITULO I

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDOLLAHZADEH, S. M. et al. Development of *Lactobacillus acidophilus*-fermented milk fortified with date extract. **Lwt- Food Science and Technology**, v. 98, p. 577–582, 2018.
- AHMED, M. M. et al. Effect of gamma radiation on storability and functional properties of sorghum grains (*Sorghum bicolor* L.). **Food Science and Nutrition**, v. 6, n. 7, p. 1933–1939, 2018.
- ALIGHOURCHI, H.; BARZEGAR, M.; ABBASI, S. Effect of gamma irradiation on the stability of anthocyanins and shelf-life of various pomegranate juices. **Food Chemistry**, v. 110, n. 4, p. 1036–1040, 2008.
- ANUNCIACÃO, P. C. et al. Comparing sorghum and wheat whole grain breakfast cereals: Sensorial acceptance and bioactive compound content. **Food Chemistry**, v. 221, p. 984–989, 2017.
- ANYANGO, J. O.; TAYLOR, J. R. N. Sorghum Flour and Flour Products: Production, Nutritional Quality, and Fortification. In: **Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention**. Academic Press, 2019. p. 137-151.
- AWIKA, J.M., ROSE, D.J., SIMSEK S. Complementary effects of cereal and pulse polyphenols and dietary fiber on chronic inflammation and gut health. **Food Funct.**, v. 9, p. 1389–1409, 2018.
- BALTHAZAR, C. F. et al. Prebiotics addition in sheep milk ice cream: A rheological, microstructural and sensory study. **Journal of Functional Foods**, v. 35, p. 564–573, 2017.
- BARRETO, G. P. M. **Avaliação de Meio de Cultura para Quantificação de Lactobacilos e Bifidobacterias e Contagem destes microrganismos em Produtos Lácteos**. 2003. 143 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2003.
- BATISTA, A. L. D. et al. Developing a synbiotic fermented milk using probiotic bacteria and organic green banana flour. **Journal of Functional Foods**, v. 38, p. 242–250, 2017.
- BRANDÃO, S. C. C. Tecnologia da produção industrial de iogurte. **Revista Leite e Derivados**, v. 5, n. 25, p. 24–38, 1995.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 398 de 30 de abril de 1999. Regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1999.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 21, de 26 de janeiro de 2001. Aprova regulamento técnico para irradiação de alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2001.

## CAPITULO I

- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007. Aprova Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 24 de outubro de 2007, Seção 1, p. 5.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos**: Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde: lista de alegações de propriedade funcional aprovadas**. Dezembro, 2016.
- BRASILI, E. et al. Lactobacillus acidophilus La5 and Bifidobacterium lactis Bb12 Induce Different Age-Related Metabolic Profiles Revealed by H-NMR Spectroscopy in Urine and Feces of. **The Journal of Nutrition**, v. 143, n. 10, p. 1549–1557, 2013.
- BREWER, M. S. Irradiation effects on meat flavor: A review. **Meat Science**, v. 81, n. 1, p. 1–14, 2009.
- BREWER, S. Irradiation effects on meat color - A review. **Meat Science**, v. 68, n. 1, p. 1–17, 2004.
- BUSTAMANTE, M. et al. Lactobacillus acidophilus La-05 encapsulated by spray drying: Effect of mucilage and protein from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 2, p. 1162–1168, 2015.
- CARDOSO, L. de M. et al. Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum. **Food Chemistry**, v. 152, p. 210–217, 2014.
- CARDOSO, L. de M. et al. Phenolic compounds profile in sorghum processed by extrusion cooking and dry heat in a conventional oven. **Journal of Cereal Science**, v. 65, p. 220–226, 2015.
- CARDOSO, L. de M. et al. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 2, p. 372–390, 2017.
- CASAROTTI, S. N.; CARNEIRO, B. M.; PENNA, A. L. B. Evaluation of the effect of supplementing fermented milk with quinoa flour on probiotic activity. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 10, p. 6027–6035, 2014.
- CHAMBERS, E. Analysis of sensory properties in foods: A special issue. **Foods**, v. 8, n. 8, p. 10–12, 2019.

## CAPITULO I

- CHEN, C. et al. Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. sup1, p. S316–S330, 2017.
- CHO S. S. et al. Consumption of cereal fiber, mixtures of whole grains and bran, and whole grains and risk reduction in type 2 diabetes, obesity, and cardiovascular disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 98, n. 2, p. 594–619, 2013.
- COELHO, F. J. O. et al. Avaliação Do Prazo De Validade Do Iogurte. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1155–1160, 2009.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Indicadores da Agropecuária - Observatório Agrícola**, v. 28, n. 3, p. 01–96, 2019a.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2019/2020**, v. 7, n. 1, p. 1–114, 2019b.
- CONTI-SILVA, A. C.; SOUZA-BORGES, P. K. de. Sensory characteristics, brand and probiotic claim on the overall liking of commercial probiotic fermented milks: Which one is more relevant? **Food Research International**, v. 116, p. 184–189, 2019.
- CROFTON, E. C. et al. Potential applications for virtual and augmented reality technologies in sensory science. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 56, p. 1–9, 2019.
- CRUZ, A. G. et al. Consumer perception of probiotic yogurt: Performance of check all that apply (CATA), projective mapping, sorting and intensity scale. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 601–610, 2013.
- DE OLIVEIRA, K. G. et al. Effect of the storage time and temperature on phenolic compounds of sorghum grain and flour. **Food Chemistry**, v. 216, p. 390–398, 2017.
- DEMIRCI, T. et al. Rice bran improve probiotic viability in yoghurt and provide added antioxidative benefits. **Journal of Functional Foods**, v. 36, p. 396–403, 2017.
- DENIPOTE, F. G.; TRINDADE, E. B. S. D. M.; BURINI, R. C. Probióticos e prebióticos na atenção primária ao câncer de cólon. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 47, n. 1, p. 93–98, 2010.
- DERRIEN, M.; VLIEG, J. E. T. V. H. Fate, activity, and impact of ingested bacteria within the human gut microbiota. **Trends in Microbiology**, v. 23, n. 6, p. 354–366, 2015.
- DO PRADO, M. E. A. et al. Physicochemical and sensorial characteristics of beef burgers with added tannin and tannin-free whole sorghum flours as isolated soy protein replacer. **Meat Science**, v. 150, p. 93–100, 2019.
- EARP, C. F.; MCDONOUGH, C. M.; ROONEY, L. W. Microscopy of pericarp development in the caryopsis of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **Journal of Cereal Science**, v. 39, n. 1, p. 21–27, 2004.
- EJTAHED, H. S. et al. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic

## CAPITULO I

patients. **Nutrition**, v. 28, p. 539–543, 2012.

- FALEITO, L. R. **Viabilidade de bifidobacterium longum em bebidas lácteas fermentadas com diferentes culturas iniciadoras**. 2015. 130 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)- Faculdade de Farmácia, Universidade Estadual de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2015.

- **FAO/ WHO Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. Report of a Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization Working Group of Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotic in food, Ontario, Canadá, 2002.

- **FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS) Food Outlook - Biannual report on global food markets**. November, 2019.

- FAZILAH, N. F. et al. Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt. **Journal of Functional Foods**, v. 48, p. 387–399, 2018.

- FERREIRA, C. L. L. F. **Produtos lácticos fermentados (Aspectos Bioquímicos e Tecnológicos)**. 3. ed. Caderno Didático 43. Viçosa: Editora UFV, 2005.

- FROTA, K. de M. G. et al. Efeito de prebióticos e probióticos na microbiota intestinal e nas alterações metabólicas de indivíduos obesos. **Nutrire**, v. 40, n. 2, p. 173–187, 2015.

- FU, R. et al. Salecan stabilizes the microstructure and improves the rheological performance of yogurt. **Food Hydrocolloids**, v. 81, p. 474–480, 2018.

- GAHRUIE, H. H et al. Scientific and technical aspects of yogurt fortification: A review. **Food Science and Human Wellness**, v. 4, p. 1–8, 2015.

- GALLINA, D. A.; ORMENESE, R. C. S. C.; GARCIA, A. O. Iogurte probiótico com polpa de frutas vermelhas: caracterização físico química e microbiológica, aceitabilidade sensorial e viabilidade dos probióticos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, n. 4, p. 196–208, 2019.

- GARCÍA-GÓMEZ, B. et al. Sensory quality and consumer acceptance of skim yoghurt produced with transglutaminase at pilot plant scale. **International Journal of Dairy Technology**, v. 72, n. 3, p. 388–394, 2019.

- GIBSON, G. R. et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 14, n. 8, p. 491–502, 2017.

- GIRARD, A. L.; AWIKA, J. M. Sorghum polyphenols and other bioactive components as functional and health promoting food ingredients. **Journal of Cereal Science**, v. 84, p. 112–124, 2018.

GONÇALVES, N. M. et al. Yoghurt with cajá jeleia (*Spondias mombin* L.) added probiotics: microbiological evaluation and sensory acceptance. **Brazilian Journal of Hygiene and**

## CAPITULO I

**Animal Sanity**, v.12, n. 1, p. 54–63, 2018.

- GRANATO, D. et al. Probiotic dairy products as functional foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 5, p. 455–470, 2010.

- 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, 2018.

- HAMAD, S. A. A. et al. Physicochemical attributes and starch functional properties of high  $\beta$ -glucan sorghum inbred line. **World Journal of Science, Technology and Sustainable Development**, v. 15, n. 4, p. 313–324, 2018.

- HILL, C. et al. Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 11, n. 8, p. 506–514, 2014.

- HOMAYOUNI, A. et al. Resistant starch in food industry: A changing outlook for consumer and producer. **Starch/Staerke**, v. 66, n. 1–2, p. 102–114, 2014.

- IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. SIDRA: Banco de Tabelas Estatísticas. **LSPA-Levantamento Sistemático da Produção Agrícola - dezembro 2019: Produção, por período da safra e produto (toneladas)**, 2020. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>>. Acesso em: 20 de janeiro de 2020.

- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. São Paulo, 2008.

- JANKOVIC, I. et al. Application of probiotics in food products-challenges and new approaches. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 21, n. 2, p. 175–181, 2010.

- JANUÁRIO, J. G. B. et al. Probiotic yoghurt flavored with organic beet with carrot, cassava, sweet potato or corn juice: Physicochemical and texture evaluation, probiotic viability and acceptance. **International Food Research Journal**, v. 24, n. 1, p. 359–366, 2017.

- KAUR, N.; SINGH, D. P. Deciphering the consumer behaviour facets of functional foods: A literature review. **Appetite**, v. 112, p. 167–187, 2017.

- KHEDKAR, C. D.; KALYANKAR, S. D.; DEOSARKAR, S. S. Fermented Foods: Fermented Milks. **Encyclopedia of Food and Health**, 2016, p. 661–667.

- KUMAR, A.; KUMAR, D. Development of antioxidant rich fruit supplemented probiotic yogurts using free and microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* culture. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 667-675, 2016.

- LAGUNAS-SOLAR, M. C. Radiation processing of foods: An Overview of scientific principles and current status. **Journal of Food Protection**, v. 58, n. 2, p. 186–192, 1995.

- LARRAURI, J. A. New approaches in the preparation of high dietary fibre powders from fruit by-products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 10, n. 1, p. 3–8, 1999.

## CAPITULO I

- LEE, S. H. et al. *Lactobacillus acidophilus* ameliorates pain and cartilage degradation in experimental osteoarthritis. **Immunology Letters**, v. 203, p. 6–14, 2018.
- LEITE, S. T. et al. Polpa de juçara: Fonte de compostos fenólicos, aumento da atividade antioxidante e da viabilidade de bactérias probióticas de iogurte. **Revista Ceres**, v. 65, n. 1, p. 16–23, 2018.
- LIU, C. J. et al. Gut microbiota alterations from different *Lactobacillus* probiotic-fermented yoghurt treatments in slow-transit constipation. **Journal of Functional Foods**, v. 38, p. 110–118, 2017.
- LOPES, R. de C. S. O. et al. Evaluation of the health benefits of consumption of extruded tannin sorghum with unfermented probiotic milk in individuals with chronic kidney disease. **Food Research International**, v. 107, p. 629–638, 2018.
- LORUSSO, A. et al. Use of selected lactic acid bacteria and quinoa flour for manufacturing novel yogurt-like beverages. **Foods**, v. 7, n. 4, p. 1–20, 2018.
- MACHADO, T. A. D. G. et al. Impact of honey on quality characteristics of goat yogurt containing probiotic *Lactobacillus acidophilus*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 80, p. 221–229, 2017.
- MAHERANI, B. et al. World Market Development and Consumer Acceptance of Irradiation Technology. **Foods**, v. 5, n. 4, p. 79, 2016.
- MANI-LÓPEZ, E.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 5, p. 2578–2590, 2014.
- MARSTON, K.; KHOURYIEH, H.; ARAMOUNI, F. Effect of heat treatment of sorghum flour on the functional properties of gluten-free bread and cake. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 637–644, 2016.
- MARTINI, C. A. et al. Influência do Consumo de Iogurte Probiótico na Microbiota Intestinal Influence of the Consumption of Probiotic Yoghurt on Intestinal Microbiota. **Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 11, n. 4, p. 59–62, 2009.
- MARTINO, H. S. D. et al. Chemical characterization and size distribution of sorghum genotypes for human consumption Caracterização química e distribuição granulométrica de genótipos de sorgo para alimentação humana. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 71, n. 2, p. 337–344, 2012.
- MATIJAŠIĆ, B. B. et al. Effects of synbiotic fermented milk containing *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 on the fecal microbiota of adults with irritable bowel syndrome: A randomized double-blind, placebo-controlled trial. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 7, p. 5008–5021, 2016.
- MEIRA, Q. G. S. et al. Effects of added *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under

## CAPITULO I

simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 76, p. 828–838, 2015.

- MILLER, R. K. The eating quality of meat: V–Sensory evaluation of meat. In: **Lawrie's Meat Science**. Woodhead Publishing, 2017. p. 461–499.

- MOREHOUSE, K. M. Food irradiation - US regulatory considerations. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 63, n. 3–6, p. 281–284, 2002.

- MOUSAVI, M. et al. Optimization of the viability of *Lactobacillus acidophilus* and physico-chemical, textural and sensorial characteristics of flaxseed-enriched stirred probiotic yogurt by using response surface methodology. **Lwt - Food Science and Technology**, v. 102, p. 80–88, 2019.

- NASRIN, T. A. A.; ANAL, A. K. Resistant starch III from culled banana and its functional properties in fish oil emulsion. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 403–409, 2014.

- NUNES, M. L.; GARRIDO, M. P. A obesidade e a ação dos prebióticos, probióticos e simbióticos na microbiota intestinal The obesity and the action of prebiotics, probiotics and symbiotics in intestinal microbiota. **Nutrição Brasil**, v. 17, n. 3, p. 189–196, 2018.

- OLIVEIRA, D. et al. Sensory, microbiological and physicochemical screening of probiotic cultures for the development of non-fermented probiotic milk. **LWT - Food Science and Technology**, v. 79, p. 234–241, 2017.

- OLIVEIRA, F. C. E. et al. Greek yogurt with added sorghum flours: antioxidant potential and sensory acceptance. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 47, n. 2, p. 272–280, 2020.

- ORDÓÑEZ, J. A. et al. Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal. 1. ed. **Porto Alegre: Artmed**, 2005.

- OZCAN, T. et al. Antioxidant properties of probiotic fermented milk supplemented with chestnut flour (*Castanea sativa* Mill). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 5, p. e13156, 2017.

- OZEN, M.; SANDAL, G. K.; DINLEYICI, E. C. Probiotics for the prevention of pediatric upper respiratory tract infections: A systematic review. **Expert Opinion on Biological Therapy**, v. 15, n. 1, p. 9–20, 2014.

- OZTURKOGLU-BUDAK, S. et al. Effect of inulin polymerization degree on various properties of synbiotic fermented milk including *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* Bb-12. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 8, p. 6901–6913, 2019.

- PEREIRA, E. et al. Gamma irradiation improves the extractability of phenolic compounds in *Ginkgo biloba* L. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 144–149, 2015.

- PEREIRA, E. N. et al. Sensory Acceptance of Bread Successfully Based on Sorghion Flour. **Revista Inova e Tecnologia**, v. 3, n. 2, p. 49–55, 2017.

- PETROVA, P.; PETROV, K. Prebiotic–probiotic relationship: The genetic fundamentals of polysaccharides conversion by *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* genera. In: **Food**

## CAPITULO I

**Bioconversion.** Academic Press, 2017. p. 237–278.

- PINTO, J. M. S. et al. Effect of probiotic co-cultures on physico-chemical and biochemical properties of small ruminants' fermented milk. **International Dairy Journal**, v. 72, p. 29–35, 2017.

- PRZYBYLSKA-BALCEREK, A.; FRANKOWSKI, J.; STUPER-SZABLEWSKA, K. Bioactive compounds in sorghum. **European Food Research and Technology**, v. 245, n. 5, p. 1075–1080, 2019.

- QUEIROZ, V. A. V. et al. A low calorie and nutritive sorghum powdered drink mix: Influence of tannin on the sensorial and functional properties. **Journal of Cereal Science**, v. 79, p. 43–49, 2018.

- QUIGLEY, E. M. M. Prebiotics and probiotics; modifying and mining the microbiota. **Pharmacological Research**, v. 61, n. 3, p. 213–218, 2010.

- RAIGOND, P.; EZEKIEL, R.; RAIGOND, B. Resistant starch in food: A review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 10, p. 1968–1978, 2015.

- ROSSI, M. et al. Synbiotics easing renal failure by improving gut microbiology (SYNERGY): A randomized trial. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 11, n. 2, p. 223–231, 2016.

- SAJILATA, M. G.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Starch — A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, n. 1, p. 1–17, 2006.

- SÁNCHEZ, B. et al. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 61, n. 1, p. 1–15, 2017.

- SANTOS, M. V. dos; CRUZ, R. G. da; ALMEIDA, M. E. F. Desenvolvimento E Avaliação Sensorial De Iogurte Com Sementes De Chia. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n. 1, p. 01, 2017.

- SERT, D.; MERCAN, E.; DERTLI, E. Characterization of lactic acid bacteria from yogurt-like product fermented with pine cone and determination of their role on physicochemical, textural and microbiological properties of product. **LWT - Food Science and Technology**, v. 78, p. 70–76, 2017.

- SHEN, R. L. et al. Sorghum resistant starch reduces adiposity in high-fat diet-induced overweight and obese rats via mechanisms involving adipokines and intestinal flora. **Food and Agricultural Immunology**, v. 26, n. 1, p. 120–130, 2015.

- SURIYA, M. et al. Impact of  $\gamma$ -irradiation on physicochemical properties of freeze dried *Amorpha paeoniifolia* flour. **Food Chemistry**, v. 234, p. 276–284, 2017.

- TALEON, V. et al. Effect of genotype and environment on flavonoid concentration and profile of black sorghum grains. **Journal of Cereal Science**, v. 56, n. 2, p. 470–475, 2012.

- TUORILA, H.; MONTELEONE, E. Sensory food science in the changing society:

## CAPITULO I

Opportunities, needs, and challenges. **Trends in Food Science and Technology**, v. 20, n. 2, p. 54–62, 2009.

- VERSPREET, J. et al. A Critical Look at Prebiotics Within the Dietary Fiber Concept. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 7, n. 1, p. 167–190, 2016.

- VINDEROLA, C. G.; BAILO, N.; REINHEIMER, J. A. Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurts during refrigerated storage. **Food Research International**, v. 33, n. 2, p. 97–102, 2000.

- VOGADO, C. de O. et al. Enrichment of probiotic fermented milk with green banana pulp: Characterization microbiological, physicochemical and sensory. **Nutrients**, v. 10, n. 4, p. 427, 2018.

- WU, Y. et al. Presence of tannins in sorghum grains is conditioned by different natural alleles of Tannin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 26, p. 10281–10286, 2012.

- XAVIER, M. M. B. B. S. et al. Implications of the use of irradiation in the processing of animal origin foods: Review. **Journal of bioenergy and food science**, v. 5, n. 4, p. 131–144, 2018.

- YAMAMOTO, N. **Fermented Milks: Health Effects of Fermented Milks**, 2016.

- YANG, J.; LEE, J. Application of sensory descriptive analysis and consumer studies to investigate traditional and authentic foods: A review. **Foods**, v. 8, n. 2, p. 1–17, 2019.

- ZIEMER, C. J.; GIBSON, G. R. An Overview of Probiotics , Prebiotics and Synbiotics in the Functional Food Concept: Perspectives and Future Strategies. **International Dairy Journal**, v. 6946, n. 98, p. 473–479, 1998.

## **CAPÍTULO II**

### **EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA NAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS, NUTRICIONAIS E FUNCIONAIS DE FARINHAS INTEGRAIS DE SORGO DOS GENÓTIPOS BR 501 E BRS 305**

## RESUMO

O sorgo é um cereal pertencente à família *Poaceae* que se assemelha ao milho na composição química, é fonte de fibras alimentares, vitaminas, minerais e possui conteúdo de compostos bioativos bem diversificado e superior a outros cereais. A farinha integral de sorgo é considerada uma boa opção como ingrediente para o enriquecimento de novos produtos, tornando-os mais saudáveis. Entretanto, é importante que essa farinha passe por algum tipo de tratamento para garantir a sua inocuidade, sem prejudicar as propriedades tecnológicas, a concentração de nutrientes e o conteúdo de compostos bioativos que são sensíveis a certos tipos de tratamentos, como é o caso dos tratamentos térmicos e químicos. Deste modo, a aplicação de métodos físicos como a irradiação gama parece ser uma boa alternativa. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tratamento por radiação gama com baixas dosagens na carga microbiana e propriedades físico-químicas e atividade antioxidante de farinhas integrais de sorgo (FIS) dos genótipos BR 501 (sem tanino) e BRS 305 (com tanino), bem como selecionar as melhores farinhas para adição em leites fermentados com potencial probiótico. As FIS foram encaminhadas para o Centro de Desenvolvimento e Tecnologia Nuclear (CDTN), sendo expostas à radiação gama, em fonte de cobalto 60 em dosagens de 3 kGy e 5 kGy, sendo comparadas com as farinhas Controle (não expostas à radiação). Foram realizadas análises microbiológicas, assim como análises de pH e acidez, atividade de água, composição centesimal, cor instrumental, concentração de compostos bioativos, atividade antioxidante pelo método ABTS e análises de propriedades tecnológicas. Na análise microbiológica houve ausência de *Salmonella* sp. e valores inferiores ao limite de detecção do método aplicado para coliformes totais e termotolerantes em todas as formulações. Para as amostras de FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305 não irradiadas (controle), observou-se crescimento de bolores e leveduras; e de colônias típicas e atípicas de *Bacillus cereus* em meio de cultura Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP) utilizado nas análises. Em ambas as FIS irradiadas com 3 kGy houve eliminação de bolores e leveduras e de colônias sugestivas de *B. cereus* (típicas), entretanto foi verificada presença de colônias atípicas de *B. cereus*. Enquanto que nas amostras de FIS irradiadas com doses de 5 kGy, não foram identificados crescimento de bolores e leveduras e colônias típicas e atípicas de *B. cereus*. Houve alteração da cor nas duas farinhas após tratamento, com destaque no escurecimento, não diferindo ( $p > 0,05$ ) nas dosagens aplicadas de 3 kGy e 5 kGy. A composição nutricional, assim como a concentração de compostos bioativos, atividade antioxidante e propriedades tecnológicas não foram reduzidas ( $p \leq 0,05$ ) no processo em ambas as dosagens aplicadas.

## CAPÍTULO II

Deste modo, pode-se dizer que o método de irradiação a baixas dosagens foi eficiente no tratamento de alimentos, garantindo a inocuidade dos mesmos sem provocar mudanças na qualidade nutricional e nas propriedades tecnológicas. Portanto, sugere-se a utilização das FIS BR 501 e BRS 305 irradiadas com 5 kGy no desenvolvimento de novos produtos, devido à maior segurança perante análise microbiológica realizada além da manutenção das propriedades nutricionais e antioxidantes.

**Palavras-chaves:** Compostos bioativos. Sorgo. Radiação. Atividade antioxidante.

**ABSTRACT**

Sorghum is a cereal belonging to the *Poaceae* family that resembles corn in chemical composition, is a source of dietary fibers, vitamins, minerals and has a content of bioactive compounds well diversified and superior to other cereals. Whole sorghum flour is considered a good option as an ingredient for the enrichment of new products, making them healthier. However, it is important that this flour undergoes some type of treatment to guarantee its safety, without harming technological properties, the concentration of nutrients and the content of bioactive compounds that are sensitive to certain types of treatments, as is the case of treatments thermal and chemical. Thus, the application of physical methods such as gamma irradiation seems to be a good alternative. The objective of this work was to evaluate the effect of gamma radiation treatment with low dosages on microbial load and physicochemical properties and antioxidant activity of integral sorghum flours (FIS) of the genotypes BR 501 (without tannin) and BRS 305 (with tannin), as well as selecting the best flours to be added to fermented milks with probiotic potential. The FIS were sent to the Nuclear Development and Technology Center (CDTN), being exposed to gamma radiation, in a source of cobalt 60 in dosages of 3 kGy and 5 kGy, being compared with Control flours (not exposed to irradiation). Microbiological analyzes were performed, as well as analyzes of pH and acidity, water activity, proximate composition, instrumental color, concentration of bioactive compounds, antioxidant activity by the ABTS method and analysis of technological properties. In the microbiological analysis there was an absence of *Salmonella* sp. and values below the detection limit of the method applied for total and fecal coliforms in all formulations. For the FIS samples of the genotypes BR 501 and BRS 305 not radiated (control), growth of molds and yeasts were observed; and of typical and atypical colonies of *Bacillus cereus* in culture medium Manitol Agar Egg Yolk Polymyxin (MYP) used in the analyzes. In both FIS irradiated with 3 kGy, there were elimination of molds and yeasts and colonies suggestive of *B. cereus* (typical), however the presence of atypical colonies of *B. cereus* was verified. While in the FIS samples irradiated with doses of 5 kGy, growth of molds and yeasts and colonies typical and atypical of *B. cereus* were not identified. There was a color change in the two flours after treatment, with emphasis on browning, with no difference ( $p > 0.05$ ) in the applied doses of 3 kGy and 5 kGy. The nutritional composition, as well as the concentration of bioactive compounds, antioxidant activity and technological properties were not reduced ( $p \leq 0.05$ ) in the process in both applied doses. In this way, it can be said that the irradiation method at low dosages was efficient in the treatment of food, guaranteeing the safety of the

## CAPÍTULO II

same without causing changes in the nutritional quality and technological properties. Therefore, it is suggested to use the FIS BR 501 and BRS 305 irradiated with 5 kGy in the development of new products, due to the greater safety in view of the microbiological analysis carried out in addition to maintaining the nutritional and antioxidant properties.

**Keywords:** Bioactive compounds. Sorghum. Radiation. Antioxidant activity.

## CAPÍTULO II

### 1. INTRODUÇÃO

O sorgo é um cereal pertencente à família *Poaceae* que se assemelha ao milho na composição química, é fonte de fibras alimentares, vitaminas e minerais e corresponde ao quinto cereal com a maior produtividade no mundo, sendo nativo das regiões tropicais da África (CARDOSO *et al.*, 2017; GOMES *et al.*, 2017; PALAVECINO; PENCI; RIBOTTA, 2019). Apresenta menor dificuldade de cultivo em comparação com outros grãos devido a facilidade de crescimento de seus híbridos em solos salgados ou arenosos com baixas quantidades de água, fertilizantes e pesticidas (PALAVECINO; PENCI; RIBOTTA, 2019).

Por ser rico em amido e proteínas, o sorgo pode substituir cereais comuns (JAFARI; KOOCHKEKI; MILANI, 2017), principalmente pela ausência de glúten, sendo uma boa opção para pessoas que tem doença celíaca e precisam eliminar os alimentos que contêm essa proteína da dieta (HAMAD *et al.*, 2018; MARSTON; KHOURYIEH; ARAMOUNI, 2016).

O sorgo possui um conteúdo de compostos bioativos bem diversificado e superior a outras culturas, por esse motivo muitos estudos foram realizados aplicando ensaios *in vitro* e *in vivo*, com o intuito de comprovar os benefícios destas substâncias isoladas do sorgo, principalmente os compostos fenólicos (GIRARD; AWIKA, 2018).

Devido aos benefícios que o sorgo pode proporcionar a saúde se torna vantajoso o desenvolvimento de alimentos com a adição da farinha deste cereal, entretanto é importante que essa farinha passe por algum tipo de tratamento para garantir a sua inocuidade. Como a maioria dos compostos bioativos são sensíveis a certos tipos de tratamentos como é caso dos térmicos (CARDOSO *et al.*, 2015), o uso de métodos físicos como a radiação gama constitui uma boa alternativa (ALIGHOURCHI; BARZEGAR; ABBASI, 2008).

