UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos

NAYLA PÁDUA DEL BIANCO GONTIJO SOUKI

**Avaliação dos aspectos tecnológicos de iogurtes enriquecidos com inulina e
emulsão encapsulando óleo de açaí**

PIRASSUNUNGA

2022

NAYLA PÁDUA DEL BIANCO GONTIJO SOUKI

Avaliação dos aspectos tecnológicos de iogurtes enriquecidos com inulina e emulsão encapsulando óleo de açaí

“Versão Corrigida”

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Título de Doutora em Ciências.

Área de concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

Orientadora: Prof^ª Dr^a Samantha Cristina de Pinho

PIRASSUNUNGA

2022

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P721a Pádua Del Bianco Gontijo Souki, Nayla
Avaliação dos aspectos tecnológicos de iogurtes
enriquecidos com inulina e emulsão encapsulando óleo
de açaí / Nayla Pádua Del Bianco Gontijo Souki ;
orientadora Samantha Cristina Pinho. --
Pirassununga, 2022.
162 f.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em
Engenharia de Alimentos) -- Faculdade de Zootecnia
e Engenharia de Alimentos, Universidade de São
Paulo.

1. Microencapsulação. 2. Atividade antioxidante.
3. Emulsão. 4. Proantocianidinas. 5. Inulina. I.
Pinho, Samantha Cristina, orient. II. Título.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, saúde e todas as excelentes (e as ruins também) oportunidades que ele me permitiu vivenciar até hoje.

Aos meus pais, os meus maiores incentivadores. Não existem palavras suficientes para agradecer-los por tudo.

À Prof^a Dr^a Samantha C. Pinho, pela orientação e amizade ao longo do desenvolvimento deste trabalho e de toda a minha pós-graduação.

Ao meu companheiro de vida, Arthur, pela paciência, amor, compreensão, companheirismo. Por caminhar ao meu lado e acompanhar todo o processo junto a mim.

À tia Nágila, tia muito querida que incentiva e defende a educação, acompanha cada passo meu e vibra com cada conquista, sempre torcendo por mim.

Aos colegas do Laboratório de Encapsulação e Alimentos Funcionais, Letícia, Marluci G., Matheus, Thaís, Lorena, Priscilla, Priscila F., Fernanda, pela amizade, companhia, parceria, compartilhamento de conhecimentos e ajudas.

Aos técnicos do departamento de Engenharia de Alimentos por todo o auxílio ao longo deste trabalho, em especial ao Marcelo Thomazini

Às professoras Marta, Cynthia e Izabel por disponibilizarem seus laboratórios para a realização de análises.

Às amigas de república Isabela, Letícia, Raquel, Carol pela amizade, perrengues, companhia, excelente convivência e amizade.

Aos colegas de trabalho, em especial ao Tarley, à Amanda e ao Paulo Rubbo pelas trocas de conhecimentos, apoio, ensinamentos, amizade e convivência diária.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, por toda a formação ao longo da minha carreira e pelos excelentes anos aqui vividos (afinal, são 13 anos de história!).

À Agrocere pelos auxílios financeiros e por possibilitar e incentivar a minha formação e capacitação.

A todos que colaboraram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

RESUMO

SOUKI, N. P. D. B. S. **Avaliação dos aspectos tecnológicos de iogurtes enriquecidos com inulina e emulsão encapsulando óleo de açaí.** 2022. 162f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2022.

O óleo de açaí, produzido a partir da extração a frio da polpa do açaí maduro e originário da região Amazônica, é um produto rico em compostos antioxidantes devido à alta concentração de compostos fenólicos no fruto. Por este motivo, possui como uma de suas propriedades funcionais a atividade antioxidante. Uma forma de incorporar este óleo em produtos a base de água pode ser através de sua emulsificação, que foi objeto de interesse no presente estudo. Na produção de emulsões de óleo de açaí na presente Tese utilizou-se dextrina modificada (Capsul®) como tensoativo, maltodextrina como estabilizante e goma xantana como espessante. As emulsões foram produzidas com 4%, 6%, 8% e 10% de óleo, variando a concentração de polissacarídeos nas razões (óleo:polissacarídeos) 1:0,5; 1:0,75 e 1:1, totalizando 12 formulações. De forma geral, as emulsões produzidas foram estáveis ao longo de 29 dias de armazenamento. Dentre as 12 formulações produzidas, a formulação contendo 8% de óleo, 4% de dextrina e 4% de maltodextrina foi a mais estável, e utilizada em caracterizações posteriores. O óleo bem como a emulsão, foram caracterizados em relação à sua atividade antioxidante e foi observado que esta propriedade foi bem preservada no sistema emulsionado ao longo dos 29 dias de armazenamento. Quando submetida a diferentes condições de processamento, simulando processos comuns na indústria de alimentos, a emulsão foi estável quando submetida a pH 3,0; 4,0 e 5,0; inclusão de sacarose nas concentrações de 1; 1,5; 2 e 2,5 % e temperatura de 72 °C/15 s. Com o objetivo de enriquecer iogurtes integrais aumentando a atividade antioxidante, e com o intuito de melhorar a saúde intestinal do consumidor pela adição de um prebiótico, iogurte integral foi enriquecido com emulsão de óleo de açaí e inulina. Os iogurtes foram avaliados pela sua substituição em 8%, 10% e 12% de emulsão e/ou 5 % de inulina, totalizando 12 formulações. A caracterização foi realizada por meio de análises físico-químicas como cor, pH, acidez titulável, sinérese, bem como foi avaliada a capacidade antioxidante, as características reológicas e microbiológicas dos iogurtes. Os resultados indicaram uma pequena variação na cor global dos iogurtes, manutenção nos valores de pH. Foi observada redução na acidez titulável, aumento da sinérese dos iogurtes, redução da tensão de cisalhamento e módulos G' e G'' e redução das bactérias ácido-láticas com a inclusão de emulsão e de inulina. A inclusão da emulsão não aumentou a atividade antioxidante dos

iogurtes, tendo se mantido estável. De uma forma geral, os iogurtes enriquecidos apresentaram estabilidade ao longo do tempo para os parâmetros estudados.

Palavras-chave: Microencapsulação. Atividade antioxidante. Emulsão. Proantocianidinas. Inulina.

ABSTRAT

SOUKI, N.P.D.B.S. **Evaluation of technological aspects of yogurts enriched with inulin and emulsion encapsulating açai oil.** 2022. 162p. Thesis (Doctorate) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2022.

Açai oil, produced from cold extraction of ripe açai pulp and originating in the Amazon region, is a product rich in antioxidant compounds due to the high concentration of phenolic compounds in the fruit. For this reason, it has antioxidant activity as one of its functional properties. One way to incorporate this oil into water-based products is through its emulsification in the form of an oil-in-water emulsion. In the production of açai oil emulsions in this work, modified dextrin was used as a surfactant, maltodextrin as a stabilizer and xanthan gum as a thickener. Emulsions were produced with 4, 6, 8 and 10% oil varying the concentration of polysaccharides in the ratios (oil:polysaccharides) 1:0.5; 1:0.75 and 1:1, totaling 12 formulations. In general, the emulsions produced were stable over 29 days of storage. Among the 12 formulations produced, the formulation containing 8% oil, 4% dextrin and 4% maltodextrin was the most stable, and used in later characterizations. The oil, as well as the emulsion, were characterized in relation to their antioxidant activities and it was observed that this property was well preserved in the emulsified system throughout the 29 days of storage. When subjected to different processing conditions, simulating common processes in the food industry, the emulsion was stable when subjected to pH 3.0; 4.0 and 5.0; inclusion of sucrose at concentrations of 1; 1.5; 2 and 2.5 % and temperature of 72 °C/15 s. Aiming to enrich integral yogurts by increasing antioxidant activity and with the aim of improving the intestinal health of the consumer by adding a prebiotic, integral yogurt was enriched with açai oil emulsion and inulin. Yogurts were evaluated by replacing 8, 10 and 12% by emulsion and/or 5% inulin, totaling 12 formulations. Characterization was carried out through physical chemical analyzes such as color, pH, titratable acidity, syneresis, as well as the antioxidant capacity, rheological and microbiological characteristics of yogurts. The results indicated a small variation in the global color of the yogurts and maintenance in the pH values with time. A reduction in titratable acidity, an increase in yogurt syneresis, a reduction in shear stress and G' and G'' modules and a reduction in lactic acid bacteria with the inclusion of emulsion and inulin were observed. The inclusion of the emulsion did not improve the antioxidant activity of yogurts, having remained stable. In general, fortified yogurts showed stability over time for all parameters studied.

Keywords: Microencapsulation. Antioxidant activity. Emulsion. Proanthocyanidins. Inulin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cacho de açaí (<i>E. oleracea</i>) e fruto colhido	21
Figura 2 - Estrutura química básica das proantocianidinas (Pas).....	23
Figura 3 - Representação esquemática das classificações dos antioxidantes em naturais ou sintéticos	26
Figura 4 - Reação entre DPPH• e um antioxidante	27
Figura 5 - Formação do radical estável ABTS• a partir da reação de ABTS com persulfato de potássio	28
Figura 6 - Reação entre TPTZ e um antioxidante	29
Figura 7 - Representação esquemática dos tipos de emulsões simples e emulsões múltiplas, das quais: (a) O/A; (b) A/O; (c) A/O/A; e, (d) O/A/O.....	31
Figura 8 - Mecanismos de instabilidade físico-química que podem vir a ocorrer em emulsões	32
Figura 9 - Estrutura química (monômero) da maltodextrina.....	35
Figura 10 - Reação entre amido e anidrido octenilsuccínico (OSA) em meio básico tendo como produto o amido modificado.....	38
Figura 11 - Estrutura química do monômero da inulina	39
Figura 12 - Mercado de consumo global de iogurte, por regiões, no ano de 2019	44
Figura 13 - Panorama nacional de produção de iogurte inspecionado pelo MAPA através do SIF	45
Figura 14 - Iogurte integral cremoso, marca Batavo, adoçado com mel, utilizado como base para formulação dos iogurtes enriquecidos com inulina e óleo de açaí encapsulado.....	64
Figura 15 - Óleo de açaí fornecido pela empresa Gran Oils	73
Figura 16 - Aspecto visual das emulsões de óleo de açaí produzidas com dextrina e maltodextrina das amostras (a) 1, (b) 2, (c) 3, (d) 4 (e) 5, (f) 6, (g) 7, (h) 8, (i) 9, (j) 10, (k) 11 e (l) 12. As setas indicam a separação de fases	80
Figura 17 - Curvas de distribuição de diâmetro das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com misturas de dextrina e maltodextrina, ao longo de 29 de armazenamento. Formulações: (a) 1, (b) 2, (c) 3, (d) 4 (e) 5, (f) 6, (g) 7, (h) 8, (i) 9, (j) 10, (k) 11 e (l) 12.....	84
Figura 18 - Diagrama Cielab contendo a sequência de nuances cores e orientação do ângulo de Hue	92
Figura 19 - Valores de potencial zeta da emulsão 7, composta por 8 % de óleo de açaí, 4% de dextrina e 4% de maltodextrina, ao longo de 29 dias de armazenamento.....	94

Figura 20 - Micrografias da emulsão 7, composta por 8 % de óleo de açaí, 4 % de dextrina e 4 % de maltodextrina, obtidas em microscópio óptico: (a) aumento: 40x, (b) aumento de 400 x e obtidas por microscópio óptico de fluorescência: (c) aumento de 100 x (Corante da fase oleosa: Nile red) e (d) aumento de 100 x. (Corante dos polissacarídeos: FTIC).....	96
Figura 21 - Volume de emulsão de óleo de açaí capaz de reduzir em 50 % o radical DPPH● ao longo do tempo de armazenamento	97
Figura 22 - Volume de emulsão capaz de reduzir em 50 % o radical ABTS● ao longo do tempo de armazenamento	98
Figura 23 - Concentração de proantocianidinas na emulsão de óleo de açaí	99
Figura 24 - Etapas da reação de oxidação de ácidos graxos.....	100
Figura 25 - Variação do índice de peróxidos da emulsão de óleo de açaí ao longo do tempo de armazenagem	101
Figura 26 - Variação do TBARS da emulsão de óleo de açaí ao longo do tempo de armazenamento	103
Figura 27 - Aspectos visuais das emulsões submetidas às diferentes condições de processamento: variação de temperatura (72 °C/15 s); variações de pH (3, 4, 5 e 6); concentrações de sacarose (1; 1,5, 2 e 2,5 % (g/100 g)) e ciclos de congelamento e descongelamento	105
Figura 28 - Curvas de distribuição de diâmetro das emulsões de óleo de açaí desafiadas em relação à temperatura (72°C/15s), ciclos de congelamento e descongelamento, variações de pH (3, 4, 5 e 6) e variações na concentração de sacarose (1,0; 1,5; 2,0 e 2,5), ao longo de 29 dias de armazenamento, pelo método de espalhamento de luz dinâmico	108
Figura 29 - Aspecto visual dos iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí encapsulado e inulina	109
Figura 30 - Curva de fluxo das amostras de iogurte nos seguintes tempos de estocagem: a) Dia 1; b) Dia 15; e, c) Dia 30. Os marcadores cheios representam a curva real da amostra e a linha contínua representa o modelo Herschel-Bulckey (HB).....	130
Figura 31 - Curva de frequência das amostras de iogurte nos seguintes tempos de estocagem: a) Dia 1; b) Dia 15; e, c) Dia 30	135

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Aliquotas de óleo de açaí e volume de etanol utilizados nas análises de DPPH....	56
Tabela 2 - Formulações de emulsões produzidas com Dextrina e maltodextrina como agentes tensoativos (dados em g/100 g de emulsão)	58
Tabela 3 - Formulações de iogurte integral adoçado (controle e enriquecidos) produzidas no presente trabalho de Doutorado	65
Tabela 4 - Composição dos iogurtes a serem produzidos e caracterizados	69
Tabela 5 - Perfil de ácidos graxos do óleo de açaí	71
Tabela 6 - Características físico-químicas do óleo de açaí.....	72
Tabela 7 - Diâmetros médios de gota das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com misturas de dextrina e maltodextrina, ao longo de 29 dias de armazenamento	81
Tabela 8 - Valores de <i>span</i> das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com misturas de dextrina e maltodextrina, ao longo de 29 dias de armazenamento	85
Tabela 9 - Valores do parâmetro colorimétrico L^* das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com dextrina e maltodextrina, ao longo de 29 dias de armazenamento	86
Tabela 10 - Valores do parâmetro colorimétrico a^* das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com dextrina e maltodextrina, ao longo de 29 dias de armazenamento	87
Tabela 11 - Valores do parâmetro colorimétrico b^* das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com dextrina e maltodextrina, ao longo de 29 dias de armazenamento	89
Tabela 12 - Valores de Croma das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com misturas de dextrina e maltodextrina, ao longo de 29 dias de armazenamento	90
Tabela 13 - Valores de Ângulo de Hue das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com misturas de dextrina e maltodextrina, ao longo de 29 dias de armazenamento	91
Tabela 14 - Valores de diferença total de cor (ΔE^*) das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com misturas de dextrina e maltodextrina, após 22 dias de armazenamento	93
Tabela 15 - Diâmetro médio de gota das emulsões de óleo de açaí desafiadas em relação à temperatura (72°C/15 s), variações de pH (3, 4, 5 e 6), variações na concentração de sacarose (1,0; 1,5; 2,0 e 2,5) e dois ciclos de congelamento e descongelamento, ao longo de 29 dias de armazenamento	106
Tabela 16 - Valores do parâmetro L^* dos iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí e/ou inulina ao longo de 30 dias de armazenamento	110
Tabela 17 - Valores de Croma dos iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí e/ou inulina ao longo de 30 dias de armazenamento	112

Tabela 18 - Valores de diferença total de cor (ΔE^*) dos iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí e/ou inulina ao longo de 30 dias de armazenamento	114
Tabela 19 - Valores de pH dos iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí e/ou inulina ao longo de 30 dias de armazenamento	115
Tabela 20 - Valores de acidez titulável (g ácido láctico/100 g iogurte) dos iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí e/ou inulina ao longo de 30 dias de armazenamento	118
Tabela 21 - Sinérese (% , g/100 g) dos iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí e/ou inulina ao longo de 30 dias de armazenamento	121
Tabela 22 - Massa de iogurte (mg) necessária para ocasionar redução de 50% do radical DPPH	124
Tabela 23 - Massa de iogurte em mg capaz de reduzir o radical ABTS em 50%.	127
Tabela 24 - Parâmetros reológicos τ_0 (tensão de cisalhamento inicial), k (índice de consistência) e n (índice de comportamento do fluido) dos iogurtes	132
Tabela 25 - Contagem de bolores e leveduras dos iogurtes.....	138
Tabela 26 - Contagem de bactérias ácido-láticas dos iogurtes	139

LISTA DE SIGLAS

A/O – Emulsão água em óleo

A/O/A – Emulsão água em óleo em água

AAPH - 2,2'-azobis(2- amidinopropano) dihidroclorado

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

AG – ácidos graxos

APHA - American Public Health Association

BHA - 2-tert-Butyl-4-hydroxyanisole and 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole (mixture)

BHT - 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methylphenol

Brij CS20 - álcool cetoestearílico etoxilado - Cetareth 20

C*ab - valor de croma

CCF - concentração crítica de floculação

DE - dextrose equivalente

DMAC - 4-dimetilaminocinamaldeído

DMSO – Dimetil Sulfóxido

DP - grau de polimerização

DPPH - radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila

DRBC - Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol

FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power

FTIC - isotiocianato de fluoresceína

G' - módulo de elasticidade

G'' – módulo de perda

hab - ângulo de Hue

IC50 – Concentração inibitória para reduzir radical em 50 %

ISAPP - International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MDA - Malonaldeído

MLS - micropartículas lipídicas sólidas

MRS - Man Rogosa Sharpe

O/A – Emulsão óleo em água

ORAC - Oxygen radical absorbance capacity

Pas – Proantocianidinas

PIT – phase inversion temperature

RVL - região de viscoelasticidade linear

TBA - ácido tiobarbitúrico

TBARS – substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TBHQ - Terc-butil-hidroquinona

TCA - ácido tricloroacético

TCD - diferença total de cor

TEAC – Trolox equivalent antioxidant capacity

TPTZ - 2,4,6-tripiridils-triazina

WPI – Isolado proteico de soro do leite

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1	O açaí e o óleo de açaí	20
2.2	Proantocianidinas	22
2.3	Antioxidantes <i>versus</i> radicais livres	25
2.4	Emulsões: definições, estabilidade e métodos de produção	30
2.5	Polissacarídeos: maltodextrina e amidos modificados	35
2.6	Estrutura, capacidade prebiótica e potencial tecnológico da inulina	38
2.7	Iogurtes	41
3	OBJETIVOS	50
4	MATERIAL E MÉTODOS	51
4.1	Material	51
□	Produção das emulsões	51
□	Caracterização do óleo de açaí, das emulsões e dos iogurtes:	51
4.2	Métodos	52
4.2.1	Caracterização físico-química do óleo de açaí.....	52
4.2.1.1	Determinação do perfil de ácidos graxos.....	52
4.2.1.2	Índice de peróxido	53
4.2.1.3	Índice de acidez	54
4.2.1.4	Índice de saponificação e índice de iodo	54
4.2.2	Estabilidade oxidativa utilizando Rancimat	55
4.2.3	Avaliação da capacidade antioxidante do óleo de açaí.....	55
4.2.4	Quantificação de proantocianidinas totais	57
4.2.5	Produção de emulsões de óleo de açaí.....	58
4.2.5.1	Avaliação da estabilidade físico-química das emulsões	59
4.2.5.1.1	Análise de diâmetro médio e distribuição de diâmetro das gotículas	59

4.2.5.1.2	Determinação dos parâmetros colorimétricos.....	59
4.2.5.2	Determinação do potencial zeta	60
4.2.5.3	Microscopia óptica.....	60
4.2.5.4	Microscopia óptica de fluorescência.....	61
4.2.5.5	Estabilidade da emulsão em diferentes condições de processamento	61
4.2.6	Avaliação da capacidade antioxidante do óleo de açaí emulsionado	62
4.2.7	Quantificação de proantocianidinas totais no óleo de açaí emulsionado.....	63
4.2.8	Índice de peróxido do óleo de açaí emulsionado	63
4.2.9	Determinação da oxidação secundária pelas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	63
4.3	Incorporação de inulina e emulsão de óleo de açaí nos iogurtes	64
4.3.1	Caracterização físico-química dos iogurtes	65
4.3.1.1	Determinação de parâmetros colorimétricos	65
4.3.1.2	pH e acidez titulável	65
4.3.1.3	Sinérese	66
4.3.2	Avaliação da capacidade antioxidante dos iogurtes.....	66
4.3.3	Caracterização reológica do iogurte.....	67
4.3.3.1	Ensaio estacionários – obtenção das curvas de fluxo.....	67
4.3.3.2	Ensaio de reologia dinâmica oscilatória de pequena amplitude.....	68
4.3.3.3	Caracterização microbiológica dos iogurtes	68
4.3.3.4	Contagem de fungos filamentosos e leveduras	69
4.3.3.5	Contagem de bactérias ácido-láticas	69
4.4	Análises Estatísticas.....	70
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
5.1	Caracterização do óleo de açaí.....	71
5.1.1	Perfil de ácidos graxos	71
5.1.2	Cor, índice de peróxido, acidez, saponificação, iodo e densidade.....	72

5.1.3	Estabilidade oxidativa.....	74
5.1.4	Avaliação da capacidade antioxidante do óleo de açaí.....	75
5.1.5	Quantificação de proantocianidinas totais	78
5.2	Produção das emulsões de óleo de açaí – avaliação do aspecto visual.....	79
5.2.1	Determinação de valores de diâmetro médio de gota, curvas de distribuição de diâmetro e <i>span</i>	81
5.2.2	Parâmetros colorimétricos	86
5.2.3	Determinação do potencial zeta da emulsão escolhida para caracterização físico-química ao longo do tempo	93
5.2.4	Morfologia das emulsões	94
5.2.5	Avaliação da capacidade antioxidante do óleo de açaí emulsionado	96
5.2.6	Avaliação da oxidação lipídica das emulsões de óleo de açaí	100
5.2.7	Estabilidade da emulsão em diferentes condições de processamento	104
5.3	Caracterização físico-química dos iogurtes enriquecidos com inulina e emulsão de óleo de açaí	108
5.3.1	Colorimetria instrumental dos iogurtes.....	109
5.3.2	Determinação do pH	114
5.3.3	Acidez titulável	117
5.3.4	Sinérese.....	120
5.3.5	Capacidade antioxidante do iogurte.....	123
5.3.6	Caracterização reológica do iogurte.....	129
5.3.6.1	Ensaio estacionários - Curvas de fluxo	129
5.3.6.2	Ensaio de reologia dinâmica oscilatória de pequena amplitude.....	133
5.3.7	Caracterização microbiológica do iogurte	138
6	CONCLUSÃO	141
	REFERÊNCIAS	142
	APÊNDICES	160

1 INTRODUÇÃO

A crescente preocupação do consumidor com a saúde tem estimulado a busca e a exigência por produtos mais saudáveis, que possam apresentar benefícios nutricionais extras. Tal procura estimula a indústria de alimentos a inovar, buscando investir no desenvolvimento de produtos que forneçam também benefícios à saúde do cliente além dos aspectos nutricionais já esperados – ou seja, o desenvolvimento de alimentos funcionais.

Dentre os frutos ricos em bioativos que podem ser interessantes para o uso em alimentos funcionais está o açaí. O açaí é um fruto amazônico, cuja polpa é amplamente comercializada e oferece diversos benefícios à saúde (CHANG; ALASALVAR; SHAHIDI, 2019; YAMAGUCHI *et al.*, 2015). Ele possui em sua composição ácidos graxos poliinsaturados e monoinsaturados, que juntos representam cerca de 60 % da composição do fruto, além de alta concentração de polifenóis. Os ácidos graxos mono e poliinsaturados podem auxiliar na regulação do metabolismo lipídico enquanto a presença de polifenóis contribui para neutralizar os radicais livres, ou seja, possuem atividade antioxidante, auxiliando no controle do estresse oxidativo das células (BARBOSA *et al.*, 2021). Devido à presença de alta concentração lipídica na polpa do fruto, o açaí tem sido explorado e comercializado também em forma de óleo. O óleo de açaí é um óleo vegetal fonte de compostos antioxidantes, com propriedades sensoriais únicas e potenciais atividades biológicas, e dentre as mais importantes, a atividade antioxidante (PACHECO-PALENCIA; MERTENS-TALCOTT; TALCOTT, 2008; SILVA; ROGEZ, 2013).

Os antioxidantes naturais presentes em diversos óleos vegetais, como no óleo de açaí, são capazes de proteger as células contra a ação de radicais livres que causam danos oxidativos aos lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos, protegendo e prevenindo contra doenças crônicas (CASTELO-BRANCO; TORRES, 2011; RAMADAN; MOERSEL, 2006; SZYDLOWSKA-CZERNIAK *et al.*, 2008). Além da atividade biológica, os compostos antioxidantes presentes naturalmente nesses óleos possuem a capacidade de proteger os compostos mais susceptíveis à oxidação da degradação promovida pela oxidação lipídica. Assim, há duas abordagens sobre a importância da concentração de antioxidantes nos óleos: a possível bioatividade e a capacidade de estabilizar produtos pela redução ou inibição de sua oxidação (CASTELO-BRANCO; TORRES, 2011).

A partir do óleo de açaí é possível produzir emulsões que podem ser utilizadas para incorporar, por meio da microencapsulação, bioativos em diversos tipos de produtos

possibilitando a inclusão de compostos hidrofílicos (emulsões água em óleo) ou hidrofóbicos (emulsões óleo em água) em matrizes alimentícias. Além disso, podem permitir o enriquecimento de produtos com bioativos altamente sensíveis à oxidação, fotossensíveis e de rápida degradação (LIAN *et al.*, 2004; MCCLEMENTS *et al.*, 2009; PORTER; TREVASKIS; CHARMAN, 2007; PORTER; WASAN; CONSTANTINIDES 2008; SING; YE; HORNE, 2009). A emulsão óleo em água (O/A) pode aumentar a palatabilidade e a bioacessibilidade do bioativo encapsulado, além de permitir a incorporação de tais bioativos lipofílicos em meios aquosos, tal como iogurtes, por exemplo (MCCLEMENTS; DECKER; WEISS, 2007).

Por sua vez, os iogurtes são leites fermentados resultantes da coagulação ou redução do pH do leite. São obtidos por meio da fermentação láctea mediante a adição de cultivos de microrganismos específicos (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*) (BRASIL, 2007). O enriquecimento de iogurtes vem sendo bastante estudado nos últimos anos pela adição de extratos vegetais, por exemplo, visando melhorar suas características funcionais a partir do aumento da atividade antioxidante e contagem das bactérias ácido-láticas que são benéficas à saúde (OH *et al.*, 2016) concentração em fibras prebióticas, estimulando o crescimento das bactérias ácido-láticas que promovem melhorias nas síndromes intestinais, prevenção de doenças inflamatórias do intestino e de desenvolvimento de câncer do cólon (WASILEWSKI *et al.*, 2015), redução do risco de doenças cardíacas pelo enriquecimento com compostos fenólicos (GAHRUIE *et al.*, 2015), dentre outros diversos benefícios a depender do bioativo de enriquecimento.

Diante do exposto, o objetivo da presente Tese foi desenvolver um iogurte integral enriquecido com emulsão de óleo de açaí e inulina. Desta forma, o estudo visou o aumento de sua atividade antioxidante pela presença de óleo de açaí e, a adição de inulina teve como objetivo a melhoria da saúde intestinal por meio da sua atividade prebiótica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O açaí e o óleo de açaí

O açaizeiro, de nome científico *Euterpe oleracea* Mart. da família Arecaeae, é uma palmeira nativa da região amazônica, sendo considerada uma das mais importantes da região do ponto de vista econômico, uma vez que o açaí vem se tornando um dos principais produtos de exportação da região (BONOMO; SILVA, 2018; PACHECO-PALENCIA; MERTENS-TALCOTT; TALCOTT, 2008; RUFINO *et al.*, 2011).

O gênero *Euterpe* possui cerca de 28 espécies ao longo da América Central e da América do Sul, sendo as três espécies que ocorrem com maior frequência: *E. oleracea*, *E. precatoria* e a *E. edulis*. Os dois primeiros tipos são mais utilizados comercialmente, e a diferença entre eles é que a primeira espécie é conhecida como açaí do Pará, sendo encontrado no Pará, Maranhão, Amapá, Tocantins, além de Guiana e Venezuela. Por sua vez, a segunda espécie é conhecida como açaí da Amazônia por ser encontrada na bacia do rio Amazonas. Ou seja, a diferença entre elas está no local em que ocorre o cultivo, além da forma em que se dá seu crescimento (YAMAGUCHI *et al.*, 2015).

A espécie de palma *E. oleracea* é uma palmeira multicaule que pode chegar a possuir até 25 hastes por aglomerado, e, quando adultas atingem de 3 a 20 m, com diâmetros de troncos de 7 a 18 cm. Ao final de cada haste, possuem um conjunto de 8 a 14 folhas pinadas, arranjadas de forma espiral, e que possuem de 40 a 80 pares de folhetos opostos ou sub-opostos. O fruto do açaizeiro (Figura 1) apresenta amadurecimento completo em, aproximadamente, 175 dias, apresentando como características a cor violeta e diâmetro médio de 13,5 mm (HENDERSON, 1995). A produção do fruto se dá a partir do terceiro ano de vida da palma, sendo que sua produção máxima ocorre no quinto e sexto anos, com produção duas vezes ao ano, ocorrendo no inverno e no verão (FAVACHO *et al.*, 2011).

Figura 1 - Cacho de açaí (*E. oleracea*) e fruto colhido.

Fonte: MARTINS, F. S. **Cultivar de açaizeiro BRS Pará**. Embrapa Amazônia Oriental. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/925/cultivar-de-acaizeiro-brs-para>. Acesso em: 08 jun. 2018.

O fruto do açaizeiro, conhecido como açaí, tem chamado muita atenção nos últimos anos uma vez que apresenta grande potencial para o desenvolvimento de novos produtos na indústria farmacêutica. Além disso, vem sendo cada vez mais explorado pela indústria de alimentos, na produção de alimentos funcionais, além da indústria cosmética, para a produção de loções corporais, xampus e sabonetes. Tal fato se deve a sua composição fitoquímica, que possui compostos com alta atividade antioxidante, além de possuir em sua composição ácidos graxos monoinsaturados. Tais componentes são associados a diversos benefícios à saúde (BRONDIZIO; SAFAR; SIQUEIRA, 2002; DEL POZO-INSFRAN; BRENES; TOCOTT, 2004; FAVACHO *et al.*, 2011; GALLORI *et al.*, 2004; SCHAUSS, 2016).

O açaí é rico em bioativos polifenólicos, especialmente antocianinas, glicosídeos de antocianidinas, proantocianidinas e outros flavonoides (COÏSSON, 2005; DEL POZO-INSFRAN; BRENES; TOCOTT, 2004; GALLORI *et al.*, 2004; SCHAUSS *et al.*, 2006). Além disso, o açaí pode chegar a possuir 9% em lipídios do peso da polpa comestível do fruto fresco (CLAY; CLEMENT, 1993; LUBRANO; ROBIN; KHAIAI, 1994), sendo tais lipídios compostos por ácidos graxos insaturados, em que o ácido oleico é o composto de maior concentração, e por ácido palmítico, o segundo composto majoritário (MANTOVANI *et al.*, 2003; SCHAUSS *et al.*, 2006). Segundo estudo realizado por Lubrano, Robin e Khaiat (1994), o óleo de açaí apresentou uma composição média de 60% de ácido oleico, 22% de ácido palmítico, 12% de ácido linoleico e os 6% restantes de ácido palmitoleico, ácido esteárico e

traços de outros ácidos graxos. Segundo Menezes *et al.* (2008), a composição do óleo de açaí possui em torno de 53 % de ácido oleico (ômega 9) e 26 % de ácido palmítico.

O óleo da *Euterpe oleracea* também contém diversos compostos fenólicos, sendo o ácido vanílico o componente em maior concentração. Dentre estes compostos fenólicos, estão presentes também proantocianidinas (na forma de dímeros e trímeros), ácido sirínico, ácido ferúlico, catequinas, ácido hidroxibenzóico e ácido protocatecuico. Tais compostos fenólicos possuem propriedades antioxidantes, que fazem do óleo de açaí um produto promissor na utilização em alimentos, cosméticos e medicamentos (PACHECO-PALENCIA; MERTENS-TALCOTT; TALCOTT, 2008). Devido a esta composição, o óleo de açaí pode estar relacionado à atenuação de processos inflamatórios, uma vez que os antioxidantes possuem propriedades antiflogísticas, ou seja, anti-inflamatórias, e que, portanto, podem atenuar as lesões em diversos tecidos (FAVACHO *et al.*, 2011).

2.2 Proantocianidinas

Neste contexto de compostos fenólicos estão as proantocianidinas (neste texto denominadas como *Pas*), classificadas como taninos condensados. Taninos são compostos fenólicos solúveis em água e possuem peso molecular variando entre 500 a 3000 Da. As proantocianidinas são metabólitos secundários de plantas e são polímeros ou oligômeros de flavanoides (ESATBEYOGLU; WRAY; WINTERHALTER, 2015; SANTOS-BUELGA; SCALBER, 2000). Podem ser classificadas como proantocianidinas oligoméricas, que possuem grau de polimerização de 2 a 10, e como proantocianidinas poliméricas, quando possuem grau de polimerização superior a 10 (AWIKA *et al.*, 2003). São principalmente encontradas em cascas de árvores e peles de sementes, mas também em cereais, sementes de legumes, e são abundantes em algumas frutas, como cacau, e em bebidas, tais como vinhos, chás e cidras (LIU; WHITE, 2012; SANTOS-BUELGA; SCALBER, 2000;). A semente de uva é considerada uma das maiores fontes deste tipo de composto (HARBONE; WILLIAMS, 2000). Quando aquecidas em meio ácido, as proantocianidinas originam as antocianidinas, o que justifica a origem do seu nome (SANTOS-BUELGA; SCALBER, 2000).

A Figura 2 apresenta a estrutura básica das *Pas*, sendo que as substituições que ocorrem nos radicais R_1 e R_2 promovem a formação de seus diferentes tipos. Quando R_1 e $R_2 = H$, são originadas as propelargonidinas; quando $R_1 = H$ e $R_2 = OH$, os compostos formados são as procianidinas e quando R_1 e R_2 são OH , formam-se as prodelfinidinas. Em alimentos, as *Pas* mais comuns são as procianidinas, que possuem hidroxilas nos carbonos 3 e 4 do anel aromático

B e as prodeflinidinas que possuem hidroxilas nos carbonos 3, 4 e 5 do anel aromático B. As propelargonidinas são raramente encontradas em alimentos (SANTOS-BUELGA; SCALBER, 2000).

Figura 2 - Estrutura química básica das proantocianidinas (Pas).

Fonte: SANTOS-BUELGA, C.; SCALBER, A. Review proanthocyanidins and tannin-like compounds – Nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, P. 1094–1117, 2000.

As Pas possuem a capacidade de precipitar alcaloides e alguns tipos de proteínas (como a gelatina, por exemplo), formando complexos insolúveis com esses compostos (CAO; FU; HE, 2007; HASLAM, 1989), e também alterando suas estruturas e propriedades funcionais (GIRARD *et al.*, 2018). Estas interações geralmente são do tipo não-covalente, prevalecendo ligações de hidrogênio (HAGERMAN; RICE; RITCHARD, 1998) e interações hidrofóbicas (OH *et al.*, 1980). A complexação ocorre entre os grupos hidroxila e os grupos hidrofóbicos das Pas, e os grupos carbonila e aminoácidos hidrofóbicos, respectivamente, das proteínas (GIRARD *et al.*, 2018). Acredita-se que esta capacidade de complexação e precipitação seja responsável pela sensação de adstringência na cavidade oral, devido à promoção de precipitação das proteínas presentes em tal cavidade, facilitando o reconhecimento da presença de taninos nos alimentos. Tal propriedade é também utilizada pelas plantas como um sistema de defesa contra patógenos ou animais herbívoros (FEENY, 1970; SCALBERT, 1991).

Os efeitos biológicos mais usualmente investigados das Pas são sua afinidade pelas proteínas, suas propriedades antimicrobiana e anticarcinogênica (LIU; WHITE, 2012; SANTOS-BUELGA; SCALBER, 2000;), atividade antiobesidade, anti-inflamatória (LIU; WHITE, 2012), capacidade antioxidante sobre radicais livres (BAGCHI *et al.*, 2014; LIU; WHITE, 2012; SANTOS-BUELGA; SCALBER, 2000), bem como seu efeito na proteção contra doenças cardiovasculares (KRUGER *et al.*, 2014). Estes efeitos biológicos se devem à presença de grupos fenólicos na molécula das Pas que levam à formação de complexos com

proteínas, formação de quelatos com íons metálicos e capacidade redutora (SANTOS-BUELGA; SCALBER, 2000).

As atividades biológicas das Pas são dependentes do seu grau de polimerização; assim, Pas oligoméricas e poliméricas apresentam diferentes atividades biológicas variando de acordo com a estrutura do radical livre a ser sequestrado (LUO *et al.*, 2018). Por exemplo, as Pas oligoméricas apresentam maior eficácia como sequestrantes de ânions superóxido, do radical livre ABTS• e inibidores de xantina oxidase (ARIMBOOR; ARUMUGHAN, 2012), enquanto as Pas poliméricas são mais eficazes em se tratando de proteção das células hepáticas de citotoxicidade induzida por estresse oxidativo, bem como maior capacidade de sequestro do radical DPPH•, além de também apresentar alta atividade de sequestro do radical ABTS• (KIM *et al.*, 2013).

Alshaibani, Zhang e Wu (2017) estudaram as propriedades antibacterianas contra *Escherichia coli* diarreiogênica das Pas presentes em *cranberry* americano. Segundo diversos autores, os mecanismos que podem contribuir para promover ação antibacteriana pelas Pas de *cranberries* são a capacidade de atravessar a parede celular bacteriana, se ligar aos lipopolissacarídeos, promover o aumento da permeabilidade das membranas externas, apresentar interferência nas moléculas intracelulares, prejudicar o metabolismo celular (DELEHANTY *et al.*, 2007; JOHNSON *et al.*, 2008; LACOMBE *et al.*, 2010; NOHYNEK *et al.*, 2006) e inibir as enzimas bacterianas extracelulares (SCALBERT, 1991). Além disso, a acidez promovida no ambiente gastrointestinal pela presença de Pas bloqueia o crescimento bacteriano, uma vez que pode haver uma redução do pH intracelular que pode levar à redução da força próton-motriz devido à interação com os componentes químicos, inibindo a síntese de ATP (VAN IMMERSEEL *et al.*, 2006). Alshaibani, Zhang e Wu (2017) observaram ação antimicrobiana das Pas contra *E. coli*, e que a ação inibitória das Pas foi melhor que aquela apresentada por ácidos orgânicos, concluindo que as Pas são promissoras para a utilização como fitoterápico na prevenção de diarreias de origem microbiana.

Jiang *et al.* (2017) estudaram as Pas como possíveis antidepressivos devido a sua atividade anti-inflamatória. Os autores avaliaram a eficácia da atividade anti-inflamatória e antioxidante das Pas em lipopolissacarídeos que promovem a indução do comportamento do tipo depressivo. Para isto, foram administrados lipopolissacarídeos (0,83 mg/ kg) para ratos e estes foram tratados com Pas (80 mg/kg) para avaliar se havia ação desta. Os autores observaram que a super-expressão de citocinas pró-inflamatórias induzidas pelos lipopolissacarídeos no hipocampo, córtex frontal e amígdala foi revertida pelo tratamento realizado com Pas. Assim, os pesquisadores concluíram que as Pas possuem uma ação terapêutica como antidepressivo e

ansiolítico devido à sua ação anti-inflamatória, que age sobre neuroinflamações e citocinas que são associadas ao comportamento depressivo.

Martins *et al.* (2020) estudaram a atividade antioxidante e antimicrobiana, e caracterizaram quimicamente extratos de sementes de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) contendo em sua composição procianidinas do tipo A e do tipo B. Os autores observaram que os compostos majoritários do extrato obtido foram compostos por procianidinas oligoméricas do tipo A e B, com grau de polimerização médio de 11,4, formados por catequinas e epicatequinas. Os compostos não apresentaram citotoxicidade, apresentaram alta capacidade antioxidante pelos ensaios de capacidade de sequestro dos radicais DPPH, método TEAC e ORAC. Por fim, os extratos apresentaram também atividade antimicrobiana contra cepas de bactérias Gram positivas e contra *Candida albicans*. Assim, os extratos de semente de açaí foram considerados promissores na utilização de fórmulas farmacêuticas e cosméticas, além de ajudarem a reduzir os impactos ambientais promovidos pelo resíduo da extração da polpa do fruto, de forma que a semente possa ser utilizada como um subproduto.

2.3 Antioxidantes *versus* radicais livres

Os antioxidantes são uma classe de substâncias químicas que podem ser encontradas naturalmente em alimentos e que possuem a capacidade de prevenir ou de reduzir estresses oxidativos que ocorrem no sistema fisiológico. Devido ao uso regular de oxigênio pelo organismo, são produzidos radicais livres constantemente pelo próprio corpo (MAMTA *et al.*, 2014). Estes radicais livres produzidos causam danos às células devido ao estresse oxidativo causado por eles, e podem provocar diversos problemas de saúde ao indivíduo, dentre eles doenças cardíacas, diabetes, degeneração macular e câncer (MAMTA *et al.*, 2014; SOUSA; VIEIRA; LIMA; 2011;); reumatismo, catarata (PRADO, 2009), aterosclerose, artrite e processos de envelhecimento do corpo (SOUSA, 2009). Desta forma, os antioxidantes sequestram estes radicais livres de forma que promovam prevenção contra as doenças citadas acima, uma vez que reparam os danos causados às células (HAMID *et al.*, 2010; MAMTA *et al.*, 2014; SIES, 1997).

A oxidação é uma reação química da qual ocorre a transferência de elétrons de uma molécula para um agente oxidante, levando à produção dos radicais livres. Estes radicais são estruturas altamente reativas que possuem um ou mais elétrons desemparelhados em sua camada mais externa. Desta forma, na presença de antioxidantes (os denominados antioxidantes primários) pode ocorrer a reação destes com os radicais livres através da doação de átomos de

hidrogênio, que finalizam a reação em cadeia, removendo os intermediários dos radicais livres e inibindo outras reações de oxidação, oxidando-se (MAMTA *et al.*, 2014; RAMALHO; JORGE, 2006; SIES, 1997).

Quanto à classificação, os antioxidantes podem, por exemplo, ser classificados em naturais e sintéticos (MAMTA *et al.*, 2014; NASCIMENTO; ARAÚJO; MELO, 2010; PRADO, 2009), conforme representação esquemática da Figura 3.

Figura 3 - Representação esquemática das classificações dos antioxidantes em naturais ou sintéticos.

Fonte: Adaptado de MAMTA et al. **Antioxidants**. Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals, p. 117 – 138, 2014.

Antioxidantes naturais são aqueles sintetizados pelo corpo humano pelo processo metabólico, ou podem ser suplementados de outras fontes naturais, como frutas, vegetais castanhas, sementes, folhosas e raízes (ASIF, 2015; MAMTA *et al.*, 2014). A ação destes antioxidantes irá depender das suas propriedades físicas e/ou químicas e de seu mecanismo de ação. Os antioxidantes naturais são divididos em enzimáticos e não-enzimáticos. Por sua vez, os antioxidantes sintéticos são aqueles produzidos ou sintetizados usando diversas tecnologias (MAMTA *et al.*, 2014). Porém, alguns estudos toxicológicos indicaram que o uso de antioxidantes sintéticos, dos quais os mais comuns utilizados em alimentos são butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT) e terc-butil hidroquinona (TBHQ), pode provocar efeitos adversos no organismo, o que fez aumentar o interesse em pesquisas buscando antioxidantes de fontes naturais (RAMALAKSHMI; KUBRA; RAO, 2008).

Existem diversos ensaios que permitem detectar a presença e a atividade de compostos antioxidantes em alimentos. Estes ensaios são classificados basicamente como ensaios baseados na transferência de elétrons e como ensaios baseados na transferência de átomos de hidrogênio (XIAO *et al.*, 2020). Em ensaios baseados na transferência de elétrons, por métodos espectrofotométricos, por exemplo, a capacidade antioxidante de um composto é medida pela redução de um agente oxidante que muda de cor quando reduzido. Desta forma, pelo grau de mudança de cor medido pela absorbância em determinado comprimento de onda ocorre a correlação com a capacidade antioxidante do composto (BONDET; BRAND-WILLIAMS; BERSET, 1997; XIAO *et al.*, 2020).

Como exemplo, pode ser citado o radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), que é um radical orgânico de nitrogênio, de cor violeta. Quando uma solução de DPPH é misturada a um agente antioxidante, ocorre a transferência de elétrons ou a doação de um átomo de hidrogênio do antioxidante ao radical, tornando-o estável. Desta forma, sua cor se altera de violeta para amarelo, que corresponde à hidrazina, ou para o violeta claro (AMATATONGCHAI *et al.*, 2012; CIEŚLA *et al.*, 2012; KEDARE; SINGH, 2011; MUSA *et al.*, 2013; XIAO *et al.*, 2020). A capacidade dos antioxidantes em reduzir o radical DPPH, portanto, é monitorada em comprimentos de onda entre 515 e 528 nm, e relacionada à redução no valor de absorbância. Os resultados são expressos em IC50, ou seja, à quantidade de antioxidante necessária para reduzir o radical DPPH em 50 % (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995; SANCHEZ-MORENO, 2002; XIAO *et al.*, 2020). A Figura 4 ilustra a reação de redução do radical DPPH• na presença de um antioxidante.

Figura 4 - Reação entre DPPH• e um antioxidante.

O DPPH é um radical livre considerado estável devido a sua estrutura que possui três anéis aromáticos. Tal estrutura apresenta o efeito de ressonância, estabilizando a carga eletrônica do radical (MARTINEZ *et al.*, 2006). O radical é solúvel em meios orgânicos como etanol e metanol (ARNAO, 2000). Nestes meios a transferência de hidrogênio é mais facilitada, principalmente quando o átomo de hidrogênio é transferido para o átomo de nitrogênio ligado aos dois anéis aromáticos, aumentando a reatividade do radical (OLIVEIRA, 2015).

Por sua vez, o ABTS (2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) pode ser oxidado pelo persulfato de potássio ou dióxido de magnésio. Desta forma, ocorre a formação do radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ por meio da perda de um elétron pelo átomo de nitrogênio do ABTS, conforme ilustra a Figura 5.

Figura 5 - Formação do radical estável $\text{ABTS}^{\bullet+}$ a partir da reação de ABTS com persulfato de potássio.

Fonte: Adaptado de XIAO, F. *et al.* Guidelines for antioxidant assays for food components. **Food Frontiers**, v. 1, p. 60–69, 2020.

Na presença de um agente antioxidante, ocorre a neutralização do radical ABTS e a solução perde a coloração verde-azulada, tornando-se incolor e reduzindo a absorbância a 743 nm (MARC *et al.*, 2004; XIAO *et al.*, 2020). Diferentemente do radical DPPH, o radical ABTS é solúvel tanto em solventes orgânicos quanto em água, o que aumenta o espectro de uso dele, uma vez que pode ser utilizado para analisar a capacidade antioxidante de compostos lipofílicos e hidrofílicos (ARNAO, 2000; GALLEGO, 2017).

Outro método utilizado para medir a capacidade antioxidante de compostos é o método ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), desenvolvido por Cao, Alessio e Cutler (1993). Através desse método é possível mensurar a capacidade antioxidante de compostos por meio do sequestro de radicais peroxil que são gerados por AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropano) dihidroclorado) a 37 °C. O método original utiliza B-ficoeritrina (B-PE) como sonda fluorescente. Porém, modificações foram realizadas por Ou, Hampsch-woodill e Prior (2001) substituindo-a por fluoresceína o que reduziu custos e tornou o método mais reprodutível. A medida é realizada por meio da queda da fluorescência quando a fluoresceína é mantida em

contato com os radicais livres. Na presença de um antioxidante, este reage com os radicais livres ocorrendo a doação de átomos de hidrogênio o que inibe a perda de fluorescência da fluoresceína, sendo a inibição proporcional à atividade antioxidante (WU *et al.*, 2004). Desta forma, o efeito protetor de um antioxidante é medido avaliando a área sob a curva de decaimento de fluorescência da amostra em comparação com o branco em que nenhum antioxidante está presente (OU; HAMPSCH-WOODILL; PRIOR, 2001).

Por sua vez, o método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) mede a capacidade de compostos em reduzir Fe^{3+} a Fe^{2+} . A reação ocorre na presença de um antioxidante e o reagente denominado TPTZ (2,4,6-tripiridils-triazina) em condições ácidas, pH 3,6, onde o complexo férrico-tripiridiltriázina (FeIII-TPZ) é reduzido ao complexo ferroso (FeII-TPZ). Assim, a redução a Fe^{2+} produz um complexo corado (azul escuro) (Figura 6), mensurado em comprimento de onda 593-595 nm. É um método rápido, de baixo custo, simples e robusto (RUFINO *et al.*, 2006).

Figura 6 - Reação entre TPTZ e um antioxidante.

Fonte: Adaptado de RUFINO *et al.* Metodologia Científica: Determinação Da Atividade Antioxidante Total Em Frutas Pelo Método De Redução Do Ferro (FRAP). Comunicado técnico online, n° 125, Fortaleza, 2006.

Por fim, os compostos fenólicos possuem capacidade antioxidante e podem ser multifuncionais em sua forma de ação, dentre elas a capacidade de doar um elétron da hidroxila da estrutura aromática uma vez que esta possui a capacidade de resistir à perda deste elétron; capacidade de quelar Fe^{2+} e Cu^+ , que são pró-oxidantes; e, a capacidade de interromper a propagação de radicais livres na reação de oxidação lipídica além de reparar danos às células causadas pela presença dos radicais livres (BIANCHI; ANTUNES, 1999; CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007; KARAKAYA, 2004; KYNGMI; EBELER, 2008; SUCUPIRA *et al.*, 2012). A quantificação de fenólicos totais foi inicialmente descrito por Singleton e Rossi (1965) e é realizada a partir do reagente de Folin-Ciocalteu, que permite a quantificação dos fenólicos como um todo de uma amostra. O reagente de Folin-Ciocalteu é

constituído pelos ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico, em que tungstênio e molibdênio possuem estado de oxidação 6^+ , de cor amarela. Ao entrar em contato com os compostos fenólicos e em meio básico ocorre a formação do molibdênio e tungstênio azuis que possuem estados de oxidação entre 5 e 6. A partir da mudança na coloração para o azul é possível calcular a concentração dos compostos fenólicos, que são os compostos redutores, em comprimento de onda de 765 nm. Os resultados costumam ser expressos como equivalentes de ácido gálico (ANDREO; JORGE, 2011; LAZZAROTTO *et al.*, 2020; SOUSA *et al.*, 2007).

2.4 Emulsões: definições, estabilidade e métodos de produção

2.4.1 Definições e estabilidade das emulsões

Emulsões consistem em uma mistura de dois líquidos imiscíveis, em uma estruturação que contém ao menos duas fases: o interior das gotículas, denominada fase dispersa, e a fase contínua, em que as gotículas se encontram dispersas. Além disso, entre as fases existe uma região que as delimita, denominada interface (DICKINSON, 1992; DICKINSON; STAINSBY, 1982; FRIBERG; LARSSON; SJOBLUM, 2004; MCCLEMENTS, 2005). A indústria de alimentos utiliza os princípios e técnicas de emulsificação para desenvolver inúmeros produtos, como por exemplo, molhos, sobremesas, cremes, maionese, sorvetes, manteiga, margarina e produtos cárneos (DICKINSON, 1992; FRIBERG; LARSSON; SJOBLUM, 2004; MCCLEMENTS, 2005).

Existem dois tipos de emulsões, as emulsões simples e as emulsões múltiplas, ilustradas na Figura 7. As emulsões simples podem ser classificadas como emulsões água-em-óleo (A/O) e emulsões óleo-em-água (O/A). O primeiro tipo (A/O) consiste em gotículas de água dispersas em um meio oleoso (fase contínua), e, sendo exemplos na área de alimentos a margarina e a manteiga. Por sua vez, o segundo tipo (O/A) consiste em gotículas de óleo (fase dispersa) dispersas em uma fase contínua aquosa, existindo inúmeros exemplos em alimentos, tendo como exemplos o leite, maionese, produtos lácteos, sobremesas e diversos tipos de bebidas (MASON *et al.*, 2006; MCCLEMENTS, 2005).

Por sua vez, as emulsões múltiplas são estruturas mais complexas que as emulsões simples. São classificadas em emulsões água-em-óleo-em-água (A/O/A), composta por gotículas de água dispersas em gotículas de óleo, e estas por sua vez, dispersas em uma fase contínua água; e, emulsões óleo-em-água-em-óleo (O/A/O) composta por gotículas de óleo dispersas em gotículas de água, que por sua vez estão dispersas em uma fase contínua óleo (BOUYER *et al.*, 2012; PEREIRA; GARCIA-ROJAS, 2015).

Figura 7 - Representação esquemática dos tipos de emulsões simples e emulsões múltiplas, das quais: (a) O/A; (b) A/O; (c) A/O/A; e, (d) O/A/O.

Fonte: Adaptado de PEREIRA, L. J. B.; GARCIA-ROJAS, E. E. G. Emulsões múltiplas: formação e aplicação em microencapsulamento de componentes bioativos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 45, n. 1, p. 155-162, 2015.

Os diâmetros das gotículas presentes nas emulsões têm grande influência em suas características tais como estabilidade física e microbiológica, sabor, características reológicas e ópticas, bem como bioacessibilidade de ativos encapsulados (SCHUBERT; ENGEL, 2004). As emulsões podem ser classificadas de acordo com os diâmetros das gotículas em emulsões (convencionais) e nanoemulsões. As emulsões convencionais (também denominadas macroemulsões) encontram-se em diâmetros na faixa entre 200 nm e 100 µm, apresentando como característica opacidade e turbidez uma vez que os diâmetros apresentam tamanhos similares ao comprimento de ondas da luz, fato que promove a dispersão da luz. Já as nanoemulsões possuem diâmetros de gotículas na faixa entre 20 e 200 nm (LI, 2010; MASON *et al.*, 2006; TADROS *et al.*, 2004), e, o fato de apresentarem diâmetros inferiores ao comprimento de ondas da luz faz com que as nanoemulsões tenham tendência a ser transparentes ou levemente turvas. Os tamanhos de gotículas das nanoemulsões fazem com que elas sejam sistemas cineticamente mais estáveis que as emulsões convencionais uma vez que o tamanho favorece devido à maior estabilidade à separação gravitacional e à agregação (TADROS *et al.*, 2004; WOOSTER *et al.*, 2008).

Entretanto, as emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis e tendem a perder suas características ao longo do tempo devido a uma variedade de mecanismos físico-químicos como separação gravitacional, floculação, coalescência e maturação de Ostwald (representados na Figura 8), além de mecanismos de instabilidade química tais como oxidação e hidrólise (DICKINSON, 1992; DICKINSON; STAINSBY, 1982; FRIBERG *et al.*, 2004; MCCLEMENTS, 2005; WALSTRA, 1996).

Figura 8 - Mecanismos de instabilidade físico-química que podem vir a ocorrer em emulsões.

Fonte: Adaptado de: McCLEMENTS, D. J. **Food emulsions**: principles, practices and techniques. 2nd ed. Florida: CRC Press, 2005.