A irradiação é um método de conservação de alimentos eficiente que garante a segurança alimentar. Estudos têm sido realizados nas últimas décadas sobre os efeitos dessa tecnologia na preservação dos alimentos, acarretando a eliminação ou redução da carga microbiana, o que tem contribuído para o aumento do prazo de validade dos produtos, mantendo a qualidade dos mesmos (ALIGHOURCHI; BARZEGAR; ABBASI, 2008; ITO *et al.*, 2016; MOREHOUSE, 2002; XAVIER *et al.*, 2018). Atualmente são recomendados, doses inferiores a 10 kGy por não provocarem alterações nas características sensoriais e nutricionais dos alimentos (AHMED *et al.*, 2018; BREWER, 2009). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tratamento por radiação gama nas dosagens de 3 kGy e 5 kGy na carga microbiana e propriedades físico-químicas e atividade antioxidante em farinhas integrais de sorgo dos

## CAPÍTULO II

genótipos BR 501 (sem tanino) e BRS 305 (com tanino), bem como selecionar as melhores farinhas para adição em leites fermentados com potencial probiótico.

## CAPÍTULO II

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 Obtenção das Farinhas Integrais de Sorgo

Grãos de sorgo foram fornecidos pela Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, correspondentes aos genótipos BR 501 (pericarpo branco e sem tanino) e BRS 305 (pericarpo marrom e com tanino-testa pigmentada), ambos obtidos da safra de 2016/2017, em campos experimentais, com coordenadas geográficas: 19°28' latitude sul, 44°15'08" W longitude e altitude 732 m, com espaçamento de 0,5 m entre as linhas de plantação e densidade de 8 a 10 plantas por metro quadrado, com aplicação de fertilizante N-P-K (nitrogênio, fósforo e potássio).

Para obtenção das farinhas integrais foi realizado a moagem dos grãos em Moinho de Pedras Hawos, IKA modelo A11 Basic (Figura 1), sendo o processo realizado três vezes, com posterior armazenamento em sacos plásticos. É relevante relatar que ambos os grãos estavam armazenados sob refrigeração no laboratório de segurança alimentar da Embrapa, deste modo, as duas farinhas obtidas após moagem também foram mantidas armazenadas sob refrigeração, a fim de garantir a conservação dos compostos bioativos presentes.

**Figura 1- Moagem de grãos de sorgo**



**Fonte: Fotografia da autora (2020).**

As Farinhas Integrais de sorgo (FIS) foram transportadas para a Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte (MG) e armazenadas sob refrigeração, no laboratório de Análise Sensorial e Estudo do Consumidor (LASEC).

## CAPÍTULO II

### 2.2 Irradiação das FIS BR 501 e BRS 305

Cada farinha de sorgo dos genótipos BR 501 e BRS 305 foram acondicionadas em quatro sacos plásticos de polipropileno na quantidade de 500 g, dando um total de 2 kg. As FIS foram transportadas a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  em caixa isotérmica para o Centro de Desenvolvimento e Tecnologia Nuclear (CDTN), em Belo Horizonte, sendo submetidas a duas doses de irradiação gama, correspondentes a 3 kGy e 5 kGy. Para realização do processo de irradiação foi utilizado um irradiador panorâmico multipropósito, com fonte cobalto 60, taxa de dose de 1212,57 Gy/h, distância de 29 cm, e tempo de aplicação de 247 segundos. Após os tratamentos as farinhas foram levadas novamente para o laboratório de Tecnologia de Alimentos, na Faculdade de Farmácia e mantidas sob refrigeração.

Foram realizadas análises microbiológicas para avaliar a qualidade higiênico-sanitária das FIS antes e após a radiação, bem como análises da concentração de compostos fenólicos, taninos condensados e antocianinas totais, atividade antioxidante pelo método ABTS, além de análises físico-químicas de umidade, pH, acidez total titulável, atividade de água, composição centesimal, cor instrumental, Índice de Absorção de Água (IAA), Índice de Solubilidade de água (ISA), Índice de Absorção de Óleo (IAO) e Índice de Absorção de Leite (IAL).

### 2.3 Análise microbiológica das FIS

Com a finalidade de avaliar a qualidade higiênico-sanitária das FIS não irradiadas e irradiadas nas dosagens de 3 kGy e 5 kGy, foram realizadas análises de coliformes totais a  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  e termotolerantes a  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ , *Salmonella* sp., *B. cereus* e bolores e leveduras, seguindo Metodologia do Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água (SILVA *et al.*, 2010) e o Compêndio de Métodos para o Exame Microbiológico da American Public Health Association (APHA) (DOWNES; ITO, 2001). Os resultados obtidos foram comparados com os limites máximos para amostra indicativa de farinha determinados pelo Regulamento Técnico de padrões microbiológicos para alimentos-RDC n° 12 de 2001; de acordo com a resolução a tolerância máxima para uma amostra indicativa de farinha é de  $10^2$  NMP  $\text{g}^{-1}$  ou UFC  $\text{g}^{-1}$  de coliformes termotolerantes,  $3 \times 10^3$  UFC  $\text{g}^{-1}$  de *B. cereus* e ausência de *Salmonella* sp. em 25 g (BRASIL, 2001). As análises de bolores e leveduras não são prescritas pela RDC n° 12 para “produtos farináceos”, entretanto, para explorar os efeitos da radiação essas análises foram investigadas.

## CAPÍTULO II

### **2.4 Análises físico-químicas das FIS antes e após irradiação**

#### **2.4.1 Acidez total titulável**

Foram pesadas 2,5 gramas de cada amostra de FIS, em seguida houve a transferência para um erlenmeyer e adição de 50 mL de álcool, realizou-se agitação seguida de repouso por 24 horas. Ao final do processo foi realizado a retirada de 20 mL do sobrenadante obtido, com adição de 5 gotas de fenolftaleína e titulação com NaOH 0,01 M até ponto de viragem do indicador, correspondente ao pH de  $8,1 \pm 0,2$ . Para análise do branco foi realizada a titulação de 20 mL de álcool (AOAC, 2012).

#### **2.4.2 pH**

Para realização da análise de pH foi necessário a pesagem de 10 gramas de cada FIS, adicionou-se em sequência 100 mL de água destilada com agitação por 5 minutos para dissolução das partículas, com posterior repouso por 30 minutos. As amostras foram filtradas em papel filtro 125, sendo realizado a leitura do filtrado por meio do potenciômetro digital (mPA 210) (AOAC, 2012).

#### **2.4.3 Atividade de água**

As amostras de FIS foram submetidas a análise de atividade de água de acordo a metodologia Sensor Ponto de orvalho/AOAC 978.18, por meio da medição direta em analisador de atividade de água (Aqualab Series 3 TE) (AOAC, 2012).

#### **2.4.4 Composição centesimal**

A composição centesimal das amostras de FIS foi realizada no Laboratório de Química de Alimentos, da Faculdade de Farmácia (UFMG), de acordo com os métodos descritos na Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2012). O teor de umidade foi obtido utilizando o método gravimétrico, por secagem direta em estufa a 105 °C até peso constante. O teor de lipídeos foi obtido por extração direta em Soxhlet, utilizando éter etílico como solvente extrator. A determinação de proteína foi realizada utilizando o método de micro-Kjeldahl, adotando fator de correção de nitrogênio de 6,25. O teor de cinzas foi obtido

## CAPÍTULO II

pela incineração em mufla a 550 °C. E o teor de carboidratos foi obtido por diferença, ou seja, reduzindo-se de 100% os teores de proteínas, gordura, cinzas e umidade.

### 2.4.5 Análise Colorimétrica

A cor das amostras das FIS BR 501 e BRS 305 foi determinada por colorimetria, por meio da utilização de um colorímetro, Modelo Konica Minolta, pelo sistema L\*, a\*, b\*. Nesse sistema a coordenada L\* expressa o grau de luminosidade da cor medida (L\* = 0, preto; 100, branco). Os valores de a\* expressam o grau de variação entre o vermelho e o verde (a\* negativo= verde; a\* positivo = vermelho), a coordenada b\* o grau de variação entre o azul e o amarelo (b\* negativo = azul; b\* positivo = amarelo).

### 2.4.6 Obtenção do extrato para análises de Compostos Fenólicos, Antocianinas Totais e de Atividade Antioxidante

Para obtenção do extrato foram pesados de 0,25 g a 0,2550 g de amostra de cada farinha (controle e irradiada) em erlenmeyers de 125 mL, sendo acrescentados 25 mL de solução de 1% de HCl em Metanol. Os erlenmeyers foram tampados com plástico filme e agitados por duas horas em shaker a 200 r.p.m. (Nova Ética, modelo 109), em seguida, aproximadamente 10 mL de cada amostra foram transferidas para tubos de centrífuga, sendo centrifugados por 15 minutos a 3000 r.p.m. O extrato obtido foi utilizado para as análises de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante pelo método ABTS.

#### 2.4.6.1 Compostos Fenólicos

Para análise dos compostos fenólicos seguiu-se a metodologia de Kaluza *et al.* (1980) e detalhada por Dykes *et al.* (2005), utilizando o reagente Folin Ciocalteu. Foram transferidos 0,1 mL do extrato de cada amostra relatada no item (2.4.6) para tubos de centrífuga, sequencialmente foram adicionados 1,1 mL de água deionizada, 0,4 mL de solução reagente de Folin-Ciocalteu 0,02 N e 0,9 mL de solução de etanolamina 0,5 M, este último foi adicionado a cada 20 segundos. Posteriormente, os tubos foram tampados e agitados em vórtex (Warmnest, modelo VX-38) por 10 segundos. Após 20 minutos, realizou-se a leitura em espectrofotômetro (INSTRUTHERM) a 600 nm.

## CAPÍTULO II

Para determinação da concentração de compostos fenólicos nas amostras, gerou-se uma curva padrão obtida a partir de diferentes concentrações de solução estoque de ácido gálico. Alíquotas de 0; 0,25; 2,5; 5; 7,5 e 10 mL foram adicionadas em balões volumétricos de 10 mL, completando-se o volume com metanol; em seguida 0,1 mL de cada diluição foi transferida para tubos falcon, com adição de água deionizada, reagente de Folin-Ciocalteu 0,02 N e solução de etanolamina 0,5 M, seguindo o mesmo procedimento final aplicado para amostras.

Para a concentração final de compostos fenólicos em mg GA/g (miligrama de ácido gálico equivalente por grama de amostra) em base seca, utilizou-se a equação abaixo:

$$[\ ] = \frac{(A-b)}{(m)} \times v1 \div v2 \div d$$

Onde:

A= absorbância da amostra

b = coeficiente linear

m = coeficiente angular

v1 = volume utilizado na extração

v2 = volume utilizado na quantificação

d = peso da amostra seca

### 2.4.6.2 Antocianinas

Para determinação das antocianinas totais presentes nas FIS foi utilizado o extrato relatado no item (2.4.6), deste modo, as antocianinas presentes foram separadas e quantificadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, utilizando sistema CLAE Alliance Waters e2695, com coluna de fase reversa C18, sendo as fases móveis água com 4% de ácido fórmico e acetonitrila, com fluxo de 1,0 mL/min. em gradiente. Os resultados obtidos foram expressos em µg/g de farinha em base seca (AWIKA; ROONEY; WANISKA, 2004).

### 2.4.6.3 Atividade Antioxidante por ABTS

A atividade antioxidante foi realizada pelo método ABTS de acordo com metodologia de Awika *et al.* (2003). Foram transferidos 0,1 mL do extrato obtido no item (2.4.6), para novos tubos centrífuga, posteriormente foi adicionado 2,9 mL de solução trabalho do radical

## CAPÍTULO II

ABTS, respeitando o tempo de 20 segundos entre as amostras. Todos os tubos foram tampados e agitados em vórtex (Warmnest, modelo VX-38) por 10 segundos, aguardou-se 30 minutos para realização da leitura em espectrofotômetro a 734 nm. Para leitura do branco foi utilizado metanol (P.A.) com adição de solução trabalho radical ABTS.

Como a atividade antioxidante é expressa como  $\mu\text{M}$  Trolox/g em base seca, foi necessário construir uma curva padrão a partir de diferentes concentrações de solução estoque de Trolox. Alíquotas de 2, 4; 6; 8; e 10 mL foram adicionadas em balões volumétricos de 10 mL, completando-se o volume com metanol, em seguida 0,1 mL de cada diluição foi transferida para tubos falcon, com adição de 2,9 mL solução trabalho do radical ABTS, seguindo o mesmo procedimento final aplicado para as amostras.

Para calcular a atividade antioxidante em cada amostra utilizou-se a equação abaixo:

$$[ ] = \frac{(\Delta A - b) \times v_1 \times D}{a \times m}$$

Onde:

$\Delta A$  = absorvância da amostra– Absorvância do branco

b = coeficiente linear

a = coeficiente angular

$v_1$  = volume utilizado na extração

D = Diluição

m = peso seco da amostra seca

### 2.4.7 Taninos Condensados

Para análise de taninos foi aplicado o método vanilina/HCl (PRICE; SCOYOC; BUTLER, 1978). Deste modo, para a obtenção do extrato de cada amostra foram pesados em balança analítica 0,3 g a 0,3030 g das FIS BR 501 (irradiadas com 0 kGy, 3 kGy e 5 kGy), das FIS BRS 305 foram pesadas de 0,15 g a 0,1515 g (irradiadas com 0 kGy, 3 kGy e 5 kGy), por possuírem maiores concentrações de taninos; em seguida adicionou-se 8 mL de solução 1% HCl em Metanol com agitação por 20 minutos a 200 r.p.m. em agitador tipo Shaker (Nova Ética, modelo 109), por fim as amostras foram transferidas para tubos centrífuga e centrifugados a 3000 r.p.m. por 15 minutos.

Foram transferidos 1 mL em duplicata do extrato obtido de cada amostra para tubos de centrífuga, na primeira alíquota houve a adição de 5 mL de solução de Vanilina Reagente, a

## CAPÍTULO II

cada 20 segundos. Enquanto na segunda alíquota foram adicionados 5 mL de solução a 4% HCl em metanol. Todos os tubos foram agitados em vórtex (Warmnest, modelo VX-38) por 10 segundos. Após um período de 20 minutos, houve a leitura da absorvância em espectrofotômetro a 500 nm (INSTRUTHERM).

Para determinação da concentração de taninos nas amostras, foi gerada uma curva padrão obtida a partir de diferentes concentrações de solução estoque de catequina 1 mg/mL, alíquotas de 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1 mL foram adicionadas em balões volumétricos, completando-se o volume com metanol, para a obtenção de um volume final em cada tubo correspondente a 1 mL. Em cada tubo centrifuga foram adicionados 5 mL de solução de vanilina reagente, respeitando o tempo de 30 a 60 segundos entre as amostras, com posterior agitação em shaker a 200 r.p.m. por 20 minutos. Em seguida, houve a leitura em espectrofotômetro a 500 nm. Observações: realizou-se a leitura de Metanol P.A. no espectrofotômetro para correção das absorvâncias.

Para a concentração final de taninos mg CE/g (miligrama de Catequina Equivalente por grama de amostra) em base seca, utilizou-se a equação abaixo:

$$[ ] = \frac{(\Delta A - b) \times V \div d}{(a)}$$

Onde:

$\Delta A$  = diferença das absorvâncias da amostra e do branco da amostra

b = coeficiente linear

a = coeficiente angular

V = volume utilizado na extração

d = peso da amostra seca

### 2.4.8 Análise das propriedades tecnológicas das FIS antes e após irradiação

As FIS de sorgo BR 501 e BRS 305 foram submetidas à análise de suas propriedades tecnológicas, correspondentes aos Índices de Absorção de Água (IAA) e de Solubilidade em Água (ISA), Índices de Absorção em óleo (IAO) (SEIBEL, 2006) com adaptações e Índice de Absorção em Leite (IAL) (ANDERSON, 1969) com adaptações.

## CAPÍTULO II

**2.4.8.1 Índice de Absorção em Água (IAA)**

Foi realizada a pesagem de aproximadamente 1 g de cada amostra seca em tubos falcon de 50 mL (com registro da massa), sucessivamente foram adicionados 20 mL de água destilada (temperatura ambiente) e mantidos sob agitação constante a 150 r.p.m., por 30 minutos, em mesa giratória. Em seguida realizou-se a centrifugação 3500 r.p.m. por 10 minutos em centrífuga de bancada. O sobrenadante de cada tubo foi descartado, enquanto a massa do tubo incluindo o resíduo embebido em água foi aferida. Para determinar o Índice de absorção em água foi utilizada a equação abaixo, onde o resultado foi expresso em grama de água absorvida por grama de matéria seca.

$$IAA = \frac{\text{(massa (g) da amostra com água destilada)}}{\text{massa (g) da amostra seca}}$$

**2.4.8.2 Índice de Solubilidade em Água (ISA)**

Placas de petri foram secas em estufa com circulação de ar a 105 °C por 1 hora e resfriadas em dessecador até atingirem a temperatura ambiente (25 °C ± 2 °C), por volta de 30 minutos, com posterior aferição das massas. O sobrenadante obtido no método para determinação do índice de absorção de água no item 2.4.8.1 foi transferido para as placas previamente secas e pesadas e submetido novamente a secagem em estufa a 105 °C por 12 horas, com posterior resfriamento em dessecador (30 min.) e pesagem. O Índice de solubilidade em água (ISA) foi calculado por meio da equação abaixo:

$$ISA = \frac{M2 - M0}{M1} \times 100$$

Onde:

M0= massa (g) da placa de petri vazia;

M1= massa (g) da amostra seca

M2= massa (g) da placa de petri com resíduo seco.

## CAPÍTULO II

### 2.4.8.3 Índice de Absorção de Óleo (IAO)

Foram pesados 1 g de cada farinha de sorgo seca em tubos falcon de 50 mL, com posterior mistura em 20 mL de óleo de soja comercial (Corcovado), à temperatura ambiente ( $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Os tubos foram agitados em mesa giratória (150 r.p.m., 30 minutos) e em seguida centrifugados (3500 r.p.m. por 10 minutos). O sobrenadante obtido em cada tubo foi descartado e a massa correspondente ao resíduo envolvido em óleo foi registrada em balança analítica. A equação abaixo corresponde ao cálculo de IAO. O resultado foi expresso em grama de óleo absorvido por grama de matéria seca.

$$\text{IAO} = \frac{\text{massa (g) da amostra com óleo}}{\text{massa (g) da amostra seca}}$$

### 2.4.8.4 Índice de Absorção em leite (IAL)

Foram pesados 1 g de cada FIS em tubos falcon de 50 mL, com posterior mistura em 20 mL de leite integral pasteurizado, a temperatura ambiente ( $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Os tubos foram agitados em mesa giratória (150 r.p.m., 30 minutos) e em seguida centrifugados (3500 r.p.m. por 10 minutos). O sobrenadante foi removido e a massa do precipitado obtido em cada tubo foi registrada. A equação abaixo corresponde ao cálculo de IAL. O resultado foi expresso em grama de leite absorvido por grama de matéria seca.

$$\text{IAL} = \frac{\text{massa (g) da amostra com leite}}{\text{massa (g) da amostra seca}}$$

## 2.5 Análise Estatística

O experimento foi conduzido em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com três repetições e em triplicata, com os tratamentos arranjados em esquema fatorial 2 x 3, sendo dois níveis do fator farinha (BR 501 e BRS 305) e três níveis do fator irradiação (0 kGy, 3 kGy e 5 kGy). Todos os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade de *Shapiro Wilk* e de homogeneidade de *Levene* utilizando o Programa IBM SPSS Statistics Subscription, com posterior aplicação da análise de variância com dois fatores (ANOVA two-way) e teste tukey ao nível de 5%, utilizando o programa SISVAR (UFLA, Lavras – MG).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Análise microbiológica das FIS antes e após irradiação

Os resultados das análises microbiológicas das FIS antes e após irradiação são apresentados na tabela 1. Foram identificados Bolores e Leveduras com valores de 3,43 Log UFC/g na FIS BR 501 (amostra controle) e de 3,35 Log UFC/g na FIS BRS 305 (amostra controle). Embora a legislação não estabeleça um limite para fungos e leveduras em farinhas (BRASIL, 2001), é relevante avaliar a presença destes microrganismos por serem os contaminantes mais frequentes nestes tipos de alimentos (PLAVŠIĆ *et al.*, 2017).

Bechlin *et al.* (2019) obtiveram baixas contagens de fungos em amostras de linhaça marrom e dourada. Segundo os autores a contaminação por fungos em grãos pode acontecer nas fases de pré e pós-colheita, e o nível de contaminação nestes alimentos pode variar devido à vários fatores como atividade da água, tempo de colheita, degradação física, condições de colheita e equipamento pós-colheita, onde práticas agrícolas adequadas auxiliam na qualidade dos produtos.

Cardoso *et al.* (2019) avaliaram a qualidade microbiológica de farinhas de trigo integrais e observaram a presença de bolores em concentrações de 5,46 Log UFC/g. Vismer *et al.* (2019) isolaram dez linhagens de *Fusarium proliferatum* em milho, sete linhagens de *Fusarium proliferatum* em sorgo e um isolado de *F. pseudonygamai* de milho, sendo todos os cereais cultivados na Nigéria. Wawrzyniak, Waśkiewicz e Ryniecki (2018) encontraram contaminação fúngica em cevada após a colheita, com bolores na concentração de  $3,8 \times 10^4$  UFC/g.

As amostras de FIS irradiadas com doses de 3 kGy e 5 kGy no presente estudo apresentaram contagens de bolores e leveduras menores que o limite de detecção do método ( $< 1$  Log UFC.g<sup>-1</sup>), ou seja, a radiação gama demonstrou ser um método eficiente na redução da carga inicial desses microrganismos. Em um estudo sobre o efeito da radiação gama em diversas propriedades de farinha de bagaço de maçã também foi detectado nas análises microbiológicas a presença de bolores e leveduras nas amostras controle, entretanto com valores inferiores a 10<sup>2</sup> UFC/g, e ausência na farinha irradiada com doses de 2 kGy, não havendo crescimento mesmo após 9 meses de armazenamento (ITO *et al.*, 2017).

Ahmed *et al.*, (2018) notaram a presença de bolores em amostras de grãos de sorgo, mas conseguiram eliminar a incidência fúngica com a aplicação de radiação gama em doses de 4 kGy e 5 kGy. Al-Bachir (2016) encontrou concentrações relativamente baixas de fungos correspondentes a 2,28 Log UFC/g em sementes de gergelim, e observou redução dessa carga

## CAPÍTULO II

fúngica inicial para valores abaixo do nível de detecção do método após realização do tratamento com radiação gama, nas dosagens de 3 kGy, 6 kGy e 9 kGy.

Em outro estudo, a aplicação da radiação gama na dosagem de 5 kGy demonstrou ser suficiente para a redução da contagem de bolores e leveduras em 63% às amostras de farinha de milho miúdo (BEN MUSTAPHA et al., 2014).

**Tabela 1- Análise microbiológica das amostras de FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305 antes e após irradiação**

Tratamento	Bolores e Leveduras Log UFC/g	<i>Bacillus cereus</i> Log UFC/g	<i>Salmonella</i> sp. 25 g	Coliformes totais e termotolerantes (45 °C) (NMP/g)
Controle	3,43	2,37	Ausente	<3,0
<b>BR 501</b>	3 kGy	<1,0	Ausente	<3,0
	5 kGy	<1,0	Ausente	<3,0
Controle	3,35	2,0	Ausente	<3,0
<b>BRS 305</b>	3 kGy	<1,0	Ausente	<3,0
	5 kGy	<1,0	Ausente	<3,0

Limites estabelecidos pela RDC n° 12 para amostras indicativas de farinhas, *B. cereus*/g ( $3 \times 10^3$ ), *Salmonella* sp./25g (ausente), Coliformes a 45°C/g ( $10^2$ ) (BRASIL, 2001); Controle (FIS não irradiada).

**Fonte: Dados da pesquisa.**

Foram observados crescimento de colônias típicas e atípicas de *B. cereus* em ágar manitol gema de ovo polimixina (MYP) nas amostras controle, estes resultados podem ser explicados devido ao fato destes microrganismos serem comumente encontrados no solo, ar, em plantações, estando normalmente presentes em grãos de cereais (REIS, 2012; SOARES et al., 2008). Por serem microrganismos patogênicos a legislação estabelece um limite para farinhas em geral, de qualquer forma os valores apresentados estão abaixo da tolerância máxima para amostra indicativa correspondente a  $3 \times 10^3$  UFC/g (BRASIL, 2001).

Bilung et al. (2016) avaliaram a presença de *B. cereus* em 20 amostras de grãos de arroz locais e 20 amostras de grãos de arroz importados na Malásia, e obtiveram resultados positivos por meio do método de número mais provável (NMP/g), com confirmação de *B. cereus* em 85% dos grãos locais e 100% referente aos grãos importados pela técnica de reação em cadeia da polimerase (Polymerase Chain Reaction-PCR). Os autores constataram que as amostras são impróprias para consumo, devido aos elevados valores dessa bactéria.

## CAPÍTULO II

Reis (2012) encontraram presença de *B. cereus* correspondentes a 41,53% em 130 amostras de cereais, com valores iguais a  $2,0 \times 10^2$  UFC/g para amostras de trigo, entre  $2,0 \times 10^2$  UFC/g a  $3,0 \times 10^3$  UFC/g em amostras de feijão e de cevada, entre  $10^2$  a  $2,0 \times 10^2$  UFC/g em amostras de milho e entre  $2,0 \times 10^2$  a  $4,0 \times 10^3$  UFC/g em amostras de arroz.

Não foi detectado a presença de colônias típicas de *B. cereus* em Meio MYP para ambas as farinhas irradiadas com 3 kGy e 5 kGy no presente estudo, mas foi observado um crescimento de colônias não sugestivas (atípica) de *B. cereus* neste meio de cultura somente nas farinhas irradiadas com 3 kGy.

Ito *et al.* (2019) avaliaram o efeito da radiação gama sobre a carga microbiana de farinha de arroz e não encontraram *B. cereus* nas amostras submetidas a dosagens de 1 kGy, 2 kGy e 3 kGy, em comparação com o controle que continha *B. cereus* com valores inferiores a  $10^2$  UFC/g. Abdullah *et al.* (2018) encontraram concentrações elevadas de *B. cereus* e fungos em amostras de grãos de bico, com redução da carga microbiana ao aplicar doses de 0,5 kGy, 1 kGy e 2 kGy.

Houve ausência de *Salmonella* sp. em 25 g para todas as FIS, além de valores inferiores a 3 NMP/g para coliformes totais e termotolerantes, deste modo, pode-se afirmar que as farinhas obtidas da moagem dos grãos de sorgo estão aptas para consumo, por estarem dentro dos limites preconizados pela legislação brasileira (BRASIL, 2001).

Em estudo com farinha de resíduos de frutas, não houve a detecção de *Salmonella* sp. e coliformes totais e termotolerantes para as amostras irradiadas com doses de 2 kGy e 3 kGy (ARANHA *et al.*, 2017). Soquetta *et al.* (2016) observaram ausência de *Salmonella* sp. em amostras de farinhas produzidas a partir da casca e do bagaço de Kiwi. Enquanto Taipina *et al.* (2013) encontraram ausência de *Salmonella* sp. e de coliformes totais e termotolerantes em farinhas de banana verde irradiadas com doses de 0 kGy, 1 kGy e 3 kGy.

Devido a contaminação por fungos e bactérias ser constante em farinhas de grãos, por estarem presentes durante o período de vegetação dos cereais e por serem partes integrantes da massa dos mesmos, além de poderem se desenvolver nas etapas de colheita, manuseio, transporte e armazenamento (PLAVŠIĆ *et al.*, 2017), justifica-se a qualidade microbiológica obtida nas farinhas do presente estudo.

O armazenamento dos grãos de sorgo sob refrigeração assim como da farinha obtida após moagem pode reduzir a capacidade de crescimento dos microrganismos presentes. Devido ao fato dos fungos serem microrganismos mesófilos se desenvolvendo melhor a temperatura ambiente de 22 °C a 35 °C, com crescimento reduzido em temperaturas de 5 °C (AQUINO *et al.*, 2011). Assim como *B. cereus* devido a maioria das linhagens serem

## CAPÍTULO II

mesófilas conseguindo germinar e multiplicar em temperatura ambiente, produzindo toxinas que fazem mal a saúde (WEBB *et al.*, 2019).

Deste modo, condições desfavoráveis contribuem na inativação destes microrganismos, não apresentando risco potencial, desde que, de acordo com os limites preconizados pela legislação (PLAVŠIĆ *et al.*, 2017). Sendo importante a avaliação de outros parâmetros além da temperatura ambiente, como a atividade da água, umidade, pH e disponibilidade de oxigênio (SCHEMMINGER; MBUGE; HOFACKER, 2019).

As dosagens de 3 kGy e 5 kGy foram suficientes para eliminar a carga microbiana existente nas amostras controles de bolores/leveduras e de colônias típicas de *B. cereus*. Comprovando a eficácia da irradiação para a eliminação desses microrganismos na concentração relatada inicialmente.