A separação gravitacional é considerada a forma mais comum de separação de fases em uma emulsão e pode tomar forma de cremação ou de sedimentação, o que irá depender da densidade da fase dispersa. Na cremação, as gotículas são menos densas que a fase contínua, sendo o seu movimento em direção à superfície da emulsão, enquanto na sedimentação, a densidade das gotículas é maior do que a da fase contínua, ocorrendo sua sedimentação e acúmulo na parte inferior da emulsão. A cremação ocorre com maior frequência em emulsões O/A, enquanto a sedimentação é mais frequente em emulsões A/O (FREDERICK; WALSTRA; DEWETTINK, 2010; MCCLEMENTS, 2005; MCCLEMENTS, 2009).

Quanto à instabilidade química, a oxidação lipídica pode ocorrer nos componentes lipídicos da emulsão, podendo gerar produtos da reação que venham a reagir com a membrana interfacial das gotículas. Tal fenômeno pode, por sua vez, promover a coalescência das gotas e então, provocar instabilidade físico-química, ocasionando a separação de fases da emulsão (MCCLEMENTS, 2005; MCCLEMENTS; DECKER, 2000; SCHUBERT; ENGEL, 2004).

Outros fatores têm enorme influência na estabilidade de sistemas emulsificados. O agente tensoativo é uma molécula que possui caráter anfifílico, ou seja, possui regiões polares e apolares na mesma molécula. Tais moléculas adsorvem na superfície das gotículas durante o processo de emulsificação, facilitando a produção de gotículas menores, além de estabilizá-las contra processos de agregação, e de reduzir a tensão interfacial entre as fases. As propriedades

da interface são determinadas pelo tipo, concentração e interação entre as fases e o agente tensoativo adicionado (DICKINSON, 2003; GUZEY; MCCLEMENTS, 2006; MASON *et al.*, 2006; MCCLEMENTS, 2005). A camada da interface apresenta, em média, de 1 a 10 nm de espessura quando na utilização de agentes tensoativos de grau alimentício, tais como proteínas e polissacarídeos (GUZEY; MCCLEMENTS, 2007). Outro componente que pode ser adicionado às emulsões são os modificadores de textura, que aumentam a viscosidade da fase contínua e, assim, podem retardar o movimento das gotículas, fazendo com que a agregação ou separação gravitacional sejam dificultadas. Além da adição de componentes, parâmetros de produção de emulsões como condições de homogeneização, temperatura e ordem de adição dos componentes irão contribuir para um sistema estável (MCCLEMENTS, 2005).

2.4.2 Produção de emulsões e uso na encapsulação de bioativos

Há uma grande variedade de processos para obtenção de emulsões. Dentre os equipamentos mais amplamente utilizados, tanto em escala de laboratório quanto industrial, estão os homogeneizadores de alto cisalhamento, homogeneizadores de alta pressão e homogeneizadores ultrassônicos (MCCLEMENTS, 2005; WALSTRA, 2003). Tais métodos são exemplos de métodos de emulsificação de alta energia, uma vez que são utilizadas forças de cisalhamento ou de alta pressão, promovendo a homogeneização das fases, reduzindo o tamanho das gotas (SOLE *et al.*, 2006). O rompimento destas gotas ocorre através de um balanço entre as forças interfaciais que tendem a mantê-las unidas e as forças destrutivas geradas pelo homogeneizador que tendem a romper as gotas em gotículas menores através do rompimento da interface. Tais gotículas mantêm sua forma esférica, uma vez que é a forma que apresenta maior estabilidade termodinâmica, e, a força que mantém esta forma é a pressão de Laplace que age ao longo de toda a interface da gotícula em direção ao seu centro. Assim, para que ocorra o rompimento das gotas em gotículas menores, é necessário fornecer ao sistema uma força superior à força interfacial, ou seja, superior a esta pressão (MCCLEMENTS, 2005).

É possível, utilizando-se um sistema emulsificado, encapsular componentes e controlar a liberação destes de acordo com o local alvo de liberação estipulado, pela seleção de ingredientes e microestruturas corretos (LIAN *et al.*, 2004). As indústrias farmacêutica e de alimentos utilizam comumente emulsões como sistemas para controlar a liberação e proteger compostos lipofílicos tais como lipídios que possuem bioativos funcionais, aromatizantes, compostos antioxidantes e antimicrobianos ou fármacos (MCCLEMENTS *et al.*, 2009; PORTER;

TREVASKIS; CHARMAN, 2007; PORTER; WASAN, CONSTANTINIDES, 2008; SING; YE; HORNE, 2009).

Compostos como carotenoides, ácidos graxos ômega e fitoesteróis, que são compostos que promovem benefícios à saúde e muitas vezes apresentam maior instabilidade físico-química, são amplamente estudados para serem encapsulados em emulsões O/A (MCCLEMENTS; DECKER; WEISS, 2007; MCCLEMENTS; LI, 2010). A emulsão O/A tem como vantagem aumentar a palatabilidade e a biodisponibilidade do bioativo encapsulado, além de permitir a incorporação de tais bioativos lipofílicos em meios aquosos tais como bebidas (MCCLEMENTS; DECKER; WEISS, 2007). Desta forma, diversos compostos lipofílicos podem ser encapsulados neste sistema. Caso o componente funcional apresente alta susceptibilidade à degradação química, as condições de homogeneização devem ser bem controladas para evitar a exposição a fatores que aceleram o processo de degradação tais como alta temperatura, exposição ao oxigênio e à luz (MCCLEMENTS, 2009).

São bastante escassos na literatura trabalhos sobre produção e caracterização de emulsões ou nanoemulsões contendo óleo de açaí. Jerônimo (2013) estudou a produção de emulsões de óleo de açaí contendo cristais líquidos e resveratrol para uso tópico como radioprotetores com o objetivo de proteger a pele de pacientes contra efeitos causados pela radiação durante tratamentos radioterápicos. Os cristais líquidos são definidos como uma fase intermediária entre cristais sólidos e líquidos isotrópicos, ou seja, uma mesofase, que possui ordem estrutural, ligações definidas, rigidez e fluidez (simultaneamente) além de regiões desordenadas como ocorre com os líquidos. Para isto, foram desenvolvidas emulsões a partir de óleo de açaí incorporando resveratrol e Brij CS20 (Álcool Cetoestearílico Etoxilado - *Ceteareth 20*) e Brij S2 (Éter estearílico de polioxietileno (2)) como tensoativos não iônicos. O resultado obtido indicou que as amostras minimizaram os efeitos da radiação ionizante sobre a pele uma vez que houve interação entre a ação radioprotetora do resveratrol com a atividade antioxidante do óleo do açaí e a capacidade hidratante promovida pela emulsão.

Contente (2016) estudou a obtenção e caracterização de nanoemulsões de óleo de açaí. Para a produção das nanoemulsões foi utilizado óleo de açaí, Brij CS20 (álcool cetoestearílico etoxilado - *Ceteareth 20*) como tensoativo, e cetoconazol (agente antifúngico) como o ativo encapsulado. As nanoemulsões foram produzidas pelo método da temperatura de inversão de fases (PIT – *phase inversion temperature*) e foram caracterizadas quanto ao tamanho das gotículas, índice de polidispersidade, potencial zeta, morfologia e eficiência de encapsulação. A concentração de óleo de açaí foi fixada em 2 % e a de cetoconazol em 0,5 %. A concentração de tensoativo variou segundo as seguintes razões óleo:tensoativo 1:3; 1:3,5; 1:4 e 1:4,5,

equivalentes a 7, 8, 9 e 10 %, respectivamente. A emulsão contendo 10 % de tensoativos foi definida para prosseguir os estudos. Os valores encontrados para a nanoemulsão foram: tamanho de gotículas de $128,53 \text{ nm} \pm 10,04$; $-25,53 \text{ mV} \pm 10,04$ para o potencial zeta; índice de polidispersidade de $0,37 \pm 0,04$ e a microscopia eletrônica de transmissão indicou que as gotículas formadas apresentaram formato esférico. A autora concluiu que foi possível produzir nanoemulsões de óleo de açaí estáveis através do método de baixa energia.

2.5 Polissacarídeos: maltodextrina e amidos modificados

A maltodextrina, cuja estrutura é mostrada na Figura 9, é um polissacarídeo sem poder adoçante derivado da hidrólise parcial do amido, formado principalmente de resíduos de α -D-glicopiranosil ligados em (1,4) com cadeias que possuem comprimentos diversos com algumas ligações (1,6) (STORZ; STEFFENS, 2004; UMDORATI; GOHTANI, 2015).

Figura 9 - Estrutura química (monômero) da maltodextrina.

Fonte: CARARETO *et al.* Water activity of aqueous solutions of ethylene oxide-propylene oxide block copolymers and maltodextrins. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, São Paulo, v. 27, p. 173-181, 2010.

A maltodextrina pode ser obtida por hidrólise ácida, enzimática ou combinação ácida/enzimática de amidos (REINECCIUS, 1991; SHAHIDI; HAN, 1993), e o grau da hidrólise é dado pelo valor de dextrose equivalente (DE), que está relacionada ao grau de polimerização do amido, sendo neste caso necessário que este valor seja inferior a 20. Para valores de DE superiores a 20, o produto da hidrólise é denominado xarope de glicose (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007; WANG; WANG, 2000). O valor DE é dado pela Eq. 1.

$$DE = \frac{100}{DP} \quad (1)$$

em que: DE = dextrose equivalente e DP = grau de polimerização.

Assim, a dextrose equivalente é definida como a porcentagem de açúcares redutores, baseada na concentração de glicose apresentada pela maltodextrina, e quanto maior o valor de DE, mais hidrolisada a maltodextrina. Desta forma, as maltodextrinas são classificadas de acordo com o tamanho médio da molécula obtida na hidrólise, relacionado à dextrose equivalente (CARNEIRO *et al.*, 2013; WANG; WANG, 2000).

A maltodextrina é comumente utilizada como material de parede em produtos obtidos por *spray dryer*, uma vez que oferece uma boa proteção contra a oxidação dos compostos encapsulados. Entretanto, a maltodextrina não possui boa ação como emulsificante, o que torna necessário sua associação com outros compostos encapsulantes, tais como isolados proteicos de soro do leite, isolado proteico de soja, goma arábica e amidos modificados (REINECCIUS, 1989; CARNEIRO, 2011). Apesar de não apresentar característica emulsificante, ou seja, apesar de não adsorver na superfície das gotículas das emulsões ajudando a prevenir a agregação, a maltodextrina é comumente utilizada em emulsões como estabilizante (CHRONAKIS, 1997; CHRONAKIS; KASAPIS, 1995; DOKIC-BAUCAL; DOKIC; JAKOVLJEVIC, 2004; HARDAS *et al.*, 2000; HOGAN *et al.*, 2001) uma vez que confere um aumento de viscosidade ou gelificação da fase contínua que circunda as gotículas da emulsão (DICKINSON, 2003; KLINKERSON *et al.*, 2004).

Diversos polissacarídeos, dentre eles a maltodextrina, são comumente utilizados em emulsões O/A para promover o controle da flocculação e coalescência, uma vez que apresentam influência sobre as propriedades reológicas da fase aquosa, além de controlarem as interações que possam vir a ocorrer entre as gotículas da fase dispersa (DICKINSON, 2003; KLINKESORN *et al.*, 2004). A flocculação das gotículas da emulsão pode ser prevenida pelo aumento na viscosidade da fase aquosa da emulsão ou pode ser promovida pela presença de polissacarídeos que promovem um reforço nas forças atrativas entre as gotículas. Se estas forças atrativas forem superiores às forças repulsivas, irá ocorrer a flocculação. Desta forma, existe um limite de concentração de polissacarídeos na fase aquosa da emulsão que leva ao fenômeno de flocculação e este limite é definido como concentração crítica de flocculação (CCF) (DICKINSON, 2003). A CCF é uma propriedade importante em emulsões que possuem macromoléculas em dispersão, uma vez que é um parâmetro importante no controle da estabilidade e nas propriedades da emulsão (UDOMRATI; IKEDA; GOHTANI, 2013).

Klinkerson *et al.* (2004) estudaram a influência de maltodextrinas/xarope de glicose derivados de amido de milho contendo diferentes DE que variaram de 36, 25, 20, 15 e 10, na

estabilidade de emulsões de óleo de milho (5 %, g/g) estabilizadas com Tween 80 (0,2 %, g/g) variando as concentrações de maltodextrinas/xarope de glicose em 0 a 35 % (g/g). Os autores observaram que os valores para CCF foram de 35, 21, 21, 17 e 13% (g/g), para as DEs de 36, 25, 20, 15 e 10, respectivamente.

Amidos nativos não possuem ação emulsificante uma vez que não possuem caráter anfifílico, ou seja, grupamentos hidrofóbicos e hidrofílicos na mesma molécula (SADTLER; IMBERT; DELLACHERIE, 2002). Porém, tais amidos podem sofrer modificações químicas, levando à formação dos chamados amidos modificados, que mostram características físico-químicas diversas das características dos amidos não-modificados. Tais modificações podem ocorrer por diversos meios tais como tratamentos térmicos, ou através de reações químicas, ou mesmo ação enzimática (CARNEIRO, 2011; YAN; ZHENG BIAO, 2010).

Os amidos utilizados como emulsificantes são modificados quimicamente, para que ocorra a incorporação de grupamentos hidrofóbicos na molécula, tornando-a anfifílica. Assim, podem agir como tensoativos de baixo peso molecular, e levar à produção de emulsões estáveis (CARNEIRO, 2011; SADTLER; IMBERT; DELLACHERIE, 2002; SHAHIDI; HAN, 1993; UDOMRATI; GOHTANI, 2015). Para tal, a porção hidrofóbica da cadeia do polímero modificado interage com a interface das gotículas, o que pode levar a promover a proteção contra a floculação devido à estabilização estérica que está relacionada a sua estrutura macromolecular (DICKINSON, 2009; KAEWPRAPAN *et al.*, 2012). A capacidade emulsificante dos amidos modificados aumenta com o aumento do tamanho da cadeia hidrofóbica incorporada à cadeia polimérica (UMDORATI; GOHTANI, 2014).

O Capsul® é uma dextrina de amido de milho ceroso, modificado a partir da esterificação do amido com anidrido octenilsuccínico (OSA) (Figura 10). A modificação do amido ocorre sob condições alcalinas, tendo como produto um composto com capacidade de formar filmes e capacidade emulsificante. Pode substituir gomas de alto valor agregado ou ainda proteínas utilizadas como agentes encapsulantes (ABURTO; TAVARES; MARTUCCI, 1998; ANTHERO, 2014).

alimentares capazes de promover a modulação da microbiota intestinal conferindo benefícios à saúde do hospedeiro (PINEIRO *et al.*, 2008). A partir da nova definição alterou-se a definição que incluía a “seletividade” que restringia a ação de prebióticos ao crescimento apenas de *Lactobacillus* e /ou *Bifidobacterium* (FABI, 2020). Em 2016 surgiu a definição mais recente para prebióticos pela *International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics* (ISAPP) com o seguinte texto: “um substrato que é utilizado seletivamente pelos microrganismos do hospedeiro e que confere um benefício à saúde” (GIBSON *et al.*, 2017). Desta forma, a partir da definição mais atual, não apenas o microbioma intestinal pode ser modulado pelos microrganismos como também outros microbiomas do hospedeiro (microbiomas orais, vaginais e da pele) (FABI, 2020).

Dentro do contexto de prebióticos encontra-se a inulina. A inulina é um polímero de D-frutose que pertence ao grupo das frutanas e é considerado um importante carboidrato de reserva das plantas (HAULY; MOSCATTO, 2002), sendo classificada como uma fibra solúvel (HOND; GEYPENS; GOOS, 2000). As frutanas são divididas e classificadas em: levanas, que são polímeros lineares do tipo $\beta(2\rightarrow6)$; compostos ramificados que possuem ligações $\beta(2\rightarrow6)$ e $\beta(2\rightarrow1)$ e, inulina (Figura 11), um polímero linear que possui ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow2)$ (ROBERFROID; VAN LOO; GIBSON, 1998).

Figura 11 - Estrutura química do monômero da inulina.

Fonte: CALEFFI, E. R. *et al.* Isolation and prebiotic activity of inulin-type fructan extracted from *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen roots. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 80, p. 392-399, 2015.

Diversas plantas que possuem a inulina como carboidrato de reserva são utilizadas na dieta humana, tais como cebola, alho-poró, alho, aspargo, alcachofra, chicória, dália e yacon, podendo chegar a concentrações de até 20% de inulina do peso fresco do vegetal, como é o caso da alcachofra e chicória de Jerusalém. Após extração e secagem, a inulina apresenta como características ser um pó branco, amorfo, higroscópico, com densidade aproximada de 1,35 g/cm³, odor e sabor neutros, solubilidade de 6% a 10 °C e 35% a 90 °C (HAULY; MOSCATTO, 2002). Cadeias de inulinas extraídas de chicória nativa variam o número de 2 a 60 moléculas de frutose conectadas por ligações glicosídicas $\beta(2\rightarrow1)$, sendo que a maioria das cadeias de inulina possui uma glicose em uma das extremidades de sua cadeia (RONKART *et al.*, 2006).

A inulina é uma fibra alimentar não-digerível (HOND; GEYPENS; GOOS, 2000) classificada como prebiótico, uma vez que é fermentada pela microbiota intestinal, estimulando o crescimento das bifidobactérias (ROBERFROID; VAN LOO; GIBSON, 1998). A partir de tal fermentação ocorre a conversão da inulina em ácidos graxos de cadeia curta, tais como acetato, propionato e butirato, além de lactato, biomassa bacteriana e gases (ELLEGARD; ANDERSON; BOSAEUS, 1997; KNUDSEN; HESSOV, 1995).

Além de melhorar a saúde intestinal, as fibras solúveis como a inulina possuem a capacidade de ajudar na redução de concentrações do colesterol LDL e de colesterol sérico, podendo contribuir na proteção contra doenças coronárias (AL-SHERAJI *et al.*, 2013; ANDERSON, 1990; LIONG; SHAH, 2005; PANDEY; NAIK; VAKIL, 2015); no aumento da absorção mineral (AL-SHERAJI *et al.*, 2013; GRIFFIN *et al.*, 2003; HAWTHORNE; ABRAMS, 2008; PANDEY; NAIK.; VAKIL, 2015; RASTALL, 2010); na melhora da resposta imune (MACFARLANE; STEED; MACFARLANE, 2007; SEIFERT; WATZL, 2008; PANDEY; NAIK; VAKIL, 2015) e na prevenção do câncer de cólon do reto, segundo tem sido evidenciado em estudos (AL-SHERAJI *et al.*, 2013; ASAD; EMENAKER; MILNER, 2008; PANDEY; NAIK; VAKIL, 2015). Além disso, também auxiliam na sensação de saciedade e, portanto, no controle do peso corporal (MORRIS; MORRIS, 2012; PANDEY; NAIK; VAKIL, 2015).

Quando adicionada em água ou leite, a inulina se apresenta em forma de cristais de aproximadamente 100 nm. Estes nanocristais, devido ao tamanho da cadeia de inulina, se agregam para formar micro-cristais na dimensão de 1-5 μ m. Eles são responsáveis por induzir a formação de géis (BARCLAY *et al.*, 2010; BOT *et al.*, 2004; GLIBOWSKI; PIKUS, 2011), uma vez que géis podem ser formados pela interconexão destes micro-cristais de inulina, formando uma rede capaz de aprisionar a água em seus canais de interconexão, de textura finamente cremosa. As propriedades reológicas dos géis de inulina são muito similares às

propriedades reológicas de uma rede de cristais de gordura em óleo, e devido a este fato, a inulina vem sendo bastante utilizada como substituta da gordura em produtos com redução ou livres de gorduras (BARCLAY *et al.*, 2010; BOT *et al.*, 2004; NINESS, 1999). A formação rápida de gel de inulina ocorre nas concentrações acima de 30%, sendo o gel formado em poucas horas com o resfriamento da solução. Em concentrações de 40-45%, a formação de gel ocorre instantaneamente (HAULY; MOSCATTO, 2002).

A formação do gel de inulina pode sofrer influência de diversos fatores como o tamanho da cadeia polimérica, ou seja, do grau de polimerização, da composição do polímero em mono e dissacarídeos, do método de preparação do gel, do tamanho das partículas de inulina e da presença de cátions mono e divalentes (SILVA, 1996). Além disso, a temperatura também é fator que influencia fortemente no processo de gelificação, uma vez que o aumento da temperatura da dispersão pode levar à completa dissolução dos cristais de inulina, cessando o processo de gelificação, uma vez que este se dá pela interconexão dos microcristais (BOT *et al.*, 2004; GLIBOWSKI; WASKO, 2008; KIM; FAQIH; WANG, 2001; ROBERFROID, 2005).

2.7 Iogurtes

Leites fermentados são produtos resultantes da coagulação ou redução do pH do leite obtidos por meio da fermentação láctea mediante a adição de cultivos de microrganismos específicos (BRASIL, 2007). Estes microrganismos transformam a lactose presente no leite, por meio da fermentação, tendo como produto principal o ácido láctico (ARYANA; OLSON, 2017; MCKINLEY, 2005). O iogurte é um leite fermentado resultante da fermentação láctica pela adição de culturas *starters* ao leite contendo *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Tais culturas podem ser acompanhadas, de forma complementar, por outras bactérias ácido-láticas que contribuam para a determinação das características do produto final. Tais microrganismos devem ser viáveis e abundantes ao longo de toda a vida de prateleira do produto (BRASIL, 2007).

Segundo o regulamento técnico do MAPA (BRASIL, 2007), o padrão para comercialização de iogurtes é de gordura entre 3,0 e 5,9 g/100 g para o iogurte integral, 0,6 a 2,9 g/100 g para o iogurte semidesnatado e até 0,5 g/100 g para o iogurte desnatado. A acidez do iogurte deve estar entre 0,6 e 1,5 g de ácido láctico/100 g de iogurte, e o teor de proteínas deve ser de, no mínimo, 2,9 g/100 g de iogurte. Quanto às bactérias ácido-láticas, devem apresentar uma contagem mínima de bactérias ácido-láticas de 10^7 UFC/g. É limitada a 30 %

(m/m) a adição de ingredientes não-lácteos, sendo, nesse caso de adição de outros ingredientes acima de 30%, a denominação dada de “leite fermentado com adições”.

O consumo desse tipo de produto é associado à saudabilidade, devido ao fornecimento de diversos nutrientes como cálcio, além de apresentar concentração em gorduras relativamente baixa em combinação com alta concentração de proteínas, sendo considerado um alimento bastante nutritivo (GAHRUIE *et al.*, 2015; MCKINLEY, 2005). Comparado ao leite, o iogurte é considerado um alimento nutricionalmente similar, uma vez que é produzido a partir dele, sendo considerado uma excelente fonte de fósforo, riboflavina (vitamina B₂), tiamina (vitamina B₁), vitamina B₁₂, folato, niacina, magnésio e zinco (FREITAS, 2017; MCKINLEY, 2005). Além destes nutrientes, seus benefícios à saúde são atribuídos também à presença das culturas *starters* (MICHAEL; PHEBUS; SCHIMIDT, 2010).

As culturas *starters* do iogurte fazem parte da categoria de microrganismos probióticos, que quando presentes em quantidades adequadas em um produto alimentício, podem auxiliar na melhora da saúde intestinal. Este mecanismo ocorre uma vez que estes microrganismos competem com microrganismos indesejáveis pelo ambiente do trato intestinal, além de degradar e inibir a síntese e ação de toxinas patogênicas, melhorar o sistema imunológico aumentando a resistência a infecções e auxiliar na maior produção de muco. Desta forma, diversos estudos relataram efeitos dos probióticos na melhora do sistema imune e da saúde intestinal (GAHRUIE *et al.*, 2015; JAIN *et al.*, 2004; NICOLI *et al.*, 2003). Além disso, existem diversos outros benefícios promovidos à saúde do hospedeiro pelos probióticos presentes no iogurte tais como: modulação de certas características da fisiologia digestiva, como por exemplo a imunidade da mucosa pela circulação das células T que combatem antígenos externos, e das células B que são responsáveis pela produção de anticorpos promovendo a ativação da imunidade da mucosa e consequentemente aumentando a permeabilidade intestinal (FIORAMONTI; THEODOROU; BUENO, 2003; JAIN *et al.*, 2004), ação sobre doenças coronárias, pressão sanguínea e hipertensão associadas ao consumo do colesterol pelas *culturas starters* e produção de ácidos graxos de cadeia curta e média pelo metabolismo destes microrganismos levando a uma redução na concentração de colesterol no plasma seja pela inibição da síntese de colesterol hepático ou ainda redistribuindo o colesterol do plasma para o fígado (FREITAS, 2020).

Para alcançar os benefícios que o iogurte pode vir a promover à saúde, tais produtos necessitam ter uma contagem em bactérias ácido-láticas de pelo menos 10⁶ UFC/g de iogurte. Estes valores são necessários para que seja consumida uma quantidade suficiente que garanta a viabilidade das bactérias após a passagem pelo estômago, alcançando o intestino onde irão

apresentar a ação desejada (TERPOU *et al.*, 2019). Entretanto, outros fatores extrínsecos podem afetar a viabilidade das bactérias, como por exemplo o pH, que é reduzido com o tempo de prateleira devido à fermentação que produz maiores concentrações em ácidos orgânicos; o tipo de embalagem, a temperatura de refrigeração e as condições de armazenamento do produto, tanto no ponto de venda quanto durante o transporte (ANUYAHONG; CHUSAK; ADISAKWATTANA, 2020; MICHAEL; PHEBUS; SCHIMIDT, 2010).

Ainda sobre os benefícios promovidos pelo consumo de iogurtes, diversos estudos reportam a importância e a influência do consumo deste tipo de produto na redução da absorção do colesterol, no fortalecimento do sistema imune, na melhora da função intestinal e prevenção de câncer do cólon (ARYANA; OLSON, 2017; ANUYAHONG; CHUSAK; ADISAKWATTANA, 2020; GAHRUIE *et al.*, 2015). Seu consumo é permitido por pessoas intolerantes à lactose sem efeitos adversos, uma vez que na fermentação a lactose é consumida e convertida em ácido láctico (GAHRUIE *et al.*, 2015).

O aumento na descoberta recente de distúrbios digestivos em pacientes promoveu um aumento no consumo e na procura por produtos contendo microrganismos probióticos em todo o mundo. Dentre os produtos probióticos existentes, o iogurte é o preferido pelos consumidores. O mercado de consumo na região da Ásia-Pacífico está aumentando, sendo a região que apresenta maior consumo do produto (Figura 12). Isso se deve, principalmente, pelos aspectos da cultura alimentar indiana, sendo que há uma tendência de aumento devido aos benefícios promovidos à saúde. Além disso, a China e o Japão também representam importantes mercados consumidores do produto, enquanto o consumo na Austrália encontra-se em expansão pela conscientização relacionada aos seus benefícios. O Brasil apresenta, entretanto, ainda um baixo consumo deste produto (MORDOR INTELLIGENCE, 2019).

Figura 12 - Mercado de consumo global de iogurte, por regiões, no ano de 2019.

Fonte: Adaptado de: MORDOR INTELLIGENCE. **Yogurt market – Growth, Trends and Forecasts (2020 – 2025)**. 2019. Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/yogurt-market>. Acesso em: 10 jun. 2021.

A evolução da produção de iogurtes inspecionados (SIF – Serviço de Inspeção Federal) no Brasil entre os anos 2010 e 2016 pode ser observada na Figura 13. A produção foi separada de acordo com as cinco regiões do país, em que a região Sudeste foi a que mais contribuiu para a produção do país, seguida pela região Sul. O pico da produção, neste período de estudo, ocorreu em 2013, com uma produção de cerca de 823 milhões de litros de iogurte, apresentando uma queda no ano de 2016, em que a produção atingiu 473 milhões de litros. A região Sudeste representou 71 % da produção no ano de 2016, seguida pelo Sul com 17,3 % e do Nordeste com 10,4 % (BRASIL DAIRY TRENDS 2020, 2017).

Figura 13 - Panorama nacional de produção de iogurte inspecionado pelo MAPA através do SIF.

Produção de iogurte inspecionada (SIF) no período de 2010 a 2016.

Fonte: BRASIL DAIRY TRENDS 2020. **Tendências do mercado de produtos lácteos**. Campinas: Ital, 2017. Disponível em: <http://www.brasildairyrends.com.br/3/#zoom=z>. Acesso em: 10 jun. 2020.

Um aspecto interessante foi detectado por Siqueira (2020), por meio da *Embrapa Gado de Leite*. O autor avaliou o panorama de consumo de produtos lácteos durante a pandemia do coronavírus SARS-COV-2. A pesquisa foi realizada entre abril e maio do ano de 2020 e abrangeu 5105 consumidores de todo o território nacional. Dentre 13 produtos pesquisados, o iogurte foi o 4º produto mais consumido, ficando atrás apenas de queijo, manteiga e creme de leite, em que 89 % dos consumidores afirmaram consumir iogurtes. Além disso, o iogurte foi um dos produtos que apresentou um aumento de consumo neste período, sendo este aumento de 6 % em relação ao consumo antes do início da pandemia.

2.7.1 Enriquecimento de iogurtes com ingredientes bioativos e prebióticos: estado da arte

Atualmente, os consumidores vêm demandando cada vez mais do mercado produtos que ofereçam qualidade e saúde. A preocupação com a saúde tem sido o principal fator que impulsiona tal demanda. Em tal contexto de saúde, os alimentos funcionais são definidos como alimentos ou ingredientes alimentícios que promovem benefícios além de apenas nutrição (DWYER, 2007). Desta forma, os alimentos funcionais vêm recebendo cada vez mais atenção por parte dos consumidores devido as suas ações benéficas ao organismo, tais como redução

dos riscos de transtornos, melhoria de algumas atividades enzimáticas, promovendo a saúde do indivíduo (GUIMARAES *et al.*, 2018).

A fortificação de alimentos consiste em adicionar um ou mais nutrientes essenciais ao alimento, aumentando sua concentração para níveis maiores do que os já presentes no alimento comum, visando a prevenção ou mesmo correção de deficiências nutricionais existentes na população de uma forma geral. Uma das melhores formas de aumentar e melhorar a disponibilidade de nutrientes ocorre pela adição de nutrientes extraídos de fontes naturais (GAHRUIE *et al.*, 2015).

Além de aumentar a disponibilidade de nutrientes a partir de fontes naturais, também é possível modificar a textura de alimentos a partir destas fontes. A textura é um atributo importante na qualidade de iogurtes e a inclusão de estabilizantes como gelatina, pectina, inulina ou outras fibras dietéticas ao iogurte para melhorar suas propriedades de textura e estabilidade tem sido bastante explorada (SUPAVITIPATANA, 2007). Fibras são adicionadas ao iogurte para aumentar a saudabilidade do produto, além de possuírem uma alta capacidade em reter água, reduzindo a sinérese e melhorando a textura e as características reológicas do produto (PASEEPHOL; SMALL; SHERKAT, 2008). Devido a essa capacidade de alterar e melhorar a textura dos alimentos, através da adição de inulina é possível promover a substituição parcial de gordura, reduzindo as calorias do produto (LARRAURI, 1999; MEYER *et al.*, 2011; SRISUVOR *et al.*, 2013).

A adição de inulina em produtos alimentícios aumenta a atividade dos probióticos, principalmente *Lactobacillus* e Bifidobacterias, efeito denominado como *efeito bifidogênico* (SHOAIB *et al.*, 2016). Quando o iogurte possui probióticos e prebióticos em sua formulação, ele é denominado simbiótico. Dentre os diversos benefícios atribuídos a este tipo de produto, estão a promoção da melhoria de diversos tipos de desordens intestinais, redução ou prevenção de doenças inflamatórias do intestino, melhora da síndrome do intestino irritável provocada pela alteração da microbiota intestinal e componentes indesejados (WASILEWSKI *et al.*, 2015). Entretanto, existem controvérsias a respeito da influência da inulina na viabilidade de *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus* (MOGHADAM *et al.*, 2019). Alguns autores confirmaram não haver melhora na viabilidade destes microrganismos (AKIN; AKIN; KIRMARCI, 2007) na presença da inulina, enquanto outros autores observaram influência na viabilidade destas culturas, com aumento na viabilidade das mesmas (BOENI; POURAMAD, 2012).

Costa *et al.* (2015b) estudaram a adição de 5 % de inulina (grau de polimerização igual a 9) em iogurte de leite de cabra. Os autores avaliaram a influência da adição da inulina na cor,

viscosidade aparente, e textura dos iogurtes. Os resultados obtidos foram de redução do pH após 7 dias, seguido de um aumento do pH a partir do dia 14. Quanto à influência na cor, os autores encontraram alterações significativas nos parâmetros L^* , a^* e b^* , com redução nos valores de L^* e a^* e aumento no valor de b^* . A consistência do iogurte com inulina foi maior após 28 dias de armazenamento.

Crispín-Isidro *et al.* (2015) estudaram o efeito da adição de 2, 4 e 6 % de inulina nas propriedades reológicas, microestruturais e sensoriais de iogurte batido reduzido em 50 % de gorduras comparado ao iogurte integral, que foi utilizado como controle. Os autores observaram que a inulina promoveu a formação de estruturas gelificadas diferentes da estrutura formada pela caseína do leite. Enquanto a caseína formou agregados, de formato globular, a inulina formou estruturas alongadas. Nos aspectos sensoriais, a inulina a 4 % apresentou melhor aceitação do que o controle, tendo sido avaliados o sabor, viscosidade, cremosidade e aceitação global. Os resultados reológicos indicaram que os valores encontrados para $\tan \delta$, em que $\tan \delta = G''/G'$, nas amostras com 4 e 6 % de inulina mostraram que não ocorreram diferenças significativas entre estas amostras e o controle, indicando que nestas concentrações a inulina pode substituir a gordura em iogurte reduzido em 50 % de gordura. Desta forma, os resultados sensoriais e reológicos foram coerentes entre si.

El-Kholy *et al.* (2020) estudaram a influência de inulina extraída da raiz de chicória nas propriedades de iogurte com baixa concentração de gordura. A inulina utilizada no estudo foi extraída e caracterizada pelos autores. Os tratamentos foram os seguintes: controle 1, com 3 % de gordura; controle 2, com 0,1 % de gordura. A inulina foi adicionada a iogurtes com 0,1 % de gordura nas concentrações de 0,5; 1 e 2 %. Os autores observaram que a adição de inulina melhorou a capacidade de retenção de água dos iogurtes, apresentando retenção melhor do que o controle 1. A inulina aumentou os valores de acidez dos iogurtes. A adição de inulina melhorou a microestrutura do gel, formando uma rede mais homogênea nas concentrações de 0,5 e 1 %; a 2 % a estrutura apresentou-se mais porosa e rede menos firme. Houve um aumento na contagem das colônias de *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* and *B. bifidum* que foi maior quanto maior a concentração de inulina. Os parâmetros sensoriais aroma, sabor e aparência foram mais bem aceitos. A inulina melhorou a textura e a sinérese dos iogurtes comparada ao controle 2.

Diversas outras fontes de compostos naturais são possíveis de serem adicionados aos iogurtes. Dentre estes, pode-se citar compostos derivados de frutas e vegetais. Estudos vêm sendo realizados para investigar o efeito da inclusão de extratos de plantas para aumentar a atividade antioxidante e a viabilidade das culturas de iogurtes durante a estocagem (OH *et al.*,

2016). Diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos relacionados à inclusão de compostos fenólicos em iogurtes, uma vez que tais bioativos possuem atividade antioxidante, antiinflamatória, antimutagênica e anticoagulante (FRESCO *et al.*, 2010). Devido a tais propriedades, os compostos fenólicos têm sido considerados cada vez mais importantes na alimentação, uma vez que estão relacionados à redução do risco de doenças cardíacas e do risco de desenvolver câncer (GAHRUIE *et al.*, 2015).

Perina *et al.* (2015) estudaram o efeito da adição de emulsão de óleo vegetal e casca de maracujá em pó na aceitação sensorial de iogurte funcional. Os autores avaliaram a adição de emulsão e pó de casca de maracujá e a adição de creme de leite e pó de casca de maracujá, fermentados a 42 ou a 37 °C e compararam com o iogurte controle para avaliar se diferenças seriam percebidas pelos provadores. Os autores observaram que a adição de emulsão e de pó da casca de maracujá promoveram um aumento na firmeza do iogurte. De uma forma global, o iogurte controle apresentou melhor aceitação em relação aos demais tratamentos. Quanto à textura, os consumidores não observaram diferenças significativas entre os tratamentos. A aceitação foi mais próxima ao controle dos tratamentos fermentados a 37 °C do que os fermentados a 42 °C.

Baba *et al.* (2018) avaliaram as propriedades funcionais de iogurte fortificado com óleo de nozes e óleo de linhaça, com a intenção de fortificar com ácido α - linolênico. Os óleos foram adicionados na quantidade de 2 %, separadamente, juntamente com goma guar a 0,025 e 0,05 %, para evitar que ocorresse separação de fases. A goma guar também foi considerada como uma fonte de fibras. Os autores observaram que a adição dos óleos promoveu um aumento na sinérese, na atividade antioxidante e na formação de malonaldeídos nos iogurtes, com redução na contagem de bactérias lácticas, principalmente nos tratamentos com óleo de linhaça. Por sua vez, os resultados reológicos indicaram maiores valores de G' nas amostras com maior concentração de goma guar e todos os tratamentos apresentaram valores superiores ao controle, com comportamento de fluxo do tipo pseudoplástico. Os autores concluíram que a adição de óleo de nozes foi melhor do que a de óleo de linhaça uma vez que houve melhora na estabilidade oxidativa, no perfil de ácidos graxos e na atividade antioxidante dos iogurtes enriquecidos com óleo de nozes.

Em um estudo desenvolvido por Anuyahong, Chusak e Adisakwattana (2020) ocorreu a adição de extrato de arroz do tipo *riceberry*, que é rico em antocianinas, a iogurte e avaliaram a influência da adição de 0,125 a 0,5 % (m/m) do extrato nas características físico-químicas, atividade antioxidante e digestão gastrointestinal. Os autores observaram que a inclusão do extrato aumentou consideravelmente a atividade antioxidante do iogurte, que foi medida em

termos de quantidade de fenólicos totais, cianidina-3-glicosídeo, capacidade de reduzir o radical DPPH e poder antioxidante pelo método FRAP. A adição do extrato vegetal melhorou também os resultados de sinérese e maior liberação de compostos fenólicos e antioxidantes foi observada na digestibilidade *in vitro*. Desta forma, os autores concluíram que o extrato de arroz do tipo *riceberry* pode ser considerado promissor na fortificação de iogurtes.

3 OBJETIVOS

O objetivo principal da presente Tese foi desenvolver um iogurte enriquecido com inulina e óleo de açaí (*Euterpe oleracea*) encapsulado em emulsões.

Para que o objetivo principal fosse alcançado, os objetivos específicos foram os seguintes:

- Desenvolver, caracterizar e avaliar a estabilidade físico-química de emulsões de óleo de açaí utilizando dextrina modificada como emulsificante e maltodextrina como estabilizante;
- Estudar a estabilidade das emulsões de óleo de açaí quanto às suas propriedades antioxidantes;
- Incorporar a emulsão de óleo de açaí e a inulina em iogurte integral bem como estudar a sua estabilidade físico-química;
- Avaliar a estabilidade das propriedades antioxidantes do iogurte enriquecido;
- Caracterizar reologicamente os iogurtes enriquecidos com óleo de açaí encapsulado e inulina;
- Caracterizar microbiologicamente os iogurtes enriquecidos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

- **Produção das emulsões**

- Fase lipídica: óleo de açaí (Gran Oils, São Paulo, SP, Brasil).
- Tensoativo: dextrina modificada (Capsul®, Ingredion, Mogi Guaçu, SP, Brasil).
- Estabilizante: maltodextrina (Mor-Rex 1910®, Ingredion, Mogi Guaçu, SP, Brasil);
- Agente espessante: goma xantana (Grindsted Xanthan 80®, Du Pont, Cotia, SP, Brasil).
- Conservante: benzoato de sódio (Synth, Diadema, SP, Brasil) como agente antimicrobiano e antifúngico.

- **Caracterização do óleo de açaí, das emulsões e dos iogurtes:**

- Atividade antioxidante:

- DPPH (2,2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl, Sigma-Aldrich, Germany);
- ABTS ((2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, Sigma-Aldrich, USA);
- Trolox ((±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid, Sigma-Aldrich, Suíça);
- Tanino quebracho (TANFOOD, Tanac S. A., Montenegro, RS, Brasil);
- Sulfato ferroso (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil);
- Butanol (Synth, Labsynth, Diadema, SP, Brasil);
- Ácido clorídrico (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil);
- Reagente de Folin-Ciocalteu (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil);
- Ácido gálico (98 %, Acros Organics, New Jersey, USA).

- Índice de peróxido:

- Iso-octano (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil);
- Isopropanol (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil);
- Clorofórmio (Synth, Labsynth, Diadema, SP, Brasil);
- Metanol (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil);

- Isotiocianato de amônio (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil);

- Sulfato ferroso (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil);

- TBARS:

- ácido tricloroacético (TCA, Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil);

- ácido tiobarbitúrico (TBA, J. T. Baker, Avantor Performance Materials, Austria)

- ácido clorídrico (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil);

- Butilhidroxitoluol (BHT, Synth, Labsynth, Diadema, SP, Brasil)

- Iogurte:

- Iogurte integral com preparado de mel (Batavo, Lactalis do Brasil, Carambeí – PR, Brasil).

• **Caracterização microbiológica:**

- Água peptonada (Merck, Darmstadt, Germany);

- Ágar DRBC (Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol, Merck, Darmstadt, Germany);

- Ágar MRS (Man Rogosa Sharpe, Acumedia, Neogen Corporation, Michigan, USA).

Durante todo o trabalho foi utilizada água deionizada ultrapurificada, obtida de sistema de purificação Direct Q3 (Millipore, Billerica, MA, EUA).

4.2 Métodos

4.2.1 Caracterização físico-química do óleo de açaí

4.2.1.1 Determinação do perfil de ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos do óleo de açaí foi determinado por quantificação de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME), obtida por cromatografia gasosa segundo metodologias oficiais AOCS Ce 2-66 e Ce 1-62 (AOCS, 1998). A análise foi realizada em um cromatógrafo gasoso capilar (2010 AF, Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado com um injetor automático (AOC 20i, Shimadzu, Kyoto, Japão) e um detector por ionização em chama, sob as seguintes condições: coluna capilar de bis-cianopropil polisiloxano altamente polar (100 m X 0,25 mm;

espessura do filme de 0,20 µm) (SP-2560, Supelco, Bellefonte, PA, USA), gás hélio como fase móvel a uma velocidade linear de 19,5 cm/s, temperatura de injeção de 250 °C, temperatura do detector igual a 260 °C, volume de injeção igual a 1 µL, e razão *Split* de 100:1. A temperatura da coluna foi mantida a 140 °C durante 5 min após a injeção, e então, aumentada para 240 °C a uma taxa de 4 °C/min, mantida por 15 min. Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram identificados por comparação com padrões externos adquiridos da Supelco (Bellefonte, PA, USA) e quantificados por comparação da área de cada ácido graxo com a área de padrão interno metil tridecanoato (ZENEBO *et al.*, 2008), utilizando os fatores de correção de resposta do detector de ionização em chama e de conversão de ésteres metílicos de ácidos graxos para ácido graxo. As análises foram realizadas em duplicata.

4.2.1.2 Índice de peróxido

O índice de peróxido do óleo de açaí foi determinado segundo metodologia adaptada de Shanta & Decker (1994). Para o ensaio, 40 mg de óleo de açaí foram adicionados a 2 mL de solução iso-octano/isopropanol (3:2, v/v) e a solução foi agitada em vórtex e centrifugada a 1300 g por 5 min (centrífuga 5430 R, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha). A seguir, 200 µL da fase inferior resultante foi coletada e adicionada a 2,8 mL de solução clorofórmio/metanol (7:3, v/v). Foram então adicionados 15 µL de solução isotiocianato de amônio 3,9 M e 15 µL de solução de sulfato ferroso (solução de sulfato ferroso 0,144 M + solução de cloreto de bário 0,132 M, na razão 1:1). Os tubos foram brevemente agitados em vórtex e a reação ocorreu no escuro durante 5 min. A absorbância foi medida em comprimento de ondas de 500 nm em espectrofotômetro (Genesys 10s UV-Vis, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA). As análises foram realizadas em quintuplicata. O valor do índice de peróxido foi medido segundo a Eq. 2:

$$PV = \frac{Abs \times m}{55,84 \times m_0 \times 2} \quad (2)$$

Em que:

PV = valor de peróxido (mEq/kg);

Abs = absorbância da amostra;

m = coeficiente angular da curva de calibração;

m₀ = massa em gramas da fase oleosa

55,84 = peso atômico do Fe

2 = fator de conversão miliequivalente de Fe para miliequivalente de peróxido

4.2.1.3 Índice de acidez

O índice de acidez do óleo de açaí foi medido segundo metodologia descrita pelo *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society* (AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY, 1995). Para isto, uma massa de 0,2 g de óleo de açaí foi adicionada a 50 mL de solução éter etílico:etanol 96% na proporção de 1:1 (v/v). A mistura de solventes foi previamente neutralizada com KOH 0,1 N e então foram adicionadas à mistura 2 gotas de fenolftaleína como indicador. A solução foi titulada com KOH 0,1 N até que ocorresse a viragem para cor de rosa. As análises foram realizadas em duplicata.

O índice de acidez foi calculado pela Eq. 3:

$$IA = 5,61 \, n/m \quad (3)$$

Onde,

IA = Índice de acidez (mg KOH/g);

n = volume de KOH 0,1 N gasto na titulação (mL);

m = massa da amostra.

4.2.1.4 Índice de saponificação e índice de iodo

O índice de saponificação e de iodo foram determinados segundo metodologia descrita pelo *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society* (AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY, 1995). Para a realização da determinação do índice de saponificação, foram utilizados dados do perfil de ácidos graxos obtidos por cromatografia em fase gasosa, e esta foi calculada pela Eq. 4. As análises foram realizadas em duplicata.

$$IS = \frac{3 \times 56,1 \times 1000}{PM \times 3 + (92,09 - (3 \times 18))} \quad (4)$$

Onde,

I.S. = Índice de saponificação da mistura de ácidos graxos;

PM = Peso molecular médio dos ácidos graxos (g/mol);

3 = número de ácidos por triacilglicerol;

56,1 = peso molecular do KOH (g/mol);

1000 = conversão de g para mg;

92,09 = peso molecular do glicerol (g/mol);

18 = peso molecular da água.

O índice de iodo foi calculado segundo a Eq. 5.

$$\begin{aligned} \text{Índice de iodo} = (\% \text{ ácido palmitoleico} \times 0,950) + (\% \text{ ácido oleico} \times 0,860) + (\% \text{ ácido} \\ \text{linoleico} \times 1,732) + (\% \text{ ácido linolênico} \times 2,616) \end{aligned} \quad (5)$$

4.2.2 Estabilidade oxidativa utilizando Rancimat

O índice de estabilidade oxidativa do óleo de açaí foi determinado segundo metodologia descrita pelo *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society* (AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY, 1995). A análise foi realizada utilizando-se 5 g de óleo de açaí que foi analisado em equipamento Rancimat, a 100 °C, com um fluxo de ar de 20 L/h. As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.3 Avaliação da capacidade antioxidante do óleo de açaí

A capacidade antioxidante do óleo de açaí foi avaliada através de três metodologias: capacidade redutora do Folin-Ciocalteu (fenólicos totais); capacidade de sequestro do radical DPPH• e capacidade de sequestro do radical ABTS.

4.2.3.1 Capacidade redutora do Folin-Ciocalteu (fenólicos totais)

A capacidade redutora do Folin-Ciocalteu do óleo de açaí foi realizada segundo metodologia sugerida por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999) e adaptada por Souza (2016). Os compostos fenólicos do óleo de açaí foram extraídos para a realização da análise segundo metodologia descrita por Pacheco-Palencia, Mertens-Talcott e Talcott (2008). A extração ocorreu com a adição de 2 mL de hexano, 2 mL de metanol e 750 µL de óleo de açaí e a mistura foi agitada em agitador de tubos durante 10 min. Logo após, foram adicionados 250 µL de solução tampão ácido cítrico 0,1 M pH 3,0 quando ocorreu uma separação de fases. A

análise ocorreu a partir de uma alíquota de 500 μL da solução hidrofílica resultante da extração, 250 μL do reagente Folin-Ciocalteu e 2 mL de água destilada. A mistura foi mantida durante 3 min ao abrigo da luz e a temperatura ambiente para que ocorresse a reação. Após os 3 min, foram adicionados 250 μL de solução saturada de carbonato de sódio (30 g /100 mL). A mistura foi mantida em banho-maria a 37 °C durante 30 min, e em seguida centrifugada a uma rotação de 3500 rcf/3 min a 25 °C (Modelo 5430 R, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha). A absorbância foi medida a 750 nm em espectrofotômetro (Genesys 10s UV-Vis, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA). O padrão utilizado foi ácido gálico e os resultados foram expressos em μg equivalente de ácido gálico/mL de óleo. As análises foram realizadas em quintuplicata.

4.2.3.2 Capacidade de sequestro dos radicais DPPH

A capacidade de sequestro do DPPH• (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila) foi realizada segundo metodologia descrita por Brand-Williams, Cuvelier & Berset (1995). Para a realização da análise, foi produzida uma solução de DPPH 60 μM . Foram adicionadas alíquotas de óleo de açaí e de etanol de acordo com a Tabela 1 para a construção de uma curva padrão. O volume de solução DPPH foi fixado em 3,9 mL.

Tabela 1 - Alíquotas de óleo de açaí e volume de etanol utilizados nas análises de DPPH.

N° amostra	massa óleo açaí (mg)	Volume etanol (μL)
1	16,8	83,2
2	18,3	81,7
3	19,1	80,9
4	20,0	80,0
5	21,0	79,0
6	22,2	77,8

Fonte: Própria autoria.

A mistura foi agitada em um vórtex e a reação ocorreu no escuro a 25 °C durante 60 min. A absorbância foi medida em comprimento de onda de 515 nm utilizando um espectrofotômetro (Genesys 10s UV-Vis, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA). O branco utilizado foi etanol absoluto e o controle foi a solução de DPPH. A capacidade sequestrante foi expressa em mg de óleo de açaí necessários para reduzir o radical em 50 %. As análises foram realizadas em quintuplicata.

4.2.3.3 Capacidade de sequestro dos radicais ABTS

A capacidade para sequestrar o radical 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS) foi determinada segundo metodologia de Durmaz *et al.* (2010). Foi preparada uma solução-mãe de ABTS a partir da reação de uma solução de radical ABTS 7 mM com uma solução de persulfato de potássio 2,45 mM misturadas nas proporções de 1:0,5, respectivamente. A reação ocorreu no escuro durante 16 horas. Para a realização da análise, a solução-mãe foi diluída em etanol absoluto até atingir a absorbância de $0,7 \pm 0,02$. Então, 10 µL de óleo de açaí foram adicionados a 3 mL de solução ABTS, a mistura foi agitada em vórtex e a reação ocorreu no escuro durante 6 min. O branco utilizado foi etanol absoluto e o controle foi a solução de ABTS. A absorbância foi medida a 734 nm em espectrofotômetro (Genesys 10s UV-Vis, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA). A curva padrão foi construída a partir de diferentes diluições de solução de trolox 2,5 mM. Os resultados foram expressos em µg de equivalente Trolox/g de óleo. As análises foram realizadas em quintuplicata.

4.2.4 Quantificação de proantocianidinas totais

O teor de proantocianidinas totais presentes no óleo de açaí foi determinado pelo método do butanol-HCl descrito por Porter, Hrstich e Chan (1985). Para esta determinação, foi produzida uma solução de sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) a partir da adição de 77 mg de sulfato ferroso em 500 mL de solução n-butanol:ácido clorídrico concentrado (HCl) na razão de 3:2. Para a realização do ensaio foi necessário realizar a extração das proantocianidinas. Para tal, 10 µL de óleo de açaí foram adicionados a 215 µL de metanol. A mistura foi agitada em vórtex durante 10 min e, em seguida, a essa mistura foram adicionados 2,5 mL da solução de sulfato ferroso. A reação ocorreu em banho-maria a 95 °C por 15 min. Após a reação, os tubos foram imediatamente submersos em água com gelo para que a reação fosse interrompida. A absorbância foi medida em comprimento de onda de 540 nm em espectrofotômetro (Genesys 10s UV-Vis, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA). A curva padrão foi realizada pela mesma reação utilizando como padrão soluções de tanino quebracho (1,2 mg/mL em metanol) em concentrações conhecidas. A concentração de proantocianidinas no óleo de açaí foi expressa em mg equivalente de tanino quebracho por mg de óleo. As análises foram realizadas em quintuplicata.

4.2.5 Produção de emulsões de óleo de açaí

Foram produzidas emulsões de óleo de açaí de acordo com as formulações indicadas na Tabela 2. A concentração de dextrina nas formulações foi definida de acordo com a concentração de óleo na emulsão, sendo estas razões óleo:tensoativo iguais a 1:0,5, 1:0,75 e 1:1. A maltodextrina foi utilizada em todas as formulações na mesma concentração que a dextrina. As concentrações estudadas de óleo de açaí foram de 4, 6, 8 e 10 %.

Tabela 2 - Formulações de emulsões produzidas com Dextrina e maltodextrina como agentes tensoativos (dados em g/100 g de emulsão).

Emulsão	Razão óleo: tensoativo	Óleo de Açaí	Dextrina (Capsul®)	Maltodextrina	Água
1	1:0,5	4	2	2	91,98
2	1:0,75	4	3	3	89,98
3	1:1	4	4	4	87,98
4	1:0,5	6	3	3	87,98
5	1:0,75	6	4,5	4,5	84,98
6	1:1	6	6	6	81,98
7	1:0,5	8	4	4	83,98
8	1:0,75	8	6	6	79,98
9	1:1	8	8	8	75,98
10	1:0,5	10	5	5	79,98
11	1:0,75	10	7,5	7,5	74,98
12	1:1	10	10	10	69,98

Fonte: Própria autoria.

Para a produção das emulsões, dextrina, nas concentrações indicadas na Tabela 2, juntamente com a maltodextrina (adicionada à emulsão nas mesmas concentrações que a dextrina) foram adicionadas à água deionizada sob agitação magnética e a dispersão foi mantida sob agitação durante 10 min para que ocorresse completa dispersão. A essa dispersão foi adicionado o óleo de açaí e então a mistura foi submetida à homogeneização em Ultra-Turrax (T25, IKA, Staufen, Alemanha), a 15.000 rpm durante 7 min. Logo após a ultra-agitação, a emulsão foi agitada novamente em agitador magnético durante 10 min, quando ocorreu a adição de goma xantana (0,2 g/100 g de emulsão), para agir como agente espessante. A emulsão foi mantida sob agitação magnética durante 10 min para a dispersão da goma xantana. As amostras foram armazenadas sob refrigeração (7-10 °C).

4.2.5.1 Avaliação da estabilidade físico-química das emulsões

As emulsões produzidas foram avaliadas quanto à estabilidade ao longo de 29 dias de armazenamento, em intervalos de 7 dias. Foram realizadas as seguintes análises: medida de diâmetro médio de gota e distribuição dos diâmetros das gotículas, e colorimetria instrumental. Após a seleção da amostra que apresentou maior estabilidade em relação à separação de fases e tamanho médio de gota, a amostra selecionada foi caracterizada quanto ao potencial zeta durante 29 dias em intervalos de 7 dias, bem como por microscopia óptica e microscopia óptica de fluorescência.

4.2.5.1.1 Análise de diâmetro médio e distribuição de diâmetro das gotículas

As análises de diâmetro médio, bem como a distribuição de tamanho de gota, foram realizadas em triplicata. Para a realização das análises, uma gota de emulsão foi dispersa em água deionizada, e então a leitura foi realizada por difração a laser (SALD-201V, Shimadzu, Kyoto, Japão).