### 3.2. Análises físico-químicas das FIS antes e após irradiação

#### 3.2.1 pH e acidez

Os valores para o pH e acidez das amostras de FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305 antes e após irradiação podem ser observados na tabela 2. Não houveram alterações significativas ( $p > 0,05$ ) no pH e na acidez para ambas as FIS após irradiação. Portanto, a aplicação deste método nas doses de 3 kGy e 5 kGy não ocasionou a liberação de ácidos carboxílicos, que podem ser liberados durante o processo devido a alterações de alguns componentes do alimento como à quebra de moléculas de amido (BASHIR; AGGARWAL, 2016).

**Tabela 2- pH, acidez das amostras de FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305 antes e após irradiação em base úmida (b. u.)**

Tratamento	Intensidade (kGy)	FIS BR 501	FIS BRS 305
pH	Controle	6,66 ± 0,06 <sup>aA</sup>	6,25 ± 0,05 <sup>aB</sup>
	3	6,67 ± 0,10 <sup>aA</sup>	6,24 ± 0,07 <sup>aB</sup>
	5	6,66 ± 0,05 <sup>aA</sup>	6,24 ± 0,04 <sup>aB</sup>
Acidez	Controle	0,486 ± 0,05 <sup>aB</sup>	0,938 ± 0,02 <sup>aA</sup>
	3	0,493 ± 0,04 <sup>aB</sup>	0,918 ± 0,04 <sup>aA</sup>
	5	0,500 ± 0,05 <sup>aB</sup>	0,930 ± 0,03 <sup>aA</sup>

(a, b) Médias seguida da mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). (A, B) Médias seguidas da mesma letra maiúscula na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). Controle: FIS não irradiada. Acidez expressa em g de ácido cítrico/100 g de produto.

**Fonte: Dados da pesquisa.**

## CAPÍTULO II

Os resultados do presente estudo são condizentes com os trabalhos de Aranha *et al.* (2017) e Ben Mustapha *et al.* (2014) que não verificaram redução significativa do pH e acidez em suas amostras com o aumento da irradiação. Entretanto, Bashir e Haripriya, (2016) relataram uma diminuição do valor de pH em amostras de amido de grão de bico com o aumento da dose de irradiação de 4 kGy, 8 kGy e 12 kGy.

A FIS BRS 305 apresentou maiores valores de pH e acidez comparada a FIS BR 501 ( $p < 0,05$ ). No entanto ambas as FIS podem ser consideradas de baixa acidez por conterem pH superior a 4,5 (ARÉVALO-PINEDO *et al.*, 2013). Os níveis de acidez de um alimento podem ser resultantes de compostos naturais presentes (FERNANDES *et al.*, 2008) refletindo nas diferenças entre alimentos.

### 3.2.2 Atividade de água e Composição centesimal

A atividade de água e a composição centesimal das FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305 são mostrados na tabela 3. A atividade de água diminuiu para as FIS BR 501 e BRS 305 comparada ao controle quando submetidas à doses de irradiação de 5 kGy, apresentando valores de 0,66 e 0,63, respectivamente. O mesmo foi observado por Ito *et al.* (2017) que encontraram redução da atividade de água com a aplicação de doses de 2 kGy em farinhas de bagaço de maçã.

A atividade de água representa o conteúdo de água livre presente no alimento, influenciando no crescimento microbiano, e como consequência no prazo de validade, assim como alteração nos parâmetros de umidade, textura, aroma e cor (TORTOE; JOHNSON; NYARKO, 2009). A maioria das bactérias se desenvolve em alimentos com atividade de água entre 0,91 a 0,88, diferente dos fungos e leveduras que conseguem se desenvolver em valores mais baixos, correspondentes a 0,88 e 0,8 (HOFFMANN, 2001). A alteração microbiana é cessada nos alimentos que apresentam atividade de água abaixo de 0,60 (BEN MUSTAPHA *et al.*, 2014). Deste modo, justifica-se a presença de bolores e leveduras, e colônias típicas de *Bacillus cereus* nas amostras relatadas no item 3.1.

Outro fator intrínseco que afeta na estabilidade ao longo do tempo em farinhas é a umidade (OCLOO; OKYERE; ASARE, 2014). Embora esse parâmetro não tenha sido alterado com o processo de irradiação, percebe-se diferenças significativas entre as FIS, com valores mais elevados para a BR 501 (12,79% a 12,85%) comparada a FIS BRS 305. Ambas as FIS mostram teores de umidade abaixo do valor máximo (15%) estipulado para farinhas

## CAPÍTULO II

conforme Resolução RDC nº 263, que estabelece o Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos (BRASIL, 2005).

**Tabela 3- Atividade de água e Composição centesimal das FIS BR 501 e BRS 305 antes e após irradiação em base seca (b. s.)**

Tratamento	Intensidade (kGy)	FIS BR 501	FIS BRS 305
<b>Atividade de água</b>	Controle	0,68 ± 0,00 <sup>aA</sup>	0,64 ± 0,00 <sup>abB</sup>
	3	0,68 ± 0,01 <sup>aA</sup>	0,65 ± 0,00 <sup>aB</sup>
	5	0,66 ± 0,01 <sup>aB</sup>	0,63 ± 0,02 <sup>bB</sup>
<b>Umidade*</b>	0	12,85 ± 0,27 <sup>aA</sup>	11,96 ± 0,51 <sup>aB</sup>
	3	12,79 ± 0,11 <sup>aA</sup>	11,49 ± 0,37 <sup>aB</sup>
	5	12,79 ± 0,14 <sup>aA</sup>	11,85 ± 0,37 <sup>aB</sup>
<b>Proteínas*</b>	Controle	12,23 ± 0,12 <sup>aA</sup>	12,16 ± 0,25 <sup>aA</sup>
	3	11,88 ± 0,03 <sup>aA</sup>	11,81 ± 0,26 <sup>aA</sup>
	5	11,81 ± 0,19 <sup>aA</sup>	11,75 ± 0,21 <sup>aA</sup>
<b>Gordura*</b>	Controle	3,83 ± 0,12 <sup>aA</sup>	3,41 ± 0,29 <sup>aA</sup>
	3	4,06 ± 0,26 <sup>aA</sup>	3,25 ± 0,17 <sup>aB</sup>
	5	3,50 ± 0,43 <sup>aA</sup>	3,17 ± 0,21 <sup>aA</sup>
<b>Cinzas*</b>	Controle	1,77 ± 0,02 <sup>aA</sup>	1,24 ± 0,04 <sup>aB</sup>
	3	1,83 ± 0,05 <sup>aA</sup>	1,19 ± 0,07 <sup>aB</sup>
	5	1,54 ± 0,03 <sup>bA</sup>	1,21 ± 0,08 <sup>aB</sup>
<b>Carboidratos*</b>	Controle	69,33 ± 0,06 <sup>bB</sup>	71,23 ± 0,53 <sup>bA</sup>
	3	69,44 ± 0,42 <sup>abB</sup>	72,27 ± 0,53 <sup>abA</sup>
	5	70,36 ± 0,34 <sup>aB</sup>	72,02 ± 0,62 <sup>aA</sup>
<b>Valor energético (kcal/100 g)</b>	Controle	360,70 ± 1,55 <sup>aB</sup>	364,22 ± 1,58 <sup>aA</sup>
	3	361,77 ± 0,63 <sup>aB</sup>	365,53 ± 1,27 <sup>aA</sup>
	5	360,17 ± 2,27 <sup>aB</sup>	363,59 ± 0,43 <sup>aA</sup>

(a, b,) Médias seguida da mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). (A, B) Médias seguidas da mesma letra maiúscula na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). Controle: FIS não irradiada. \*Valores expressos em porcentagem (%).

**Fonte: Dados da pesquisa.**

Apenas o teor de carboidratos foi alterado nas duas FIS, com aumento dos valores médios na dosagem de 5 kGy em comparação com as amostras não irradiadas (controle). A

## CAPÍTULO II

FIS BR 501 irradiada com 5 kGy teve redução no teor de minerais diferindo da amostra controle e da irradiada com 3 kGy, para os demais parâmetros representados pelos teores de proteínas, gorduras e cinzas não houve alteração com o processo de irradiação em ambas as FIS. O mesmo foi relatado por Bashir e Aggarwal, (2016) e Bashir *et al.* (2017) que não encontraram mudanças nestes parâmetros após irradiação em farinhas de grão de bico e de trigo, respectivamente.

Ao comparar os dois genótipos de FIS nas mesmas dosagens de irradiação é possível observar que não existe diferença estatística ( $p > 0,05$ ) para os teores de proteínas e lipídeos com valores médios iguais a 12,29% e 3,54%, respectivamente. Entretanto, a FIS BRS 305 apresentou menor teor de cinzas ( $p \leq 0,05$ ) entre 1,19% a 1,24% e maior teor de carboidratos ( $p \leq 0,05$ ) entre 71,23% a 72,27%, o que refletiu em um valor energético mais elevado (363,59 kcal/100 g a 365,53 kcal/100 g).

Martino *et al.* (2012) encontraram para farinha de sorgo BR 501, 11,59% de umidade, 9,91% de proteínas, 3,07% de lipídeos, 62,74% de carboidratos, 1,51% de cinzas e 318,23 Kcal/100 g de valor energético, e para a farinha BRS 305, 12,45% de umidade, 10,11% de proteínas, 2,60% de lipídeos, 62,09% de carboidratos, 1,32% de cinzas e 312,20 Kcal/100 g de valor energético; ambas as FIS deste estudo foram obtidas a partir da moagem de grãos de sorgo crus, produzidos em fevereiro de 2009, na mesma região em que os grãos de sorgo do presente estudo foram cultivados e moídos (EMBRAPA, Sete Lagoas).

Em comparação com Martino *et al.* (2012), o presente trabalho apresentou resultados semelhantes com pequenas diferenças na composição centesimal, como nos teores de umidade, carboidratos e valor energético. Portanto, acredita-se que a pequena variação observada possa ser explicada devido ao fato das farinhas de sorgo do presente estudo terem sido originadas de grãos de safras diferentes, deste modo, as condições de plantio, condições climáticas podem ter divergido, assim como as condições de armazenamento dos grãos e das farinhas obtidas, por serem fatores que influenciam na composição de nutrientes.

Moraes *et al.* (2015) avaliaram farinhas de sorgo integral do genótipo SC 21 e observaram 8,87% de umidade, 11,67% de proteínas, 2,80% de lipídeos, 48,36% de carboidratos, 1,88% de cinzas, 265,29 Kcal/100 g de valor energético. Sendo resultados inferiores em comparação com o presente estudo realizado, comprovando superioridade na concentração de nutrientes nas farinhas dos genótipos de sorgo BR 501 e BRS 305, o que pode contribuir no desenvolvimento de alimentos saudáveis. A irradiação nas dosagens de 3 kGy e 5 kGy não provocou perda de nutrientes nas amostras, o que comprova ser um método de conservação eficiente ao manter os nutrientes do alimento inalterados.

## CAPÍTULO II

## 3.2.3 Análise Colorimétrica

Os resultados para os parâmetros de cor encontram-se descritos na Tabela 4. Ao comparar as farinhas integrais de sorgo é perceptível a menor luminosidade para a FIS BRS 305, além de valores mais altos para o parâmetro  $a^*$  (vermelhidão) e mais baixos para o parâmetro  $b^*$  (amarelecimento). Essa diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as FIS pode ser explicada devido à variação da composição dos grãos nos diferentes genótipos, como a presença de compostos fenólicos, antocianinas e flavonóides que são responsáveis pela coloração mais escura e avermelhada (SUMCZYNSKI *et al.*, 2016), assim como taninos devido a presença de testa pigmentada (OLIVEIRA *et al.* 2020).

O processo de irradiação nas dosagens de 3 kGy e 5 kGy afetou no parâmetro luminosidade nas duas farinhas (letras minúsculas), com declínio de 77,24 a 76,09 e de 70,39 a 68,30, respectivamente, para as FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305. O valor do parâmetro  $b^*$  aumentou para a farinha BR 501 irradiada com 5 kGy, diferindo da amostra controle (não irradiada). Enquanto que o parâmetro  $a^*$  não sofreu alteração em nenhuma dosagem de irradiação aplicada ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 4- Determinação dos parâmetros de cor para as FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305 antes e após irradiação em base úmida (b. u.)**

Tratamento	Intensidade (kGy)	FIS BR 501	FIS BRS 305
$L^*$	Controle	77,24 ± 0,48 <sup>aA</sup>	70,39 ± 0,51 <sup>aB</sup>
	3	76,09 ± 0,56 <sup>bA</sup>	68,75 ± 0,78 <sup>bB</sup>
	5	76,23 ± 0,50 <sup>bA</sup>	68,30 ± 0,43 <sup>bB</sup>
$a^*$	Controle	4,01 ± 0,17 <sup>aB</sup>	6,13 ± 0,33 <sup>aA</sup>
	3	4,17 ± 0,32 <sup>aB</sup>	6,34 ± 0,19 <sup>aA</sup>
	5	4,19 ± 0,25 <sup>aB</sup>	6,36 ± 0,35 <sup>aA</sup>
$b^*$	Controle	17,48 ± 0,27 <sup>bA</sup>	13,06 ± 0,37 <sup>aB</sup>
	3	17,89 ± 0,36 <sup>abA</sup>	13,14 ± 0,35 <sup>aB</sup>
	5	18,17 ± 0,61 <sup>aA</sup>	13,18 ± 0,47 <sup>aB</sup>

Resultados correspondentes a média de três repetições. Luminosidade ( $L^*$ ); coordenada  $a^*$  (conteúdo do vermelho ao verde); coordenada  $b^*$  (conteúdo do amarelo ao azul). (a, b,) Médias seguidas da mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). (A, B) Médias seguidas da mesma letra maiúscula na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ), Controle: FIS não irradiada. **Fonte: Dados da pesquisa.**

## CAPÍTULO II

Em estudo com farinha de inhame submetida a irradiação gama, Suriya *et al.* (2017) também encontraram diminuição significativa da luminosidade com doses de 3 kGy, essa redução tornou-se maior conforme o aumento da dosagens (6 kGy a 12 kGy). Assim como De Camargo *et al.* (2011) e Aranha *et al.* (2017) que verificaram escurecimento em amendoim e farinhas de resíduos de frutas, respectivamente, submetidos à irradiação nas dosagens de 5 kGy a 15 kGy e de 1 kGy a 3 kGy.

Bashir *et al.* (2017) constataram diminuição da luminosidade e aumento do parâmetro  $b^*$  em farinhas de trigos irradiadas com dosagens de 5 kGy e 10 kGy em comparação com amostra controle. De acordo com os autores a alteração desses parâmetros pode ser justificada devido a caramelização dos monossacarídeos presentes durante o processo, sendo semelhante ao presente estudo.

Em outros estudos como o de Bashir e Haripriya (2016) houve diminuição significativa ( $p \leq 0,05$ ) da luminosidade e aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) dos valores para o parâmetro  $b^*$  em amostras de amido de grão de bico com o aumento da dose de irradiação, além da ausência de impacto significativo nos valores do parâmetro  $a^*$ .

Embora a radiação gama tenha provocado alterações na cor das FIS irradiadas, não foram encontradas diferenças ( $p > 0,05$ ) entre as doses aplicadas para todos os parâmetros analisados, ou seja, tanto a dosagem de 3 kGy quanto de 5 kGy provocaram as mesmas alterações.

### **3.3 Teores de Fenólicos Totais, Antocianinas, e Taninos Condensados e Atividade Antioxidante**

Os resultados de atividade antioxidante e os teores de compostos bioativos das FIS (controle e irradiadas) são apresentados na tabela 5. A concentração de compostos fenólicos, antocianinas totais, taninos condensados e a atividade antioxidante das amostras de FIS não tiveram reduções significativas ( $p > 0,05$ ) após a irradiação em comparação com o controle. Tais resultados estão de acordo com o estudo de Ben Mustapha *et al.* (2014) que não identificaram alterações significativas na concentração de compostos fenólicos e na atividade antioxidante (ABTS) para amostras de farinha de milho miúdo irradiadas com doses de 1 kGy a 5 kGy.

Em outro estudo no qual foi aplicado a radiação gama em duas cultivares de amendoim nas dosagens de 5 kGy a 10 kGy, também não houveram diferenças significativas na atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH (DE CAMARGO *et al.*, 2011). O

## CAPÍTULO II

mesmo pode ser observado por Elshazali *et al.* (2011) que não encontraram efeito do processo de radiação nos antinutrientes de farinha de milho, conservando o conteúdo de taninos.

Ito *et al.* (2016) e Aranha *et al.* (2017) relataram ausência de redução significativa na concentração de compostos fenólicos em farinhas de bagaço de maçã irradiadas com 2 kGy e farinhas de frutas cítricas irradiadas com 1 kGy a 3 kGy, respectivamente. Sultan, Wani e Masoodi (2018) não observaram redução na concentração de antocianinas totais em amostras de farinhas de arroz irradiadas com dosagens de 2,5 kGy.

**Tabela 5- Concentração de Antocianinas, Compostos fenólicos, Taninos e Atividade Antioxidante pelo método ABTS das farinhas integrais de sorgo BR 501 e BRS 305 antes e após irradiação em base seca (b. s.)**

Parâmetros	Intensidade (kGy)	FIS BR 501	FIS BRS 305
Compostos fenólicos	Controle	0,902 ± 0,13 <sup>aB</sup>	21,293 ± 2,36 <sup>aA</sup>
	3	0,885 ± 0,13 <sup>aB</sup>	21,069 ± 2,07 <sup>aA</sup>
	5	0,945 ± 0,0 <sup>aB</sup>	21,083 ± 2,46 <sup>aA</sup>
Antocianinas	Controle	6,53 ± 1,38 <sup>aB</sup>	27,34 ± 5,93 <sup>aA</sup>
	3	8,03 ± 1,74 <sup>aB</sup>	28,17 ± 1,38 <sup>aA</sup>
	5	6,15 ± 1,68 <sup>aB</sup>	26,04 ± 2,42 <sup>aA</sup>
Taninos	Controle	ND	71,395 ± 5,02 <sup>a</sup>
	3	ND	66,224 ± 5,00 <sup>a</sup>
	5	ND	70,663 ± 5,53 <sup>a</sup>
Atividade Antioxidante	Controle	12,550 ± 4,95 <sup>aB</sup>	325,391 ± 10,98 <sup>aA</sup>
	3	13,695 ± 5,89 <sup>aB</sup>	323,084 ± 13,44 <sup>aA</sup>
	5	11,974 ± 3,61 <sup>aB</sup>	326,412 ± 4,97 <sup>aA</sup>

(a, b,) Médias seguida da mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). (A, B) Médias seguidas da mesma letra maiúscula na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). Compostos fenólicos (mg Acido Gálico Eq./g), Antocianinas ( $\mu\text{g/g}$ ), Taninos (mg Catequina Eq./g), Atividade Antioxidante ( $\mu\text{M Trolox/g}$ ), Controle: FIS não irradiada, ND= Não detectado.

**Fonte: Dados da pesquisa.**

No presente estudo observou-se valores de taninos condensados abaixo do limite de detecção da metodologia empregada para a FIS BR 501 (Tabela 5), esse resultado já era esperado, uma vez que estes compostos estão presentes em variedades de grãos de sorgo que

## CAPÍTULO II

possuem testa pigmentada (DYKES; ROONEY, 2006; QUEIROZ *et al.*, 2018). Esta FIS também contém teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante inferiores em comparação com a FIS do genótipo BRS 332 (sem testa pigmentada) do estudo de Campelo *et al.* (2019) que contém teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante iguais a 4,49 mg Acido Gálico Eq./g e 44,66  $\mu$ M Trolox/g, respectivamente.

Em contrapartida, pelos grãos do genótipo BRS 305 conterem testa pigmentada, a FIS BRS 305 apresentou teores de compostos fenólicos, taninos e atividade antioxidante (ABTS) superiores à FIS BR 501. Além disso, a FIS BRS 305, também exibiu resultados mais elevados em comparação com a FIS com testa pigmentada do genótipo SC 21 que possui valores iguais a 8,33 mg Acido Gálico Eq./g, 8,63 mg Catequina Eq./g e 180,70  $\mu$ M Trolox/g, respectivamente (MORAES *et al.*, 2015).

Outro genótipo de sorgo com testa pigmentada que possui compostos bioativos e atividade antioxidante inferiores em comparação a FIS BRS 305 analisada no presente estudo é o genótipo SC 319. Essa cultivar de sorgo possui menor concentração de compostos fenólicos (14,05 mg Acido Gálico Eq./g) e atividade antioxidante (132,01  $\mu$ M Trolox/g) de acordo com estudo de Campelo *et al.* (2019), bem como menor quantidade de taninos (16,96 mg Catequina Eq./g) (DE OLIVEIRA *et al.*, 2017).

Ambas as FIS BR 501 e BRS 305 contém concentrações de antocianinas totais inferiores as farinhas dos genótipos SC 319 (com testa pigmentada) e TX430 (sem testa pigmentada) (DE OLIVEIRA *et al.*, 2017). Entretanto exibem maiores quantidades de compostos fenólicos e maior atividade antioxidante em comparação com outras farinhas de cereais como grão de bico, lentilha, amaranto, arroz castanho, arroz branco e de trigo (ROCCHETTI *et al.*, 2017).

Deste modo, é relevante a inserção das FIS de ambos os genótipos na nutrição humana, podendo trazer vários benefícios à saúde ao serem adicionadas com segurança no desenvolvimento de novos produtos, ao enriquecê-los nutricionalmente sem perdas de tais nutrientes pela aplicação da irradiação.

A radiação gama demonstrou ser um método viável de conservação nas FIS por garantir a inocuidade das mesmas e preservar os compostos bioativos, que poderiam ter sido reduzidos ao aplicar métodos tradicionais de conservação como os tratamentos químicos (ELSHAZALI *et al.*, 2011) e térmicos (ABDULLAH *et al.*, 2018; CARDOSO *et al.*, 2015; ELSHAZALI *et al.*, 2011).

### 3.4 Propriedades Tecnológicas das FIS BR 501 e BRS 305 antes e após irradiação

As propriedades tecnológicas das FIS são apresentadas na tabela 6. A capacidade de absorção em água e em óleo não sofreram alterações significativas ( $p > 0,05$ ) nas FIS BR 501 e BRS 305, independente da dosagem de radiação aplicada, apresentando valores entre 2,06 g/g a 2,07 g/g e entre 2,69 g/g a 2,73 g/g, respectivamente. Estes resultados são superiores quando comparados com farinhas de grão de bico (BASHIR; AGGARWAL, 2016), e Integral de trigo (BHAT *et al.*, 2016). Acredita-se que a composição de nutrientes nas FIS do presente estudo, bem como o tamanho das partículas e a concentração de amido digerível possam ter contribuído nas diferenças encontradas em comparação com farinhas de outros cereais. Tais parâmetros foram considerados relevantes nos estudos de Ayala-Rodriguez *et al.* (2009) e Bedolla e Rooney (1984) para o índice de absorção de água em farinhas de milho nixtamalizadas.

**Tabela 6- Propriedades tecnológicas das FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305 antes e após irradiação em base seca (b. s.)**

Análises	Intensidade (kGy)	FIS BR 501	FIS BRS 305
IAA (g/g)	Controle	2,06 ± 0,12 <sup>ab</sup>	2,69 ± 0,09 <sup>aA</sup>
	3	2,06 ± 0,16 <sup>ab</sup>	2,72 ± 0,06 <sup>aA</sup>
	5	2,07 ± 0,10 <sup>ab</sup>	2,73 ± 0,14 <sup>aA</sup>
IAO (g/g)	Controle	1,78 ± 0,13 <sup>aA</sup>	1,81 ± 0,08 <sup>aA</sup>
	3	1,75 ± 0,05 <sup>aA</sup>	1,83 ± 0,08 <sup>aA</sup>
	5	1,71 ± 0,08 <sup>aA</sup>	1,79 ± 0,03 <sup>aA</sup>
IAL (g/g)	Controle	2,71 ± 0,14 <sup>ab</sup>	3,18 ± 0,11 <sup>aA</sup>
	3	2,68 ± 0,31 <sup>ab</sup>	3,17 ± 0,08 <sup>aA</sup>
	5	2,69 ± 0,23 <sup>ab</sup>	3,15 ± 0,12 <sup>aA</sup>
ISA (g/g)	Controle	3,96 ± 0,99 <sup>aA</sup>	3,81 ± 1,56 <sup>aA</sup>
	3	3,79 ± 1,14 <sup>aA</sup>	3,59 ± 0,79 <sup>aA</sup>
	5	3,89 ± 0,57 <sup>aA</sup>	3,95 ± 0,76 <sup>aA</sup>

(a, b,) Médias seguidas da mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). (A, B) Médias seguidas da mesma letra maiúscula na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). IAA = índice de absorção de água; IAO = Índice de absorção em óleo; IAL = Índice de absorção em leite; ISA = Índice de solubilidade em água, Controle: FIS não irradiada.

**Fonte: Dados da pesquisa.**

## CAPÍTULO II

Wani *et al.* (2014) e Wani *et al.* (2015) também não encontraram alterações significativas na capacidade de absorção em água e em óleo em amostras de amido de castanha da Índia e em amidos de tubérculos de ponta de flecha (*Sagittaria sagittifolia* L.) irradiados com doses de 5 kGy. Contudo, em ambos os estudos o aumento para dosagens de 10 kGy e 15 kGy provocou alterações em comparação com a amostra controle.

Resultados diferentes foram obtidos por Bashir *et al.* (2017) que verificaram aumento em ambos os parâmetros para dosagens de 2,5 kGy; 5 kGy e 10 kGy em farinhas de amido. Segundo os autores os valores do índice de absorção de óleo e água podem ser reduzidos devido a deformação da estrutura física do amido e ao desdobramento das proteínas. Podendo então indicar possíveis perdas de nutrientes, como menores quantidades de fibra, amido e teor de proteína (AHMED; AL-ATTAR; ARFAT, 2016).

A capacidade de absorção de óleo é uma propriedade de grande relevância em formulações de alimentos, devido ao fato dos óleos melhorarem o sabor e a sensação dos alimentos na boca (KINSELLA; MELACHOURIS, 1976; OCLOO; OKYERE; ASARE, 2014). Essa propriedade não diferiu entre as FIS avaliadas no presente estudo.

Em relação ao índice de absorção de água, a FIS BRS 305 diferiu significativamente ( $p \leq 0,05$ ; tabela 6) com maior valor. Acredita-se que essa farinha tenha maior disponibilidade de grupos hidrofílicos que se ligam à molécula de água, o que pode confirmar sua maior capacidade em absorver água (BASHIR *et al.*, 2017; LEITE *et al.*, 2018), além de conter menor granulometria e maior concentração de amido resistente através de testes preliminares (dados não mostrados). O amido resistente possui capacidade de retenção de água, embora seja inferior em comparação com fibras convencionais (SHARMA; YADAV; RITIKA, 2008).

Ahmed, Thomas e Arfat (2019) verificaram aumento no índice de retenção de água em farinhas de quinoa com menores tamanhos de partículas quando comparadas com farinhas de partículas mais grossas, os autores afirmam que quanto menor a granulometria maior a superfície de contato, contribuindo na maior absorção de água.

Nas duas farinhas o índice de absorção em leite não sofreu alteração com o processo de irradiação, esse parâmetro foi maior ao ser comparado com o índice de absorção em água e em óleo, ou seja, as FIS possuem maior afinidade com o leite, inclusive a FIS BRS 305 exibiu maiores valores ( $p \leq 0,05$ ; tabela 6) entre 3,15 g/g de farinha seca a 3,18 g/g de farinha seca. Esta propriedade é de grande importância quando se pretende desenvolver produtos à base de leite como sobremesas lácteas, requeijão, doces e alimentos infantis instantâneos que devem possuir rápida homogeneização e evitar problemas de sinérese (BECKER, 2010).

## CAPÍTULO II

O índice de solubilidade em água (ISA) é aplicado para definir a quantidade de matéria solúvel em água em um produto (RESENDE; FRANCA; OLIVEIRA, 2019). Não ocorreu reduções significativas ( $p > 0,05$ ) neste parâmetro para as FIS antes e após a irradiação. Portanto, as doses aplicadas não provocaram alterações significativas nos macronutrientes que compõem as farinhas, como por exemplo, o amido, que poderia ter sofrido despolimerização induzida pelo processo de irradiação a uma proporção maior de cadeias curtas que são facilmente solvatadas pelas moléculas de água vizinhas, resultando em um aumento da solubilidade como ocorreu nos trabalhos de Bashir e Aggarwal (2016) e Bashir e Haripriya (2016).

### 4. CONCLUSÃO

O processo de irradiação de 5 kGy nas amostras de FIS demonstrou ser mais eficiente ao eliminar a carga microbiana referente a presença de bolores e leveduras e colônias típicas e atípicas de *B. cereus*. Diferente do tratamento aplicado em ambas as FIS (BR 501 e BRS 305) na dosagem de 3 kGy que não eliminou a presença de colônias não sugestivas de *B. cereus*.