4.2.5.1.2 Determinação dos parâmetros colorimétricos

As análises de cor instrumental foram realizadas em colorímetro (MiniScan XE0020Plus, HunterLab, Sunset Hills Road, Reston, VA, EUA). Foram utilizados os seguintes parâmetros de leitura: iluminante D65 e ângulo de visão com abertura de 10° e o sistema CIE (*Commission Internationale de l'Eclairage*). Os parâmetros $L^*a^*b^*$ obtidos foram utilizados no cálculo do valor de croma (C^*_{ab}), ângulo de Hue (h_{ab}) e diferença total de cor (TCD). Estes cálculos foram realizados de acordo com as Equações 6, 7 e 8, respectivamente. As análises foram realizadas em triplicata.

Para obtenção do valor de croma a Eq. (6) foi utilizada:

$$C^*_{ab} = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (6)$$

em que:

C^*_{ab} = croma (saturação da cor)

b^* = cromaticidade no eixo variando do amarelo/azul

a^* = cromaticidade no eixo variando de vermelho/verde

A tonalidade do sistema (ângulo de Hue) foi calculada pela Eq. (7):

$$h^*_{ab} = \text{tg}^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (7)$$

em que:

h_{ab} = ângulo de Hue (tonalidade definida em graus)

b^* = cromaticidade no eixo variando do amarelo a azul

a^* = cromaticidade no eixo variando de vermelho a verde

Por sua vez, a diferença total de cor (TCD) foi calculada pela Eq. (8):

$$TCD = \sqrt{(L^* - L^*_0)^2 + (a^* - a^*_0)^2 + (b^* - b^*_0)^2} \quad (8)$$

em que:

L^*_0 , a^*_0 e b^*_0 são os parâmetros obtidos no dia zero de estocagem

L^* , a^* e b^* são os parâmetros obtidos no dia de amostragem

4.2.5.2 Determinação do potencial zeta

Para as análises de potencial zeta das emulsões por mobilidade eletroforética, foi empregado equipamento ZetaPlus (Brookhaven Instruments Company, Holtsville, NY, EUA). As amostras foram diluídas em solução 1 mM de KCl e a mobilidade eletroforética foi calculada pelo equipamento através da equação de Helmholtz–Smoluchowski. Foram realizadas 10 corridas, em que o resultado foi equivalente à média dentre estas. As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.5.3 Microscopia óptica

Para avaliar a formação das gotículas, uma gota de emulsão foi dispersa em água deionizada e analisada em microscópio óptico (BEL PHOTONIX – câmera 1.3 MP, Piracicaba, SP, Brasil). As amostras foram visualizadas em objetivas de 4x e 40x (aumentos de 40x e 400x, respectivamente).

4.2.5.4 Microscopia óptica de fluorescência

Para avaliar a distribuição das gotas na fase contínua da emulsão, a fase lipídica foi corada com corante Nile Red (Sigma Aldrich, Índia) e os polissacarídeos foram corados com o corante isotiocianato de fluoresceína (FTIC). Para que ocorresse a coloração da fase lipídica, foi produzida uma solução mãe do corante nas concentrações de 0,1g do corante em 100 mL de etanol. A concentração de solução-mãe adicionada à fase lipídica foi de 10 µL por grama de lipídio, segundo metodologia descrita por Abhyankar, Mulvihill e Auty (2014). Para que ocorresse a coloração dos polissacarídeos, uma solução de FTIC foi preparada na concentração de 1 mg/mL de DMSO, e os polissacarídeos corados seguindo a proporção de 0,1 mL da solução de FTIC em DMSO para cada 2 mL de emulsão. Desta forma, foram produzidas duas amostras: uma corada apenas com Nile red e outra corada com ambos os corantes. Após a adição dos corantes, as emulsões foram produzidas conforme o protocolo descrito no item 4.2.5. As amostras foram analisadas em microscópio de fluorescência Zeiss Axioplan 2 (Carl Zeiss Microscopy, LLC One Zeiss Drive Thornwood, NY, EUA) em magnitude de 40x com fonte de luz fluorescente HBO 100.

4.2.5.5 Estabilidade da emulsão em diferentes condições de processamento

A emulsão foi desafiada em diversas circunstâncias para avaliar sua estabilidade, ao longo de 29 dias, quando submetida a diversos processos ao ser adicionada a alimentos que serão processados. Para isto, a emulsão foi desafiada nas seguintes condições:

- Valores de pH variando entre 3,0; 4,0; 5,0 e 6,0;
- Variação da concentração de sacarose em 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 % (g/100 g);
- Dois ciclos de congelamento e descongelamento, sendo os ciclos realizados da seguinte forma: congelamento das amostras durante 24 horas, seguido do descongelamento sob refrigeração (4 °C) durante 24 horas. Repetição do ciclo de congelamento e descongelamento.
- Submissão à temperatura de 72 °C durante 15 s.

A estabilidade das emulsões após os desafios de processamento foi avaliada quanto ao aspecto visual e quanto ao tamanho médio de gota. Para a realização das análises de tamanho de gotículas, uma gota de emulsão foi dispersa em água deionizada, e então a leitura foi realizada por difração a laser (SALD-201V, Shimadzu, Kyoto, Japão). As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.6 Avaliação da capacidade antioxidante do óleo de açaí emulsionado

Para quantificar a atividade antioxidante do óleo de açaí emulsionado, foi necessário realizar sua extração das gotas de emulsão. Para a extração do óleo de açaí, 10 mL de emulsão foram colocados em um tubo tipo falcon 50 mL, sendo a seguir adicionados 14 mL de etanol e 2,5 mL de hexano. A mistura foi agitada em Ultra-Turrax (T25, IKA, Staufen, Alemanha) 10.000 rpm por 3 min, e em seguida ocorreu a adição de 6 mL de água deionizada. A seguir essa mistura foi agitada em vórtex durante 20 s. Os tubos foram centrifugados a 1.300 g, durante 5 min, a 25 °C (5430 R, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha). O sobrenadante foi utilizado nas análises de capacidade antioxidante. As amostras de emulsão foram submetidas a esta análise ao longo de 29 dias com intervalos de 7 dias.

4.2.6.1 Capacidade de sequestro dos radicais DPPH

A avaliação da atividade antioxidante através da capacidade de sequestro dos radicais DPPH no óleo de açaí emulsionado foi realizada segundo metodologia descrita no item 4.2.3.2. A reação ocorreu pela adição de 70 µL do sobrenadante resultante da extração descrita no item acima, 30 µL de etanol e 3,9 mL de solução DPPH em etanol 60 µM. A reação ocorreu no escuro a 25 °C durante 60 min. A absorbância foi medida em espectrofotômetro (Genesys 10s UV-Vis, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) em comprimento de onda de 515 nm. O controle foi realizado com 0,1 mL de etanol mais 3,9 mL de solução DPPH 60 µM e o branco utilizado foi etanol absoluto. Os resultados foram expressos como volume de emulsão necessário para reduzir o DPPH em 50 %. As análises foram realizadas em quintuplicata.

4.2.6.2 Capacidade de sequestro dos radicais ABTS

A avaliação da atividade antioxidante através da capacidade de sequestro dos radicais ABTS no óleo de açaí emulsionado foi realizada segundo metodologia descrita no item 4.2.3.3. A reação ocorreu pela adição de 35 µL do sobrenadante resultante da extração descrita no item 4.2.6 e 3 mL da solução ABTS. A solução foi agitada em vórtex e a reação ocorreu no escuro durante 6 min. A absorbância foi medida em espectrofotômetro (Genesys 10s UV-Vis, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) em comprimento de onda de 734 nm. O controle foi realizado com 35 µL de hexano em 3,0 mL de solução ABTS e o branco utilizado foi etanol absoluto. Os resultados foram expressos como volume de emulsão necessário para reduzir o radical ABTS em 50%. As análises foram realizadas em quintuplicata.

4.2.7 Quantificação de proantocianidinas totais no óleo de açaí emulsionado

A quantificação de proantocianidinas totais no óleo de açaí emulsionado foi realizada segundo metodologia descrita no item 4.2.4. A reação ocorreu pela adição de 35 µL do sobrenadante resultante da extração descrita no item 4.2.6 e 215 µL de metanol. A mistura foi agitada em agitador de tubos durante 10 min. Após a agitação, foram adicionados 2,5 mL da solução de sulfato ferroso (77 mg/500 mL N-butanol:HCl (3:2)). A reação ocorreu em banho-maria a 95 °C/15 min. A reação foi interrompida em um banho de gelo e após a absorbância foi medida em espectrofotômetro (Genesys 10s UV-Vis, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) em comprimento de onda de 540 nm. O branco utilizado foi uma solução de 250 µL de metanol e 2,5 mL da solução de sulfato ferroso. As análises foram realizadas em quintuplicata.

4.2.8 Índice de peróxido do óleo de açaí emulsionado

O índice de peróxido do óleo de açaí emulsionado foi determinado segundo metodologia de Shanta & Decker (1994) ao longo de 29 dias em intervalos de 7 dias. A análise ocorreu com a adição de uma alíquota de 500 µL de emulsão de óleo de açaí em 2 mL de solução iso-octano/isopropanol (3:2). A mistura foi agitada em vórtex e centrifugada a 1300 g/5 min a 25 °C (5430 R, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha). Uma alíquota de 200 µL da fase inferior resultante da centrifugação foi adicionada a 2,8 mL de solução clorofórmio/metanol (7:3, v/v), 15 µL de solução de isotiocianato de amônio (3,9 M) e 15 µL de solução de sulfato ferroso (solução de sulfato ferroso 0,144 M + solução de cloreto de bário 0,132 M, na razão 1:1). A solução foi brevemente agitada em vórtex e a reação ocorreu no escuro durante 5 min. A absorbância foi medida em espectrofotômetro (Genesys 10s UV-Vis, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) em comprimento de onda de 500 nm. Os resultados foram expressos como mEq de peróxido/L de emulsão. As análises foram realizadas em quintuplicata.

4.2.9 Determinação da oxidação secundária pelas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

O monitoramento da oxidação lipídica pelo método TBARS foi realizado segundo adaptação do protocolo de Lee et al. (2011). Foi preparada uma solução de ácido tricloroacético (TCA), ácido tiobarbitúrico (TBA) e ácido clorídrico com as seguintes massas: 37,5 g de TCA, 0,9075 g de TBA e 4,5 mL de HCL com 207,5 mL de água deionizada. Um volume de 100 mL desta solução foi misturado com 3 mL de uma solução de BHT 2 % (m/v) em etanol. Para a reação, 0,5 mL de emulsão, 1,5 mL de água deionizada e 4 mL da solução descrita acima foram

misturados e submetidos a aquecimento em água fervente durante 15 min. As amostras foram então resfriadas e centrifugadas a 7000 rpm por 5 min (Modelo 5430 R, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha). O sobrenadante foi recuperado e novamente centrifugado a 7000 rpm por 2 min. As absorbâncias das amostras foram lidas a 532 nm. As concentrações de TBARS foram calculadas a partir da curva de calibração feita a partir da reação com 1,1,3-3 tetraetoxipropano (TEP). Os resultados foram expressos como mmol malonaldeído (MDA)/L de emulsão. As análises foram realizadas em quintuplicata.

4.3 Incorporação de inulina e emulsão de óleo de açaí nos iogurtes

As formulações de iogurte enriquecido foram preparadas utilizando-se iogurte integral comercial (Batavo, Lactalis do Brasil, Carambeí – PR, Brasil) adoçado com mel, conforme ilustrado na Figura 14.

Figura 14 - Iogurte integral cremoso, marca Batavo, adoçado com mel, utilizado como base para formulação dos iogurtes enriquecidos com inulina e óleo de açaí encapsulado.

Fonte: Batavo (2021).

As formulações foram preparadas pela adição de emulsão de óleo de açaí e/ou inulina sob agitação manual, com o auxílio de uma espátula, por 30 s. As formulações de iogurte controle e de iogurtes enriquecidos foram produzidas conforme a Tabela 3. As inclusões de emulsão estudadas foram de 0, 8, 10 e 12 g/100 g. A inclusão acima de 12 g/100 g reduziu a viscosidade do iogurte tornando-o muito líquido. Os iogurtes produzidos foram armazenados em embalagens de polietileno de alta densidade (PEAD), que foram lacradas e armazenadas em BOD com controle de temperatura a 4 °C (MA-415, Marconi, Piracicaba, SP, Brasil).

Tabela 3 - Formulações de iogurte integral adoçado (controle e enriquecidos) produzidas no presente trabalho de Doutorado.

Amostra	Iogurte (g/100 g)	Inulina (g/100 g)	Emulsão de óleo de açaí (g/100 g)
A	100,0	0,0	0,0
B	97,5	2,5	0,0
C	95,0	5,0	0,0
D	92,0	0,0	8,0
E	89,5	2,5	8,0
F	87,0	5,0	8,0
G	90,0	0,0	10,0
H	87,5	2,5	10,0
I	85,0	5,0	10,0
J	88,0	0,0	12,0
K	85,5	2,5	12,0
L	83,0	5,0	12,0

Fonte: Própria autoria.

4.3.1 Caracterização físico-química dos iogurtes

4.3.1.1 Determinação de parâmetros colorimétricos

Os iogurtes foram analisados ao longo de 30 dias de estocagem em intervalos de 15 dias em colorímetro MiniScan XE0020Plus (HunterLab, Sunset Hills Road, Reston, VA, USA), segundo metodologia descrita no item 4.2.5.1.2. As análises foram realizadas em triplicata.

4.3.1.2 pH e acidez titulável

O pH e a acidez titulável dos iogurtes foram determinados de acordo com as metodologias descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) para leites fermentados. Para a determinação da acidez em ácido láctico, 10 g de iogurte foram titulados com NaOH 0,1 M até que o iogurte atingisse pH igual a 8,3. As análises foram realizadas em triplicata. O cálculo da acidez em ácido láctico, expresso em g ác. láctico/100 g iogurte foi realizado segundo Eq. 9.

$$Acidez = \frac{V \times f \times 0,9}{P} \quad (9)$$

Em que:

V = volume de solução NaOH 0,1M gasto na titulação (mL);

P = massa de amostra (g);

0,9 = fator de conversão para ácido láctico;

f = fator da solução de hidróxido de sódio.

4.3.1.3 Sinérese

A determinação da sinérese do iogurte foi realizada segundo Riener et al. (2010). Amostras com massa de 30 g foram pesadas e dispostas em um funil contendo papel filtro qualitativo (15 cm de diâmetro, 3 µm, 80 g/m², Nalgon Equipamentos Científicos Ltda., Brasil) colocado sobre um béquer de borda alta. As amostras foram mantidas sob filtração a temperatura de 4 °C durante 5 h, tempo após o qual a massa de soro foi pesada em balança analítica. As análises foram realizadas em triplicata. O cálculo da sinérese foi realizado através da divisão da massa de soro obtido pela filtração pela massa inicial de iogurte. O resultado de sinérese foi expresso em porcentagem, segundo a Eq. 10.

$$S = \frac{M^0}{M'} \times 100 \quad (10)$$

Em que:

M⁰ = massa de soro filtrado;

M' = massa inicial de iogurte.

4.3.2 Avaliação da capacidade antioxidante dos iogurtes

A atividade antioxidante dos iogurtes foi medida em termos de sequestro de radicais DPPH e ABTS. As análises foram realizadas ao longo de 29 dias com intervalos de 7 dias.

4.3.2.1 Capacidade de sequestro dos radicais DPPH

A avaliação da capacidade de sequestro dos radicais DPPH dos iogurtes foi realizada segundo a metodologia de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) adaptada por Souza (2016). A reação ocorreu a partir da adição de 50 mg de iogurte e 3,9 mL de solução DPPH em etanol 60 µM. A reação ocorreu no escuro a 25 °C durante 55 min. seguida de centrifugação a 5000 g durante 5 min (centrífuga 5430 R, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha). A absorbância

do sobrenadante foi medida em espectrofotômetro (Genesys 10s UV-Vis, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) em comprimento de ondas de 515 nm. O controle foi realizado com 3,9 mL de solução DPPH 60 μ M e o branco utilizado foi etanol absoluto. Os resultados foram expressos como massa de iogurte necessária para reduzir o radical DPPH em 50%. As análises foram realizadas em quintuplicata.

4.3.2.2 Capacidade de sequestro dos radicais ABTS

A avaliação da capacidade de sequestro dos radicais ABTS dos iogurtes foi realizada segundo adaptação da metodologia de Durmaz *et al.* (2010) pela adição de 50 mg de iogurte a 3 mL da solução ABTS preparada conforme descrito no item 4.2.3.3. A solução foi agitada em vórtex e a reação ocorreu no escuro durante 3 min, seguida da centrifugação a 6100 g durante 3 min. A absorbância foi medida em espectrofotômetro (Genesys 10s UV-Vis, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) em comprimento de ondas de 734 nm. O controle foi realizado com 3,0 mL de solução ABTS e o branco utilizado foi etanol absoluto. Os resultados foram expressos como massa de iogurte necessária para reduzir o radical ABTS em 50%. As análises foram realizadas em quintuplicata.

4.3.3 Caracterização reológica do iogurte

4.3.3.1 Ensaios estacionários – obtenção das curvas de fluxo

Os ensaios reológicos estacionários dos iogurtes foram realizados, em duplicata, em reômetro rotacional de tensão controlada AR 2000 Rheometer (TA Instruments, New Castle, EUA). A geometria utilizada nos ensaios foi do tipo cone-placa de 2°, com um diâmetro de 60 mm. A temperatura utilizada nas análises das amostras foi de 10° C, e o período de relaxamento das amostras antes do início de cada ensaio foi de 2 min. A taxa de cisalhamento variou de 0,1 a 100 s^{-1} e os testes estacionários determinaram a tensão de cisalhamento para cada taxa de cisalhamento decorrente da varredura. A viscosidade das amostras e a tensão de cisalhamento foram determinadas por meio das curvas de escoamento. Os dados obtidos no ensaio foram ajustados ao modelo Herschel-Bulkley através da Eq. 11:

$$\tau - \tau_0 = k \dot{\gamma}^n \quad (11)$$

Em que:

k = índice de consistência (Pa.s^n);

n = índice de comportamento (adimensional);

τ = tensão de cisalhamento (Pa);

τ_0 = tensão de cisalhamento inicial (Pa);

$\dot{\gamma}$ = taxa de deformação (s^{-1}).

4.3.3.2 Ensaios de reologia dinâmica oscilatória de pequena amplitude

Os ensaios de reologia dinâmica oscilatória de pequena amplitude foram realizados, em duplicata, em reômetro rotacional de tensão controlada AR 2000 Rheometer (TA Instruments, New Castle, EUA).

Inicialmente foi determinada a região de viscoelasticidade linear (RVL) das amostras a $10\text{ }^\circ\text{C}$. Para esta medição, a amostra foi adicionada ao equipamento e foi fixado um tempo de 2 min para que ocorresse a relaxação das tensões. A deformação variou de 0,01 a 15 %, a frequência foi fixada em 1 Hz e os valores dos módulos dinâmicos (G' : módulo de elasticidade e G'' : módulo de perda) foram registrados. Na região de viscoelasticidade linear (RVL), os valores de G' e G'' são independentes da deformação. A partir desta região, G' e G'' passam a apresentar dependência com a deformação, e passam a variar deixando de ser constantes. Assim, a RVL permite medir o máximo valor de deformação em que não ocorre a quebra nem a alteração na estrutura do material em estudo. Este valor de deformação foi fixado como o valor máximo em que G' e G'' se mantêm constantes e foi utilizado nos testes de varredura de frequência a seguir.

O ensaio de varredura de frequência foi realizado nas amostras em uma faixa de frequência que variou de 0,1 a 10 Hz. O ensaio foi realizado para avaliar a dependência dos módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') com a frequência a temperatura de $10\text{ }^\circ\text{C}$. Desta forma, para a realização do ensaio, a temperatura foi mantida a $10\text{ }^\circ\text{C}$ e a deformação foi fixada em 1,0 % de acordo com o valor definido de RVL nos ensaios de deformação. Os parâmetros módulo elástico (G'), módulo de perda (G'') e ângulo de fase foram plotados em função da frequência.

4.3.3.3 Caracterização microbiológica dos iogurtes

Dentre as doze amostras produzidas, foram selecionadas quatro, de forma que foi fixada a concentração de inulina em 5 % e variada a concentração de emulsão em 8, 10 e 12 % (Tabela 4) para que fossem avaliadas quanto à qualidade microbiológica.

Tabela 4 - Composição dos iogurtes a serem produzidos e caracterizados.

Amostra	Iogurte (branco) (g/100 g)	Emulsão (g/100 g)	Inulina (g/100 g)
A	100,0	0,0	0,0
F	87,0	8,0	5,0
I	85,0	10,0	5,0
L	83,0	12,0	5,0

Fonte: Própria autoria.

Foram realizadas as seguintes análises microbiológicas nos iogurtes: contagem total de fungos filamentosos e leveduras e contagem de bactérias ácido lácticas. As análises foram realizadas nos dias 1, 15 e 30 de armazenamento sob refrigeração a 4 °C.

4.3.3.4 Contagem de fungos filamentosos e leveduras

Os fungos filamentosos e leveduras foram analisados pelo método de contagem por plaqueamento em superfície segundo método da *American Public Health Association* (APHA) (Silva *et al.*, 2010). O meio utilizado foi o Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC), utilizado para produtos lácteos em geral. Para a realização da análise, 10 g de amostra de iogurte foram diluídos em 90 mL de leite em pó desnatado dissolvido em tampão fosfato (0,1 g/100 mL) e a partir desta solução foram realizadas 3 outras diluições, sendo 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} em água peptonada 0,1 %. Destas diluições, uma alíquota de 0,1 mL foi plaqueada em ágar DRBC e o plaqueamento foi feito em superfície, em duplicata por diluição. A incubação ocorreu a 25 ± 1 °C durante 5 dias quando foi realizada a contagem. Os resultados foram expressos em UFC/g de amostra.

4.3.3.5 Contagem de bactérias ácido-lácticas

Para a realização da contagem de bactérias lácticas o método utilizado foi o método de contagem em placas segundo método da *American Public Health Association* (APHA) (SILVA *et al.*, 2010). Para a realização da análise foram preparadas 5 diluições de cada amostra de iogurte usando-se água peptonada 0,1%. Cada diluição foi transferida para placas de Petri, em duplicata na mesma diluição, e a semeadura foi realizada por profundidade e sobrecamada sendo utilizado o ágar MRS (Man Rogosa Sharpe, Acumedia, Neogen Corporation, Michigan, EUA). As placas foram incubadas a 37 ± 1 °C/48 $\pm$ 3 h em posição invertida. Transcorrido o

tempo de incubação foi realizada a contagem das colônias formadas na placa. O resultado foi expresso em unidades formadoras de colônia por g de amostras (UFC/g).

4.4 Análises Estatísticas

Os resultados experimentais foram analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Os dados foram analisados por software SAS (Statistical Analysis System, Cary, NC, EUA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do óleo de açaí

5.1.1 Perfil de ácidos graxos

O resultado do perfil de ácidos graxos do óleo de açaí obtido por cromatografia gasosa pode ser observado na Tabela 5. Segundo informações obtidas em contato com o fornecedor do óleo de açaí, a empresa Gran Oils, o óleo de açaí possui em sua composição 40 % em óleo de açaí e 60 % de óleo de girassol.

Tabela 5 - Perfil de ácidos graxos do óleo de açaí.

Ácido Graxo		Concentração (% mássica)
C14:0	Mirístico	0,06 ± 0,01
C16:0	Palmítico	8,54 ± 0,08
C16:1	Palmitoleico	0,07 ± 0,00
C17:0	Heptadecanóico	0,06 ± 0,00
C18:0	Estearico	3,58 ± 0,20
C18:1	Oleico	33,00 ± 0,02
C18:2 c,c	Linoleico	49,51 ± 0,35
γ-C18:3	Gama-linolênico	0,13 ± 0,01
C20:0	Araquídico	0,30 ± 0,00
C20:1	Eicosanóico	0,32 ± 0,04
C18:3	Linolênico	3,95 ± 0,01
C22:0	Behênico	0,51 ± 0,01

Fonte: Própria autoria.

Os resultados encontrados na análise cromatográfica foram proporcionais ao balanço entre as concentrações de óleo de açaí e de óleo de girassol presentes na formulação do óleo comercial. Segundo resultados encontrados por Rosa *et al.* (2019), o óleo de açaí possui como compostos majoritários ácido palmítico (21,78 %), ácido oleico (57,42 %) e ácido linoleico (11,08 %). Em resultados obtidos para perfil de ácidos graxos do óleo de girassol, Rosa *et al.* (2009) obtiveram como compostos majoritários do óleo de girassol ácido palmítico (5,47 – 5,90 %), ácido oleico (20,70 – 26,45 %) e ácido linoleico (62,33 – 69,62 %). Segundo o Codex Alimentarius (2001), os compostos majoritários do óleo de girassol são: ácido palmítico (5,0 –

7,6 %), ácido esteárico (2,7 – 6,5 %), ácido oleico (14,0 – 39,4 %) e ácido linoleico (48,3 – 74,0 %). Os resultados encontrados no presente trabalho para o perfil de ácidos graxos foram coerentes com os dados fornecidos pela empresa em relação à razão (6:4) óleo de girassol/óleo de açaí. Desta forma, as concentrações encontradas para ácido palmítico (8,54 %), ácido oleico (33,0 %) e ácido linoleico (49,51 %) são proporcionais à razão citada, justificando a maior concentração em ácido linoleico ao invés de maior concentração em ácido oleico segundo dados fornecidos pela literatura, que deveria ser o ácido graxo majoritário do óleo de açaí.

5.1.2 Cor, índice de peróxido, acidez, saponificação, iodo e densidade

Os valores obtidos para os parâmetros cor, índice de peróxido, índice de acidez, índice de saponificação, índice de iodo e densidade do óleo de açaí podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6 - Características físico-químicas do óleo de açaí.

Parâmetro	Resultados
Cor	Roxo
Índice de peróxido	9,95 mEq/ kg
Índice de acidez	1,1 ± 0,1 mg KOH/g
Índice de saponificação	190,93 mg KOH/g
Índice de iodo	124,51 ± 0,60 g/100 g
Densidade	0,9142 g/mL

Fonte: Própria autoria.

O óleo de açaí em estudo foi adquirido da empresa Gran Oils (Figura 15), sendo assim um produto comercial, e não obtido através da extração da polpa no laboratório. Segundo informações fornecidas pelo fornecedor, o óleo é extraído por prensagem a frio da polpa do fruto maduro e filtração e então misturado ao óleo de girassol na proporção de 40:60 (óleo de açaí: óleo de girassol). Sua aparência é roxa, com um leve aroma adocicado.

Figura 15 - Óleo de açaí fornecido pela empresa Gran Oils.

Fonte: Gran oils (2021)/ Própria autoria.

O índice de peróxido do óleo de açaí foi determinado como 9,95 mEq/ kg de óleo. Segundo a RDC 270 da ANVISA (BRASIL, 2005), os óleos prensados a frio e não refinados podem apresentar um índice de peróxido de no máximo 15 mEq/ kg de óleo. O resultado obtido neste trabalho está, portanto, de acordo com a legislação.

Por sua vez, o índice de acidez do óleo de açaí foi de $1,1 \pm 0,1$ mg KOH/g de óleo. Segundo a RDC 270 da ANVISA (BRASIL, 2005), os óleos prensados a frio e não refinados devem apresentar acidez máxima de 4,0 mg KOH/g de óleo. Desta forma, para o parâmetro acidez, o óleo de açaí apresentou resultado conforme os valores exigidos pela legislação, estando de acordo com esta.

O índice de saponificação é a medida da quantidade de álcali (em mg KOH) necessária para saponificar 1g de óleos e gorduras (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Quanto maior é o índice de saponificação, menor é a média do comprimento das cadeias dos triacilgliceróis (BELLAYER; ZANOTTO, 2004). O índice de saponificação do óleo de açaí foi de 190,93 mg KOH/g. Silva e Rogez (2013) avaliaram as características físico-químicas do óleo de açaí bruto, obtido da polpa do fruto, e obtiveram um índice de saponificação igual a 175,69 mg KOH/g de óleo. Contente (2016) encontrou um índice de saponificação de 199 mg KOH/g de óleo de açaí bruto, também extraído da polpa. Os resultados indicam que o índice de saponificação encontrado no presente estudo está de acordo com os dados relatados na literatura.

O índice de iodo quantifica as insaturações presentes nos ácidos graxos que constituem o óleo vegetal. Desta forma, é possível verificar a pureza do óleo ou se houve alguma

adulteração (CONTENTE, 2016). O valor encontrado para o índice de iodo do óleo de açaí foi de $124,51 \pm 0,60$ g/100 g. Na literatura, os valores encontrados foram de 71 g/100 g (CONTENTE, 2016) e 70 g/100 g (PESCE, 2009), ambos óleos de açaí brutos. Como o óleo em estudo apresenta uma proporção 40:60 de óleo de açaí:óleo de girassol, o índice de iodo apresentou resultados que diferiram dos dados da literatura. Rosa et al. (2009) avaliaram as características físico-químicas do óleo de girassol e obtiveram valores para índice de iodo entre 130,7 e 138,5 g/100 g óleo. Estes resultados explicam o motivo de o óleo de açaí em estudo, no caso uma mistura de açaí e girassol, ter apresentado resultados de índice de iodo superiores aos resultados obtidos na literatura.

Por fim, a densidade do óleo de açaí utilizado nesse trabalho foi de 0,9142 g/mL. Contente (2016) encontrou um valor de 0,950 g/mL, enquanto Silva e Rogez (2013) encontraram densidade de 0,893 g/mL. Desta forma, a densidade do óleo de açaí estudado está de acordo com os valores de densidade encontrados na literatura, apesar de ser composto por uma mistura de óleo de açaí e óleo de girassol.

5.1.3 Estabilidade oxidativa

O método de determinação da estabilidade oxidativa de óleos através da utilização do Rancimat determina o índice de estabilidade oxidativa (OSI) de óleos e gorduras por meio da aceleração do processo de oxidação. Para isto, a amostra é exposta ao calor e a um elevado fluxo de ar e, então, o tempo para que ocorra a oxidação do produto é medido. A medida é feita através do aumento da condutividade da água, uma vez que o fluxo de ar passa pelo óleo a alta temperatura e são arrastados para a água os ácidos graxos voláteis gerados no processo de oxidação. Os ácidos graxos solubilizam na água e aumentam sua condutividade elétrica. O Rancimat fornece o valor de período de indução, ou seja, o tempo máximo em que não ocorre a formação de compostos secundários de oxidação e o tempo mínimo para que ocorra o aumento na taxa de oxidação, no índice de peróxidos, absorção do oxigênio e, então, na formação dos compostos voláteis que irão promover um aumento na condutividade (ANTONIASSI, 2001).

O óleo de açaí apresentou um índice de estabilidade oxidativa de 15 h 30 min $\pm$ 19 min. O tempo de oxidação é influenciado também pelo número de insaturações presentes nos ácidos graxos que compõem o óleo, variando entre os óleos, que são influenciados pela maturação da polpa de extração, sazonalidade e forma de extração. Contente (2016) encontrou um tempo de oxidação de 11,79 h para o óleo de açaí e, Gharby *et al.* (2014) encontraram um tempo de indução de 5 h 30 min para o óleo de girassol. O resultado encontrado indica que o óleo de açaí

do presente estudo é capaz de se manter estável por 15 h 30 min em condições extremas de temperatura, e exposição ao ar atmosférico, tempo superior ao encontrado na literatura. Devido à alta concentração em ácidos graxos poliinsaturados presentes no óleo de girassol, este apresenta uma menor estabilidade oxidativa quando comparado ao óleo de açaí uma vez que quanto maior o número de insaturações, mais instável é o óleo (GHARBY *et al.*, 2004). Apesar de o óleo de açaí apresentar alta concentração de ácidos graxos insaturados conforme descrito no item 5.1.1, a presença de compostos naturais do óleo com atividade antioxidante, além de uma provável adição de antioxidantes ao óleo por ser um produto comercial (informação não fornecida pelo fabricante), promoveram proteção contra o estresse oxidativo gerado pelo ensaio, levando a um resultado de estabilidade oxidativa superior quando comparado a estudos da literatura.

5.1.4 Avaliação da capacidade antioxidante do óleo de açaí

5.1.4.1 Capacidade redutora do Folin-Ciocalteu (fenólicos totais)

Os compostos fenólicos são uma classe de compostos que agem sequestrando os radicais livres e são responsáveis pela atividade antioxidante de muitos bioativos derivados de plantas que em muitos casos apresentam efeitos medicinais. Desta forma, os compostos fenólicos agem prevenindo ou retardando danos oxidativos aos lipídios ou outras moléculas, causados pelos radicais livres, podendo proteger contra o desenvolvimento de doenças coronárias e câncer (ALIZADEH *et al.*, 2013). O conteúdo total de compostos fenólicos para o óleo de açaí foi medido a partir da reação com o reagente de Folin-Ciocalteu e expresso em mg equivalente de ácido gálico e foi calculado a partir da curva padrão (mostrada no Apêndice B). A concentração de fenólicos encontrada para o óleo de açaí foi de 19,59 mg equivalente em ácido gálico/L óleo de açaí.

Não foram encontrados dados na literatura a respeito da concentração de compostos fenólicos no óleo de açaí. Desta forma, a atividade antioxidante do óleo de açaí foi comparada à atividade antioxidante de óleos essenciais e azeite de oliva que são óleos que possuem alta concentração em compostos fenólicos, sendo assim considerados e utilizados no presente trabalho como parâmetro para óleos com alta concentração destes compostos. Gharib e Silva (2012) avaliaram os fenólicos totais em quatro tipos de óleos essenciais: manjerona, hortelã-pimenta, hortelã e alecrim. Eles encontraram maiores concentrações em fenólicos para os óleos essenciais em relação à concentração encontrada no óleo de açaí no presente estudo. Os valores encontrados foram de 42 mg/L para óleo essencial de manjerona, 163 mg/L para óleo essencial

de hortelã-pimenta, 71 mg/L para óleo essencial de hortelã e 142 mg/L para óleo essencial de alecrim.

Baiano *et al.* (2009) quantificaram os fenólicos totais em azeites de oliva extra virgens de diferentes regiões da Itália. Os autores encontraram concentrações em fenólicos totais que variaram entre 133 e 322 mg equivalente em ácido gálico/kg de óleo no mês de produção e entre 26,53 e 147,32 mg equivalente em ácido gálico/ kg de óleo após 12 meses de estocagem, concluindo que o tempo de estocagem leva a uma perda dos compostos fenólicos, conforme esperado.

Os óleos essenciais são produtos voláteis e destilados de alta concentração, o que torna previsível que apresentem concentrações mais altas em fenólicos. Assim como os óleos essenciais, é sabido que o azeite de oliva também possui em sua composição um alto teor de compostos fenólicos. Em relação ao óleo de açaí em estudo, por ser obtido apenas por meio de prensagem a frio e diluído em óleo de girassol em uma concentração de 40 % em óleo de açaí (2,5 vezes mais diluído), era esperado que apresentasse menor concentração em fenólicos, conforme os resultados obtidos no presente trabalho.

5.1.4.2 Capacidade de sequestro dos radicais DPPH

A capacidade antioxidante do óleo de açaí foi avaliada em termos de capacidade de sequestro do radical DPPH. Os efeitos dos antioxidantes na eliminação de radicais livres têm relação com sua capacidade em doar hidrogênio, reduzindo o radical estável violeta DPPH ao amarelo DPPH-H. Desta forma, o potencial de eliminação dos radicais livres é indicado pelo grau de descoloração promovido pela amostra (AKBARI *et al.*, 2019). O valor encontrado para o óleo de açaí para o EC₅₀ (capacidade de sequestrar o radical em 50 %) foi de 19,86 mg de óleo de açaí, conforme a curva padrão construída a partir de diferentes concentrações de óleo de açaí, ilustrada no Apêndice C.

O valor encontrado de EC₅₀ equivale a 221,40 g de óleo de açaí/g de DPPH. Rufino *et al.* (2011) avaliaram a capacidade em sequestrar o radical DPPH do óleo de açaí e do azeite de oliva extravirgem. Os autores quantificaram a capacidade antioxidante para o óleo de açaí, tendo como valor para EC₅₀ de 646,30 g de óleo/g de DPPH contra 2057,27 g de óleo/g de DPPH para o azeite de oliva extravirgem. Concluiu-se que o óleo de açaí é uma fonte bastante promissora de compostos antioxidantes lipofílicos quando comparado ao azeite de oliva extravirgem, uma vez que foi necessário uma quantidade 3 vezes menor de óleo de açaí para sequestrar a mesma quantidade de radical.

Desta forma, tendo como base o estudo exposto acima, o óleo de açaí utilizado no presente estudo pode ser considerado um produto promissor a ser utilizado devido a sua atividade antioxidante. O óleo de açaí utilizado apresentou uma excelente capacidade em sequestrar o radical DPPH quando comparado a outro óleo de açaí e ao azeite de oliva extravirgem. Porém, devido ao fato de estar diluído em óleo de girassol na proporção de 2:3 (óleo de açaí:óleo de girassol) não se pode atribuir toda a atividade antioxidante somente ao óleo de açaí. Pode-se assumir que houve uma certa contribuição da atividade antioxidante do óleo de girassol bem como de possíveis antioxidantes sintéticos ou naturais adicionados ao produto por se tratar de um produto comercial.

5.1.4.3 Capacidade de sequestro dos radicais ABTS

O radical ABTS, na presença de persulfato de potássio reage e é oxidado a um radical catiônico de cor verde azulada. Ao entrar em contato com o agente antioxidante, o radical sofre redução, promovendo uma perda na sua cor que é quantificada por espectrofotômetro. Sua inibição é determinada em função da concentração do reagente trolox (CASEMIRO, 2016). Desta forma, foi obtida uma curva padrão em função da concentração de trolox, ilustrada no Apêndice D, para obtenção do resultado abaixo.

A capacidade antioxidante do óleo de açaí foi medida pela reação com o radical ABTS e o resultado obtido para o óleo de açaí foi de 1514 μg de equivalente trolox/g de óleo de açaí ou 6,05 μmol de equivalente trolox/g de óleo.

Baiano *et al.* (2009) estudaram a capacidade antioxidante de azeites de oliva extra virgens de diferentes regiões da Itália. Eles observaram que a atividade antioxidante variou de acordo com a região, tendo apresentado atividades que variaram de 29,23 a 65,07 % no mês de produção e de 16,13 a 44,86 % após 12 meses de estocagem. Os autores quantificaram a atividade antioxidante a partir da fração extraída em solução metanol/água (70%), a mesma solução utilizada na quantificação de compostos fenólicos. Desta forma a capacidade antioxidante foi relacionada à concentração de compostos fenólicos presentes nos azeites que foi maior quanto maior a concentração em fenólicos.

Durmaz *et al.* (2010) avaliaram a capacidade antioxidante em termos de sequestro do radical ABTS para o óleo de semente de damasco para diferentes tempos de torrefação. Os autores observaram que o aumento no tempo de torrefação aumentou os valores de equivalente trolox por g de óleo. Os valores encontrados para a capacidade antioxidante foram de 93,3 μg de equivalente trolox/g de óleo de semente de damasco para a semente sem torrefação e de

161,2 µg de equivalente trolox/g de óleo de damasco para a semente submetida a 30 min de torrefação.

Durmaz (2012) avaliou a capacidade antioxidante de diferentes óleos vegetais tais como óleo de girassol, óleo de milho, óleo de soja, óleo de canola, azeite de oliva extravirgem e óleo de palma em relação a capacidade de sequestro dos radicais ABTS, utilizando o α -tocoferol como padrão. O autor encontrou as seguintes atividades antioxidantes para os óleos: óleo de girassol, 600 – 700 µg equivalente em α -tocoferol/g óleo; óleo de milho, 1200 – 1300 µg equivalente em α -tocoferol/g óleo; óleo de soja, 1200 µg equivalente em α -tocoferol/g óleo; óleo de canola, 700 µg equivalente em α -tocoferol/g óleo; azeite de oliva extravirgem, 400 µg equivalente em α -tocoferol/g óleo e, óleo de palma, 1500 µg equivalente em α -tocoferol/g óleo.

Matta *et al.* (2020) avaliaram a capacidade antioxidante pelo sequestro do radical ABTS do óleo de açaí extraído a partir da polpa do açaí roxo e da polpa do açaí branco (uma variedade rara de açaí que se mantém verde após o amadurecimento). Os autores encontraram resultados inferiores a 15 µmol de equivalente trolox/g de óleo para ambos os óleos de açaí roxo e branco, resultados condizentes com o resultado obtido no presente estudo.

Diante dos estudos acima citados, observou-se que o óleo de açaí apresentou uma boa atividade antioxidante quando comparado aos demais óleos vegetais sendo promissora sua utilização devido à sua ação antioxidante. Os resultados comparados levam à conclusão, portanto, que o óleo de açaí contribuiu com o aumento da atividade antioxidante do óleo composto que foi de 1514,01 µg em equivalente trolox/g de óleo. Porém, conforme discutido no item anterior, não se pode afirmar e nem atribuir um valor exato para a atividade antioxidante do óleo de açaí e do óleo de girassol, uma vez que o óleo foi formado por uma mistura de ambos, podendo ter ocorrido uma sinergia entre os compostos presentes nos óleos.

5.1.5 Quantificação de proantocianidinas totais

As proantocianidinas, também conhecidas como taninos condensados foram quantificadas no óleo de açaí pelo método butanol/HCl. Este método é específico para proantocianidinas, sendo considerado um dos melhores métodos para quantificar taninos condensados. Através deste método, as subunidades das proantocianidinas são oxidadas levando à produção de antocianidinas cromóforas, que por sua vez promovem o aparecimento da coloração vermelha utilizada na quantificação em comprimento de ondas próximo ao 550 nm (PORTER; HRSTICH; CHAN, 1985).

A concentração encontrada de proantocianidinas foi de 66,55 mg de equivalente tanino quebracho/ 100 g óleo de açaí e seu valor foi calculado a partir da curva padrão feita a partir da reação com tanino quebracho (Apêndice F), utilizado como padrão. Matta *et al.* (2020) avaliaram a concentração de proantocianidinas do óleo de açaí extraído a partir da polpa do açaí roxo e da polpa do açaí branco, ambos do açaizeiro *Euterpe oleracea*, pelo método 4-dimetilaminocinamaldeído (DMAC). Os autores encontraram 154 mg de equivalente procianidina B1/ 100 g de óleo de açaí extraído a partir da polpa de açaí branco e 340 mg de equivalente procianidina B1/ 100 g de óleo de açaí extraído a partir da polpa de açaí roxo. A concentração obtida pelos autores foi superior à concentração obtida no presente trabalho. Vale ressaltar que o óleo de açaí em estudo é composto apenas por 40 % em óleo de açaí e os 60 % restantes são compostos por óleo de girassol. Além disso, há uma variação comum entre as concentrações dos compostos nos frutos, decorrentes da região em que o fruto é extraído e do grau de maturação. Outro fator que influencia na diferença entre os valores quantificados decorre do método utilizado bem como do padrão.

Agostini (2011) estudou a concentração de proantocianidinas em óleos de sementes de uva de diferentes qualidades (Bordô, Isabel, Cabernet Sauvignon, Merlot e Moscatto Giallo) e safras (2005 e 2006) pelo método químico butanol/HCl utilizando procianidinas B2 (PB2) como padrão para a construção da curva. A autora encontrou concentrações que variaram de 1,65 mg equivalente PB2/100 g de óleo para as uvas Isabel e Cabernet Sauvignon safra 2006 a 5,44 mg equivalente PB2/100 g de óleo de semente de uva Moscato Giallo safra 2006.

Rufino *et al.* (2011) quantificaram os taninos condensados da polpa do açaí. Os polifenóis foram extraídos e quantificados pelo método butanol/HCl. A concentração de taninos condensados encontrada na polpa do açaí foi de 1,24 g/100 g de matéria seca. A partir deste resultado os autores concluíram que a polpa do açaí possui abundância destes polifenóis.

Diante dos resultados acima apresentados, pode-se concluir que o óleo de açaí apresenta alta concentração em proantocianidinas quando comparado ao óleo de semente de uva, um produto conhecido pelas propriedades antioxidantes decorrentes da presença de taninos. Além disso, a concentração encontrada de proantocianidinas no óleo de açaí em estudo foi coerente com a concentração encontrada na literatura.

5.2 Produção das emulsões de óleo de açaí – avaliação do aspecto visual

As emulsões de óleo de açaí produzidas contendo maltodextrina como estabilizante e dextrina como emulsificante foram avaliadas quanto à estabilidade no armazenamento sob

refrigeração (7-10 °C) ao longo de 29 dias. As emulsões se mantiveram estáveis ao longo de 22 dias de armazenamento; porém, no dia 29 de armazenamento, as amostras 2 (Figura 16b), 3 (Figura 16c), 4 (Figura 16d), 5 (Figura 16e), 6 (Figura 16f), 8 (Figura 16h) e 10 (Figura 16j) apresentaram evidente separação de fases. A separação de fases pode ser observada pela indicação das setas na Figura 16.

Figura 16 - Aspecto visual das emulsões de óleo de açaí produzidas com dextrina e maltodextrina das amostras (a) 1, (b) 2, (c) 3, (d) 4 (e) 5, (f) 6, (g) 7, (h) 8, (i) 9, (j) 10, (k) 11 e (l) 12. As setas indicam a separação de fases.

Fonte: Fonte: Própria autoria.

5.2.1 Determinação de valores de diâmetro médio de gota, curvas de distribuição de diâmetro e *span*

Os diâmetros médios das emulsões, analisadas ao longo de 29 dias de estocagem, são mostrados na Tabela 7.

Tabela 7 - Diâmetros médios de gota das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com misturas de dextrina e maltodextrina, ao longo de 29 dias de armazenamento.

Amostra	Diâmetro médio (μm)				
	Dia 1	Dia 8	Dia 15	Dia 22	Dia 29
1	$8,08^a \pm 0,74$	$9,75^{ab} \pm 0,31$	$11,4^b \pm 1,09$	$10,0^{ab} \pm 0,52$	$9,68^{ab} \pm 1,15$
2	$9,40^{ab} \pm 0,33$	$11,1^{ab} \pm 1,51$	$12,1^a \pm 1,53$	$8,36^b \pm 0,98$	Desestabilizou
3	$12,0^a \pm 0,36$	$13,0^{ab} \pm 0,21$	$14,3^b \pm 0,73$	$13,1^{ab} \pm 0,91$	Desestabilizou
4	$7,49^a \pm 0,63$	$8,99^a \pm 1,37$	$8,73^a \pm 1,12$	$8,46^a \pm 3,01$	Desestabilizou
5	$8,97^a \pm 0,18$	$9,66^a \pm 1,02$	$10,4^a \pm 0,75$	$9,53^a \pm 1,47$	Desestabilizou
6	$9,79^a \pm 1,07$	$10,6^a \pm 1,04$	$10,3^a \pm 0,75$	$11,2^a \pm 0,62$	Desestabilizou
7	$7,32^a \pm 0,75$	$7,28^a \pm 0,13$	$7,88^a \pm 0,31$	$7,41^a \pm 0,49$	$7,75^a \pm 0,89$
8	$6,85^a \pm 0,06$	$7,87^b \pm 0,52$	$7,22^{ab} \pm 0,30$	$7,00^a \pm 0,24$	Desestabilizou
9	$4,75^a \pm 0,10$	$5,17^{ab} \pm 0,04$	$5,72^b \pm 0,09$	$6,70^c \pm 0,62$	$6,85^c \pm 0,26$
10	$7,38^a \pm 0,38$	$6,75^a \pm 0,61$	$7,20^a \pm 0,20$	$7,15^a \pm 0,37$	Desestabilizou
11	$5,43^a \pm 0,19$	$5,76^{bc} \pm 0,18$	$6,27^c \pm 0,13$	$6,43^c \pm 0,36$	$7,66^d \pm 0,48$
12	$3,05^a \pm 0,13$	$3,26^a \pm 0,25$	$5,76^b \pm 0,11$	$6,03^{bc} \pm 0,15$	$6,70^d \pm 0,66$

Fonte: Própria autoria

*Amostras seguidas da mesma letra, na mesma linha, indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

As emulsões se mantiveram estáveis durante o tempo em que as amostras foram analisadas, com exceção das amostras que apresentaram separação de fases no 29º dia de estocagem, conforme resultados apresentados na Tabela 7, e, portanto, não tiveram seus diâmetros medidos após a instabilidade. As amostras 1, 2, 3, 8, 9, 11 e 12 apresentaram diferenças estatísticas em relação aos diâmetros médios com o passar do tempo de armazenamento, o que pode indicar instabilidade dessas emulsões. Entretanto, as amostras 4, 5, 6, 7, 10 não apresentaram diferenças estatísticas entre os valores de diâmetro médio com o tempo de armazenamento, indicando emulsões mais estáveis, apesar de apenas a amostra 7 ter se mantido estável até o dia 29 de armazenamento.

Ao produzir uma emulsão, deve haver um equilíbrio entre a concentração de óleo e a concentração de tensoativo de forma que o tensoativo esteja presente em uma quantidade suficiente para recobrir completamente a superfície da gota (variando de 1 a 10 nm) (GUZEY; MCCLEMENTS, 2007). Desta forma, quando há o equilíbrio entre os dois compostos é possível prevenir e/ou retardar a ocorrência de fenômenos físico-químicos que provocam a separação de fases tais como separação gravitacional, maturação de Ostwald, floculação e coalescência, evitando, por exemplo, que as gotículas tenham uma maior atração entre si; ou ainda prevenir e/ou retardar fenômenos químicos tais como oxidação e hidrólise, que levam à separação de fases (DICKINSON, 2003; GUZEY; MCCLEMENTS, 2006; MASON *et al.*, 2006; MCCLEMENTS, 2005).

Além disso, no caso do presente estudo, a presença de maltodextrina na fase contínua leva a um aumento da viscosidade das amostras, levando a uma redução da intensidade do movimento browniano, evitando ou retardando que as gotículas entrem em contato umas com as outras, o que favorece a estabilidade da amostra quanto aos fenômenos físico-químicos como, por exemplo, separação gravitacional ou agregação das gotas. Porém, conforme discutido no item 2.5, existe uma concentração limite de polissacarídeos/macromoléculas para garantir a estabilidade das emulsões, denominada concentração crítica de floculação (CCF) (DICKINSON, 2003), por meio da qual, a partir desta concentração a emulsão passa ser instável por meio da floculação das gotículas.

Foi observado que as amostras contendo 8 e 10% de óleo de açaí apresentaram diâmetros médios menores em relação às amostras com concentrações de 4 e 6% de óleo de açaí. As concentrações de dextrina foram fixadas com razões proporcionais à concentração de óleo (1:0,5; 1:0,75 e 1:1), e a concentração de maltodextrina foi utilizada na razão maltodextrina:dextrina de 1:1. Os valores de diâmetros médios obtidos para estas amostras foram inferiores devido a esta relação óleo:tensoativo e maltodextrina:dextrina, apresentando maior concentração de tensoativo com o aumento da concentração de óleo, e consequentemente maior concentração de maltodextrina. Desta forma, as amostras produzidas com 8 e 10 % de óleo de açaí contém maior concentração de dextrina modificada e de maltodextrina. Assim, a maior concentração em polissacarídeos favoreceu a produção de gotículas menores devido à maior concentração de emulsificante (dextrina modificada) e devido ao fato de a maltodextrina, presente na fase aquosa em maior concentração do que as outras amostras, atuar como agente estabilizante. Entretanto, foi observado que, com o passar do tempo para as amostras com 10 % de óleo, a maior concentração de maltodextrina na fase contínua em relação às demais amostras promoveu uma tendência à floculação das gotículas da emulsão uma vez que ocorreu

um aumento no tamanho das gotículas com o tempo. Desta forma, foi observado que a concentração de maltodextrina para estas amostras ultrapassou a concentração máxima capaz de promover a flocculação das gotículas.

A capacidade de um tensoativo atuar reduzindo a tensão interfacial da interface água-óleo está relacionada com a velocidade em que ocorre o recobrimento da interface a fim de impedir o fenômeno de coalescência. A adsorção do tensoativo à interface está relacionada ao coeficiente de difusão da molécula até a interface. Dentre os fatores que influenciam nesse coeficiente de adsorção está a massa molar do tensoativo bem como a sua conformação quando em dispersão. Quanto menor a massa molar, mais rápida é a difusão e consequentemente a redução da tensão interfacial. Quando são utilizadas macromoléculas como tensoativos, como é o caso da dextrina modificada, é necessária uma maior concentração para que a emulsão seja estabilizada (BUFFO; REINECCIUS; OEHLERT, 2001; PAULO *et al.*, 2020). Outro fator que influencia a velocidade de recobrimento é o tamanho da cadeia dos ácidos graxos, a presença de insaturações e a razão grupos polares/apolares presentes no óleo que interagem na interface (GOMES; COSTA; CUNHA, 2018; PAULO *et al.*, 2020). As insaturações promovem uma perda de flexibilidade das cadeias carbônicas, aumentando também sua hidrofobicidade. Estes fatores contribuem com a necessidade de aumento da energia necessária para que ocorra a ruptura das gotículas bem como a necessidade de uma maior concentração de tensoativo para estabilizar uma emulsão (PAULO *et al.*, 2020).

Paulo *et al.* (2020) avaliaram a estabilidade de emulsões de óleo de peixe e de óleo essencial de laranja utilizando maltodextrina na fase contínua e dextrina modificada (Capsul®), isolado proteico de soro do leite (WPI) ou gelatina como agentes tensoativos. A concentração final de sólidos da emulsão foi estipulada para 24 % (m/m), em que a maltodextrina variou as concentrações de 18 a 24 % e os tensoativos variaram as concentrações de 0 a 6 %. Os resultados obtidos indicaram maiores tamanhos de partículas (aproximadamente 10 μm) e maior tensão interfacial nas amostras produzidas com gelatina levando à formação de agregados. Entretanto as amostras estabilizadas com WPI e dextrina apresentaram maior estabilidade com tamanhos de gotas de aproximadamente 2 μm para óleo de peixe e 2,4 μm para óleo essencial de laranja para ambos os tensoativos e menor tensão interfacial, para o WPI igual a 4.5 mN/m a 1.2 % m/m para óleo essencial de laranja e 5.3 mN/m a 2.4 % m/m para óleo de peixe e para a dextrina de aproximadamente 4.2 mN/m a 6 % m/m para ambos os óleos.

As curvas de distribuição do diâmetro de gota das amostras de emulsões podem ser observadas na Figura 17.

Figura 17 - Curvas de distribuição de diâmetro das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com misturas de dextrina e maltodextrina, ao longo de 29 de armazenamento. Formulações: (a) 1, (b) 2, (c) 3, (d) 4 (e) 5, (f) 6, (g) 7, (h) 8, (i) 9, (j) 10, (k) 11 e (l) 12.

Fonte: Própria autoria.

As curvas de distribuição de diâmetro mantiveram-se estáveis, e apresentaram o mesmo comportamento para todas as 12 amostras analisadas, ou seja, as curvas apresentaram distribuições semelhantes independente da concentração de óleo e de dextrina e maltodextrina. Os resultados apresentaram um deslocamento de pico de uma amostra para outra, indicando diferenças nos valores dos tamanhos das partículas entre as amostras. O tempo de estocagem não influenciou na distribuição do diâmetro das gotículas da emulsão, indicando estabilidade das amostras ao longo do tempo para as amostras analisadas, exceto para a amostra 12 que apresentou um deslocamento de pico ao longo do tempo.

Os valores de *span* das amostras podem ser observados na Tabela 8.

Tabela 8 - Valores de *span* das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com misturas de dextrina e maltodextrina, ao longo de 29 dias de armazenamento.