Houve alteração da cor nas FIS irradiadas após o tratamento, com destaque para a redução da luminosidade, independente da dosagem de irradiação aplicada. A composição nutricional, assim como a concentração de compostos bioativos, atividade antioxidante e propriedades tecnológicas não foram reduzidas ( $p \leq 0,05$ ) nas dosagens aplicadas. Deste modo, pode-se dizer que o processo de irradiação a baixas dosagens é eficiente na conservação de alimentos, garantindo a qualidade dos mesmos sem provocar alterações nos macronutrientes e micronutrientes presentes.

As FIS avaliadas neste estudo demonstraram ser alimentos ricos em nutrientes, sendo superiores a outros tipos de cereais e outros genótipos de sorgo, contribuindo no enriquecimento de produtos alimentícios ao serem adicionadas. A FIS BRS 305 destacou-se na presença de compostos bioativos e atividade antioxidante.

## CAPÍTULO II

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULLAH, R. et al. Influence of gamma irradiation on microflora, sensory quality, nutritional properties and shelf life of Desi chickpea (*Cicer arietinum*). **Progress in Nutrition**, v. 20, p. 289–297, 2018.
- AHMED, J.; AL-ATTAR, H.; ARFAT, Y. A. Effect of particle size on compositional, functional, pasting and rheological properties of commercial water chestnut flour. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 888–895, 2016.
- AHMED, M. M. et al. Effect of gamma radiation on storability and functional properties of sorghum grains (*Sorghum bicolor* L.). **Food Science and Nutrition**, v. 6, n. 7, p. 1933–1939, 2018.
- AHMED, J.; THOMAS, L.; ARFAT, Y. A. Functional, rheological, microstructural and antioxidant properties of quinoa flour in dispersions as influenced by particle size. **Food Research International**, v. 116, p. 302–311, 2019.
- AL-BACHIR, M. Some microbial, chemical and sensorial properties of gamma irradiated sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds. **Food Chemistry**, v. 197, p. 191–197, 2016.
- ALIGHOURCHI, H.; BARZEGAR, M.; ABBASI, S. Effect of gamma irradiation on the stability of anthocyanins and shelf-life of various pomegranate juices. **Food Chemistry**, v. 110, n. 4, p. 1036–1040, 2008.
- ANDERSON, R. A. Gelatinization of corn grits by roll-and extrusion cooking. **Cereal Science Today**, v. 14, p. 2–14, 1969.
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the AOAC International**. 19th edition. Washington: AOAC, 2012.
- AQUINO, S. et al. Efeito da radiação gama nas propriedades sensoriais, atividade de água e microbiota de arroz. **ConScientiae Saúde**, v. 10, n. 2, p. 215–222, 2011.
- ARANHA, J. B. et al. Efeito da radiação gama nos parâmetros microbiológicos, físico-químicos e compostos fenólicos de farinha de resíduos de frutas durante armazenamento. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, p. e2016123, 2017.
- ARÉVALO-PINEDO, A. et al. Desenvolvimento de barra de cereais à base de farinha de amêndoa de babaçu (*Orbygnia speciosa*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 15, n. 4, p. 405–411, 2013.
- AWIKA, J. M. et al. Screening Methods to Measure Antioxidant Activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum Products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 23, p. 6657–6662, 2003.
- AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W.; WANISKA, R. D. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 90, n. 1–2, p. 293–301, 2004.

## CAPÍTULO II

- AYALA-RODRÍGUEZ, A. E. et al. Nixtamalised flour and tortillas from transgenic maize (*Zea mays* L.) expressing amarantin: Technological and nutritional properties. **Food Chemistry**, v. 114, p. 50–56, 2009.
- BASHIR, K.; AGGARWAL, M. Effects of gamma irradiation on the physicochemical, thermal and functional properties of chickpea flour. **LWT - Food Science and Technology**, v. 69, p. 614–622, 2016.
- BASHIR, K. et al. Physico-chemical and functional properties of gamma irradiated whole wheat flour and starch. **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p. 131–139, 2017.
- BASHIR, M.; HARIPRIYA, S. Physicochemical and structural evaluation of alkali extracted chickpea starch as affected by  $\gamma$ -irradiation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 89, p. 279–286, 2016.
- BECHLIN, T. R. et al. Evaluation of grain and oil quality of packaged and ozonized flaxseed. **Journal of Stored Products Research**, v. 83, p. 311–316, 2019.
- BECKER, F.S. **Caracterização de farinhas cruas e extrusadas obtidas a partir de grãos quebrados de diferentes genótipos de arroz**. 2010. 79 p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologias de Alimentos) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.
- BEDOLLA S.; ROONEY, L.W. Characteristics of US and Mexican instant maize flours for tortilla and snack preparation. **Cereal Foods World**, v. 29, p. 732–735, 1984.
- BEN MUSTAPHA, M. et al. Gamma radiation effects on microbiological, physico-chemical and antioxidant properties of Tunisian millet (*Pennisetum Glaucum L.R.Br.*). **Food Chemistry**, v. 154, p. 230–237, 2014.
- BHAT, N. A. et al. Physicochemical properties of whole wheat flour as affected by gamma irradiation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 71, p. 175–183, 2016.
- BILUNG, L. M. et al. Enumeration and molecular detection of *Bacillus cereus* in local indigenous and imported rice grains. **Agriculture and Food Security**, v. 5, n. 1, p. 4–8, 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Resolução RDC nº 263, que estabelece o Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. **Diário Oficial da União**, 2005.
- BREWER, M. S. Irradiation effects on meat flavor: A review. **Meat Science**, v. 81, n. 1, p. 1–14, 2009.
- CAMPELO, F. A. et al. Study of Thermoplastic Extrusion and Its Impact on the Chemical and Nutritional Characteristics and Two Sorghum Genotypes SC 319 and BRS 332. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 0, n. 0, p. 1–15, 2019.

## CAPÍTULO II

- CARDOSO, L. de M. et al. Phenolic compounds profile in sorghum processed by extrusion cooking and dry heat in a conventional oven. **Journal of Cereal Science**, v. 65, p. 220–226, 2015.
- CARDOSO, L. de M. et al. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 2, p. 372–390, 2017.
- CARDOSO, R. V. C. et al. Physicochemical characterization and microbiology of wheat and rye flours. **Food Chemistry**, v. 280, p. 123–129, 2019.
- DE CAMARGO, A. C. et al. Efeitos da radiação gama na cor, capacidade antioxidante e perfil de ácidos graxos em amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 1, p. 11–15, 2011.
- DE OLIVEIRA, K. G. et al. Effect of the storage time and temperature on phenolic compounds of sorghum grain and flour. **Food Chemistry**, v. 216, p. 390–398, 2017.
- DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4th edition. American Public Health Association-APHA, 2001.
- DYKES, L. et al. Phenolic compounds and antioxidant activity of sorghum grains of varying genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 17, p. 6813–6818, 2005.
- DYKES, L.; ROONEY, L. W. Sorghum and millet phenols and antioxidants. **Journal of Cereal Science**, v. 44, n. 3, p. 236–251, 2006.
- ELSHAZALI, A. M. et al. Effect of radiation process on antinutrients, protein digestibility and sensory quality of pearl millet flour during processing and storage. **International Food Research Journal**, v. 18, n. 4, p. 1401–1407, 2011.
- FERNANDES, A. F. et al. Effect of the partial replacement of wheat flour for potato skin flour (*Solanum Tuberosum* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 56–65, 2008.
- GIRARD, A. L.; AWIKA, J. M. Sorghum polyphenols and other bioactive components as functional and health promoting food ingredients. **Journal of Cereal Science**, v. 84, p. 112–124, 2018.
- GOMES, M. J. C. et al. Sorghum extrusion process combined with biofortified sweet potato contributed for high iron bioavailability in Wistar rats. **Journal of Cereal Science**, v. 75, p. 213–219, 2017.
- HAMAD, S. A. A. et al. Physicochemical attributes and starch functional properties of high  $\beta$ -glucan sorghum inbred line. **World Journal of Science, Technology and Sustainable Development**, v. 15, n. 4, p. 313–324. 2018.
- HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de microorganismos em alimentos. **Brasil Alimentos**, v. 5, n. 9, p. 23–30, 2001.

## CAPÍTULO II

- ITO, V. C. et al. Effects of gamma radiation on the phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of apple pomace flour during storage using multivariate statistical techniques. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 33, p. 251–259, 2016.
- ITO, V. C. et al. Effects of gamma radiation on physicochemical, thermogravimetric, microstructural and microbiological properties during storage of apple pomace flour. **LWT - Food Science and Technology**, v. 78, p. 105–113, 2017.
- ITO, V. C. et al. Gamma radiation effects on physicochemical, microbiological and antioxidant properties of black rice (*Oryza Sativa* L.) flour during storage. **Carpathian Journal of Food Science and Technology**, v. 11, n. 3, p. 163–174, 2019.
- JAFARI, M.; KOOCHKEKI, A.; MILANI, E. Effect of extrusion cooking on chemical structure , morphology , crystallinity and thermal properties of sorghum flour extrudates. **Journal of Cereal Science**, v. 75, p. 324–331, 2017.
- KALUZA, W. Z. et al. Separation of phenolics of *Sorghum bicolor* (L.) Moench grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, p. 1191–1196, 1980.
- KINSELLA, J. E.; MELACHOURIS, N. Functional properties of proteins in foods: a survey. Functional properties of proteins in foods: A survey. **C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 7, n. 3, p. 219–280, 1976.
- LEITE, N. D. et al. Farinha de arroz e berinjela em massa alimentícia: propriedades químicas e físicas. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 25, n. 1, p. 65–75, 2018.
- MARSTON, K.; KHOURYIEH, H.; ARAMOUNI, F. Effect of heat treatment of sorghum flour on the functional properties of gluten-free bread and cake. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 637–644, 2016.
- MARTINO, H. S. D. et al. Chemical characterization and size distribution of sorghum genotypes for human consumption Caracterização química e distribuição granulométrica de genótipos de sorgo para alimentação humana. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 2, p. 337–344, 2012.
- MORAES, É. A. et al. Sorghum flour fractions: Correlations among polysaccharides, phenolic compounds, antioxidant activity and glycemic index. **Food Chemistry**, v. 180, p. 116–123, 2015.
- MOREHOUSE, K. M. Food irradiation - US regulatory considerations. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 63, n. 3–6, p. 281–284, 2002.
- OCLOO, F. C. K.; OKYERE, A. A.; ASARE, I. K. Physicochemical, functional and pasting properties of flour produced from gamma irradiated tiger nut (*Cyperus esculentus* L.). **Radiation Physics and Chemistry**, v. 103, p. 9–15, 2014.
- OLIVEIRA, F. C. E. et al. Greek yogurt with added sorghum flours: antioxidant potential and sensory acceptance. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 47, n. 2, p. 272–280, 2020.
- PALAVECINO, P. M.; PENCI, M. C.; RIBOTTA, P. D. Effect of planetary ball milling on

## CAPÍTULO II

physicochemical and morphological properties of sorghum flour. **Journal of Food Engineering**, v. 262, p. 22–28, 2019.

- PLAVŠIĆ, D. et al. Mycopopulations of grain and flour of wheat, corn and buckwheat. **Food and Feed Research**, v. 44, n. 1, p. 39–45, 2017.

- PRICE, M. L.; SCOYOC, S. Van; BUTLER, L. G. A Critical Evaluation of the Vanillin Reaction as an Assay for Tannin in Sorghum Grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 26, n. 5, p. 1214–1218, 1978.

- QUEIROZ, V. A. V. et al. A low calorie and nutritive sorghum powdered drink mix: Influence of tannin on the sensorial and functional properties. **Journal of Cereal Science**, v. 79, p. 43–49, 2018.

- REIS, V. B. M. **Deteção e caracterização bioquímica e molecular de bacillus cereus em grãos**. 2011. 78 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Centro de Ciências Agrárias e Biológicas. Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2012.

- RESENDE, L. M.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) fruit by-products flours: Evaluation as source of dietary fibers and natural antioxidants. **Food Chemistry**, v. 270, p. 53–60, 2019.

- ROCCHETTI, G. et al. Evaluation of phenolic profile and antioxidant capacity in gluten-free flours. **Food Chemistry**, v. 228, p. 367–373, 2017.

- SCHEMMINGER, J.; MBUGE, D.; HOFACKER, W. Ambient air cereal grain drying – Simulation of the thermodynamic and microbial behavior. **Thermal Science and Engineering Progress**, v. 13, p. 1–8, 2019.

- SEIBEL, N. F. **Caracterização, fracionamento e hidrólise enzimática dos componentes do resíduo do processamento da soja [(*Glycine max* (L.) Merrill], fibras dos cotilédones**. 2006. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2006.

- SHARMA, A., YADAV, B. S., RITIKA. Resistant Starch: Physiological Roles and Food Applications. **Food Reviews International**, v. 24, n. 2, p. 193–234, 2008.

- SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010.

- SOARES, C. M. et al. Contaminação ambiental e perfil toxigênico de *Bacillus cereus* isolados em serviços de alimentação. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 504–510, 2008.

- SOQUETTA, M. B. et al. Characterization of physicochemical and microbiological properties, and bioactive compounds, of flour made from the skin and bagasse of kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*). **Food Chemistry**, v. 199, p. 471–478, 2016.

- SULTAN, N.; WANI, I. A.; MASOODI, F. A. Moisture mediated effects of  $\gamma$ -irradiation on physicochemical, functional, and antioxidant properties of pigmented brown rice (*Oryza sativa* L.) flour. **Journal of Cereal Science**, v. 79, p. 399–407, 2018.

## CAPÍTULO II

- SUMCZYNSKI, D. et al. Determination of contents and antioxidant activity of free and bound phenolics compounds and in vitro digestibility of commercial black and red rice (*Oryza sativa* L.) varieties. **Food Chemistry**, v. 211, p. 339–346, 2016.
- SURIYA, M. et al. Impact of  $\gamma$ -irradiation on physicochemical properties of freeze dried *Amorphophallus paeoniifolius* flour. **Food Chemistry**, v. 234, p. 276–284, 2017.
- TAIPINA, M. S. et al. Effect of Gamma Irradiation on the Microbiological Analysis of the Green Banana Flour. **International Journal of Engineering Science Invention**, v. 2, n. 7, p. 65–68, 2013.
- TORTOE, C.; JOHNSON, P. N. T.; NYARKO, A. I. Effects of osmo-dehydration, blanching and semi-ripening on the viscoelastic, water activity and colorimetry properties of flour from three cultivars of plantain (*Musa AAB*). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, n. 1, p. 82–86, 2009.
- VISMER, H. F. et al. Mycotoxins produced by *Fusarium proliferatum* and *F. pseudonygamai* on maize, sorghum and pearl millet grains *in vitro*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 296, p. 31–36, 2019.
- WANI, A. A. et al. Physicochemical properties of native and  $\gamma$ -irradiated wild arrowhead (*Sagittaria sagittifolia* L.) tuber starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 77, p. 360–368, 2015.
- WANI, I. A. et al. Effect of gamma irradiation on physicochemical properties of Indian Horse Chestnut (*Aesculus indica* Colebr.) starch. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 253–263, 2014.
- WAWRZYNIAK, J.; WAŚKIEWICZ, A.; RYDZANIECKI, A. Evaluation of critical points of mould growth and mycotoxin production in the stored barley ecosystem with a hazardous initial microbiological state of grain. **Journal of Stored Products Research**, v. 77, p. 166–176, 2018.
- WEBB, M. D. et al. Risk presented to minimally processed chilled foods by psychrotrophic *Bacillus cereus*. **Trends in Food Science and Technology**, v. 93, p. 94–105, 2019.
- XAVIER, M. M. B. S. et al. Implications of the use of irradiation in the processing of animal origin foods: Review. **Journal of bioenergy and food science**, v. 5, n. 4, p. 131–144, 2018.

### **CAPÍTULO III**

**INFLUÊNCIA DE FARINHAS INTEGRAIS DE SORGO IRRADIADAS NAS  
PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES, SENSORIAIS E VIABILIDADE DE  
*LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* LA-5 EM LEITES FERMENTADOS COM  
POTENCIAL PROBIÓTICO**

**RESUMO**

Os leites fermentados probióticos são alimentos ricos em nutrientes com alta demanda de mercado e elevada aceitação sensorial. O apelo nutricional e funcional destes produtos pode ser reforçado por meio do enriquecimento com cereais, em especial pelo sorgo, que é um cereal rico em nutrientes, compostos bioativos, fibras e amido resistente. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e avaliar a influência da incorporação de farinhas integrais de sorgo irradiadas dos genótipos BR 501 e BRS 305 na composição centesimal, propriedades antioxidantes e sensoriais, bem como na viabilidade de culturas probióticas de *Lactobacillus acidophilus* La-5 em leites fermentados com potencial probiótico. Avaliou-se nas FIS a concentração de amido resistente e sua granulometria. Foram desenvolvidas cinco formulações, Controle: sem adição de FIS; 1% BR 501: adicionada de 1% de FIS BR 501; 2% BR 501: adicionada de 2% de FIS BR 501; 1% BRS 305: adicionada de 1% de FIS BRS 305 e 2% BRS 305: adicionada de 2% de FIS BRS 305, com monitoramento do processo fermentativo por meio de análises de pH, acidez e concentração de bactérias ácido-láticas totais e de *L. acidophilus* La-5 no início e fim do processo. Avaliou-se a vida útil dos leites fermentados por meio do monitoramento do pH, acidez e viabilidade de *L. acidophilus* La-5 durante 28 dias de armazenamento sob refrigeração a 5 °C. Analisou-se a qualidade higiênico-sanitária das formulações por meio de análises microbiológicas de coliformes totais e termotolerantes (35 °C e 45 °C) pelo método de número mais provável (NMP/g) e contagem de fungos filamentosos e leveduras. Ainda, realizaram-se análises físico-químicas para determinação da composição centesimal, assim como análises de cor e textura instrumental, concentração de compostos bioativos e atividade antioxidante. As formulações desenvolvidas foram submetidas à aceitação sensorial/intenção de compra. A FIS BRS 305 apresentou maior teor de amido resistente e menor granulometria. As formulações desenvolvidas mantiveram o pH e a acidez estáveis ao longo dos 28 dias de armazenamento. A viabilidade da cultura probiótica de *L. acidophilus* La-5 manteve-se entre 7 Log UFC/g a 8 Log UFC/g durante o período de armazenamento em todas as formulações, havendo diferença significativa entre a formulação controle e as adicionadas de FIS BRS 305 na concentração de 1% e 2%. Para os teores de proteínas, cinzas e valor energético não houve diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os produtos. As formulações 2% BR 501 e 2% BRS 305 exibiram menores teores de umidade e lipídeos, além de maiores teores de carboidratos ( $p \leq 0,05$ ) em comparação ao controle. Com relação à cor, as formulações 1% BRS 305 e 2% BRS 305 demonstraram serem mais escuras, e menos amarelas que a formulação controle, além de maiores concentrações de

## CAPÍTULO III

compostos bioativos e atividade antioxidante. Na análise de textura instrumental, as formulações com adição de FIS independente da concentração apresentaram redução do parâmetro adesividade e aumento da coesividade, sendo a 2% BRS 305 a que apresentou maior elasticidade ( $p \leq 0,05$ ). Os leites fermentados atenderam aos critérios microbiológicos estabelecidos pela legislação, sendo considerados aptos para consumo. Na análise sensorial, as formulações 2% BR 501 e 2% BRS 305 tiveram notas menores para o parâmetro de textura, sendo a 2% BRS 305 a que apresentou menor aceitação na cor em comparação à formulação controle. No geral todas as formulações foram aceitas com valores acima de 70% referentes ao índice de aceitação. Para a intenção de compra, as formulações controle e 1% BRS 305 se destacaram com maiores valores ( $p \leq 0,05$ ). Este trabalho representa a primeira abordagem científica sobre a influência da incorporação de FIS na composição centesimal, propriedades antioxidantes e sensoriais, bem como na viabilidade de culturas probióticas de *L. acidophilus* La-5 em leites fermentados. A adição de FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305 a esses produtos pode contribuir na melhoria da funcionalidade, por meio do aumento da concentração de compostos bioativos, e com propriedades antioxidante e manutenção da viabilidade probiótica, com destaque para as formulações contendo farinhas de sorgo com tanino (BRS 305). Mais estudos precisam ser realizados para avaliar a ação do probiótico no organismo na presença da FIS. No geral todos os leites fermentados podem ser considerados com potencial probióticos.

**Palavras-chaves:** Cereal. Produto lácteo. Alimentos potencialmente funcionais. Antioxidantes.

**ABSTRACT**

Probiotic fermented milks are nutrient-rich foods with high market demand and high sensory acceptance. The nutritional and functional appeal of these products can be reinforced by enriching them with cereals, especially sorghum, which is a cereal rich in nutrients, bioactive compounds, fibers and resistant starch. The objective of this work was to develop and evaluate the influence of the incorporation of integrals sorghum flours irradiated from genotypes BR 501 and BRS 305 on the centesimal composition, antioxidant and sensory properties, as well as on the viability of probiotic cultures of *L. acidophilus* La-5 in milk fermented with probiotic potential. In FIS, the concentration of resistant starch and its granulometry were evaluated. Five formulations were developed, Control: no FIS added; 1% BR 501: added 1% of FIS BR 501; 2% BR 501: added 2% of FIS BR 501; 1% BRS 305: added 1% of FIS BRS 305 and 2% BRS 305: added 2% of FIS BRS 305, with monitoring of the fermentation process through analysis of pH, acidity and concentration of total lactic acid bacteria and *L. acidophilus* La-5 at the beginning and end of the process. The useful life of fermented milks was evaluated by monitoring the pH, acidity and viability of *L. acidophilus* La-5 during 28 days of storage under refrigeration at 5 °C. The hygienic-sanitary quality of the formulations was analyzed by microbiological analysis of total coliforms (35 °C) and thermotolerant coliforms (45 °C) using the most likely number method (NMP/g) and filamentous fungi and yeasts count. In addition, physical-chemical analyzes were carried out to determine the centesimal composition, as well as analyzes of color and instrumental texture, concentration of bioactive compounds and antioxidant activity. The formulations developed were submitted to sensory acceptance/purchase intention. FIS BRS 305 had a higher content of resistant starch and less granulometry. The formulations developed maintained the pH and acidity stable over the 28 days of storage. The viability of the *L. acidophilus* La-5 probiotic culture remained between 7 Log UFC/g and 8 Log UFC/g during the storage period in all formulations, with a significant difference between the control formulation and those added with FIS BRS 305 in the concentration of 1% and 2%. For protein, ash and energetic value, there were no significant differences ( $p > 0.05$ ) between products. The formulations 2% BR 501 and 2% BRS 305 showed lower levels of moisture and lipids, in addition to higher levels of carbohydrates ( $p \leq 0.05$ ) compared to the control. Regarding color, the 1% BRS 305 and 2% BRS 305 formulations proved to be darker, and less yellow than the control formulation, in addition to a higher concentration of bioactive compounds and antioxidant activity. In the analysis of instrumental texture, formulations with

## CAPÍTULO III

addition of FIS regardless of concentration showed a reduction in the adhesiveness parameter and an increase in cohesiveness, with 2% BRS 305 having the highest elasticity ( $p \leq 0.05$ ). Fermented milk met the microbiological criteria established by the legislation, being considered suitable for consumption. In the sensory analysis, the formulations 2% BR 501 and 2% BRS 305 had lower scores for the texture parameter, with 2% BRS 305 being the one with the lowest acceptance in color compared to the control formulation. In general, all formulations were accepted with values above 70% referring to the acceptance index. For purchase intention, the control and 1% BRS 305 formulations stood out with higher values ( $p \leq 0.05$ ). This work represents the first scientific approach on the influence of the incorporation of FIS on the centesimal composition, antioxidant and sensory properties, as well as on the viability of probiotic cultures of *L. acidophilus* La-5 in fermented milks. The addition of FIS of the BR 501 and BRS 305 genotypes to these products can contribute to improving functionality, by increasing the concentration of bioactive compounds, and with antioxidant properties and maintenance of probiotic viability, with emphasis on formulations containing sorghum flours with tannin (BRS 305). More studies need to be carried out to evaluate the action of the probiotic in the body in the presence of FIS. In general, all fermented milks can be considered as having probiotic potential.

**Keywords:** Cereal. Dairy product. Potentially functional foods. Antioxidants.

## CAPÍTULO III

### 1. INTRODUÇÃO

A crescente preocupação com a saúde tem impulsionado hábitos de vida mais saudáveis na população devido ao aumento do consumo de alimentos com alegação funcional, em especial, os probióticos que trazem muitos benefícios a saúde (BUSTAMANTE *et al.*, 2015). Com relação ao mercado global de probióticos, no ano de 2017 houve um faturamento de US\$ 40,09 bilhões e estima-se que em 2024 sejam obtidos US\$ 65,87 bilhões (ZION MARKET RESEARCH, 2018). Os probióticos podem ser definidos como “microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do indivíduo” (FAO/WHO, 2002).

Para que possam exercer efeitos benéficos à saúde humana, os probióticos devem estar viáveis no produto a ser consumido até o fim da sua vida útil (BRASIL, 2002), e resistirem às barreiras biológicas existentes no organismo como a acidez gástrica, a enzimas digestivas e a bile (AZCARATE-PERIL; TALLON; KLAENHAMMER, 2009; DE MORAIS; JACOB, 2006; SÁNCHEZ *et al.*, 2009), aderindo-se a mucosa intestinal com capacidade de competirem com microrganismos patogênicos (DERRIEN; VLIEG, 2015).

A introdução de culturas probióticas no desenvolvimento de novos produtos com alegação funcional se destaca na indústria de laticínios, principalmente no desenvolvimento de leites fermentados probióticos (KUMAR; VIJAYENDRA; REDDY, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2017). Os leites fermentados possuem uma alta demanda de mercado por serem de elevada aceitação sensorial e nutricionalmente ricos, sendo, portanto, ótimos veículos para probióticos (DE PRISCO; MAURIELLO, 2016; SÁNCHEZ *et al.*, 2017). Os microrganismos probióticos mais utilizados e estudados para aplicação em produtos alimentícios compreendem os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (CHEN *et al.*, 2017; SÁNCHEZ *et al.*, 2009).

A presença de microrganismos probióticos em leites fermentados exercem diversos benefícios à saúde humana, sendo relacionados com a redução de intolerância à lactose, redução dos níveis de colesterol, estimulação do sistema imunológico, alívio da constipação, aumento da absorção de minerais, bem como efeitos antimutagênico, anticancerígeno e anti-hipertensivo (SÁNCHEZ *et al.*, 2009; TUOHY *et al.*, 2003).

O apelo nutricional e funcional desses produtos pode ser reforçado por meio do enriquecimento com cereais, principalmente devido à presença de prebióticos, que auxiliam na redução de problemas intestinais, além de influenciarem positivamente na sobrevivência e

## CAPÍTULO III

persistência dos probióticos no trato gastrointestinal (CASAROTTI; CARNEIRO; PENNA, 2014).

Dentre os cereais utilizados para o enriquecimento de leites fermentados, destacam-se a chia (SANTOS; CRUZ; ALMEIDA, 2017), linhaça (ARDABILCHI *et al.*, 2020), e aveia (PELEGRINE; AGUIAR; IODELIS, 2015), além do pseudocereal quinoa (CASAROTTI; CARNEIRO; PENNA, 2014; CURTI *et al.*, 2017). O sorgo pode ser uma alternativa para a alegação funcional em alimentos. No entanto, são poucos os estudos no Brasil com a adição desse cereal em leites fermentados (OLIVEIRA *et al.*, 2020). Isso se deve ao fato do consumo humano de sorgo ser bem recente no país, sendo utilizado principalmente na alimentação animal (ANUNCIACÃO *et al.*, 2017; CARDOSO *et al.*, 2014).

O sorgo é um cereal que possui quantidades consideráveis de amido resistente (LOPES *et al.*, 2018; SHEN *et al.*, 2015; TEIXEIRA *et al.*, 2016) que corresponde a um prebiótico associado com vários benéficos à saúde como prevenção do câncer de colón, efeitos redutores de colesterol e de triglicerídeos, auxílio no aumento da saciedade, bem como redução da glicemia pós-prandial, sendo utilizado como substrato por bactérias anaeróbicas presentes no colón (CORREIA *et al.*, 2011). Adicionalmente, o sorgo apresenta compostos bioativos que possuem efeitos antioxidantes, contribuindo na inativação de radicais livres no organismo como ácidos fenólicos, antocianinas, taninos (GIRARD; AWIKA, 2018; PRZYBYLSKA-BALCEREK; FRANKOWSKI; STUPER-SZABLEWSKA, 2019), fitoesteróis e policosanóis, que auxiliam na prevenção de doenças crônicas como diabetes, doenças cardiovasculares, câncer e obesidade (QUEIROZ *et al.*, 2014). Além de ser isento de glúten, sendo uma ótima opção para celíacos (CARDOSO *et al.*, 2017; HAMAD *et al.*, 2018; MARSTON; KHOURYIEH; ARAMOUNI, 2016).

Contudo, sabe-se que o genótipo de sorgo pode influenciar o perfil de antioxidantes e consequentemente a cor dos produtos aos quais é adicionado (MARTINO *et al.*, 2012), sendo necessário estudos que avaliem estas diferenças, a fim de maximizar seus benefícios para a saúde e sua aceitação pelo consumidor. Dentre os genótipos de sorgo, destacam-se a BRS 305, que possui pericarpo marrom, testa pigmentada (com tanino) e endosperma farináceo, apresentando coloração mais escura e aroma intenso e a cultivar BR 501 que possui endosperma vítreo, não contém tanino, devido à ausência de testa pigmentada, obtendo-se uma farinha de cor branca (ANTUNES *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2020), e com sabor suave.

Deste modo, o desenvolvimento de um leite fermentado adicionado de probiótico e sorgo constitui uma possibilidade adequada para atender a demanda da população por

## CAPÍTULO III

alimentos mais saudáveis e sensorialmente agradáveis (QUEIROZ *et al.*, 2018), além de possibilitar a inserção desse cereal na alimentação humana. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da incorporação de FIS irradiadas na composição centesimal, cor, textura, propriedades antioxidantes e sensoriais, bem como na viabilidade de culturas probióticas de *L. acidophilus* La-5 em leites fermentados com potencial probiótico.

## CAPÍTULO III

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais nos Laboratórios do Setor de Operações, Processos, Tecnologia e no Setor de Microbiologia Industrial e Biocatálise do Departamento de Alimentos e no Laboratório de Segurança Alimentar da EMBRAPA, Sete lagoas, MG. O trabalho foi submetido ao Comitê de Pesquisa e Ética Humana da UFMG para condução dos experimentos que envolvem análise sensorial dos produtos por consumidores.

#### 2.1 Material

Os ingredientes (açúcar, leite em pó desnatado, leite pasteurizado) foram adquiridos no comércio local de Belo Horizonte, MG. As FIS dos genótipos BR 501 (pericarpo branco e sem tanino) e BRS 305 (pericarpo marrom e com tanino- testa pigmentada) foram doadas (cedidas) pela EMBRAPA milho e sorgo localizada em Sete Lagoas (MG), e posteriormente irradiadas com dosagem de 5 kGy, no Centro de Desenvolvimento e Tecnologia Nuclear (CDTN), localizado na UFMG. A escolha dos genótipos se baseou nas diferenças referentes a cor do pericarpo, composição química e concentração de compostos bioativos (MARTINO *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.* 2020; TEIXEIRA *et al.*, 2016).

##### 2.1.1 Culturas microbianas

A cultura mista de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Yo-Flex Mild 1.0, Christian Hansen) foi adquirida a partir de doação do laboratório de Microbiologia Quantitativa de Alimentos da Universidade de Campinas (UNICAMP). A cultura de *Lactobacillus acidophilus* La-5 (Christian Hansen) foi obtida a partir do estoque microbiológico do laboratório de Microbiologia Industrial e Biocatálise do Departamento de Alimentos (Faculdade de Farmácia, UFMG).

#### 2.2 Métodos

##### 2.2.1 Delineamento experimental

As análises físico-químicas, instrumentais, microbiológicas em todas as formulações de leites fermentados foram realizadas em três repetições em triplicata.

## CAPÍTULO III

### 2.2.2 Análise de Amido Resistente nas FIS

A quantificação do conteúdo de amido resistente presentes nas FIS foi realizada por meio do kit de ensaio *Megazyme International Ireland Ltd.*, Wicklow, Irlanda, seguindo o método certificado pela AACC (2001) e AOAC (2000). Resumidamente, foram pesadas as amostras de FIS com adição de  $\alpha$ -Amilase pancreática (10 mg/mL) e amiloglicosidase (AMG) (3 U/mL) e incubação por 16 horas a 37 °C, neste período houve a hidrólise enzimática de amido não resistente. Posteriormente, as amostras foram tratadas com etanol (99% v/v) e centrifugadas, o amido não resistente (sobrenadante) foi separado do amido resistente (sedimento obtido). Em seguida, o amido resistente foi purificado com etanol e solubilizado com solução de KOH (2 mol/L) em banho de gelo com agitação por 20 min., alíquotas (0,1 mL) foram removidas e tratadas com reagente glicose oxidase/peroxidase (GOPOD) com incubação a 50 °C durante 20 min. e a absorbância lida em espectrofotômetro a 510 nm. O amido não resistente (amido solubilizado) correspondente ao sobrenadante também foi tratado pelo reagente GOPOD. Os teores de amido resistente e não resistente foram expressos em g/100 g de farinha em base seca (TEIXEIRA *et al.*, 2016).

### 2.2.3 Análise granulométrica das FIS

A distribuição granulométrica das amostras de FIS foi calculada de acordo com Martino *et al.* (2012), por meio de um conjunto de onze peneiras arredondadas padrão ABNT, vibratórias e com aberturas das malhas variando de 5, 9, 14, 16, 24, 28, 32, 48, 60, 70 e 80 mesh. Peneirou-se 100 g de cada amostra durante 10 minutos, as quantidades retidas em cada peneira foram pesadas e expressas em porcentagens.

### 2.2.4 Preparo e ativação do inóculo das culturas lácteas para desenvolvimento dos leites fermentados

#### 2.2.4.1 Cultura liofilizada Yo-Flex. Mild 1.0 (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*)

Foram preparados 100 mL de leite desnatado reconstituído a 10%, tratado termicamente a 121 °C por 15 minutos e resfriado a 42 °C. Asepticamente, dissolveu-se 1 g da cultura liofilizada Yo-Flex Mild 1.0 de acordo com OZCAN *et al.* (2010), com modificações. Após completa dissolução, transferiu-se de 1 mL para eppendorfs estéreis e

### CAPÍTULO III

adição de 20% de glicerol com congelamento a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento do uso. Após esse preparo, obteve-se o inóculo com concentração  $10^8$  UFC/mL. Para o desenvolvimento dos leites fermentados houve a pré-ativação da cultura, deste modo, um eppendoff foi descongelado a temperatura ambiente ( $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e transferido em 10 mL de caldo MRS (Acumédia), com incubação a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 48 horas, com adição de 2% nas formulações de leites fermentados.

#### 2.2.4.2 Cultura liofilizada *Lactobacillus acidophilus* La-5

A cultura pura de *Lactobacillus acidophilus* La-5 foi descongelada e ativada, transferindo um eppendorf (1 mL) para 10 mL de caldo MRS estéril (Acumédia) com incubação em estufa a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Após a primeira incubação, a cultura foi adicionada em 100 mL de caldo MRS estéril novamente e incubada por mais 24 horas a mesma temperatura, realizando o processo duas vezes consecutivas. Foram adicionados 4% da cultura ativada nas formulações dos leites fermentados.

Ambas as concentrações das culturas microbiológicas (*S. thermophilus*, *L. bulgaricus* e *L. acidophilus* (BAL)) adicionadas ao leite para fermentação foram determinadas durante início e fim do processo fermentativo com o intuito de se obter concentrações de acordo com a legislação.

#### 2.2.5 Preparo das formulações de leites fermentados

As formulações de leites fermentados foram desenvolvidas de acordo com Hasani; Khodadadi e Heshmati (2016) e com Hasani *et al.* (2017) com adaptações (Figura 1). Leite integral pasteurizado foi utilizado como principal matéria prima, sendo adicionados 8% de açúcar e 3% de leite em pó desnatado; o leite em pó desnatado foi incorporado para aumentar o teor de sólidos totais e produzir uma bebida mais consistente. A mistura foi termicamente tratada a  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 5 minutos, em banho maria (TE-054 mag), seguida do resfriamento até  $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Foram adicionados 2% da cultura mista de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*, e 4% da cultura de *L. acidophilus* La-5, bem como farinhas integrais de sorgo nas proporções apresentadas na tabela 1. A definição das concentrações de farinhas de sorgo adicionadas nas formulações de leite fermentado se baseou em estudos prévios (PONTES, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2020). A fermentação ocorreu por meio da incubação das formulações a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  em estufa tipo B.O.D., sendo monitorada com análise de acidez e pH durante processo e

## CAPÍTULO III

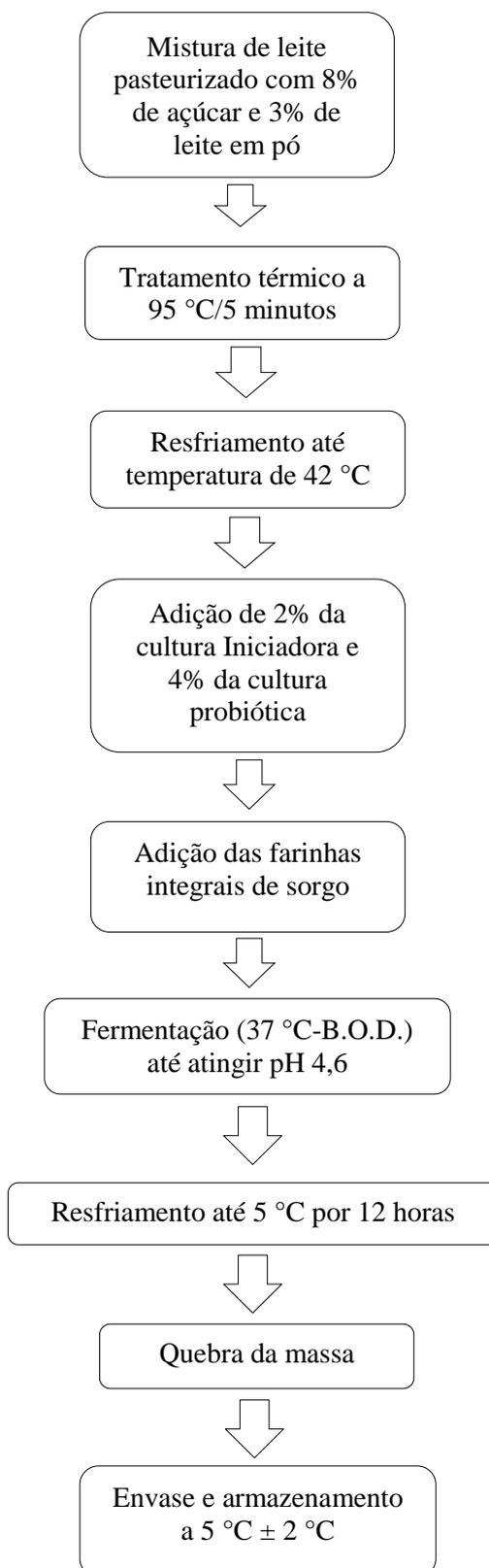
interrompida após os leites fermentados atingirem pH de 4,6 (WANG; KRISTO; LAPOINTE, 2019). Após a fermentação, as formulações foram refrigeradas (5 °C) por 12 horas, com posterior quebra da massa. Os produtos foram mantidos sob refrigeração, a 5 °C, até o momento das análises.

**Tabela 1- Concentrações de farinhas de sorgo dos genótipos BR 501 e BRS 305 adicionadas nas formulações de leites fermentados potencialmente probióticos**

<b>Formulações de leites fermentados probióticos</b>	<b>Concentrações de farinhas integrais de sorgo (FIS)</b>
Controle	Sem adição de FIS
1% BR 501	1% (genótipo BR 501*)
2% BR 501	2% (genótipo BR 501*)
1% BRS 305	1% (genótipo BRS 305**)
2% BRS 305	2% (genótipo BRS 305**)

\*Farinha Integral de sorgo do genótipo BR 501 irradiada com 5 kGy: Umidade: 12,79%; proteínas: 11,81%; gorduras: 3,50%; cinzas: 1,54%; teor de compostos fenólicos: 0,94 mg Acido Gálico Eq./g; teor de antocianinas: 6,15 µg/g; teor de taninos condensados: ausentes; atividade antioxidante: 11,97 µM Trolox/g. \*\* Farinha Integral de sorgo do genótipo BRS 305 irradiada com 5 kGy: Umidade: 11,85%; proteínas: 11,75%; gorduras: 3,17%; cinzas: 1,21%; teor de compostos fenólicos: 21,08 mg Acido Gálico Eq./g; teor de antocianinas: 26,04 µg/g; teor de taninos condensados: 70,66 mg Catequina Eq./g; atividade antioxidante: 326,41 µM Trolox/g.

**Fonte: Dados da pesquisa.**

**Figura 1- Etapas de desenvolvimento das formulações de leites fermentados**

**Fonte: Dados da pesquisa.**

## CAPÍTULO III

### 2.2.6 Análises físico-químicas

#### 2.2.6.1 Composição centesimal

A composição centesimal das formulações foi realizada de acordo com as metodologias abaixo:

- Teor de umidade: método de secagem em estufa a 105 °C até peso constante (AOAC, 2012);
- Teor de proteínas: método Kjeldahl (AOAC, 2012);
- Teor de gordura: método de Gerber (AOAC, 2012);
- Teor de cinzas: método de incineração em forno tipo mufla a 550 °C (AOAC, 2012);
- Teor de carboidratos: obtido por diferença, ou seja, reduzindo-se de 100% os teores de proteínas, gordura, cinzas e umidade.

#### 2.2.7 Análise Colorimétrica

As cores das amostras de leite fermentado foram determinadas por colorimetria, através do colorímetro, Modelo Konica Minolta, pelo sistema L\*, a\*, b\*. Nesse sistema a coordenada L\* expressa o grau de luminosidade da cor medida (L\* = 0, preto; 100, branco). Os valores de a\* expressam o grau de variação entre o vermelho e o verde (a\* negativo = verde; a\* positivo = vermelho), a coordenada b\* o grau de variação entre o azul e o amarelo (b\* negativo = azul; b\* positivo = amarelo).

#### 2.2.8 Textura Instrumental

Os parâmetros analisados para determinar a textura das formulações foram: firmeza, adesividade, viscosidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade e elasticidade. As amostras foram previamente preparadas em béquer de vidro de 45 mm de diâmetro e 40 mm de altura e analisadas no Texturômetro (TA.XT plus texture Analyser) através da compressão com sonda cilíndrica de aço inoxidável com um disco acrílico de 35 mm de diâmetro, profundidade de penetração de 30 mm, e uma taxa de penetração de 1 mm/s (FIDELIS *et al.*, 2020; WANG; KRISTO; LAPOINTE, 2019) com adaptações.

## CAPÍTULO III

### **2.2.9 Análise de Atividade Antioxidante e da concentração de Compostos bioativos**

#### **2.2.9.1 Liofilização dos leites fermentados**

Após o processamento dos leites fermentados probióticos foram depositados 40 mL de cada formulação em tubos falcon, dando um total de 500 mL de cada produto, sendo congeladas em freezer em temperaturas de  $-25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$  por 24 horas. As amostras foram inseridas no liofilizador (modelo LIOTOP L101, Liobras, Brasil) sob vácuo à temperatura de  $-50\text{ °C}$ , por 120 horas. Todas as amostras liofilizadas foram armazenadas em dessecador à temperatura ambiente ( $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ ).

#### **2.2.9.2 Preparo do extrato para análises de Atividade Antioxidante e concentração de Compostos bioativos**

Foram pesados aproximadamente 2 gramas de cada leite fermentado liofilizado em erlenmeyers de 125 mL, com acréscimo de 25 mL de solução 1% de HCl em Metanol e agitação por duas horas em shaker a 200 r.p.m. (Nova Ética, modelo 109). Em torno de 10 mL de cada amostra foram transferidas para tubos de centrífuga e centrifugados por 15 minutos a 3000 r.p.m. Em seguida as análises de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante pelo método ABTS foram realizadas.

Para análise de taninos foram pesados em balança analítica 0,3 g a 0,3030 g de cada formulação de leite fermentado liofilizado, adicionou-se 8 mL de solução 1% HCl em Metanol com agitação por 20 minutos a 200 r.p.m. em agitador tipo Shaker (Nova Ética, modelo 109), por fim as amostras foram transferidas para tubos centrífuga e centrifugadas a 3000 r.p.m. por 15 minutos, o extrato obtido foi submetido a análise.

#### **2.2.9.3 Análise de Atividade Antioxidante e Teores de Antocianinas, Fenólicos Totais e Taninos Condensados**

A atividade antioxidante foi realizada pelo método ABTS com leitura de absorbância a 734 nm (AWIKA *et al.*, 2003) com resultados expressos em equivalente de Trolox ( $\mu\text{M}$  Trolox/g). O teor de antocianinas foi determinado por Cromatografia líquida de Alta Eficiência (CLAE) com resultados expressos ( $\mu\text{g/g}$ ) (AWIKA; ROONEY; WANISKA, 2004). Os compostos fenólicos totais foram determinados segundo a metodologia proposta por Kaluza *et al.* (1980) e detalhada por Dykes *et al.* (2005) utilizando o reagente Folin

## CAPÍTULO III

Ciocalteau. A quantificação de taninos condensados foi determinada por meio do reagente Vanilina HCl segundo Price, Scoyoc e Butler (1978). Os resultados foram expressos como mg catequina equivalente (CE)/g amostra.

### 2.2.10 Avaliação da vida útil das formulações de leites fermentados

As formulações foram submetidas às análises de pH, acidez titulável e concentração de *L. acidophilus* La-5 durante o período de armazenamento, nos intervalos de tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias (HASANI; KHODADADI; HESHMATI, 2016). Com a finalidade de avaliar a influência da adição de sorgo dos genótipos BR 501 e BRS 305 em diferentes concentrações (1% e 2%) na viabilidade da cultura probiótica.

#### 2.2.10.1 pH e Acidez titulável

O pH das formulações foi medido utilizando-se pHmetro, de acordo com metodologia definida pela AOAC (2012).

A acidez total das formulações foi determinada por titulometria, de acordo com o método descrito pela AOAC (2012). Deste modo, as amostras foram neutralizadas, através da titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1 mol/L, utilizando-se indicador 1% de fenolftaleína para verificação do ponto de viragem (pH igual a 8,3), o resultado foi expresso em porcentagem (%) de ácido láctico, utilizando a fórmula abaixo:

$$\% \text{ de ácido láctico} = \frac{V \times f \times 0,09 \times N \times 100}{M}$$

Sendo,

V = volume de solução de hidróxido de sódio 0,1 N gasto na titulação, em mL;

M = Massa da amostra, em gramas;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 N;

0,09 = fator de conversão do ácido láctico;

N = normalidade de solução de hidróxido de sódio 0,1 N.

## CAPÍTULO III

### 2.2.10.2 Avaliação da viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* La-5

Para avaliar a concentração de *L. acidophilus* La-5 em todas as formulações desenvolvidas durante o armazenamento sob refrigeração (nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias), foi realizado a homogeneização de 25 g de cada amostra de leite fermentado em 225 mL de água peptonada estéril 0,1% ( $10^{-1}$ ). Após homogeneização, demais diluições decimais seriadas foram preparadas. Alíquotas de 0,1 mL de cada diluição decimal foram inoculadas em meio de cultura ágar MRS-Bile (contendo 0,5 g/L de sais biliares), pelo método de plaqueamento em superfície (*spread plate*). A incubação foi realizada na temperatura de 37 °C por um período de 72 horas, em jarra de anaerobiose com a adição de gerador de anaerobiose (PROBAC), com posterior contagem do número de colônias.

Para avaliar a seletividade do meio MRS-Bile para *L. acidophilus* na presença da cultura mista (Yo-Flex Mild 1.0) foram realizados ensaios descritos por Vinderola e Reinheimer (1999) com adaptações de Pereira (2012) (sem adição de cisteína), obtendo recuperação de 97,49% para *L. acidophilus* La-5 e inibição total da cultura mista Yo-Flex Mild 1.0.

Foi realizado a contagem de Bactérias ácido lácticas totais e de *L. acidophilus* La-5 no início e fim do processo fermentativo por meio do plaqueamento das diluições decimais  $10^{-5}$  a  $10^{-8}$  em meio MRS (*spread plate*) e incubação a 37 °C por 72 horas, em jarra de anaerobiose com a adição de gerador de anaerobiose (PROBAC), para verificar se os leites fermentados estavam de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2007).

### 2.2.11 Análise microbiológica

#### 2.2.11.1 Qualidade higiênico-sanitária

As formulações de leite fermentado probiótico foram submetidas às análises microbiológicas, a fim de avaliar a qualidade higiênico-sanitária de acordo com os padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para leites fermentados (BRASIL, 2007). Foram realizadas as análises de coliformes totais e termotolerantes (35 °C e 45 °C) e contagem de fungos filamentosos e leveduras de acordo com metodologia estabelecida por Downes e Ito (2001) e Silva *et al.* (2010).

## CAPÍTULO III

**2.2.12 Análise sensorial**

A análise sensorial foi realizada no laboratório de Análise Sensorial e Estudos com Consumidores (LASEC) da Faculdade de Farmácia da UFMG, Campus Pampulha. A análise sensorial foi realizada após aprovação pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil, sob número de protocolo: CAAE- 12457419.0.0000.5149/2019.

O recrutamento de 110 avaliadores não treinados foi realizado por meio de convite divulgado na FAFAR/UFMG, extensivo a todos os estudantes, professores, funcionários e visitantes, de ambos os gêneros e com idade entre 18 a 65 anos. Foram eliminados do teste pessoas que possuíam alguma restrição alimentar a leite (lactose e/ou proteína do leite de vaca), açúcar, ou algum outro ingrediente presente na formulação, assim como pessoas que apresentavam algum problema de saúde e com uso contínuo de medicamentos que alterassem a percepção.

O experimento foi realizado em uma única sessão, em cabines individuais de cor clara, com luz branca, todas as formulações foram servidas de forma monádica, balanceadas e aleatórias, em blocos completos, através de copos descartáveis, codificados com três dígitos, contendo aproximadamente 30 mL do produto. Os atributos cor, sabor, acidez, textura, aroma e impressão global foram avaliados, utilizando uma escala hedônica de 9 pontos variando de “gostei muitíssimo” a “desgostei muitíssimo” (MEILGAARD *et al.*, 1999). Também foi solicitado a indicação de intenção de compra do produto por meio de uma escala de 5 pontos, variando de “certamente não compraria” a “certamente compraria”.

Todos os avaliadores realizaram os testes sensoriais após assinarem o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE), de acordo com as Diretrizes e Normas para Pesquisa em Seres Humanos, Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS). Os mesmos também preencheram um questionário de identificação com perguntas relevantes para a pesquisa.

Foi avaliado o percentual de aceitação das formulações de leites fermentados através do cálculo do índice de aceitação em que indica aceitabilidade com resultados maiores ou iguais a 70%. Através da fórmula apresentada abaixo (DUTCOSKY, 2011).

$$IA (\%) = (A/B) \times 100$$

Onde:

IA- é o índice de aceitabilidade

A- é a média dos resultados de teste de aceitação

B- é a maior nota obtida no teste de aceitação

## CAPÍTULO III

**2.3 Análise estatística**

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições e em triplicata. Todos os resultados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade de *Shapiro Wilk* e de homogeneidade de *Levene* utilizando o Programa IBM SPSS Statistics Subscription, seguidos da análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ao nível de 5% de significância, com exceção dos resultados da análise de amido resistente nos quais foram aplicados teste T. Para a avaliação do pH assim como acidez e viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* La-5 em cada um dos cinco tratamentos com relação ao tempo de armazenamento (1, 7, 14, 21, 28 dias) foram aplicados análise em parcelas subdivididas, utilizando o programa R (versão 3.6.3) ao nível de 5% de significância.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Análise de Amido Resistente das FIS BR 501 e BRS 305

A tabela 2 apresenta os resultados da concentração de amido nas Farinhas Integrais de Sorgo (FIS). A FIS BRS 305 possui teor de amido resistente (AR) igual a 59,57 g/100 g, sendo superior e estatisticamente diferente em comparação com a FIS BR 501. De acordo com Teixeira et al. (2016) e Anyango e Taylor (2019) fatores genéticos influenciam no teor de amido resistente e demais fibras em grãos de sorgo, havendo variação da concentração em diferentes cultivares.

A presença de taninos também pode impactar no aumento da concentração de amido resistente, devido a interação desses compostos com a amilose por meio de ligações hidrofóbicas e de hidrogênio, reduzindo a atividade da  $\alpha$ -amilase (BARROS; AWIKA; ROONEY, 2012; MORAES *et al.*, 2015).

O resultado obtido é superior ao estudo de Teixeira *et al.* (2016) que encontraram um teor de amido resistente igual a 52,26 g/100 g em grãos de sorgo crus do genótipo BRS 305. Segundo os autores, produtos com alto teor de amido não digerível apresentam alta demanda para consumo humano, devido ao potencial efeito funcional que podem proporcionar ao fazerem parte da dieta. Como prevenção de doenças (diabetes, obesidade e câncer de colón), diminuição do colesterol e triglicerídeos, melhora na absorção de minerais e vitaminas, (SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006; SOARES *et al.*, 2019; WANG; WANG; XIAO, 2018), e da microbiota intestinal (LOPES *et al.*, 2018; ROSSI *et al.*, 2016).

**Tabela 2- Concentração de amido resistente e não resistente nas FIS BR 501 e BRS 305 em base seca (b. s.)**

Amostras	Amido resistente (g/100 g)	Amido não resistente (g/100 g)
<b>BR 501</b>	6,28 ± 0,42 <sup>b</sup>	54,60 ± 0,23 <sup>a</sup>
<b>BRS 305</b>	59,57 ± 2,18 <sup>a</sup>	7,85 ± 0,48 <sup>b</sup>

Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste T.

Fonte: Dados da pesquisa.

Moraes *et al.* (2015) avaliaram FIS do genótipo SC21 com tanino (testa pigmentada) e encontraram teores de amido resistente e não resistentes iguais a 24,41 g/100 g e 20,43 g/100 g, respectivamente, sendo resultados inferiores quando comparados com a FIS BRS 305.

### CAPÍTULO III

Para a FIS BR 501 (sem tanino) o teor de amido resistente foi similar ao estudo de Souilah *et al.* (2014) que analisaram 9 genótipos de sorgo sem tanino e encontraram teores de amido resistente na faixa de 2,55 g/100 g a 7,98 g/100 g, entretanto os autores encontraram um valor mais elevado de amido digerível variando de 64,37 g/100 g a 69,70 g/100 g.

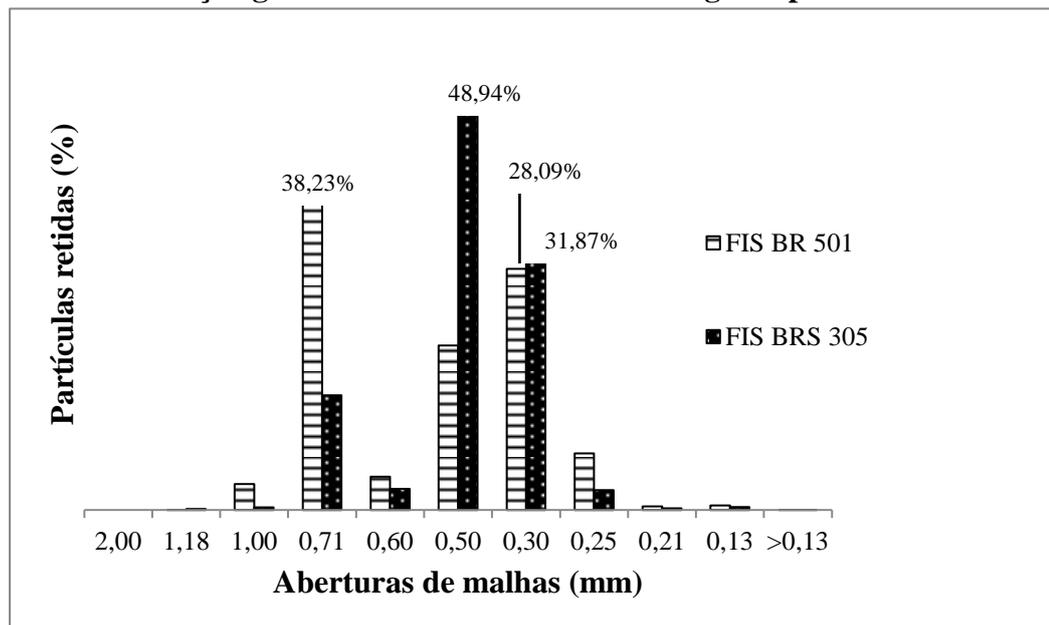
Outros fatores podem influenciar nas quantidades de amido resistente em cereais como modificações químicas no alimento, as diferenças genéticas entre diferentes fontes botânicas e as condições de armazenamento (PERERA; MEDA; TYLER, 2010).