Amostra	<i>Span</i>				
	Dia 1	Dia 8	Dia 15	Dia 22	Dia 29
1	1,89 ^a ± 0,34	1,73 ^a ± 0,06	1,53 ^a ± 0,13	1,64 ^a ± 0,08	1,82 ^a ± 0,31
2	1,83 ^{ab} ± 0,12	1,64 ^a ± 0,26	1,47 ^a ± 0,11	2,20 ^b ± 0,19	Desestabilizou
3	1,50 ^a ± 0,06	1,50 ^a ± 0,06	1,42 ^a ± 0,08	1,53 ^a ± 0,08	Desestabilizou
4	2,12 ^a ± 0,28	1,92 ^a ± 0,16	1,96 ^a ± 0,19	2,31 ^a ± 0,73	Desestabilizou
5	1,65 ^a ± 0,05	1,73 ^a ± 0,09	1,64 ^a ± 0,11	1,71 ^a ± 0,2	Desestabilizou
6	1,62 ^a ± 0,06	1,50 ^a ± 0,12	1,60 ^a ± 0,07	1,40 ^a ± 0,08	Desestabilizou
7	2,29 ^a ± 0,20	2,05 ^a ± 0,14	1,99 ^a ± 0,15	2,02 ^a ± 0,19	2,13 ^a ± 0,27
8	1,40 ^a ± 0,41	1,22 ^a ± 0,24	1,38 ^a ± 0,41	1,60 ^a ± 0,22	Desestabilizou
9	2,19 ^a ± 0,07	2,01 ^{ab} ± 0,04	1,84 ^{bc} ± 0,14	1,75 ^{bc} ± 0,14	1,52 ^c ± 0,16
10	2,02 ^a ± 0,09	2,30 ^a ± 0,22	2,07 ^a ± 0,05	2,16 ^a ± 0,07	Desestabilizou
11	1,99 ^a ± 0,05	1,91 ^{ab} ± 0,06	1,82 ^{ab} ± 0,04	1,77 ^b ± 0,11	1,55 ^c ± 0,08
12	1,88 ^a ± 0,02	1,84 ^a ± 0,05	1,60 ^b ± 0,15	1,56 ^b ± 0,02	1,58 ^b ± 0,01

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

Pode-se observar que os valores de *span* das amostras variaram entre 1,40 e 2,29 ao longo de 29 dias de armazenamento. O valor de *span* está relacionado à estabilidade das emulsões, sendo um indicativo de homogeneidade na distribuição de tamanho de gota das emulsões - quanto menor o seu valor, mais homogênea a distribuição de tamanho de gota (KARIMI; MOHAMMADIFAR, 2014). Os resultados indicaram que as amostras 3, 5, 6 e 8 apresentaram menores valores para *span* e não apresentaram diferenças significativas ao longo do tempo de armazenamento. Porém, as amostras 1, 7 e 10 também não apresentaram diferenças significativas, apesar de valores de *span* um pouco superiores. No entanto, além de manter os valores de *span* constantes, as amostras 1 e 7 apresentaram, de fato, estabilidade ao longo dos 29 dias analisados.

Paulo *et al.* (2020) avaliaram os valores de *span* de emulsões produzidas com maltodextrina e dextrina modificada encapsulando óleo de peixe e óleo essencial de laranja. Os

autores encontraram valores de *span* similares aos valores encontrados no presente estudo, tendo variado entre 1,81 e 2,42.

5.2.2 Parâmetros colorimétricos

A Tabela 9 apresenta os resultados obtidos para o parâmetro colorimétrico L* (luminosidade) das doze formulações de emulsão estudadas ao longo de 29 dias de armazenamento, em intervalos de 7 dias.

Tabela 9 - Valores do parâmetro colorimétrico L* das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com dextrina e maltodextrina, ao longo de 29 dias de armazenamento.

Amostra	Dia 1	Dia 8	Dia 15	Dia 22	Dia 29
1	50,0 ^a ± 0,33	49,9 ^a ± 0,18	49,0 ^b ± 0,26	49,1 ^b ± 0,04	50,7 ^c ± 0,29
2	48,3 ^a ± 0,10	47,5 ^b ± 0,07	47,4 ^b ± 0,40	46,9 ^c ± 0,05	Desestabilizou
3	45,5 ^a ± 0,08	44,6 ^b ± 0,11	43,6 ^c ± 0,38	43,9 ^d ± 0,07	Desestabilizou
4	54,2 ^a ± 0,33	53,9 ^{ab} ± 0,30	53,1 ^c ± 0,23	53,5 ^{bc} ± 0,43	Desestabilizou
5	53,6 ^a ± 0,24	53,0 ^b ± 0,20	52,7 ^c ± 0,22	52,9 ^{bc} ± 0,12	Desestabilizou
6	53,1 ^a ± 0,35	52,9 ^a ± 0,10	52,4 ^b ± 0,22	52,5 ^b ± 0,17	53,7 ^c ± 0,26
7	55,7 ^{ab} ± 0,30	55,9 ^{ab} ± 0,14	55,4 ^a ± 0,33	56,2 ^b ± 0,18	56,9 ^c ± 0,75
8	55,2 ^a ± 0,24	54,5 ^b ± 0,19	54,2 ^b ± 0,31	55,2 ^a ± 0,40	Desestabilizou
9	55,3 ^a ± 0,40	55,0 ^{ab} ± 0,13	54,8 ^b ± 0,10	55,1 ^{ab} ± 0,54	54,8 ^b ± 0,10
10	57,7 ^a ± 0,32	57,0 ^b ± 0,12	57,1 ^b ± 0,05	56,9 ^b ± 0,06	Desestabilizou
11	56,9 ^a ± 0,36	56,5 ^{ab} ± 0,06	56,6 ^{ab} ± 0,70	56,0 ^c ± 0,08	56,4 ^{bc} ± 0,06
12	58,5 ^a ± 0,16	58,2 ^b ± 0,22	57,2 ^c ± 0,14	56,7 ^d ± 0,08	57,1 ^c ± 0,11

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

O parâmetro luminosidade apresentou variação em todas as amostras com o tempo de armazenamento. Para todas as amostras, o valor de L* reduziu com o passar do tempo, com exceção da amostra 7 que apresentou um leve aumento no valor do parâmetro. Todas as amostras apresentaram diferenças estatísticas com o tempo de armazenamento.

O aumento na concentração de óleo de açaí levou ao aumento no valor do parâmetro luminosidade. O aumento na concentração de óleo promove o aumento no número de gotículas dispersas no meio contínuo e, conseqüentemente, o aumento na opacidade da emulsão. Este fator pode ser relacionado a um aumento do parâmetro L*. Como a inclusão de maltodextrina e dextrina modificada foram proporcionais à concentração de óleo, quanto mais óleo na

emulsão, mais polissacarídeos. Os resultados indicaram que para uma mesma concentração de óleo, mas proporções maiores de polissacarídeos, ocorreu uma redução nos valores do parâmetro L^* . Apesar de os polissacarídeos apresentarem uma coloração clara, amarelada em dispersão, o aumento na concentração adicionada à emulsão em uma mesma concentração de óleo promoveu a redução deste parâmetro (L^*). Os resultados podem ser explicados pela interação da dextrina modificada (cor amarelada), que apresenta características anfifílicas devido à modificação em sua cadeia pela inclusão de frações hidrofóbicas, com o óleo de açaí (cor roxa) reduzindo os valores de L^* para tratamentos com uma mesma concentração de óleo e aumento gradual na concentração de polissacarídeos. Assim, quanto maior a concentração de dextrina modificada, maior a camada da interface água-óleo e a interação com a fase oleosa e menor o valor de L^* .

A Tabela 10 apresenta os resultados obtidos para o parâmetro colorimétrico a^* , que mede a diferença entre o verde (-) e o vermelho (+), das doze formulações de emulsão estudadas ao longo de 29 dias de armazenamento, em intervalos de 7 dias.

Tabela 10 - Valores do parâmetro colorimétrico a^* das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com dextrina e maltodextrina, ao longo de 29 dias de armazenamento.

Amostra	Dia 1	Dia 8	Dia 15	Dia 22	Dia 29
1	2,21 ^a ± 0,14	2,25 ^a ± 0,16	2,27 ^a ± 0,27	2,37 ^a ± 0,11	2,17 ^a ± 0,05
2	1,95 ^a ± 0,08	1,87 ^a ± 0,18	2,12 ^b ± 0,13	2,22 ^b ± 0,09	Desestabilizou
3	1,85 ^a ± 0,09	1,87 ^{ab} ± 0,11	1,80 ^a ± 0,24	2,06 ^b ± 0,09	Desestabilizou
4	3,25 ^{ab} ± 0,13	3,23 ^{ab} ± 0,09	3,34 ^b ± 0,09	3,20 ^a ± 0,09	Desestabilizou
5	3,23 ^{ab} ± 0,07	3,23 ^{ab} ± 0,07	3,32 ^b ± 0,12	3,13 ^a ± 0,08	Desestabilizou
6	2,96 ^a ± 0,07	3,01 ^a ± 0,05	3,13 ^b ± 0,07	3,01 ^a ± 0,08	3,20 ^b ± 0,08
7	4,25 ^a ± 0,07	4,13 ^b ± 0,07	4,30 ^a ± 0,06	4,06 ^b ± 0,11	4,29 ^a ± 0,12
8	3,80 ^a ± 0,07	3,98 ^b ± 0,08	4,10 ^c ± 0,09	4,09 ^{bc} ± 0,11	Desestabilizou
9	3,58 ^a ± 0,07	3,76 ^b ± 0,11	3,77 ^b ± 0,10	3,74 ^b ± 0,05	3,78 ^b ± 0,09
10	4,84 ^a ± 0,05	4,82 ^a ± 0,07	4,84 ^a ± 0,10	4,85 ^a ± 0,08	Desestabilizou
11	4,46 ^a ± 0,06	4,47 ^a ± 0,04	4,49 ^a ± 0,09	4,53 ^a ± 0,09	4,48 ^a ± 0,05
12	4,17 ^a ± 0,07	4,26 ^a ± 0,11	4,25 ^a ± 0,11	4,24 ^a ± 0,08	4,19 ^a ± 0,10

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

Os valores encontrados para o parâmetro a^* ao longo dos 29 dias de armazenamento apresentaram uma pequena variação com o tempo, apresentando em algumas amostras diferenças significativas com o passar dos dias. Os valores positivos indicam uma tendência de cor para o vermelho, o que tornam os resultados coerentes com a cor do óleo de açaí, uma vez que ele possui uma coloração roxa escura, provavelmente devido ao arraste de antocianinas do açaí na extração do óleo da polpa. Desta forma, apesar das pequenas variações encontradas, a cor da amostra relacionada ao vermelho pode ser considerada estável com o tempo de armazenamento.

Além disso, observou-se que com o aumento na concentração de óleo de açaí nas emulsões, ocorreu o aumento nos valores de a^* . Estes resultados são coerentes, uma vez que com o aumento da concentração de óleo, ocorre o aumento na intensidade da cor das emulsões tendendo ao vermelho, aumentando os valores do parâmetro em estudo. Os grupos de amostras que possuem a mesma concentração de óleo, porém diferentes concentrações em polissacarídeos apresentaram redução nos valores de a^* com o aumento na concentração dos polissacarídeos. Estes resultados podem estar relacionados à redução na tonalidade da amostra com a adição da maltodextrina (cor branca) e da dextrina modificada (cor creme), uma vez que a interação do branco/creme com o roxo do açaí promove a redução na intensidade da cor, levando ao clareamento o que provavelmente reduziu os valores de a^* .

A Tabela 11 apresenta os resultados obtidos para o parâmetro colorimétrico b^* , que mede a diferença entre o azul (-) e o amarelo (+), das doze formulações de emulsão estudadas ao longo de 29 dias de armazenamento, em intervalos de 7 dias.

Tabela 11 - Valores do parâmetro colorimétrico b^* das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com dextrina e maltodextrina, ao longo de 29 dias de armazenamento.

Amostra	Dia 1	Dia 8	Dia 15	Dia 22	Dia 29
1	$-1,19^a \pm 0,09$	$-1,53^b \pm 0,12$	$-1,53^b \pm 0,10$	$-1,24^a \pm 0,11$	$-1,46^b \pm 0,14$
2	$-0,62^a \pm 0,14$	$-1,12^b \pm 0,06$	$-0,96^c \pm 0,12$	$-0,76^d \pm 0,07$	Desestabilizou
3	$0,19^a \pm 0,10$	$-0,24^b \pm 0,16$	$-0,21^c \pm 0,09$	$0,19^a \pm 0,08$	Desestabilizou
4	$-0,45^a \pm 0,08$	$-0,34^b \pm 0,11$	$-0,67^c \pm 0,07$	$-0,47^a \pm 0,07$	Desestabilizou
5	$0,51^a \pm 0,09$	$0,51^a \pm 0,09$	$0,24^b \pm 0,09$	$0,37^c \pm 0,10$	Desestabilizou
6	$1,53^a \pm 0,10$	$1,57^a \pm 0,010$	$1,22^{bc} \pm 0,09$	$1,32^b \pm 0,09$	$1,17^c \pm 0,12$
7	$0,34^a \pm 0,08$	$0,21^{bc} \pm 0,04$	$0,18^{bc} \pm 0,05$	$0,25^b \pm 0,08$	$0,15^c \pm 0,04$
8	$1,38^a \pm 0,07$	$1,25^b \pm 0,09$	$1,23^b \pm 0,07$	$0,18^b \pm 0,07$	Desestabilizou
9	$1,68^a \pm 0,17$	$4,58^{ab} \pm 0,13$	$1,44^{bc} \pm 0,07$	$1,30^c \pm 0,10$	$1,39^c \pm 0,10$
10	$0,84^a \pm 0,09$	$0,67^b \pm 0,09$	$0,72^b \pm 0,10$	$0,69^b \pm 0,07$	Desestabilizou
11	$1,71^a \pm 0,08$	$1,64^a \pm 0,04$	$1,50^b \pm 0,09$	$1,43^b \pm 0,08$	$1,44^b \pm 0,08$
12	$2,15^a \pm 0,10$	$2,06^{ab} \pm 0,13$	$1,94^{bc} \pm 0,12$	$1,80^c \pm 0,09$	$1,82^c \pm 0,12$

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

Os valores encontrados para o parâmetro b^* ao longo dos 29 dias de armazenamento apresentaram variação com o tempo, apresentando em todas as amostras diferenças significativas com o passar dos dias. As amostras com menor concentração em óleo e em polissacarídeos, 4% (1:0,5 e 1:0,75) e 6 % (1:0,5), amostras 1, 2 e 4 respectivamente, apresentaram valores negativos, ou seja, tendendo ao azul. Com o aumento na concentração de óleo e polissacarídeos, os valores de b^* aumentaram e se tornaram positivos, tendendo à cor amarela. Provavelmente, o aumento na concentração de óleo, que tem como consequência o aumento na concentração de dextrina modificada nas formulações desenvolvidas, levou a uma tendência ao amarelo com o aumento deste polissacarídeo. Diferentemente, as amostras com menor concentração de óleo possuem menor concentração em dextrina o que possivelmente refletiram em uma maior exposição das antocianinas do óleo, tendendo ao azul. Assim, a encapsulação do óleo de açaí tendo como tensoativo os polissacarídeos em baixa concentração pode ter promovido a formação de uma fina camada na interface óleo – água que levaram as cores destas amostras a terem uma tendência à cor azul.

Para as amostras com a mesma concentração de óleo que apresentam um aumento na concentração de polissacarídeos, o valor de b^* aumentou com o aumento da concentração de

dextrina modificada e maltodextrina, tendendo a cor mais ao amarelo do que ao azul. O aumento na concentração dos polissacarídeos que apresentam cor creme e branca, respectivamente, pode ter promovido formação de uma interface mais espessa ao redor das gotículas além de modificar a cor da fase contínua que se torna amarelada com a dispersão dos polissacarídeos, reduzindo a intensidade da cor do óleo de açaí, que tende mais ao azul devido à presença das antocianinas, e aumentando a intensidade da cor dos polissacarídeos. Desta forma, os valores de b^* encontrados foram positivos e aumentaram com o aumento na concentração de polissacarídeos.

O parâmetro colorimétrico croma das amostras foi calculado para avaliar a estabilidade da cor das emulsões na estocagem conforme os dados indicados na Tabela 12.

Tabela 12 - Valores de Croma das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com misturas de dextrina e maltodextrina, ao longo de 29 dias de armazenamento.

Amostra	Dia 1	Dia 8	Dia 15	Dia 22	Dia 29
1	2,51 ^a ± 0,14	2,72 ^{ab} ± 0,18	2,75 ^b ± 0,21	2,68 ^{ab} ± 0,13	2,62 ^{ab} ± 0,10
2	2,05 ^a ± 0,09	2,18 ^{ab} ± 0,17	2,33 ^{bc} ± 0,12	2,34 ^c ± 0,10	Desestabilizou
3	1,86 ^a ± 0,09	1,89 ^{ab} ± 0,12	1,81 ^a ± 0,24	2,07 ^b ± 0,08	Desestabilizou
4	3,28 ^{ab} ± 0,13	3,25 ^a ± 0,09	3,41 ^b ± 0,08	3,23 ^a ± 0,10	Desestabilizou
5	3,27 ^{ab} ± 0,07	3,28 ^a ± 0,07	3,33 ^a ± 0,12	3,16 ^b ± 0,08	Desestabilizou
6	3,33 ^{ab} ± 0,07	3,40 ^b ± 0,07	3,37 ^{ab} ± 0,05	3,29 ^a ± 0,08	3,41 ^b ± 0,08
7	4,27 ^a ± 0,07	4,13 ^b ± 0,07	4,30 ^a ± 0,06	4,07 ^b ± 0,11	4,29 ^a ± 0,12
8	4,04 ^a ± 0,09	4,17 ^b ± 0,07	4,29 ^c ± 0,09	4,26 ^{bc} ± 0,10	Desestabilizou
9	3,95 ^a ± 0,10	4,08 ^a ± 0,11	4,03 ^a ± 0,09	3,96 ^a ± 0,05	3,97 ^a ± 0,08
10	4,91 ^a ± 0,05	4,87 ^a ± 0,02	4,89 ^a ± 0,10	4,90 ^a ± 0,07	Desestabilizou
11	4,78 ^a ± 0,00	4,76 ^a ± 0,04	4,74 ^a ± 0,08	4,75 ^a ± 0,09	4,70 ^a ± 0,05
12	4,69 ^{ab} ± ,09	4,74 ^a ± 0,15	4,67 ^{ab} ± 0,10	4,61 ^{ab} ± 0,07	4,57 ^{ab} ± 0,11

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

O parâmetro croma indica a manutenção da intensidade da cor das amostras e se mostrou coerente nos resultados uma vez que quanto maior foi a concentração de óleo de açaí presente nas emulsões, maior foi o valor de croma. Os valores de croma calculados apresentaram pequenas variações ao longo das semanas de armazenamento apesar de apresentarem, em sua maioria, diferenças estatísticas.

Para todas as amostras o parâmetro croma sofreu influência da concentração de emulsificantes entre as amostras, conforme pode-se observar nos resultados, havendo redução no valor de croma com o aumento da concentração de emulsificantes. Como discutido acima para os parâmetros a^* e b^* , provavelmente esta redução nos valores de croma para as amostras que possuem a mesma concentração em óleo de açaí, porém diferentes concentrações de polissacarídeos, está relacionada à perda de intensidade da cor da emulsão influenciada pela interação do óleo de açaí com uma maior concentração de dextrina modificada. Esta maior interação com o óleo pode promover a formação de uma espessura maior na interface água-óleo. Além disso, o aumento na concentração de maltodextrina pode ter promovido alteração na coloração da fase contínua ocasionando também, em conjunto com a dextrina modificada, a redução na intensidade da cor das emulsões.

Os valores encontrados para o parâmetro de ângulo de Hue variaram entre as amostras de 359° a 1° , conforme pode ser observado na Tabela 13.

Tabela 13 - Valores de Ângulo de Hue das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com misturas de dextrina e maltodextrina, ao longo de 29 dias de armazenamento.

Amostra	Dia 1	Dia 8	Dia 15	Dia 22	Dia 29
1	$359,97^a \pm 0,003$	$359,94^b \pm 0,001$	$359,90^b \pm 0,004$	$359,96^a \pm 0,003$	$359,96^b \pm 0,002$
2	$359,94^a \pm 0,011$	$359,97^b \pm 0,002$	$359,96^c \pm 0,005$	$359,95^a \pm 0,003$	Desestabilizou
3	$0,253^a \pm 0,23$	$359,99^b \pm 0,44$	$359,86^b \pm 0,07$	$0,241^a \pm 0,014$	Desestabilizou
4	$359,87^a \pm 0,022$	$359,82^b \pm 0,050$	$359,91^c \pm 0,010$	$359,88^{ac} \pm 0,016$	Desestabilizou
5	$0,115^a \pm 0,021$	$0,115^a \pm 0,018$	$0,284^b \pm 0,129$	$0,158^b \pm 0,044$	Desestabilizou
6	$0,037^a \pm 0,002$	$0,036^a \pm 0,002$	$0,047^b \pm 0,004$	$0,042^c \pm 0,003$	$0,051^b \pm 0,005$
7	$0,270^a \pm 0,05$	$0,351^{ab} \pm 0,07$	$0,444^{bc} \pm 0,10$	$0,306^a \pm 0,07$	$0,538^c \pm 0,15$
8	$0,051^a \pm 0,003$	$0,058^b \pm 0,004$	$0,060^{ab} \pm 0,003$	$0,062^b \pm 0,004$	Desestabilizou
9	$0,040^a \pm 0,004$	$0,044^{ab} \pm 0,004$	$0,048^{bc} \pm 0,003$	$0,053^c \pm 0,004$	$0,050^c \pm 0,003$
10	$0,103^a \pm 0,011$	$0,127^b \pm 0,015$	$0,120^{bc} \pm 0,018$	$0,125^b \pm 0,015$	Desestabilizou
11	$0,048^a \pm 0,002$	$0,050^a \pm 0,001$	$0,054^b \pm 0,003$	$0,057^b \pm 0,003$	$0,057^b \pm 0,003$
12	$0,037^a \pm 0,001$	$0,039^{ab} \pm 0,001$	$0,041^{bc} \pm 0,003$	$0,044^c \pm 0,002$	$0,043^c \pm 0,003$

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

No diagrama CieLab, conforme Figura 18, estes valores encontram-se entre as cores púrpura avermelhado e vermelho púrpura, podendo ser associados às antocianinas responsáveis

pela cor do óleo de açaí. Os valores para o ângulo de Hue se mantiveram relativamente estáveis ao longo da estocagem de todas as amostras apesar de alguns dos resultados apresentarem diferenças estatísticas.

O aumento na concentração de óleo de açaí promoveu o deslocamento nos valores das amostras de púrpura avermelhado para vermelho púrpura, resultado que pode ser relacionado à maior intensidade da cor com o aumento da concentração do óleo, como discutido para o parâmetro croma, e comprovado com os valores obtidos com o ângulo de Hue, uma vez que o vermelho púrpura indica uma maior tendência de cor para o vermelho do que o púrpura avermelhado, levando à conclusão novamente que há influência do aumento na concentração de antocianinas com aumento da concentração de óleo intensificando a cor para o vermelho.

Figura 18 - Diagrama Cielab contendo a sequência de nuances cores e orientação do ângulo de Hue.

Fonte: ADRIANO, E.; LEONEL, S.; EVANGELISTA, R. M. Qualidade de fruto de aceroleira Cv. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, p. 544, 2011.

E por fim, os valores encontrados para diferença total de cor estão indicados na Tabela 14. Os valores mostrados são referentes a 22 dias de armazenamento uma vez que foi o tempo máximo em que todas as amostras mantiveram estabilidade. Pode-se observar que todas as amostras apresentaram alterações de cor bastante baixas. As amostras com concentrações de 6 e 8 % de óleo foram as amostras que apresentaram as menores alterações nas cores das emulsões, independente das concentrações de polissacarídeos. De forma geral, todas as amostras tiveram suas cores preservadas ao longo do tempo, havendo maiores alterações para as amostras 2, 3 (ambas com 4 % de óleo) e 12 (10 % de óleo de açaí). As demais amostras apresentaram alterações com valores inferiores a 1, ou seja, maior estabilidade na variação da cor.

Tabela 14 - Valores de diferença total de cor (ΔE^*) das emulsões de óleo de açaí estabilizadas com misturas de dextrina e maltodextrina, após 22 dias de armazenamento.

Amostra	Dia 22	Amostra	Dia 22
1	0,95	7	0,52
2	1,37	8	0,37
3	1,59	9	0,45
4	0,66	10	0,73
5	0,77	11	0,95
6	0,65	12	1,84

Fonte: Própria autoria.

A partir dos resultados obtidos de diâmetro médio de gotícula, distribuição do tamanho de gotículas e de *span*, bem como da avaliação da estabilidade das emulsões foi possível selecionar a emulsão mais estável para posterior caracterização e aplicação no iogurte. A emulsão selecionada foi a amostra 7, composta de 8 % de óleo de açaí, 4 % de dextrina e 4 % de maltodextrina, uma vez que ela apresentou estabilidade ao longo de 29 dias de armazenamento, e não apresentou diferenças estatísticas tanto nos valores de diâmetro médio quanto nos valores de *span*. Além disso, se mostrou bastante estável do ponto de vista dos parâmetros colorimétricos.

5.2.3 Determinação do potencial zeta da emulsão escolhida para caracterização físico-química ao longo do tempo

O potencial zeta é a medida da densidade de carga média na superfície das gotículas da emulsão, que indica potencial estabilidade de emulsões (SHANMUGAM; ASHKKUMAR, 2014). A dextrina modificada, devido ao seu caráter anfifílico, adsorve na superfície das gotículas de óleo e pode fornecer cargas a tais superfícies. Quanto maior o valor da carga conferida à superfície das gotículas de óleo, maior o indicativo de estabilidade das emulsões uma vez que maior será a repulsão entre as gotículas e menor será a tendência à coalescência entre as gotas. Dessa forma, a tendência à separação de fases pode ser diminuída. Observou-se, na emulsão 7 (composta por 8 % de óleo de açaí, 4 % de dextrina e 4 % de maltodextrina), que no dia 1 após a produção o valor do potencial zeta foi de $-52,6$ mV, valor que indica estabilidade do sistema. Com o passar das semanas, esse valor foi reduzido, em módulo, apresentando diferenças significativas com o passar do tempo. O valor de potencial zeta encontrado no dia 29 de armazenamento foi de $-22,26$ mV. Observou-se que ocorreu a redução

de valores em módulo para o potencial, mas apesar da redução ainda houve a manutenção de cargas na superfície das gotículas capaz de ajudar a manter a estabilidade da emulsão, devido à repulsão eletrostática. Paulo *et al.* (2020) encontraram valores de potencial zeta que variaram entre -30,03 e -31,33 em emulsões de óleo de peixe utilizando 22,8 % de maltodextrina e 1,2 % de dextrina modificada e 20,4 % de maltodextrina e 3,6 % de dextrina modificada, respectivamente, e; -27,50 e -27,57 em emulsões de óleo essencial de laranja utilizando 22,8 % de maltodextrina e 1,2 % de dextrina modificada e 20,4 % de maltodextrina e 3,6 % de dextrina modificada, respectivamente.

Os resultados de potencial zeta obtidos no presente trabalho (Figura 19) podem ser comparados aos resultados de tamanho de gotículas (Tabela 7) e de *span* para a amostra 7 (Tabela 8), bem como às imagens obtidas (Figura 16), que indicaram que a emulsão se manteve estável durante os 29 dias de armazenamento, sem apresentar separação de fases.

Figura 19 - Valores de potencial zeta da emulsão 7, composta por 8 % de óleo de açaí, 4% de dextrina e 4% de maltodextrina, ao longo de 29 dias de armazenamento.