No geral, a FIS BRS 305 pode ser considerada ideal no desenvolvimento de alimentos enriquecidos com fibras, sendo uma boa opção para compor a dieta de indivíduos diabéticos, pré-diabéticos e para pessoas obesas, devido ao fato da suplementação com AR poder contribuir na diminuição do armazenamento de gordura corporal, auxiliar no aumento a sensibilidade à insulina no organismo, reduzir o colesterol plasmático e os lipídios no sangue, além de elevar a tolerância à glicose (SHEN *et al.*, 2015; UDAGAWA *et al.*, 2008). A presença de AR pode ser interessante para o desenvolvimento de alimentos simbióticos, ou seja, a adição desse prebiótico pode influenciar na viabilidade das culturas probióticas. (CASAROTTI; CARNEIRO; PENNA, 2014; OZCAN *et al.*, 2017).

O consumo de AR na dieta auxilia na prevenção de doenças gastrointestinais, ao ser fermentado pela microbiota residente e transitória no intestino, com redução do pH, dificultando o crescimento de patógenos (ETCHEPARE *et al.*, 2016; HOMAYOUNI *et al.*, 2014; TEIXEIRA *et al.*, 2016), além de influenciar no aumento da taxa de produção de células da cripta do intestino, evitando a atrofia epitelial do cólon (RAIGOND; EZEKIEL; RAIGOND, 2014).

### 3.2 Análise de Granulometria das FIS BR 501 e BRS 305

Na Figura 2 é mostrado o resultado da análise granulométrica das FIS BR 501 e BRS 305. A FIS BR 501 exibiu maior granulometria com valores entre 0,71 mm e 0,3 mm. Esses resultados podem ser justificados devido aos grãos de sorgo desse genótipo serem mais duros, por possuírem um maior conteúdo de endosperma vítreo, o que reflete na obtenção de partículas de tamanhos maiores após processo de moagem, podendo impactar no desenvolvimento de produtos alimentares (OLIVEIRA *et al.*, 2020), como alterações nos parâmetros texturais que podem refletir na aceitação sensorial e nos índices de absorção em água, óleo e leite, e solubilidade em água.

**Figura 2- Distribuição granulométrica das farinhas dos genótipos BR 501 e BRS 305**

Fonte: Dados da pesquisa.

A FIS BRS 305 apresentou tamanhos de partículas entre 0,5 mm e 0,3 mm, sendo resultados similares ao trabalho de Moraes *et al.* (2015) que encontraram granulometria entre 0,5 mm a 0,25 mm nas FIS do genótipo SC 21. Segundo os autores o tamanho das partículas pode influenciar diretamente nos macronutrientes, como carboidratos e na taxa de digestão de nutrientes, pelo fato de partículas menores poderem contribuir no aumento da taxa de digestão de nutrientes devido a ampliação na superfície relativa para a reação enzimática.

### 3.3 Processos fermentativos dos leites fermentados

#### 3.3.1 Avaliação do pH e acidez durante a fermentação

As formulações de leites fermentados foram processadas conforme a figura 1 apresentada no item 2.2.5. A variação do pH e da acidez expressa como g de ácido lático por 100 g de produto, durante o processo de fermentação dos leites fermentados está demonstrada nas figuras 3 e 4, respectivamente. Ambos os parâmetros foram utilizados como ferramenta no monitoramento do processo de fermentação, sendo realizado a cada hora.

Não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre o tempo de fermentação para os dois parâmetros em todos os produtos. Todas as formulações possuem a cultura mista de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* (YoFlex-Mild 1.0) juntamente com *L. acidophilus* La-5,

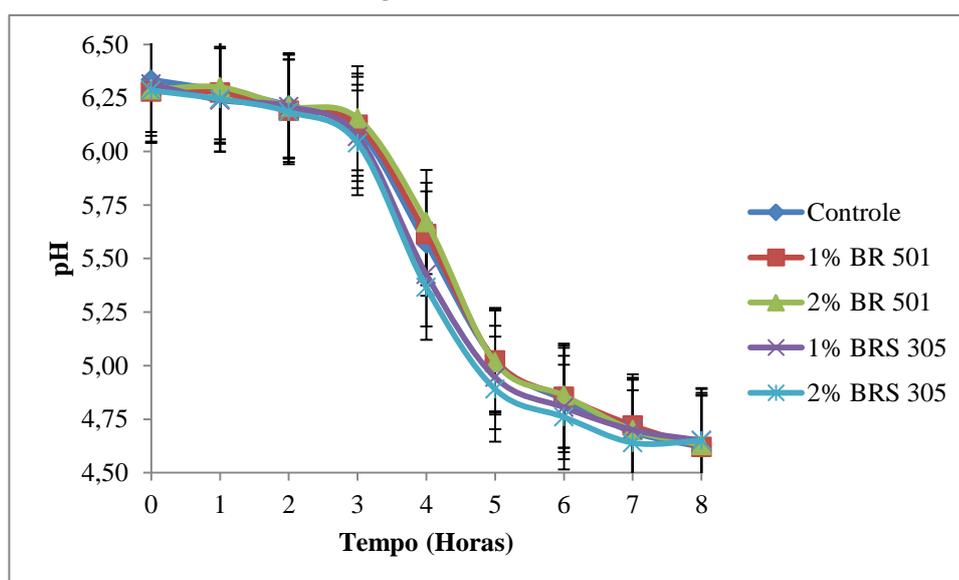
## CAPÍTULO III

diferindo apenas com relação a presença e concentração de farinha integral de sorgo (FIS) dos genótipos BR 501 e BRS 305, portanto, pode-se afirmar que o sorgo não influenciou no processo fermentativo.

Resultados diferentes foram encontrados por Vogado *et al.* (2018) que verificaram menor tempo de fermentação de *L. paracasei* em leite por meio da adição de polpa de banana verde, com redução mais rápida do pH, e consequente aumento da acidez. Zare *et al.* (2011) também observaram acidificação mais rápida em leites fermentados por culturas de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* devido a adição de 1%, 2% e 3% de farinha de lentilha. Ambos os autores relatam que a presença de carboidratos complexos nos ingredientes adicionados aos leites fermentados os tornam ótimas fonte de prebióticos, estimulando o crescimento das culturas microbianas presentes e influenciando no tempo de fermentação no processamento.

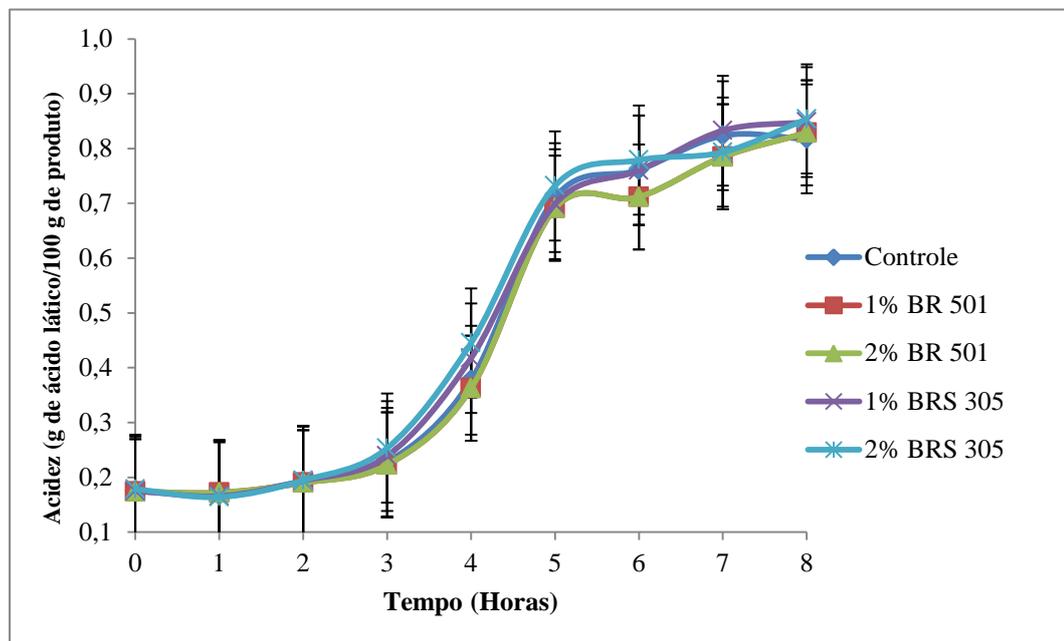
A fermentação em todos os leites fermentados durou 8 horas. Esse maior tempo pode ser justificado devido a temperatura de incubação empregada de 37 °C no processo fermentativo para favorecer a multiplicação de *L. acidophilus* La-5, visto que, em testes preliminares (dados não apresentados) o uso da temperatura de 42 °C permitia um menor tempo de fermentação, entretanto a concentração da cultura probiótica nos produtos finais atingia valores iguais a 6 Log UFC/g, ou seja, a cultura não conseguia se desenvolver adequadamente devido ao curto tempo de fermentação e a temperatura inadequada.

**Figura 3- Variação do pH em função do tempo durante fermentação das formulações de leites fermentados**



Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 4- Variação da acidez em função do tempo durante fermentação das formulações de leites fermentados**



Fonte: Dados da pesquisa.

O tempo de fermentação do presente estudo foi superior ao trabalho de Hasani, Khodadadi e Heshmati (2016) que obtiveram 3,5 a 4 horas de fermentação em leites fermentados com a presença de cultura de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* e *L. acidophilus*, devido a aplicação de temperaturas de incubação de 42 °C. Enquanto Illupapalayam, Smith e Gamlath (2014) relataram tempo de fermentação de aproximadamente 6 horas, utilizando as misturas de cultura de iogurte juntamente com *L. acidophilus* La-5 em leite, com incubação a 40 °C até obtenção de pH 4,5.

O pH médio final alcançado no momento do resfriamento em todas as formulações de leite fermentado deste presente estudo foi de 4,63 e acidez média de 0,84 g/100 g de produto. A cultura comercial de iogurte Yo-Flex Mild 1.0 foi essencial para o início do processo fermentativo devido a condição de simbiose entre o *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* (FERREIRA, 2005), produzindo grande quantidade de ácido láctico no meio, e consequentemente reduzindo o pH em valores adequados para o desenvolvimento do *L. acidophilus* La-5 que não apresenta atividade proteolítica essencial com baixo desempenho na acidificação (FAZILAH *et al.*, 2018), além de ser nutricionalmente exigente, necessitando de nutrição complexa como aminoácidos e outras substâncias (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

## CAPÍTULO III

Inclusive testes preliminares foram realizados na avaliação do processo fermentativo de *L. acidophilus* La-5 no leite, obtendo produtos após 20 horas de fermentação (dados não mostrados). Speranza *et al.* (2018) também relatam longos tempos de fermentação correspondendo a 48 horas ao adicionar 6,5 Log UFC/g de *L. acidophilus* em leite de vaca fresco homogeneizado com farinha sem glúten (2,5 g/L) utilizando temperatura de incubação de 37 °C.

Sendra *et al.* (2008) obtiveram tempos maiores de fermentação (38 horas) ao adicionarem *L. acidophilus* em leite, entretanto os autores verificaram diminuição do tempo por meio da cultura iniciadora de iogurte, contribuindo em níveis mais altos de fatores de crescimento essenciais na forma de peptídeos e aminoácidos que auxiliam no desenvolvimento de *L. acidophilus*.

Por meio do monitoramento do processo fermentativo foi possível obter no presente estudo produtos de qualidade com gel íntegro, devido a acidez adequada de acordo com o padrão de identidade e qualidade de leites fermentados (BRASIL, 2007). Todas as formulações foram armazenadas sob refrigeração (5 °C ± 2 °C) para cessar a atividade das culturas ácido lácticas para posterior quebra do gel na obtenção de iogurtes batidos (FERREIRA, 2005).

### 3.3.2 Quantificação de Bactérias Ácido Lácticas (BAL) e *Lactobacillus acidophilus* La-5 durante a produção dos leites fermentados

A tabela 3 apresenta a concentração inicial e final de BAL e de *L. acidophilus* La-5 durante o processo fermentativo para produção dos leites fermentados. A cultura de *L. acidophilus* La-5 apresentou contagens iniciais em todas as formulações de 5 Log UFC/g e aumentou para 7 Log UFC/g a 8 Log UFC/g, não apresentando diferença estatística ( $p > 0,05$ ). Portanto, as condições de fermentação permitiram a obtenção de produtos com concentrações adequadas da cultura probiótica.

Com relação a concentração de bactérias ácido lácticas (BAL), correspondentes à cultura mista de *S. Termophilus* e *L. bulgaricus* e de *L. acidophilus* La-5 não foram observados diferenças entre as formulações ( $p > 0,05$ ) no início e no fim do processo fermentativo.

Ozcan *et al.* (2017) tiveram resultados superiores para a concentração de *L. acidophilus* em leite fermentado no final da fermentação, correspondendo 9,59 Log UFC/g, enquanto Speranza *et al.* (2018) observaram resultados semelhantes ao presente estudo com

## CAPÍTULO III

concentração de *L. acidophilus* em leite fermentado igual a 8,30 Log UFC/g ao final do processamento.

**Tabela 3- Quantificação de Bactérias Ácido Láticas (BAL) e *L. acidophilus* La-5 no início e fim do processo fermentativo**

Formulações	Contagem em Log UFC/g			
	<i>BAL + LA</i>	<i>LA</i>	<i>BAL + LA</i>	<i>LA</i>
	Início da fermentação (T=0 h)		Fim da fermentação (T=8 h)	
Controle <sup>1</sup>	7,65 ± 0,07 <sup>a</sup>	5,35 ± 0,05 <sup>a</sup>	9,77 ± 0,32 <sup>a</sup>	7,97 ± 0,04 <sup>a</sup>
1% BR 501 <sup>2</sup>	7,78 ± 0,10 <sup>a</sup>	5,56 ± 0,22 <sup>a</sup>	9,89 ± 0,21 <sup>a</sup>	8,86 ± 0,05 <sup>a</sup>
2% BR 501 <sup>3</sup>	7,85 ± 0,10 <sup>a</sup>	5,57 ± 0,23 <sup>a</sup>	10,26 ± 0,03 <sup>a</sup>	8,01 ± 0,01 <sup>a</sup>
1% BRS 305 <sup>4</sup>	7,87 ± 0,09 <sup>a</sup>	5,62 ± 0,03 <sup>a</sup>	10,33 ± 0,01 <sup>a</sup>	8,15 ± 0,24 <sup>a</sup>
2% BRS 305 <sup>5</sup>	7,88 ± 0,04 <sup>a</sup>	5,67 ± 0,09 <sup>a</sup>	10,44 ± 0,04 <sup>a</sup>	8,28 ± 0,21 <sup>a</sup>

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). 1- leite fermentado sem farinha de sorgo, 2- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BR 501, 3- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BR 501, 4- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BRS 305, 5- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BRS 305. BAL + LA = *S. thermophilus*, *L. Bulgaricus*, *L. acidophilus* La-5, LA = *L. acidophilus* La-5.

**Fonte: Dados da pesquisa.**

Segundo Sendra *et al.* (2008) as culturas probióticas devem ser preparadas separadamente e adicionadas ao iogurte, a fim de obter altas contagens de bactérias probióticas no produto final ao evitar a competição microbiana com as culturas iniciadoras durante processo fermentativo. Entretanto, os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que a presença da cultura probiotica (*L. acidophilus*) em conjunto com as culturas iniciadoras (*S. Termophilus* e *L. bulgaricus*) durante o processo fermentativo permitiu a obtenção de contagens mais altas nos produtos finais, deste modo, acredita-se que a temperatura de 37 °C foi relevante no processo, uma vez que, impediu a competição entre as culturas, favorecendo a multiplicação do *L. acidophillus*, por ser a temperatura ótima de ação da cultura. Entretanto deixou o processo de fermentação mais longo. Portanto, mais testes se fazem necessários para tentar adequar os parâmetros tecnológicos do processo de produção dos leites fermentados em relação ao tempo, temperatura e concentração das culturas lácticas no produto final.

## CAPÍTULO III

Todos os leites fermentados estão de acordo com a legislação (BRASIL, 2007) que exige valores de bactérias ácido lácticas (BAL) de no mínimo 7 Log UFC/g.

### 3.4 Avaliação físico-química dos leites fermentados probióticos

#### 3.4.1 Análise da composição centesimal

As propriedades físico-químicas de leites fermentados interferem na qualidade final, no valor nutricional, nos atributos sensoriais e na vida útil do produto. Os resultados relativos à composição centesimal das diferentes formulações de leites fermentados são apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4- Composição centesimal (%) das diferentes formulações de leites fermentados em base úmida (b. u.)**

Parâmetros	Formulações				
	Controle <sup>1</sup>	1% BR 501 <sup>2</sup>	2% BR 501 <sup>3</sup>	1% BRS 305 <sup>4</sup>	2% BRS 305 <sup>5</sup>
<b>Umidade</b>	81,33 ± 0,08 a	80,87 ± 0,05 ab	80,24 ± 0,30 c	80,80 ± 0,14 abc	80,54 ± 0,34 bc
<b>Proteína</b>	3,61 ± 0,31 a	3,79 ± 0,28 a	3,65 ± 0,17 a	3,84 ± 0,04 a	3,89 ± 0,16 a
<b>Gordura</b>	1,77 ± 0,06 a	1,73 ± 0,12 a	1,33 ± 0,06 c	1,67 ± 0,06 ab	1,47 ± 0,06 bc
<b>Cinzas</b>	0,93 ± 0,02 a	0,86 ± 0,14 a	0,95 ± 0,01 a	0,92 ± 0,02 a	0,73 ± 0,20 a
<b>Carboidratos totais</b>	12,36 ± 0,41 c	12,74 ± 0,18 bc	13,84 ± 0,20 a	12,76 ± 0,18 bc	13,26 ± 0,51 ab

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). 1- leite fermentado sem farinha de sorgo, 2- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BR 501, 3- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BR 501, 4- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BRS 305, 5- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BRS 305.

**Fonte: Dados da pesquisa.**

A formulação controle apresentou o maior teor de umidade, correspondente a 81,33%, sendo significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) das formulações 2% BR 501 e 2% BRS 305 que apresentaram os menores teores de umidade, iguais a 80,24% e 80,54%, respectivamente.

### CAPÍTULO III

Devido a presença de maior concentração (2%) de FIS em ambas as formulações 2% BR 501 e 2% BRS 305 pode-se dizer que tal concentração contribuiu no aumento do teor de sólidos na base seca, refletindo no aumento de carboidratos ( $p < 0,05$ ) e diminuição da umidade. As formulações 1% BR 501 e 1% BRS 305 exibiram teores de umidades iguais a 80,87% e 80,80%, respectivamente, não diferindo ( $p > 0,05$ ) da amostra controle.

Para os teores de proteínas e cinzas não foram identificadas diferenças estatísticas ( $p > 0,05$ ) nos leites fermentados, variando entre 3,61% a 3,89% e entre 0,73% a 0,95%, respectivamente. Portanto, a presença de FIS BR 501 e BRS 305 não influenciaram no aumento desses parâmetros, independente da concentração adicionada.

Curti *et al.* (2017) encontraram resultados semelhantes para os teores de umidade entre 79,5% a 78,5% e de cinzas entre 0,81% a 0,8%, para iogurtes suplementados com farinha de quinoa (1% a 3%). Embora tenham observados valores superiores para os teores de proteínas correspondentes a 6% a 7,03%. No geral, todas as formulações estão de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, que determina teor proteico mínimo de 2,9 g/100 g (BRASIL, 2007).

As formulações 2% BR 501 e 2% BRS 305 diferiram ( $p \leq 0,05$ ) da formulação controle com menor teor de lipídeos. Segundo a legislação brasileira, leites fermentados que possuam um teor de matéria gorda láctea entre 0,6 g/100 g a 2,9 g/100 g podem ser definidos como parcialmente desnatados (BRASIL, 2007). Portanto, todas as formulações de leites fermentados desenvolvidas neste estudo podem ser classificadas dessa forma. Batista *et al.* (2017) obtiveram resultados similares para os teores de proteína e lipídeos variando de 3,46% a 3,48%, e de 1,13% a 1,63%, respectivamente, em amostras de leites fermentados com potencial probiótico adicionados de farinhas de banana verde.

Por outro lado, Vogado *et al.* (2018) notaram teores de proteína entre 2,71% a 3,34% e teores de carboidratos entre 9,92% a 11,96% em leites fermentados com diferentes concentrações de polpa de banana verde, sendo resultados inferiores em comparação com o presente estudo. No geral, todas as formulações de leite fermentados apresentaram resultados que mostram serem nutritivas, podendo contribuir para uma dieta saudável.

#### 3.4.2 Análise Colorimétrica

A análise de cor das formulações de leites fermentados é mostrada na tabela 5. Os valores obtidos em cada um dos parâmetros relacionados a cor indicam que os leites fermentados 1% BRS 305 e 2% BRS 305 possuem menor luminosidade (\*L) e são menos

## CAPÍTULO III

amarelos (b\*) que as formulações Controle, 1% BR 501 e 2% BR 501, o que pode ser justificado pela presença de testa pigmentada e pericarpo marrom nos grãos que deram origem a FIS adicionada, principalmente devido a presença de taninos e de antocianinas (OLIVEIRA *et al.*, 2020). As antocianinas são pigmentos azuis, vermelhos ou roxos encontrados em plantas, podendo ser adicionadas em alimentos e bebidas processadas como corantes naturais (KHOO *et al.*, 2017).

A maior concentração de FIS BRS 305 na formulação 2% BRS 305 contribuiu para detectar uma mudança significativa no valor do parâmetro (a\*) com valor positivo de 1,14, evidenciado a cor vermelha, ausente nas demais formulações.

A farinha do genótipo BR 501 foi obtida da moagem de grãos com endosperma branco e sem testa pigmentada, deste modo, ao ser adicionada ao leite fermentado na concentração de 1% não provocou alterações significativas nos parâmetros de cor (a\* e b\*), entretanto na formulação 2% BR 501 com maior concentração desta farinha foi possível perceber uma mudança significativa no parâmetro de luminosidade e no parâmetro a\*, com menor intensidade para a tonalidade verde em comparação com a formulação controle.

**Tabela 5- Parâmetros (L\*, a\*, b\*) das formulações de leites fermentados (controle) e com adição de 1% e 2% de farinha integral de sorgo em base úmida (b. u.)**

Parâmetros	Formulações				
	Controle <sup>1</sup>	1% BR 501 <sup>2</sup>	2% BR 501 <sup>3</sup>	1% BRS 305 <sup>4</sup>	2% BRS 305 <sup>5</sup>
<b>Luminosidade</b>	80,79 ± 0,14 a	76,80 ± 0,50 b	76,53 ± 0,71 b	74,72 ± 0,51 c	75,05 ± 0,49 c
<b>Croma a</b>	-1,85 ± 0,12 a	-1,39 ± 0,08 ab	-1,24 ± 0,07 b	-0,17 ± 0,08 c	1,14 ± 0,39 d
<b>Croma b</b>	10,15 ± 0,15 a	10,15 ± 0,38 a	10,40 ± 0,20 a	8,85 ± 0,27 b	9,01 ± 0,18 b

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). 1- leite fermentado sem farinha de sorgo, 2- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BR 501, 3- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BR 501, 4- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BRS 305, 5- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BRS 305.

**Fonte: Dados da pesquisa.**

Ardabilchi *et al.* (2020) também verificaram diminuição do parâmetro luminosidade em iogurtes adicionados de pó de linhaça que apresentam uma cor mais escura, com redução do parâmetro proporcional ao aumento da concentração de linhaça.

### CAPÍTULO III

Os parâmetros de cor afetam na aceitação de produtos pelo consumidor e consequentemente na sua comercialização, ou seja, mesmo que o alimento apresente efeito funcional se este não possuir uma atração visual para o consumidor, dificilmente será comercializado, logo é relevante que tais parâmetros se mantenham inalterados após processamento dos produtos (ZARE *et al.*, 2011).

A formulação com 2% de FIS BRS 305 apresentou diferenças significativas na cor, para todos os parâmetros, sendo o leite fermentado que mais diferiu ( $p < 0,05$ ) da amostra controle que se assemelha a um leite fermentado convencional no qual a população está acostumada a consumir, por essa razão tal resultado pode impactar negativamente na aceitação deste produto pelos consumidores.

#### 3.4.3 Textura Instrumental

Os valores para a análise de textura instrumental das formulações de leites fermentados são apresentados na tabela 6. Todos os leites fermentados não diferiram estatisticamente ( $p > 0,05$ ) para os parâmetros de firmeza, viscosidade, gomosidade e mastigabilidade, ou seja, a adição de FIS nas concentrações de 1% e 2% não influenciaram de forma significativa nestes parâmetros.

Para os parâmetros adesividade, coesividade e elasticidade foram verificadas diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre as formulações, sendo resultados de grande relevância por serem os principais parâmetros na análise de qualidade de textura em iogurtes (FANG *et al.*, 2019). A adesividade representa o trabalho necessário para superar a força da ligação entre a superfície do produto e a superfície do material de contato (LAL DAR; LIGHT, 2014). Os valores de adesividade das amostras de leites fermentados produzidos variaram entre  $-50,72 \pm 7,76$  N.m a  $-261,33 \pm 89,08$  N.m, sendo observada diferença significativa para a formulação Controle ( $p \leq 0,05$ ). A adição de FIS BR 501 e BRS 305 diminuiu a adesividade dos leites fermentados produzidos.

**Tabela 6- Parâmetros de textura das formulações de leites fermentados em base úmida (b. u.)**

Parâmetros	Formulações				
	Controle <sup>1</sup>	1% BR 501 <sup>2</sup>	2% BR 501 <sup>3</sup>	1% BRS 305 <sup>4</sup>	2% BRS 305 <sup>5</sup>
<b>Firmeza (N)</b>	-7,99 ± 0,53 a	-7,88 ± 0,77 a	-7,28 ± 0,89 a	-7,64 ± 0,06 a	-7,46 ± 0,24 a
<b>Adesividade (N.m)</b>	-261,33 ± 89,08 a	-94,61 ± 14,85 b	-62,38 ± 8,71 b	-50,72 ± 7,76 b	-56,23 ± 1,81 b
<b>Viscosidade (Pa.s)</b>	0,936 ± 0,014 a	0,941 ± 0,003 a	0,939 ± 0,001 a	0,954 ± 0,008 a	0,945 ± 0,005 a
<b>Coabilidade (N)</b>	0,838 ± 0,033 bc	0,797 ± 0,067 c	0,893 ± 0,007 ab	0,953 ± 0,017 a	0,908 ± 0,012 ab
<b>Gomosidade (N)</b>	-6,68 ± 0,19 a	-6,33 ± 1,14 a	-6,50 ± 0,74 a	-7,28 ± 0,07 a	-6,77 ± 0,13 a
<b>Mastigabilidade (N)</b>	-6,25 ± 0,08 a	-5,96 ± 1,10 a	-6,10 ± 0,69 a	-6,95 ± 0,13 a	-6,40 ± 0,16 a
<b>Elasticidade</b>	0,003 ± 0,002 c	0,032 ± 0,029 bc	0,089 ± 0,044 bc	0,108 ± 0,004 b	0,196 ± 0,048 a

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). 1- leite fermentado sem farinha de sorgo, 2- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BR 501, 3- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BR 501, 4- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BRS 305, 5- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BRS 305.

**Fonte: Dados da pesquisa.**

A Coabilidade é a força dos vínculos internos que compõem a estrutura de um produto (AZARI-ANPAR *et al.*, 2017; LAL DAR; LIGHT, 2014). Em leites fermentados a estrutura corresponde a uma rede tridimensional formada por ligações de K-caseína e proteínas do soro, deste modo, a *adição* de outro(s) ingrediente(s) pode interferir positivamente ou negativamente nessa estrutura, afetando este parâmetro de textura (CRISPÍN-ISIDRO *et al.*, 2015).

A adição de ingredientes ricos em fibras em iogurtes pode afetar nas propriedades texturais, principalmente em relação ao tipo de fibra (o conteúdo de fibra insolúvel ou solúvel), e seu tamanho de partícula, refletindo na capacidade desses polissacarídeos em atuar como estabilizantes nos géis de proteínas (KIESERLING *et al.*, 2019).

### CAPÍTULO III

Para os leites fermentados produzidos foram identificados aumento da coesividade com a adição de FIS, acredita-se que houve uma compatibilidade entre a matriz proteica do leite com os polissacarídeos da farinha de sorgo, o que refletiu no incremento da estrutura dos leites fermentados. Tais resultados são condizentes com estudos de Mousavi *et al.* (2019) que observaram redução da adesividade e aumento da coesividade em leites fermentados adicionados de farinha de linhaça em comparação com a amostra controle.

Segundo Kieserling *et al.* (2019) as interações entre polissacarídeos e proteínas em produtos lácteos pode ocorrer através de interação eletrostática entre as micelas de caseína carregadas positivamente com os grupos carregados negativamente na superfície das partículas das fibras, formando pontos de ancoragem. Além disso, a presença de fibras solúveis e insolúveis em iogurtes podem contribuir na redução da perda de soro durante armazenamento e maior estabilização no gel, devido aos diferentes efeitos relacionados a capacidade de ligação a água.

Wang, Kristo e Lapointe (2019) verificaram um aumento da coesividade em iogurtes adicionados de fibras, os autores também afirmam que a presença de outros componentes/ingredientes podem contribuir na estabilidade do gel de iogurtes, através da interação com a matriz de caseínas.

A elasticidade é determinada como a taxa na qual um material deformado retorna ao seu estado original (sem deformação) após a remoção da força externa (LAL DAR; LIGHT, 2014). Houve variação na elasticidade com a adição de FIS nos leites fermentados, sendo significativa para a formulação 2% BRS 305 que apresentou valor superior a formulação controle ( $p \leq 0,05$ ). A elasticidade reflete a integridade estrutural do iogurte e a adição de maior quantidade de FIS BR 305 no leite fermentado aumentou a integridade estrutural, portanto, este é um bom indicativo para a maior elasticidade observada.

Embora as FIS dos genótipos BR 501 e BRS 305 sejam diferentes por meio da análise de granulometria relatada no item 3.2, tais características não afetaram na textura instrumental dos produtos com base na estatística aplicada.

#### **3.4.4 Teores de Antocianinas, Fenólicos Totais, Taninos Condensados e Atividade Antioxidante**

A Tabela 7 mostra a atividade antioxidante e o conteúdo de compostos bioativos nas amostras dos leites fermentados. As substâncias com capacidade antioxidante são muito importantes para a saúde, por terem efeito protetor no organismo, impedem o surgimento de

## CAPÍTULO III

lesões causadas por radicais livres como espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio (OZCAN *et al.*, 2017). Deste modo, a propriedade antioxidante de um alimento vai depender da quantidade de substâncias bioativas presentes.

**Tabela 7- Atividade Antioxidante, teor de Antocianinas, Compostos fenólicos e Taninos condensados das formulações de leite fermentado convencional (controle) e com adição de 1% e 2% de farinha integral de sorgo, resultados em base seca (b. s.)**

Análises	Formulações				
	Controle <sup>1</sup>	1% BR 501 <sup>2</sup>	2% BR 501 <sup>3</sup>	1% BRS 305 <sup>4</sup>	2% BRS 305 <sup>5</sup>
<b>Antocianinas</b>	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Compostos fenólicos</b>	0,551 ± 0,01 d	0,591 ± 0,05 d	0,674 ± 0,01 c	0,865 ± 0,01 b	1,04 ± 0,03 a
<b>Taninos</b>	ND	ND	ND	ND	1,95 ± 1,2
<b>Atividade Antioxidante</b>	406,49 ± 19,4 c	447,89 ± 15,7 c	478,15 ± 55,2 bc	535,12 ± 8,1 b	627,34 ± 32,7 a

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). 1- leite fermentado sem farinha de sorgo, 2- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BR 501, 3- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BR 501, 4- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BRS 305, 5- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BRS 305. Antocianinas ( $\mu\text{g/g}$ ), Compostos fenólicos (mg Acido Gálico Eq./g), Taninos (mg Catequina Eq./g), Atividade Antioxidante ( $\mu\text{M Trolox/g}$ ). ND = Não Detectado.

**Fonte: Dados da pesquisa.**

A presença de antocianinas não foi detectada em nenhuma das formulações desenvolvidas neste estudo. A formulação 1% BR 501 apresentou concentração de compostos fenólicos semelhante a formulação controle, entretanto a maior concentração de FIS na formulação 2% BR 501 permitiu um aumento significativo dos mesmos ( $p \leq 0,05$ ; tabela 7). A presença de taninos foi identificada somente na formulação 2% BRS 305. Este resultado era esperado na formulação controle, por não conter a adição de FIS e nas formulações 1% BR 501 e 2% BR 501, devido à ausência desses compostos na FIS deste genótipo. No entanto, a ausência de taninos na formulação 1% BRS 305 pode ser explicada pela sensibilidade da técnica que provavelmente não foi capaz de detectar baixas concentrações deste composto.

Embora os taninos tenham efeito antioxidante, esses compostos são considerados antinutricionais por serem responsáveis pela diminuição da digestibilidade de proteínas e carboidratos presentes no alimento, reduzindo a eficiência alimentar em animais e humanos

## CAPÍTULO III

(DUNN et al., 2015). Entretanto, essa menor digestibilidade pode ser benéfica para o controle da diabetes e obesidade (BARROS; AWIKA; ROONEY, 2012; MORAES *et al.*, 2015).

Além disso, os taninos condensados são cardioprotetores, vasodilatadores e antitrombóticos, e apresentam atividade anticancerígena, como em células de melanoma humano, assim como efeitos anti-inflamatórios, contribuindo na prevenção de doenças crônicas (WU *et al.*, 2012).

A adição de FIS BRS 305 nas formulações 1% BRS 305 e 2% BRS 305 impactou no aumento significativo ( $P \leq 0,05$ ) da concentração de compostos fenólicos, tornando-se maior com o aumento da concentração de farinha adicionada às formulações, com valores de 0,865 e 1,04 mg de Acido Gálico Eq./g de produto, respectivamente. Wang, Kristo e Lapointe (2020) também encontraram aumento significativo no conteúdo de compostos fenólicos totais em iogurtes fortificados com bagaço de maçã em comparação com iogurte sem adição de bagaço de maçã.

As formulações 1% BR 501 e 2% BR 501 revelaram atividade antioxidante similar a formulação controle, deste modo, a presença de FIS BR 501 não teve influência significativa no aumento da atividade antioxidante dos leites fermentados. A formulação 1% BRS 305 teve maior atividade antioxidante ( $p \leq 0,05$ ) do que a formulação controle, mas não diferiu estatisticamente ( $p > 0,05$ ) da formulação 2% BR 501.

O leite fermentado 2% BRS 305 conteve maior atividade antioxidante, igual a 627,34  $\mu\text{M}$  trolox/g de produto, sendo consequência da maior concentração de compostos fenólicos, taninos condensados e antocianinas, diferindo significativamente ( $p \leq 0,05$ ) das demais formulações. Portanto, a maior concentração de FIS BRS 305 provocou um aumento dos compostos bioativos bem como na maior atividade antioxidante do produto formulado.

Ardabilchi *et al.* (2020) avaliaram a concentração de compostos fenólicos e a atividade antioxidante em iogurtes adicionados de diferentes concentrações de pó de linhaça (1% a 5%) e encontraram atividade antioxidante significativamente maior nos iogurtes enriquecidos quando comparados com a amostra controle.

De acordo com estudos de Yuan *et al.* (2018), os leites fermentados são alimentos que já apresentam atividade antioxidante, por serem excelentes fontes de peptídeos bioativos. Deste modo, a adição de ingredientes ricos em compostos bioativos naturais só tende a enriquecer ainda mais esses produtos, contribuindo no aumento da vida útil e fornecendo proteção ao corpo humano contra danos oxidativos no consumo (ALENISAN *et al.*, 2017).

## CAPÍTULO III

**3.5 Avaliação da vida útil dos leites fermentados sob refrigeração****3.5.1 pH e acidez titulável**

As tabelas 8 e 9 apresentam, respectivamente os valores de pH e acidez dos leites fermentados ao longo dos 28 dias de armazenamento a  $5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ . Não foram observadas diferenças estatísticas entre as formulações para o pH ( $p > 0,05$ ) ao analisar cada dia de armazenamento separadamente (letras minúsculas), entretanto, ao avaliar o comportamento do pH em cada uma das formulações ao longo da vida útil (letras maiúsculas), pode-se observar uma diminuição significativa ( $p \leq 0,05$ ) na amostra controle a partir do 7º dia, se mantendo constante até o final de 28 dias.

**Tabela 8- Valores de pH dos leites fermentados ao longo de 28 dias de armazenamento a  $5 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ .**

Formulações	Tempo (Dias)				
	1	7	14	21	28
<b>Controle<sup>1</sup></b>	4,53 ± 0,06 aA	4,44 ± 0,07 aB	4,45 ± 0,02 aB	4,40 ± 0,06 aB	4,41 ± 0,02 aB
<b>1% BR 501<sup>2</sup></b>	4,52 ± 0,02 aA	4,48 ± 0,05 aAB	4,46 ± 0,01 aAB	4,44 ± 0,02 aB	4,41 ± 0,04 aB
<b>2% BR 501<sup>3</sup></b>	4,52 ± 0,02 aA	4,47 ± 0,06 aAB	4,46 ± 0,03 aAB	4,44 ± 0,04 aB	4,41 ± 0,06 aB
<b>1% BRS 305<sup>4</sup></b>	4,52 ± 0,03 aA	4,44 ± 0,05 aB	4,44 ± 0,04 aB	4,41 ± 0,03 aBC	4,36 ± 0,05 aC
<b>2% BRS 305<sup>5</sup></b>	4,47 ± 0,01 aA	4,43 ± 0,06 aABC	4,44 ± 0,03 aAB	4,38 ± 0,02 aBC	4,36 ± 0,06 aC

(a, b,) Médias seguida da mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). (A, B) Médias seguidas da mesma letra maiúscula na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). 1- leite fermentado sem farinha de sorgo, 2- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BR 501, 3- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BR 501, 4- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BRS 305, 5- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BRS 305.

**Fonte: Dados da pesquisa.**

Para as formulações 1% BR 501 e 2% BR 501 assim como 1% BRS 305 e 2% BRS 305 é possível verificar um declínio do pH semelhante ao longo do tempo de armazenamento. Na formulação 1% BR 501 e 2% BR 501 houve uma redução significativa

## CAPÍTULO III

do pH nos dias 21 e 28 em comparação com o 1º dia de armazenamento. Para as formulações 1% BRS 305 e 2% BRS 305 a redução do pH no último dia foi significativa ao ser comparada com o 1º e 14º dia de armazenamento, como ambos os iogurtes possuem FIS BRS 305 que contém uma maior concentração de amido resistente, acredita-se que esse ingrediente pode ter influenciado na maior redução do pH durante o tempo de prateleira ao ser utilizado como nutriente pelas bactérias ácido lácticas, auxiliando na pós acidificação.

**Tabela 9- Valores de acidez (g de ácido láctico/100 g) dos leites fermentados probióticos ao longo de 28 dias de armazenamento a  $5 \pm 2$  °C.**

Formulações	Tempo (Dias)				
	1	7	14	21	28
<b>Controle<sup>1</sup></b>	0,85 ± 0,033 aB	0,87 ± 0,046 aAB	0,87 ± 0,042 aAB	0,87 ± 0,047 aAB	0,91 ± 0,029 bA
<b>1% BR 501<sup>2</sup></b>	0,85 ± 0,011 aB	0,85 ± 0,025 aB	0,85 ± 0,020 aB	0,87 ± 0,050 aB	0,92 ± 0,048 abA
<b>2% BR 501<sup>3</sup></b>	0,86 ± 0,022 aB	0,87 ± 0,028 aB	0,88 ± 0,039 aB	0,89 ± 0,046 aB	0,94 ± 0,024 abA
<b>1% BRS 305<sup>4</sup></b>	0,84 ± 0,015 aB	0,87 ± 0,031 aB	0,88 ± 0,036 aB	0,88 ± 0,043 aB	0,97 ± 0,030 aA
<b>2% BRS 305<sup>5</sup></b>	0,86 ± 0,019 aB	0,88 ± 0,021 aB	0,90 ± 0,042 aB	0,90 ± 0,058 aB	0,96 ± 0,032 abA

(a, b,) Médias seguida da mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). (A, B) Médias seguidas da mesma letra maiúscula na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). 1- leite fermentado sem farinha de sorgo, 2- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BR 501, 3- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BR 501, 4- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BRS 305, 5- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BRS 305.

**Fonte: Dados da pesquisa.**

Ao avaliar os valores de acidez entre os leites fermentados dentro do mesmo dia de armazenamento (letras minúsculas), são observadas diferenças estatísticas ( $p \leq 0,05$ ) entre a formulação controle e a formulação 1% BRS 305 após 28 dias de armazenamento. O mesmo foi relatado por Wang, Kristo e Lapointe (2019) que notaram aumento na acidez titulável e diminuição de pH em iogurtes adicionados de bagaço de maçã durante 28 dias de armazenamento.

### CAPÍTULO III

Analisando individualmente cada amostra quanto a acidez ao longo dos 28 dias percebe-se que a formulação Controle exibiu diferença estatística entre o primeiro e último dia com valores de 0,85 g/100 g e 0,91 g/100 g, respectivamente. As demais formulações exibiram aumento da acidez ( $p \leq 0,05$ ) com 28 dias em comparação com 1, 7, 14 e 21 dias, ou seja, a presença de FIS de ambos os genótipos nas formulações pode ter influenciado no aumento da acidez assim como na diminuição do pH.

Resultados semelhantes foram citados por Curti *et al.* (2017), Hasani, Khodadadi e Heshmati (2016); Mousavi *et al.* (2019) e Ribeiro *et al.* (2019) que verificaram um aumento da acidez em leites fermentados durante armazenamento, justificando essa alteração devido a presença de fibras e de bactérias ácido lácticas (BAL) que mesmo após armazenamento sob refrigeração hidrolisam a lactose residual presente no produto, contribuindo na pós acidificação durante o armazenamento.

Embora tenha sido verificado pós acidificação nos leites fermentados durante a vida útil, as formulações estão em consonância com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites fermentados que preconiza valores entre 0,6 g a 1,5 g de ácido láctico por 100 g (BRASIL, 2007). Tanto a acidez quanto o pH são parâmetros importantes em leites fermentados, porque podem afetar na aceitabilidade e na viabilidade de culturas probióticas presentes, devendo-se manter estáveis ao longo do período de armazenamento sob refrigeração (PIMENTEL *et al.*, 2015; VOGADO *et al.*, 2018). De acordo com Batista *et al.* (2017), o pH é um parâmetro relevante em iogurtes por refletir no sabor, sendo ideal valores próximos de 4,4.

A presença de farinhas de sorgo dos diferentes genótipos BR 501 e BRS 305, nas concentrações de 1% e 2% não foram responsáveis por reduzir a vida útil dos leites fermentados, por apresentar resultados de pH e acidez em valores adequados ao final do prazo de validade estipulado de 28 dias e de acordo com a legislação. Esse fato pode impactar benéficamente na aceitação dos produtos pelos consumidores.

#### **3.5.2 Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* La-5 durante armazenamento**

A Tabela 10 apresenta os resultados da contagem de células viáveis da cultura probiótica *L. acidophilus* La-5 (log UFC/g) nos leites fermentados durante 28 dias de armazenamento a  $5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ . Pode-se verificar um aumento da concentração de *L. acidophilus* La-5 durante as 12 horas de armazenamento sob refrigeração em comparação com a tabela 3 do item 3.3.2.

## CAPÍTULO III

As contagens *L. acidophilus* La-5 foram semelhantes ( $p > 0,05$ ) entre as formulações de leites fermentados no primeiro dia de armazenamento, sugerindo que o microrganismo estava presente nas mesmas quantidades em todas as amostras. Pressupõe-se que a adição de FIS BRS 305 influenciou na viabilidade de *L. acidophilus* La-5 nas formulações 1% BRS 305 e 2% BRS 305, as quais mantiveram contagens em 8 Log UFC/g ao longo da vida útil, diferindo ( $p \leq 0,05$ ) da formulação controle, que apresentou redução da contagem da cultura probiótica em 0,43 log UFC/g a partir do 14° dia de armazenamento.

**Tabela 10- Valores da viabilidade celular (log UFC/g) de *Lactobacillus acidophilus* La-5 nos leites fermentados ao longo de 28 dias de armazenamento a  $5 \pm 2$  °C.**

Formulações	Tempo (Dias)				
	1	7	14	21	28
<b>Controle<sup>1</sup></b>	8,08 ± 0,47 aA	8,03 ± 0,32 aA	7,65 ± 0,43 bAB	7,64 ± 0,43 bAB	7,30 ± 0,35 bB
<b>1% BR 501<sup>2</sup></b>	8,14 ± 0,89 aA	8,26 ± 1,02 aA	8,12 ± 0,79 abA	8,07 ± 0,61 abA	7,77 ± 0,76 abA
<b>2% BR 501<sup>3</sup></b>	8,34 ± 0,83 aA	8,17 ± 0,85 aA	8,12 ± 0,63 abA	7,86 ± 0,75 abA	7,75 ± 0,86 abA
<b>1% BRS 305<sup>4</sup></b>	8,62 ± 0,91 aA	8,17 ± 0,91 aA	8,46 ± 0,86 aA	8,41 ± 0,85 aA	8,12 ± 0,63 aA
<b>2% BRS 305<sup>5</sup></b>	8,41 ± 0,82 aA	8,39 ± 0,74 aA	8,41 ± 0,86 aA	8,30 ± 0,93 abA	8,04 ± 0,65 aA

(a, b,) Médias seguidas da mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). (A, B) Médias seguidas da mesma letra maiúscula na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $\alpha < 0,5$ ). 1- leite fermentado sem farinha de sorgo, 2- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BR 501, 3- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BR 501, 4- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BRS 305, 5- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BRS 305.

**Fonte: Dados da pesquisa.**

A diminuição do pH e o aumento da acidez ao longo do armazenamento são fatores que pode contribuir na redução da viabilidade de culturas probióticas em leites fermentados, devido ao acúmulo de ácidos orgânicos (JANUÁRIO *et al.*, 2017). Entretanto a formulação 1% BRS 305 apresentou maior acidez ( $p > 0,05$ ) em comparação com formulação controle no 28° dia. Deste modo, acredita-se que a presença de amido resistente em maior concentração

## CAPÍTULO III

na FIS BRS 305 possa ter contribuído nos resultados obtidos, visto que, esse prebiótico além de poder servir como substrato para as culturas probióticas também pode ter efeito protetor contra lesões provocadas devido ao abaixamento da acidez, refletindo na manutenção da viabilidade ao longo da vida útil (BATISTA *et al.* 2017; CASAROTTI; CARNEIRO; PENNA, 2014; OZCAN *et al.*, 2017).

As formulações 1% BR 501 e 2% BR 501 apresentaram manutenção da viabilidade de *L. acidophilus* La-5, não diferiram estatisticamente dos outros leites fermentados ao longo dos 28 dias de armazenamento, presume-se que a semelhança na contagem da cultura probiótica nestas formulações com as demais, está na presença de componentes amiláceos e nitrogenados na FIS BR 501 adicionada (HASANI; KHODADADI ; HESHMATI, 2016), além do amido resistente em menor concentração que podem ter auxiliado na capacidade de sobrevivência da cultura probiótica, mas não o suficiente para apresentar diferenças ( $p > 0,05$ ) com o controle.

Os resultados do presente estudo são condizentes com outros trabalhos. Batista *et al.* (2017) desenvolveram leites fermentados probióticos adicionados de farinha de banana verde (rica em amido resistente) nas concentrações de 1% e 3% e observaram aumento da viabilidade de *L. acidophilus*, com valores iguais a 8,05 Log UFC/g e 8,77 Log UFC/g, respectivamente, após 21 dias de armazenamento. Vogado *et al.* (2018) não verificaram redução da viabilidade de cultura probiótica *L. paracasei* em leites fermentados com adição de banana verde durante armazenamento sob refrigeração por 28 dias.

Ribeiro *et al.* (2019) desenvolveram leites fermentados adicionados de diferentes concentrações de farinha de alcachofra de Jerusalém, e verificaram manutenção da concentração de *Bifidobacterium lactis* HN019 ao longo de 30 dias de armazenamento, representando um ciclo logaritmo a mais em comparação com a formulação controle (sem farinha) durante o mesmo período. Enquanto Ozcan *et al.* (2017) obtiveram resultados para viabilidade de células de *L. acidophilus* entre 9,59 Log UFC/g a 7,30 Log UFC/g em leites fermentados adicionados de farinha de castanha na concentração de 2%.

Até o momento, são poucos os estudos desenvolvidos para determinar a dose probiótica eficaz, mas no geral são aceitos valores de  $10^8$  a  $10^{10}$  UFC por dia (ALBADRAN *et al.*, 2015). Consequentemente, são recomendados a presença de bactérias probióticas em valores mínimos de  $10^6$  a  $10^7$  UFC/mL ou UFC/g em alimentos considerados funcionais (JANUÁRIO *et al.*, 2017; KUMAR; KUMAR, 2016; OZCAN *et al.*, 2017). Portanto todas as formulações de leites fermentados desenvolvidas neste trabalho possuem potencial probiótico

## CAPÍTULO III

por terem apresentado concentrações de *L. acidophilus* La-5 de acordo com a literatura, com valores entre 7,30 Log UFC/g a 8,62 Log UFC/g.

Pode-se concluir que houve uma compatibilidade entre o probiótico, a cultura inicial (*S. termophilus* e *L. bulgaricus*) e a FIS de ambos os genótipos adicionados nas formulações, comprovando ser possível o desenvolvimento de leites fermentados com potencial probiótico acrescidos de cereais.

### 3.6 Análise microbiológica

#### 3.6.1 Qualidade higiênico-sanitária

Os resultados das análises microbiológicas dos leites fermentados são demonstrados na Tabela 11. Todas as formulações atendem aos critérios microbiológicos estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) através da instrução normativa IN 46 de 23 de outubro de 2007 (BRASIL, 2007).

**Tabela 11- Análise microbiológica dos leites fermentados**

Leites Fermentados	*Pesquisa	
	Enumeração de coliformes totais e termotolerantes (NMP/g)	Contagem de Bolors e leveduras (Log UFC/mL)
Controle <sup>1</sup>	< 3,0	<1,0
1% BR 501 <sup>2</sup>	< 3,0	<1,0
2% BR 501 <sup>3</sup>	< 3,0	<1,0
1% BRS 305 <sup>4</sup>	< 3,0	<1,0
2% BRS 305 <sup>5</sup>	< 3,0	<1,0

\* Amostras indicativas. 1- leite fermentado sem farinha de sorgo, 2- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BR 501, 3- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BR 501, 4- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BRS 305, 5- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BRS 305.

Fonte: Dados da pesquisa.

### 3.7 Análise sensorial

Na Tabela 12, estão apresentados os resultados obtidos para cada atributo sensorial avaliado nas diferentes formulações desenvolvidas.

**Tabela 12- Parâmetros de aceitação das formulações de leites fermentados após 7 dias armazenados a  $5 \pm 2$  °C**

Formulações	Cor	Aroma	Sabor	Acidez	Textura	Impressão Global
<b>Controle<sup>1</sup></b>	7,55 ± 1,44 a	6,63 ± 1,85 a	7,17 ± 1,75 a	7,04 ± 1,68 a	7,78 ± 1,45 a	7,45 ± 1,48 a
<b>1% BR 501<sup>2</sup></b>	7,20 ± 1,57 ab	6,33 ± 1,84 a	6,61 ± 1,83 ab	6,75 ± 1,70 a	7,11 ± 1,61 bc	6,85 ± 1,62 bc
<b>2% BR 501<sup>3</sup></b>	7,13 ± 1,47 ab	6,28 ± 1,75 a	6,40 ± 2,06 b	6,50 ± 1,95 a	6,83 ± 1,89 c	6,63 ± 1,82 c
<b>1% BRS 305<sup>4</sup></b>	7,28 ± 1,43 ab	6,58 ± 1,73 a	7,25 ± 1,60 a	7,12 ± 1,62 a	7,63 ± 1,27 ab	7,38 ± 1,33 ab
<b>2% BRS 305<sup>5</sup></b>	6,99 ± 1,65 b	6,58 ± 1,64 a	6,95 ± 1,65 ab	6,95 ± 1,53 a	6,94 ± 1,74 c	6,94 ± 1,47 abc

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de tukey. 1- leite fermentado sem farinha de sorgo, 2- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BR 501, 3- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BR 501, 4- leite fermentado com 1% de farinha de sorgo BRS 305, 5- leite fermentado com 2% de farinha de sorgo BRS 305.

**Fonte: Dados da pesquisa.**

Entre os seis atributos sensoriais analisados, não foram identificados diferenças significativas para aroma e acidez entre as formulações ( $p > 0,05$ ). Como até o 21º dia todas as formulações não diferiram entre si na análise físico-química de acidez, justifica-se o resultado obtido no teste de aceitação aplicado após os sete dias de desenvolvimento dos leites fermentados.

Para o atributo sabor a formulação 2% BR 501 diferiu do controle e de 1% BRS 305 ( $p \leq 0,05$ ) apresentando menor valor, igual a 6,40, situando-se entre os escores “Gostei ligeiramente” e “Gostei moderadamente”, ou seja, a adição de uma concentração maior de FIS BR 501 (sem tanino) influenciou no sabor.

Os taninos presentes na FIS BRS 305 podem contribuir com amargor e adstringência, o que pode afetar a palatabilidade dos produtos desenvolvidos e ocasionar em uma resposta negativa do consumidor (LESSCHAEVE; NOBLE, 2005). Entretanto, a quantidade de FIS com tanino adicionada nas formulações 1% BRS 305 e 2% BRS 305 não foram suficientes

## CAPÍTULO III

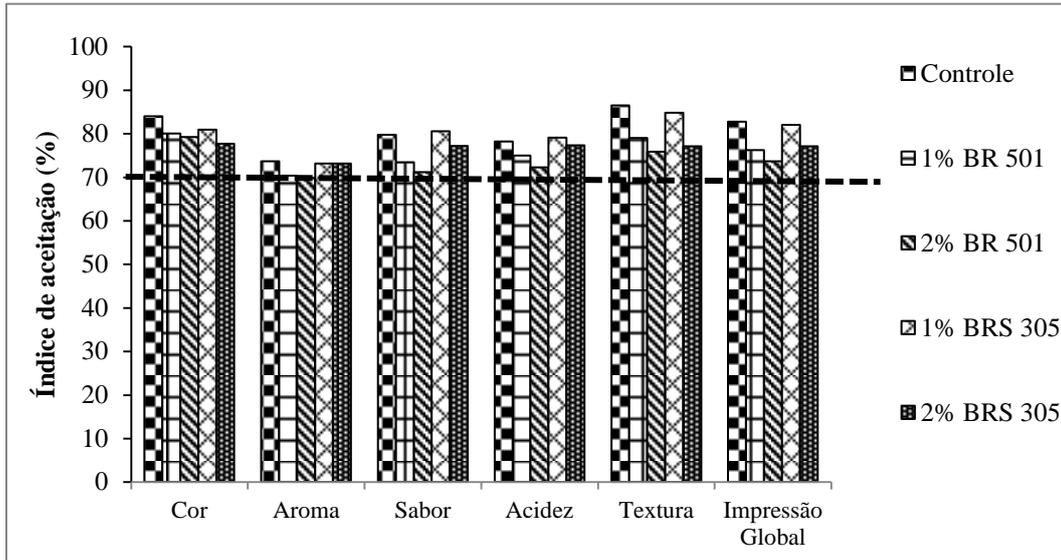
para provocar alterações negativas nos atributos sensoriais relatados, não diferindo ( $p > 0,05$ ) da formulação controle.

Além de sabor e aroma, uma boa aparência e consistência são características relevantes em leites fermentados (UJIROGHENE *et al.*, 2019). No caso da formulação 2% BRS 305, houve menor aceitação na cor em comparação com a formulação controle, entretanto não diferiu entre as demais formulações ( $p > 0,05$ ; tabela 12). Portanto, a adição de FIS de sorgo BRS 305 provocou uma diferença significativa quando adicionada em uma maior concentração (2%), conforme detectado na análise instrumental de cores (item 3.4.2), que impactou na aceitação deste parâmetro pelos avaliadores, entretanto, a aceitação foi semelhante as formulações adicionadas de FIS BR 501.

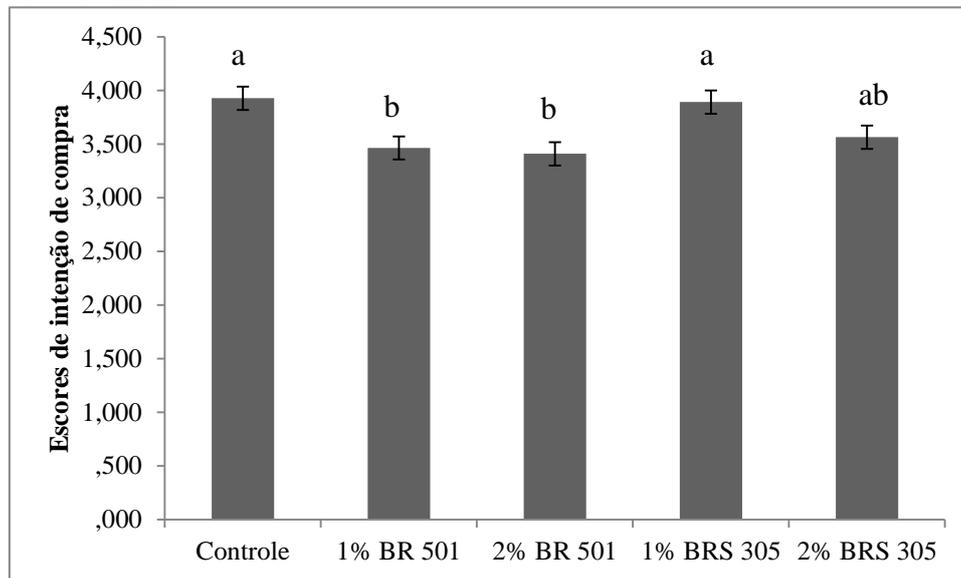
Para a impressão global as formulações 1% BR 501 e 2% BR 501 diferiram estatisticamente em comparação com a formulação controle. De acordo com os comentários relatados por alguns avaliadores na ficha de avaliação sensorial, os leites fermentados com a presença de FIS BR 305 se assemelham a produtos integrais, atribuindo relação com alimentos mais saudáveis, o que pode ter influenciado em uma boa aceitação para a impressão global.

As formulações 2% BR 501 e 2% BRS 305 exibiram menores escores de aceitação para o parâmetro textura diferindo estatisticamente das formulações controle e 1% BRS 305, ou seja, a adição de FIS de ambos os genótipos na concentração de 2% foram menos aceitas pelos consumidores, o que pode estar relacionado a textura mais arenosa. A formulação 1% BR 501 teve uma menor aceitação em comparação com o controle ( $p \leq 0,05$ ), diferente da formulação 1% BRS 305 que contém a mesma concentração de FIS, mas de genótipo diferente, e não diferiu do controle, portanto acredita-se que a maior granulometria apresentada pela FIS BR 501 pode ter afetado na aceitação sensorial deste parâmetro.

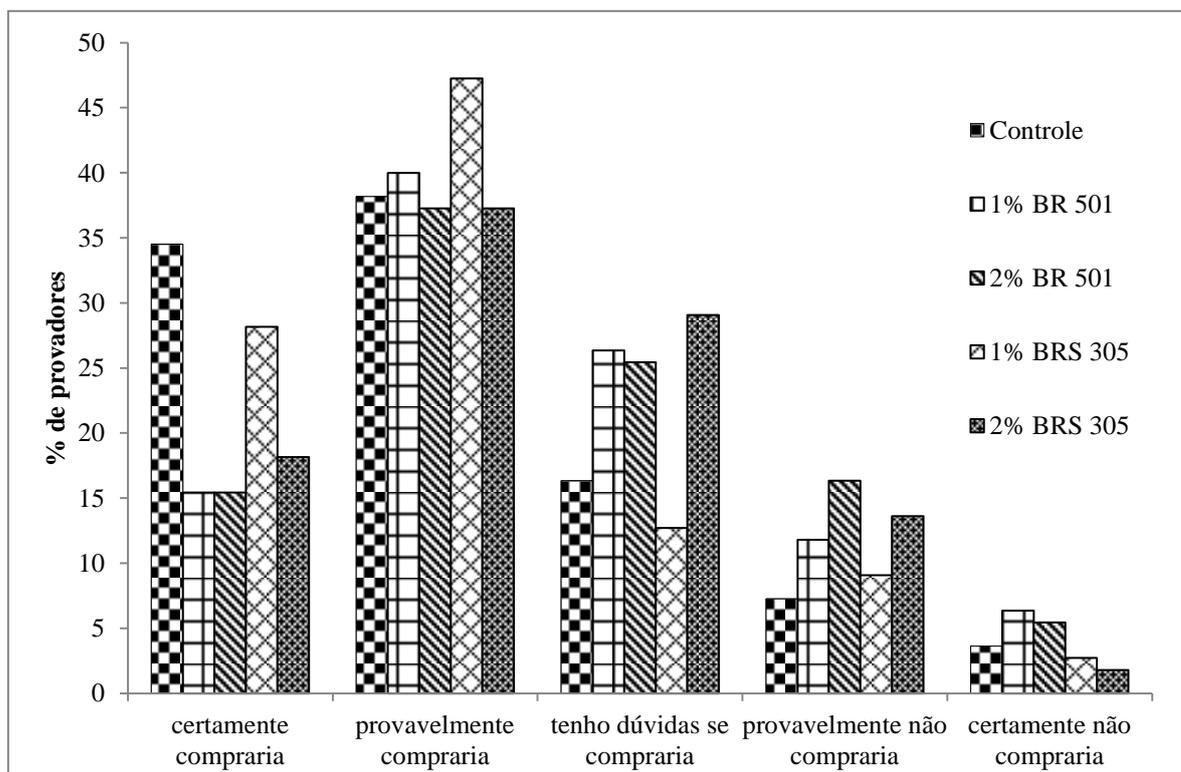
Ardabilchi *et al.* (2020) e Miocinovic *et al.* (2018) também verificaram em amostras de iogurte a diminuição da aceitabilidade no atributo textura com o aumento da concentração de pó de linhaça e fibra alimentar insolúvel da triticale (cereal híbrido obtido a partir do cruzamento entre o trigo e o centeio) adicionadas, respectivamente. Ambos os autores justificam a diminuição da aceitação devido a granulação produzida pelas partículas das fibras adicionadas dado uma sensação arenosa na boca. As figuras 5, 6 e 7 apresentam o índice de aceitação e a intenção de compra dos leites fermentado, respectivamente.

**Figura 5- Índice de aceitação (%) das formulações de leites fermentados**

Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 6- Escores da intenção de compra das formulações de leites fermentados**

Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 7- Intenção de compra das formulações de leites fermentados**

Fonte: Dados da pesquisa.

Todos os leites fermentados foram aceitos pelos avaliadores em termos de suas propriedades sensoriais, devido ao índice de aceitação superior a 70%, variando de 70,30% a 86,46% (GULARTE, 2009). As formulações controle e 1% BRS 305 se destacaram com os maiores índices de aceitação com valores entre 79,70% a 86,46% e 73,13% a 84,75%, respectivamente.

De acordo com a figura 7, cerca de 75,45% dos avaliadores comprariam o leite fermentado com FIS BRS 305 na concentração de 1%, notas 4 e 5, situando-se entre os escores “certamente compraria” e “provavelmente compraria”, e apenas 11,82% relataram que não comprariam (notas 1 e 2). Portanto, existe uma intenção positiva de compra para este produto, sendo semelhante ao produto controle no qual 72,73% dos avaliadores comprariam o produto, ambas as formulações não diferiram entre si (Figura 6).

Por outro lado, para o produto formulado com FIS sem tanino (1% BR 501 e 2% BR 501) e para o leite fermentado com FIS com tanino na concentração maior (2% BRS 305), em torno de 54,5% comprariam e 18,5% não comprariam. Os resultados obtidos são semelhantes ao estudo de Queiroz *et al.* (2018), que desenvolveram duas bebidas em pó com a presença de farinha integral de sorgo com e sem tanino que foram misturadas com leite desnatado e submetidas ao teste de aceitação. Os autores observaram índice de aceitação

### CAPÍTULO III

superior a 70% para ambos os produtos em todos os atributos sensoriais e a formulação contendo farinha integral de sorgo com tanino apresentou maior intenção de compra pelos avaliadores.

Enquanto Oliveira *et al.* (2020) desenvolveram iogurtes gregos adicionados de farinhas integrais de sorgo dos genótipos BRS 305 e BR 501 e relataram boa aceitação sensorial para as formulações com 2% de farinha das duas cultivares, sem alteração significativa na maioria das características sensoriais, diferente da amostra adicionada de 4% de FIS BRS 305, que obteve menor aceitação pelos avaliadores.

Os autores afirmam que a adição de sorgo a iogurtes permite a obtenção de produtos alimentícios com mais fibras, assim como compostos bioativos, vitaminas e minerais, podendo apresentar como apelo funcional, melhoria do trânsito e da saúde intestinal e também auxiliar na prevenção de doenças cardiovasculares, câncer, obesidade, pressão alta, diabetes mellitus, esteatose hepática, entre outros (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

## 4. CONCLUSÃO

O desenvolvimento de novos produtos funcionais com benefícios à saúde tem obtido cada vez mais demanda pelo mercado consumidor. Este trabalho representa a primeira abordagem científica sobre a influência da incorporação de farinha integral de sorgo irradiada na composição centesimal, propriedades antioxidantes e sensoriais, bem como na viabilidade de *L. acidophilus* La-5 em leites fermentados. A adição de farinha integral de sorgo dos genótipos BR 501 e BRS 305 aos produtos pode contribuir na melhoria da funcionalidade de leites fermentados, por meio do aumento da concentração de compostos bioativos e atividade antioxidante, com destaque para as formulações contendo farinhas de sorgo com tanino (BRS 305) na concentração de 1% e 2%, que além da maior concentração de compostos bioativos, tiveram aceitação sensorial semelhante ao leite fermentado convencional (controle), o que abre perspectivas para a inserção de sorgo na alimentação humana.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A irradiação gama em baixas dosagens é um ótimo método de conservação, garantindo alimentos seguros para consumo, sem provocar reduções na qualidade nutricional e nas propriedades antioxidantes e tecnológicas, sendo ideal no tratamento de farinhas integrais de sorgo.

As FIS irradiadas com dosagens de 5 kGy são boas opções a serem adicionadas no desenvolvimento de produtos lácteos, devido a elevada qualidade que possuem, sendo alimentos seguros para consumo, ricos em nutrientes, incluindo compostos bioativos, refletindo na obtenção de leites fermentados de acordo com o padrão de identidade e qualidade estabelecido pela legislação, nutritivos, com propriedades antioxidantes, potencial probiótico, além de agradáveis sensorialmente.

A FIS do genótipo BRS 305 por possuir taninos, maior quantidade de compostos fenólicos e antocianinas, assim como maior concentração de amido resistente, influência na obtenção de leites fermentados com elevado apelo funcional, ao estarem presentes na concentração de 1% e de 2%, através da manutenção da viabilidade de *L. acidophilus* La-5 nas concentrações de  $10^8$  UFC/g ao longo da vida de prateleira, elevada atividade antioxidante e boa aceitação sensorial se assemelhando a um produto tradicional (controle), garantindo a obtenção de produtos alimentícios como boas opções para atender a demanda de mercado voltada para o consumo de alimentos saudáveis e com propriedades funcionais.

## 6. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, recomendasse os leites fermentados adicionados de 1% e 2% de farinha integral de sorgo do genótipo BRS 305 como boas opções para serem adicionados no mercado, por terem apresentado potencial funcional e boa aceitação pelos avaliadores, entretanto são necessários mais estudos referentes ao processo fermentativo, com o intuito de reduzir o tempo de fermentação, além de estudos *in vivo* referentes as propriedades funcionais dos leites fermentados produzidos.

Desenvolvimento de leites fermentados com potencial probiótico com maior concentração de sorgo, acima de 2%, e avaliação da viabilidade de *L. acidophilus* assim como de outras culturas probióticas que também possam ser adicionadas.

## CAPÍTULO III

Desenvolvimento de teste *in vitro* de digestibilidade dos nutrientes e dos compostos bioativos presentes nas farinhas de sorgo com intuito de verificar se os mesmos são absorvidos pelo organismo, garantido as alegações de potencial nutricional e funcional.

Determinação do perfil químico das farinhas de sorgo e dos leites fermentados desenvolvidos com adição das mesmas, através de cromatografia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AACC International. **Approved methods of the american association of cereal chemists (method 32-40) for resistant starch** .11th edition. St. Paul, MN, USA, 2001.
- ALBADRAN, H. A. et al. Stability of probiotic *Lactobacillus plantarum* in dry microcapsules under accelerated storage conditions. **Food Research International**, v. 74, p. 208–216, 2015.
- ALENISAN, M. A. et al. Antioxidant properties of dairy products fortified with natural additives: A review. **Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences**, v. 24, p. 101–106, 2017.
- ANTUNES, R. C. et al. Composição bromatológica e parâmetros físicos de grãos de sorgo com diferentes texturas do endosperma. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 5, p. 1351–1354, 2007.
- ANUNCIACÃO, P. C. et al. Comparing sorghum and wheat whole grain breakfast cereals: Sensorial acceptance and bioactive compound content. **Food Chemistry**, v. 221, p. 984–989, 2017.
- ANYANGO, J. O.; TAYLOR, J. R. N. Sorghum Flour and Flour Products: Production, Nutritional Quality, and Fortification. In: **Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention**. Academic Press, 2019. p. 137-151.
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, Horwitz, W. **Official methods of analysis**.17th edition. Gaithersburg, MD, 2000.
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the AOAC International**. 19th edition. Washington: AOAC, 2012.
- ARDABILCHI, M. M. et al. Fortification of yogurt with flaxseed powder and evaluation of its fatty acid profile, physicochemical, antioxidant, and sensory properties. **Powder Technology**, v. 359, p. 76–84, 2020.
- AWIKA, J. M. et al. Screening Methods to Measure Antioxidant Activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum Products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 23, p. 6657–6662, 2003.
- AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W.; WANISKA, R. D. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 90, n. 1–2, p. 293–301, 2004.
- AZARI-ANPAR, M. et al. Physicochemical, microbial, antioxidant, and sensory properties of probiotic stirred yoghurt enriched with Aloe vera foliar gel. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 5, p. 1–9, 2017.
- AZCARATE-PERIL, M. A.; TALLON, R.; KLAENHAMMER, T. R. Temporal gene expression and probiotic attributes of *Lactobacillus acidophilus* during growth in milk. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 3, p. 870–886, 2009.

## CAPÍTULO III

- BARROS, F.; AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W. Interaction of Tannins and Other Sorghum Phenolic Compounds with Starch and Effects on in Vitro Starch Digestibility. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 11609–11617, 2012.
- BATISTA, A. L. D. et al. Developing a synbiotic fermented milk using probiotic bacteria and organic green banana flour. **Journal of Functional Foods**, v. 38, p. 242–250, 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução –RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde. **Diário Oficial do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 7 de janeiro de 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Aprova Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 24 de outubro de 2007. Seção 1, p. 5.
- BUSTAMANTE, M. et al. Lactobacillus acidophilus La-05 encapsulated by spray drying: Effect of mucilage and protein from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 2, p. 1162–1168, 2015.
- CARDOSO, L. de M. et al. Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum. **Food Chemistry**, v. 152, p. 210–217, 2014.
- CARDOSO, L. de M. et al. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 2, p. 372–390, 2017.
- CASAROTTI, S. N.; CARNEIRO, B. M.; PENNA, A. L. B. Evaluation of the effect of supplementing fermented milk with quinoa flour on probiotic activity. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 10, p. 6027–6035, 2014.
- CHEN, C. et al. Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. sup1, p. S316–S330, 2017.
- CORREIA, I. et al. High pressure treatments largely avoid/revert decrease of cooked sorghum protein digestibility when applied before/after cooking. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 1245–1249, 2011.
- CRISPÍN-ISIDRO, G. et al. Effect of inulin and agave fructans addition on the rheological, microstructural and sensory properties of reduced-fat stirred yogurt. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 438–444, 2015.
- CURTI, C. A. et al. Chemical characterization, texture and consumer acceptability of yogurts supplemented with quinoa flour. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 4, p. 627–631, 2017.
- DE MORAIS, M. B.; JACOB, C. M. A. The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n. 2, p. 189–197, 2006.

## CAPÍTULO III

- DE PRISCO, A.; MAURIELLO, G. Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool. **Trends in Food Science and Technology**, v. 48, p. 27–39, 2016.
- DERRIEN, M.; VLIEG, J. E. T. V. H. Fate, activity, and impact of ingested bacteria within the human gut microbiota. **Trends in Microbiology**, v. 23, n. 6, p. 354–366, 2015.
- DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4th edition. American Public Health Association-APHA, 2001.
- DUNN, K. L. et al. Interaction of sorghum tannins with wheat proteins and effect on in vitro starch and protein digestibility in a baked product matrix. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 4, p. 1234–1241, 2015.
- DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 3. ed. Curitiba: Champagnat, 2011.
- DYKES, L. et al. Phenolic compounds and antioxidant activity of sorghum grains of varying genotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 17, p. 6813–6818, 2005.
- ETCHEPARE, M. de A. et al. Effect of resistant starch (Hi-maize) on the survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. **Journal of Functional Foods**, v. 21, p. 321–329, 2016.
- FANG, T. et al. Effects of polymerized whey protein prepared directly from cheese whey as fat replacer on physicochemical, texture, microstructure and sensory properties of low-fat set yogurt. **LWT- Food Science and Technology**, v. 115, p. 1–8, 2019.
- FAO/ WHO. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. Report of a Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization Working Group of Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotic in food, Ontario, Canadá, 2002.
- FAZILAH, N. F. et al. Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt. **Journal of Functional Foods**, v. 48, p. 387–399, 2018.
- FERREIRA, C. L. L. F. **Produtos lácticos fermentados (Aspectos Bioquímicos e Tecnológicos)**. 3. ed. Caderno Didático 43. Viçosa: Editora UFV, 2005.
- FIDELIS, M. et al. From byproduct to a functional ingredient: Camu-camu (*Myrciaria dubia*) seed extract as an antioxidant agent in a yogurt model. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 2, p. 1–10, 2020.
- GIRARD, A. L.; AWIKA, J. M. Sorghum polyphenols and other bioactive components as functional and health promoting food ingredients. **Journal of Cereal Science**, v. 84, p. 112–124, 2018.
- GULARTE, M.A. Manual de análise sensorial de alimentos, **Pelotas (RS): Editora e Gráfica Universitária PREC–UFPel**, 2009.
- HAMAD, S. A. A. et al. Physicochemical attributes and starch functional properties of high

## CAPÍTULO III

$\beta$  -glucan sorghum inbred line. **World Journal of Science, Technology and Sustainable Development**, v. 15, n. 4, p. 313–324, 2018.

- HASANI, S. et al. Physicochemical and sensory attributes assessment of functional low-fat yogurt produced by incorporation of barley bran and *Lactobacillus acidophilus*. **Food science e Nutrition**, v. 5, p. 875–880, 2017.

- HASANI, S.; KHODADADI, I.; HESHMATI, A. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in rice bran-enriched stirred yoghurt and the physicochemical and sensory characteristics of product during refrigerated storage. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 11, p. 2485–2492, 2016.

- HOMAYOUNI, A. et al. Resistant starch in food industry: A changing outlook for consumer and producer. **Starch - Stärke**, v. 66, p. 102–114, 2014.

- ILLUPAPALAYAM, V. V.; SMITH, S. C.; GAMLATH, S. Consumer acceptability and antioxidant potential of probiotic-yogurt with spices. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 255–262, 2014.

- JANUÁRIO, J. G. B. et al. Probiotic yoghurt flavored with organic beet with carrot, cassava, sweet potato or corn juice: Physicochemical and texture evaluation, probiotic viability and acceptance. **International Food Research Journal**, v. 24, n. 1, p. 359–366, 2017.

- KALUZA, W. Z. et al. Separation of phenolics of *Sorghum bicolor* (L.) Moench grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, p. 1191–1196, 1980.

- KIESERLING, K. et al. Impact of pectin-rich orange fibre on gel characteristics and sensory properties in lactic acid fermented yoghurt. **Food Hydrocolloids**, v. 94, p. 152–163, 2019.

- KHOO H. E. et al. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. **Food Nutrition Research**. v. 61, p. 1–21, 2017.

- KUMAR, A.; KUMAR, D. Development of antioxidant rich fruit supplemented probiotic yogurts using free and microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* culture. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 667–675, 2016.

- KUMAR, B. V.; VIJAYENDRA, S. V. N.; REDDY, O. V. S. Trends in dairy and non-dairy probiotic products – A review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 6112–6124, 2015.

- LAL DAR, Y.; LIGHT, M. J.(Ed.). **Food texture design and optimization**. John Wiley & Sons, 2014.

- LESSCHAEVE, I.; NOBLE, A. C. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. **The American journal of clinical nutrition**, v. 81, n. 1 , p. 330S–335S, 2005.

- LOPES, R. de C. S. O. et al. Evaluation of the health benefits of consumption of extruded tannin sorghum with unfermented probiotic milk in individuals with chronic kidney disease.

## CAPÍTULO III

**Food Research International**, v. 107, p. 629–638, 2018.

- MARSTON, K.; KHOURYIEH, H.; ARAMOUNI, F. **LWT - Food Science and Technology** Effect of heat treatment of sorghum fl our on the functional properties of gluten-free bread and cake. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 637–644, 2016.

- MARTINO, H. S. D. et al. Chemical characterization and size distribution of sorghum genotypes for human consumption Caracterização química e distribuição granulométrica de genótipos de sorgo para alimentação humana. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 2, p. 337–344, 2012.

- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 3 ed. Boca Raton: CRC, 1999.

- MIOCINOVIC, J. et al. Application of new insoluble dietary fibres from triticale as supplement in yoghurt – effects on physico-chemical, rheological and quality properties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 4, p. 1291–1299, 2018.

- MORAES, É. A. et al. Sorghum flour fractions: Correlations among polysaccharides, phenolic compounds, antioxidant activity and glycemic index. **Food Chemistry**, v. 180, p. 116–123, 2015.

- MOUSAVI, M. et al. Optimization of the viability of *Lactobacillus acidophilus* and physico-chemical, textural and sensorial characteristics of flaxseed-enriched stirred probiotic yogurt by using response surface methodology. **LWT- Food Science and Technology**, v. 102, p. 80–88, 2019.

- OLIVEIRA, R. P. de S, et al. Growth and acidification performance of probiotics in pure culture and co-culture with *Streptococcus thermophilus*: The effect of inulin. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 5, p. 1015–1021, 2009.

- OLIVEIRA, D. et al. Sensory, microbiological and physicochemical screening of probiotic cultures for the development of non-fermented probiotic milk. **LWT - Food Science and Technology**, v. 79, p. 234–241, 2017.

- OLIVEIRA, F. C. E. et al. Greek yogurt with added sorghum flours: antioxidant potential and sensory acceptance. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 47, n. 2, p. 272–280, 2020.

- OZCAN, T. et al. Viability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-12 in Rice Pudding. **Mljekarstvo**, v. 60, n. 2, p. 135–144, 2010.

- OZCAN, T. et al. Antioxidant properties of probiotic fermented milk supplemented with chestnut flour (*Castanea sativa* Mill). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 5, p. e13156, 2017.

- PELEGRINE, D. H. G.; AGUIAR, L. F. de S.; IODELIS, A. Iogurte de goiaba enriquecido com cereais : correlação da textura com os parâmetros sensoriais. **Revista de Ciência e Tecnologia**, v. 18, n. 36, p. 25–40, 2015.

- PERERA, A.; MEDA, V.; TYLER, R. T. Resistant starch : A review of analytical protocols

## CAPÍTULO III

for determining resistant starch and of factors affecting the resistant starch content of foods. **Food Research International**, v. 43, n. 8, p. 1959–1974, 2010.

- PEREIRA, B. S. **Seleção de meio de cultura para determinação da viabilidade de bifidobactérias durante a vida de prateleira de bebida láctea fermentada com soro de leite nanofiltrado**. 2012. 108 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos)- Faculdade de Farmácia, Universidade Estadual de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2012.

- PIMENTEL, T. C. et al. Probiotic viability, physicochemical characteristics and acceptability during refrigerated storage of clarified apple juice supplemented with *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* and oligofructose in different package type. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 415–422, 2015.

- PONTES, J. P. **Propriedades antioxidantes e aceitação sensorial de iogurte concentrado tipo grego adicionado de farinhas integrais de sorgo de cultivares com e sem tanino**. 2017. 26 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado Interdisciplinar em Biosistemas), Universidade Federal de São João del Rei, Sete Lagoas, 2017.

- PRICE, M. L.; SCOYOC, S. Van; BUTLER, L. G. A Critical Evaluation of the Vanillin Reaction as an Assay for Tannin in Sorghum Grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 26, n. 5, p. 1214–1218, 1978.

- PRZYBYLSKA-BALCEREK, A.; FRANKOWSKI, J.; STUPER-SZABLEWSKA, K. Bioactive compounds in sorghum. **European Food Research and Technology**, v. 245, n. 5, p. 1075–1080, 2019.

- QUEIROZ, V. A. V. et al. Potencial do sorgo para uso na alimentação humana. **Informe Agropecuário**, v. 35, n. 278, p. 7–12, 2014.

- QUEIROZ, V. A. V. et al. A low calorie and nutritive sorghum powdered drink mix: Influence of tannin on the sensorial and functional properties. **Journal of Cereal Science**, v. 79, p. 43–49, 2018.

- RAIGOND, P.; EZEKIEL, R.; RAIGOND, B. Resistant starch in food: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 10, p. 1968–1978, 2014.

- RIBEIRO, A. de S. et al. Development of symbiotic yoghurt and biological evaluation (New Zealand White Rabbits) of its functional properties. **Food Science and Technology**, v. 39, p. 418–425, 2019.

- ROSSI, M. et al. Synbiotics easing renal failure by improving gut microbiology (SYNERGY): A randomized trial. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 11, n. 2, p. 223–231, 2016.

- SAJILATA, M. G.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Starch — A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, n. 1, p. 1–17, 2006.

- SÁNCHEZ, B. et al. Probiotic fermented milks: Present and future. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, n. 4, p. 472–483, 2009.

## CAPÍTULO III

- SÁNCHEZ, B. et al. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 61, n. 1, p. 1–15, 2017.
- SANTOS, M. V. dos; CRUZ, R. G. da; ALMEIDA, M. E. F. de. Desenvolvimento e Avaliação Sensorial de Iogurte com Sementes de Chia. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n. 1, p. 1–10, 2017.
- SENDRA, E. et al. Incorporation of citrus fibers in fermented milk containing probiotic bacteria. **Food Microbiology**, v. 25, n. 1, p. 13–21, 2008.
- SHEN, R. L. et al. Sorghum resistant starch reduces adiposity in high-fat diet-induced overweight and obese rats via mechanisms involving adipokines and intestinal flora. **Food and Agricultural Immunology**, v. 26, n. 1, p. 120–130, 2015.
- SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010.
- SOARES, R. R. A. et al. Starch digestibility and sensory acceptance of gluten free foods prepared with tannin sorghum flour, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.54, p. e01205, 2019.
- SOUILAH, R. et al. In vitro starch digestion in sorghum flour from Algerian cultivars. **Ciência e Nutrição Alimentar**, v. 2, n. 3, p. 251–259, 2014.
- SPERANZA, B. et al. The impact of Gluten Friendly flour on the functionality of an active drink: Viability of *Lactobacillus acidophilus* in a fermented milk. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1–12, 2018.
- TEIXEIRA, N. D. C. et al. Resistant starch content among several sorghum (*Sorghum bicolor*) genotypes and the effect of heat treatment on resistant starch retention in two genotypes. **Food Chemistry**, v. 197, p. 291–296, 2016.
- TUOHY, K. M. et al. Use of probiotics to combat diarrhoea. **Drug Discovery Today**, v. 8, n. 15, p. 692–700, 2003.
- UDAGAWA, H. et al. Serum Cholesterol-Decreasing Effect of Heat-Moisture-Treated High-Amylose Cornstarch in Cholesterol-Loaded Rats. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 72, n. 3, p. 880–884, 2008.
- UJIROGHENE, O. J. et al. Antioxidant capacity of germinated quinoa-based yoghurt and concomitant effect of sprouting on its functional properties. **LWT- Food Science and Technology**, v. 116, p. 1–10, 2019.
- VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. **International Dairy Journal**, v. 9, n. 8, p. 497–505, 1999.
- VOGADO, C. de O. et al. Enrichment of probiotic fermented milk with green banana pulp: Characterization microbiological, physicochemical and sensory. **Nutrients**, v. 10, n. 4, p. 427, 2018.

## CAPÍTULO III

- WANG, X.; KRISTO, E.; LAPOINTE, G. The effect of apple pomace on the texture, rheology and microstructure of set type yogurt. **Food Hydrocolloids**, v. 91, p. 83–91, 2019.
- WANG, X.; KRISTO, E.; LAPOINTE, G. Adding apple pomace as a functional ingredient in stirred-type yogurt and yogurt drinks. **Food Hydrocolloids**, v. 100, p. 105453, 2020.
- WANG, Q.; WANG, P.; XIAO, Z. Resistant starch prevents tumorigenesis of dimethylhydrazine-induced colon tumors via regulation of an ER stress-mediated mitochondrial apoptosis pathway. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 41, p. 1887–1898, 2018.
- WU, Y. et al. Presence of tannins in sorghum grains is conditioned by different natural alleles of Tannin1. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 26, p. 10281–10286, 2012.
- YUAN, H. N. et al. Secondary structures and their effects on antioxidant capacity of antioxidant peptides in yogurt. **International Journal of Food Properties**, v. 21, n. 1, p. 2167–2180, 2018.
- ZARE, F. et al. Microbial, physical and sensory properties of yogurt supplemented with lentil flour. **Food Research International**, v. 44, n. 8, p. 2482–2488, 2011.
- ZION MARKET RESEARCH. **Global Probiotic Market Is Set For Rapid Growth and is Expected To Reach Value Around USD 65.87 Billion by 2024**. 2018. Disponível em: <<https://www.zionmarketresearch.com/news/probiotics-market>>. Acesso em: 01 de outubro de 2018.