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

5.2.4 Morfologia das emulsões

As Figuras 20(a) e 20(b) são representadas por micrografias da emulsão 7, formada por 8 % de óleo de açaí, 4% de dextrina e 4% de maltodextrina. É possível observar nas imagens que a delimitação entre as fases, a interface-água-óleo, é bem definida, sendo possível observar um filme formado ao redor das gotículas de óleo. Esta delimitação é resultado da deposição da camada polissacarídica na superfície das gotículas uma vez que a dextrina modificada possui propriedades surfactantes sendo responsável por estabilizar a emulsão e permitir a dispersão

das gotículas de óleo em fase contínua água. Além disso, também foi possível observar uma heterogeneidade nos tamanhos das gotas, apresentando gotículas maiores e gotículas de tamanhos mais reduzidos o que condiz com a curva de distribuição de tamanho de gotículas representados na Figura 17. As gotículas de óleo encontram-se dispersas na fase contínua e em formatos esféricos, típicos de sistemas emulsionados uma vez que gotículas esféricas representam a forma termodinâmica mais estável para o sistema emulsão.

Por sua vez, as Figuras 20(c) e 20(d) apresentam micrografias ópticas de fluorescência da emulsão 7, em que a fase oleosa da emulsão foi corada com corante Nile red na Figura 20(a) e os polissacarídeos foram corados com FTIC (Figura 20(d)). As amostras foram analisadas em microscópio óptico de fluorescência. Observou-se que a densidade de gotículas foi alta, apresentando uma alta concentração em gotículas bastante próximas umas das outras, tendendo à floculação, o que pode favorecer a coalescência das gotas. Além disso, observou-se que os tamanhos foram bastante variados, resultado que pôde ser observado pela largura da base dos gráficos de distribuição de tamanho de gotículas na Figura 17.

Figura 20 - Micrografias da emulsão 7, composta por 8 % de óleo de açaí, 4 % de dextrina e 4 % de maltodextrina, obtidas em microscópio óptico: (a) aumento: 40x, (b) aumento de 400 x e obtidas por microscópio óptico de fluorescência: (c) aumento de 100 x (Corante da fase oleosa: Nile red) e (d) aumento de 100 x. (Corante dos polissacarídeos: FTIC).

Fonte: Própria autoria.

5.2.5 Avaliação da capacidade antioxidante do óleo de açaí emulsionado

A capacidade antioxidante do óleo de açaí emulsionado foi avaliada ao longo de 29 dias de armazenamento em relação à capacidade de reduzir o radical DPPH conforme ilustrado na Figura 21. A capacidade antioxidante do óleo de açaí emulsionado se manteve estável ao longo dos 29 dias de armazenamento. Observou-se que, ao 8º e 15º dias houve o aumento no volume de emulsão necessária para reduzir o radical em 50 %, apresentando diferenças significativas, porém nos dias 22 e 29 observou-se que o volume de emulsão foi similar ao volume inicial. Desta forma, é possível afirmar que houve estabilidade da capacidade antioxidante durante os 29 dias de armazenamento da emulsão.

Figura 21 - Volume de emulsão de óleo de açaí capaz de reduzir em 50 % o radical DPPH• ao longo do tempo de armazenamento.

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

A capacidade antioxidante do óleo de açaí emulsionado foi avaliada também em termos de capacidade de sequestro do radical ABTS, conforme ilustrado na Figura 22. Os resultados encontrados indicaram estabilidade da atividade antioxidante do óleo de açaí emulsionado ao longo dos 29 dias de armazenamento da emulsão. Os resultados indicaram um leve aumento no volume de emulsão necessário para reduzir o radical em 50 %, porém os resultados não apresentaram diferenças significativas ao longo do tempo indicando que o óleo emulsionado se manteve estável ao longo dos 29 dias de armazenamento.

Figura 22 - Volume de emulsão capaz de reduzir em 50 % o radical ABTS• ao longo do tempo de armazenamento

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

Tanto para os resultados de sequestro do radical DPPH quanto para os resultados de sequestro do radical ABTS o sistema emulsionado se mostrou estável ao longo do tempo, sendo que um resultado confirma o outro. Observou-se que o radical ABTS apresentou maior sensibilidade aos ativos antioxidantes do que o radical DPPH, sendo necessário uma quantidade maior de emulsão para reduzir o DPPH do que para reduzir o ABTS. Martysiak-Zurowska e Wenta (2012) também observaram que o radical ABTS foi mais sensível em detectar atividade antioxidante do que o radical DPPH, tendo encontrado maiores valores de atividade antioxidante para as mesmas amostras com o radical ABTS ao estudar a capacidade antioxidante de leite humano, concluindo que o ABTS foi mais sensível e mais reprodutível. Kuskoski *et al.* (2005) confirmaram a teoria de que o método utilizando o radical ABTS possui uma maior sensibilidade comparado ao método DPPH, uma vez que é um método mais prático pela rápida reação de 6 min, contra a reação de 30 min para o DPPH, sendo considerado também mais estável. Segundo Martinez *et al.* (2006), o radical DPPH é realmente mais estável devido a sua estrutura. Ele é formado por três anéis aromáticos favorecendo a ressonância o que aumenta a estabilidade da sua carga eletrônica.

O óleo de açaí emulsionado encontra-se encapsulado, tendo como agentes tensoativos na interface água – óleo dextrina modificada e maltodextrina. Sabe-se que a maltodextrina é utilizada como material de parede de produtos encapsulados por spray dryer devido à sua capacidade de proteger os compostos contra a oxidação apesar de possuir baixa capacidade de

emulsificação (CARNEIRO, 2011). A utilização de dextrina modificada e maltodextrina como agentes tensoativos promoveu proteção contra a oxidação, tendo funcionado como barreiras à passagem do oxigênio, evitando a formação dos radicais livres e, conseqüentemente, a perda da atividade antioxidante pelo óleo de açaí emulsionado. Desta forma, pelos resultados obtidos foi possível observar que a atividade antioxidante do óleo de açaí emulsionado foi mantida ao longo dos 29 dias de armazenamento.

5.2.5.1 Quantificação de proantocianidinas totais no óleo de açaí emulsionado

As proantocianidinas foram quantificadas no óleo de açaí emulsionado e avaliada sua estabilidade ao longo de 29 dias de armazenamento, conforme ilustrado na Figura 23.

Figura 23 - Concentração de proantocianidinas na emulsão de óleo de açaí

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

Os resultados encontrados pelo método espectrofotométrico indicaram estabilidade na concentração das proantocianidinas no óleo emulsionado. Os resultados obtidos não apresentaram diferenças estatísticas após os 29 dias de armazenamento, levando a concluir que ocorreu a preservação das proantocianidinas no óleo de açaí emulsionado ao longo dos 29 dias de armazenamento, não tendo havido perdas significativas durante este período.

5.2.6 Avaliação da oxidação lipídica das emulsões de óleo de açaí

O índice de peróxido é um fator que indica se houve formação de peróxidos como produtos primários de oxidação dos ácidos graxos (AG) presentes no óleo. Na fase de iniciação (Figura 24), a primeira fase da autoxidação dos ácidos graxos, ocorre a formação dos radicais livres através da retirada de um hidrogênio do carbono alílico da cadeia do AG. Os radicais livres formados atuam, desta forma como propagadores da reação de autoxidação, levando a um processo autocatalítico. Desta forma, na fase de propagação os radicais livres ficam susceptíveis à ação do oxigênio levando à formação dos peróxidos, que são os produtos primários da oxidação. A fase término resulta na combinação de dois radicais livres levando a formação de produtos estáveis, produtos secundários de oxidação que são obtidos pelo rearranjo ou junção dos peróxidos. Portanto, nesta fase ocorre uma redução na quantidade de peróxidos (RAMALHO; JORGE, 2006).

Figura 24 - Etapas da reação de oxidação de ácidos graxos

Fonte: RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química Nova*, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

O índice de peróxido do óleo emulsionado foi avaliado ao longo dos 29 dias de armazenamento da emulsão e calculado segundo curva padrão mostrada no Apêndice A. Observou-se que o valor encontrado para índice de peróxido se manteve estável até o dia 15 de armazenamento (Figura 25) variando de 1,98 a 2,29 mEq/L de emulsão. Entretanto, passados 22 dias seu valor apresentou aumento para 3,29 mEq/L de emulsão que foi mais intenso após

29 dias, atingindo 3,95 mEq/L de emulsão, valor que representa o dobro em relação ao menor índice encontrado para o dia 8, de 1,98 mEq/L. Em termos de comparação, é sabido que 1 mEq equivale a 2 mmol de hidroperóxido (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Houve diferenças estatísticas entre os resultados a partir de 22 dias de armazenamento.

Figura 25 - Variação do índice de peróxidos da emulsão de óleo de açaí ao longo do tempo de armazenagem

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

Na produção da emulsão ocorre a redução no tamanho das gotículas de óleo o que faz com que o óleo se torne mais exposto aos processos oxidativos devido à maior superfície de contato. Outro fator que favorece a oxidação é o próprio processo de emulsificação por alto cisalhamento em que pode ocorrer incorporação de ar na dispersão. Segundo Phillips e Williams (2000), no processo de modificação do amido o octenilsuccinato é ligado ao amido por meio de uma ligação éster, o que permite a formação de um filme na interface óleo-água da emulsão. Assim, a utilização do amido modificado pode ter promovido, além da ação tensoativa, uma proteção do óleo emulsionado contra a oxidação devido à formação de uma barreira física na interface água-óleo retardando a passagem do oxigênio.

Os resultados indicaram que houve estabilidade oxidativa até o 15º dia de armazenamento, quando os valores de peróxidos apresentaram aumento. Este fato indica que durante 15 dias de armazenamento houve a proteção do óleo promovida tanto pela camada de tensoativo envolta na interface óleo-água quanto pela presença dos antioxidantes no óleo de açaí. Transcorrido este tempo pode ter ocorrido a difusão lenta do oxigênio incorporado por meio do processo de emulsificação, fazendo com que este alcançasse a fase lipídica da emulsão.

Além disso, ao alcançar a fase lipídica pode ter ocorrido a proteção do óleo contra a oxidação devido à presença dos antioxidantes naturais do óleo retardando o seu processo de oxidação. Outro fator que pode ter tido relação ao aumento na concentração de peróxidos passados 22 dias é o enfraquecimento da camada de dextrina modificada na interface água-óleo com o passar do tempo. Como as emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis, que tendem à separação de fases, passados 22 dias o sistema tendeu à desestabilização (que pode ser observada pela queda do valor de potencial zeta na Figura 21) favorecendo o alcance do oxigênio à fase lipídica. Desta forma, ao se difundir e alcançar o óleo de açaí da fase dispersa, apesar da ação dos antioxidantes, passados 22 dias ocorreu o aumento na formação dos peróxidos, acelerando, assim o processo de autooxidação do óleo emulsionado.

Casemiro (2016) avaliou o teor de hidroperóxido em emulsão de óleo de girassol ao longo do tempo em condições aceleradas em estufa a 40 °C. A autora observou que houve o aumento nos valores com o passar do tempo, sendo que no tempo zero o valor de hidroperóxidos foi de 2,73 mmol/ kg de emulsão e, passados 3 dias o valor encontrado foi de 5,77 mmol/ kg, o dobro do inicial e passados 6 dias o valor encontrado foi de 17,73 mmol/ kg. É sabido que o teste acelerado a 40 °C fornece um resultado simulando o dobro do tempo analisado. Desta forma, estimando pelo trabalho citado, o tempo para aumentar a oxidação foi de 6 dias. Moraes, Sato e Cunha (2011) estudaram a oxidação lipídica de emulsões óleo em água de azeite de oliva. A emulsão apresentou índice de peróxidos de 3 mEq/ kg de emulsão ao primeiro dia de análise, valor que foi aumentado para 6 mEq/ kg de emulsão ao 6º dia e armazenamento, atingindo seu pico máximo no 20º dia, sendo 18 mEq/ kg de emulsão, quando iniciou a queda nos valores de peróxido, provavelmente devido ao início da fase terminação, quando são formados os compostos secundários da autooxidação.

Os trabalhos acima citados levam a concluir que a presença de antioxidantes no óleo de açaí, bem como a camada de dextrina modificada na interface promoveram um retardamento do processo de auto-oxidação do óleo de açaí emulsionado.

Como outra avaliação da oxidação lipídica, a análise de TBARS pode indicar a concentração em malonaldeído, um produto secundário resultante da oxidação lipídica de ácidos graxos poliinsaturados (LEE *et al.*, 2011). Mais especificamente, a formação de malonaldeído ocorre pela decomposição dos hidroperóxidos lipídicos resultantes da oxidação primária dos ácidos graxos poliinsaturados (BONNES; GUÉRIN, 1992). Os resultados obtidos na análise de TBARS da emulsão ao longo de 29 dias de armazenamento podem ser observados na Figura 26.

Figura 26 - Variação do TBARS da emulsão de óleo de açaí ao longo do tempo de armazenamento.

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

Os valores encontrados de malonaldeído se mantiveram estáveis ao longo dos tempos de armazenamento, tendo ocorrido uma tendência à redução com o passar das semanas. Passados 29 dias, a concentração de malonaldeído decaiu de forma que o resultado diferiu significativamente do resultado obtido no dia 1. A estabilidade da emulsão quanto à concentração em malonaldeído é consequência da presença de antioxidantes no óleo de açaí que provavelmente promoveram o sequestro dos radicais hidroperóxidos, impedindo que ocorresse a formação do malonaldeído.

Zhao *et al.* (2021) avaliaram a estabilidade oxidativa de nanoemulsões de óleo de soja estabilizadas com Tween 20 e hidrolisados de ossos de bacalhau. As nanoemulsões estudadas continham 10 % em óleo de soja, Tween 20 na concentração de 11,1 mg/mL e hidrolisado de ossos de bacalhau na concentração de 2 %. Um controle foi produzido sem a adição do hidrolisado. Os resultados obtidos de TBARS variaram de aproximadamente 0,2 mmol MDA/kg óleo no dia zero para as duas amostras e aumentaram ao longo do tempo, contado a cada dois dias ao longo de 14 dias. Passados os 14 dias, a amostra controle apresentou uma concentração de MDA de aproximadamente 2,25 mmol MDA/kg de óleo e a amostra contendo o hidrolisado de ossos de bacalhau apresentou uma concentração próxima a 1,5 mmol MDA/kg de óleo.

5.2.7 Estabilidade da emulsão em diferentes condições de processamento

A emulsão 7, composta por 8 % de óleo de açaí, 4 % de dextrina e 4 % de maltodextrina, foi desafiada em diferentes condições de processamento típicas na produção de alimentos, a saber: aquecimento a 72 °C durante 15 s; variação de pH para 3,0; 4,0; 5,0 e 6,0; adição e variação na concentração de sacarose entre 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 g/100 g; e, passagem por dois ciclos de congelamento e descongelamento. O resultado obtido após os desafios em diferentes condições de processamento pode ser observado na Figura 27, no dia 1 após o desafio e após 29 dias de armazenamento. Observou-se que em quase todas as circunstâncias em que a emulsão foi desafiada, ela se manteve estável, não apresentando separação de fases visível, com exceção das amostras desafiadas em pH 6,0 e com 2 ciclos de congelamento e descongelamento.

Figura 27 - Aspectos visuais das emulsões submetidas às diferentes condições de processamento: variação de temperatura (72 °C/15 s); variações de pH (3, 4, 5 e 6); concentrações de sacarose (1; 1,5, 2 e 2,5 % (g/100 g)) e ciclos de congelamento e descongelamento.

Fonte: Própria autoria.

Os valores obtidos de diâmetro médio das amostras de emulsões desafiadas podem ser observados na Tabela 15.

Tabela 15 - Diâmetro médio de gota das emulsões de óleo de açaí desafiadas em relação à temperatura (72°C/15 s), variações de pH (3, 4, 5 e 6), variações na concentração de sacarose (1,0; 1,5; 2,0 e 2,5) e dois ciclos de congelamento e descongelamento, ao longo de 29 dias de armazenamento.

Amostra	Diâmetro médio (µm)				
	Dia 1	Dia 8	Dia 15	Dia 22	Dia 29
Controle	4,81 ^{a,A} ± 1,02	7,36 ^{a,A} ± 3,05	10,81 ^{a,A} ± 4,36	7,96 ^{a,A} ± 1,60	10,22 ^{a,A} ± 6,27
72 °C/15 s	8,17 ^{a,A} ± 2,47	4,37 ^{a,A} ± 0,38	5,27 ^{a,A} ± 0,30	13,66 ^{a,A} ± 13,89	9,34 ^{a,A} ± 1,04
pH 3,0	6,75 ^{a,A} ± 1,36	3,87 ^{a,A} ± 0,04	11,76 ^{a,A} ± 5,67	14,99 ^{a,A} ± 11,15	10,27 ^{a,A} ± 0,65
pH 4,0	7,23 ^{a,B} ± 0,41	4,34 ^{a,A} ± 0,37	9,28 ^{a,A} ± 4,27	9,80 ^{a,A} ± 3,95	9,58 ^{a,A} ± 0,24
pH 5,0	9,00 ^{a,B} ± 2,10	4,94 ^{a,A} ± 0,94	7,56 ^{a,A} ± 0,34	11,55 ^{a,A} ± 5,53	9,03 ^{a,A} ± 0,35
pH 6,0	19,14 ^{a,A} ± 12,98	16,18 ^{a,B} ± 3,21	23,16 ^{a,B} ± 3,08	26,07 ^{a,B} ± 6,47	Desestabilizou
Sacarose 1,0 %	5,48 ^{a,A} ± 1,23	3,51 ^{a,A} ± 0,38	6,96 ^{a,A} ± 2,02	13,98 ^{a,A} ± 8,06	11,31 ^{a,A} ± 2,53
Sacarose 1,5 %	5,75 ^{b,A} ± 0,03	3,41 ^{b,A} ± 0,90	5,18 ^{b,A} ± 0,42	6,46 ^{b,A} ± 0,09	11,24 ^{a,A} ± 2,38
Sacarose 2,0 %	7,38 ^{a,B} ± 0,46	3,39 ^{a,A} ± 0,19	8,27 ^{a,A} ± 3,85	6,71 ^{a,A} ± 0,39	9,27 ^{a,A} ± 4,89
Sacarose 2,5 %	7,19 ^{a,B} ± 0,42	3,19 ^{a,A} ± 0,24	8,66 ^{a,A} ± 1,54	10,31 ^{a,A} ± 6,01	10,96 ^{a,A} ± 4,05
Congelamento	26,40 ^{a,A} ± 14,80	19,23 ^{a,A} ± 20,71	17,09 ^{a,A} ± 8,12	22,65 ^{a,B} ± 4,65	Desestabilizou

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra minúscula na mesma linha indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

**Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na mesma coluna entre amostras desafiadas para cada tipo de processamento e o controle indicam diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey entre a amostra e o controle.

Os resultados de diâmetro médio das emulsões indicaram diferentes comportamentos e tamanhos para os diferentes tipos de tratamentos. A amostra controle apresentou alterações nos valores de diâmetro ao longo das semanas, porém, apesar das alterações nos tamanhos, não houve diferenças estatísticas ao longo do tempo. As amostras que foram desafiadas em relação à variação de temperatura (72 °C/15 s), pH 3,0; pH 4,0 e pH 5,0 e sacarose 1,0 %, 2,0 %, 2,5 % e as amostras do ciclo de congelamento e descongelamento não sofreram alterações nos valores de diâmetro médio ao longo do tempo de armazenamento, não tendo apresentado diferenças estatísticas. Desta forma, apenas a amostra desafiada com 1,5 % de sacarose apresentou diferenças estatísticas ao longo do tempo de armazenamento, apresentando um aumento no tamanho de gotícula no 29º dia de armazenamento.

As amostras desafiadas em pH 5,0 e pH 6,0 e em dois ciclos de congelamento e descongelamento apresentaram diâmetros médios maiores em relação às demais amostras além de terem apresentado diferenças estatísticas em relação ao controle e às demais amostras no primeiro dia após a produção. Os valores encontrados de diâmetros médios para as amostras com pH 6,0 e as amostras que passaram por dois ciclos de congelamento e descongelamento foram superiores a 15 μm , e aumentaram com o passar dos dias, levando à separação de fases passados 29 dias. Tal comportamento pode ser observado na Figura 27. As demais amostras apresentaram comportamentos e diâmetros médios similares sem diferenças significativas entre si passados 29 dias de armazenamento.

As curvas de distribuição de diâmetro das amostras podem ser observadas na Figura 28. As curvas ilustram o comportamento das emulsões em intervalos de 7 dias, ao longo de 29 dias de armazenamento. Observou-se que as emulsões mantiveram suas curvas de distribuição estáveis ao longo das semanas com um mesmo comportamento para todas as amostras, com exceção da amostra em pH 6,0 e de 2 ciclos de congelamento e descongelamento que apresentaram curvas mais abertas com tamanhos de gotas mais heterogêneos. Na amostra de pH 6,0, provavelmente a carga adicionada por meio da adição de sódio pode ter promovido uma desestruturação na interface entre as gotas e a fase contínua, levando a uma desestabilização e aumentando o tamanho da gota. Para a amostra desafiada em ciclos de congelamento e descongelamento, provavelmente a formação de cristais de gelo grandes decorrente de um congelamento lento pode ter promovido uma alteração na estrutura da emulsão bem como na rede formada pela adição da goma xantana, levando à separação de fases, principalmente ao ser desafiada com a formação de cristais grandes por duas vezes seguidas.

Figura 28 - Curvas de distribuição de diâmetro das emulsões de óleo de açaí desafiadas em relação à temperatura (72°C/15s), ciclos de congelamento e descongelamento, variações de pH (3, 4, 5 e 6) e variações na concentração de sacarose (1,0; 1,5; 2,0 e 2,5), ao longo de 29 dias de armazenamento, pelo método de espalhamento de luz dinâmico.

Fonte: Própria autoria.

5.3 Caracterização físico-química dos iogurtes enriquecidos com inulina e emulsão de óleo de açaí

A Figura 29 ilustra as amostras de iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí e/ou inulina. As amostras A, B e C apresentaram coloração branca uma vez que foram adicionadas apenas de 0, 2,5 e 5,0 % de inulina, respectivamente, não apresentando coloração rosada. As amostras de D a L apresentaram coloração rosada devido à inclusão de emulsão de óleo de açaí que promoveu o aumento na intensidade da cor observada visualmente com o aumento da concentração de emulsão (amostras D, E e F = 8 % de emulsão; amostras G, H e I = 10 % de emulsão; e, amostras J, K e L = 12 % de emulsão).

Figura 29 - Aspecto visual dos iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí encapsulado e inulina.

Fonte: Própria autoria.

5.3.1 Colorimetria instrumental dos iogurtes

A estabilidade das 12 formulações de iogurte foi estudada quanto aos parâmetros colorimétricos L^* , croma e diferença total de cor ao longo de 30 dias de armazenamento e em intervalos de 15 dias.

O parâmetro colorimétrico luminosidade (L^*) indica a intensidade de luminosidade das amostras, variando entre o preto e o branco. Quanto mais o valor de L^* se aproxima de 100, mais branca será a amostra e, quanto mais próximo o valor for de zero, a amostra terá maior tendência ao preto. O parâmetro L^* dos iogurtes foi medido durante 30 dias de armazenamento e os resultados podem ser observados na Tabela 16. Os resultados obtidos indicaram que as amostras apresentaram valores mais próximos ao valor indicativo para branco, ou seja, são amostras mais claras. Todas as amostras, sem exceções, sofreram alterações significativas nos valores de L^* a partir do 15º dia de armazenamento.

Tabela 16 - Valores do parâmetro L* dos iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí e/ou inulina ao longo de 30 dias de armazenamento.

Iogurte controle X iogurte variando a concentração de inulina, sem emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	72,19 ^{A,a} ± 0,31	71,35 ^{A,b} ± 0,20	71,68 ^{A,c} ± 0,19
B (2,5 % inulina)	71,34 ^{B,a} ± 0,16	71,00 ^{B,b} ± 0,07	71,40 ^{B,a} ± 0,15
C (5,0 % inulina)	69,97 ^{C,a} ± 0,15	70,81 ^{C,b} ± 0,04	71,07 ^{C,c} ± 0,08
Iogurte controle X iogurte sem inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	72,19 ^{A,a} ± 0,31	71,35 ^{A,b} ± 0,20	71,68 ^{A,c} ± 0,19
D (8 % emulsão)	71,09 ^{B,a} ± 0,31	70,78 ^{B,b} ± 0,12	70,75 ^{B,b} ± 0,06
G (10 % emulsão)	70,66 ^{C,a} ± 0,11	70,46 ^{C,b} ± 0,08	70,49 ^{C,b} ± 0,11
J (12 % emulsão)	70,87 ^{C,a} ± 0,10	70,24 ^{D,b} ± 0,09	70,06 ^{D,c} ± 0,05
Iogurte controle X iogurte 2,5 % de inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	72,19 ^{A,a} ± 0,31	71,35 ^{A,b} ± 0,20	71,68 ^{A,c} ± 0,19
B (0 % emulsão)	71,34 ^{B,a} ± 0,16	71,00 ^{B,b} ± 0,07	71,40 ^{B,a} ± 0,15
E (8 % emulsão)	70,17 ^{C,a} ± 0,42	69,72 ^{C,b} ± 0,06	70,60 ^{C,c} ± 0,16
H (10 % emulsão)	69,98 ^{C,a} ± 0,22	69,77 ^{C,b} ± 0,12	69,73 ^{D,b} ± 0,04
K (12 % emulsão)	70,23 ^{C,a} ± 0,26	69,37 ^{D,b} ± 0,05	69,38 ^{E,b} ± 0,05
Iogurte controle X iogurte 5,0 % de inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	72,19 ^{A,a} ± 0,31	71,35 ^{A,b} ± 0,20	71,68 ^{A,c} ± 0,19
C (0 % emulsão)	69,97 ^{B,a} ± 0,15	70,81 ^{B,b} ± 0,04	71,07 ^{B,c} ± 0,08
F (8 % emulsão)	69,67 ^{C,a} ± 0,19	69,47 ^{C,b} ± 0,14	69,89 ^{C,c} ± 0,12
I (10 % emulsão)	69,52 ^{C,a} ± 0,11	69,25 ^{D,b} ± 0,04	69,38 ^{D,c} ± 0,14
L (12 % emulsão)	69,44 ^{C,a} ± 0,10	69,27 ^{D,b} ± 0,15	69,19 ^{E,b} ± 0,06

Fonte: Própria autoria

*Amostras seguidas da mesma letra minúscula na mesma linha indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey. ** Amostras seguidas da mesma letra maiúscula na mesma coluna indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

A amostra controle, sem adição de emulsão (amostra A) e inulina apresentou maior valor de L* comparada às amostras que tiveram adição de inulina, adição de emulsão e adição de inulina e emulsão. Houve diferenças significativas para todas as amostras em relação ao

controle. Observou-se que, com a adição de inulina e/ou emulsão e com o aumento nas concentrações de ambas em conjunto ou separadamente ocorreu uma redução na luminosidade da amostra. A inclusão de inulina promoveu uma redução da luminosidade da amostra quanto maior foi a sua concentração (Amostras B e C), ou seja, menor valor de L^* em amostras contendo 5 %. O mesmo comportamento foi observado nos iogurtes com adição de emulsão que apresentaram menores valores de L^* quanto maior a concentração de emulsão, apresentando diferenças significativas em relação ao controle. Estes resultados estão coerentes com os resultados apresentados na Tabela 9, referentes ao parâmetro L^* das emulsões, em que o valor de L^* da emulsão foi de aproximadamente 55, promovendo uma redução do parâmetro L^* ao ser adicionado ao iogurte. Desta forma, a emulsão contendo as gotículas de óleo e os polissacarídeos dispersos no iogurte reduziram a luminosidade das amostras de forma significativa, levando à obtenção de amostras menos brancas. Após 30 dias de armazenamento todas as amostras diferiram entre si.

Os valores obtidos para o parâmetro croma podem ser observados na Tabela 17.

Tabela 17 - Valores de Croma dos iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí e/ou inulina ao longo de 30 dias de armazenamento.

Iogurte controle X iogurte variando a concentração de inulina, sem emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	3,73 ^{A,a} ± 0,17	3,76 ^{AB,a} ± 0,10	3,94 ^{B,b} ± 0,05
B (2,5 % inulina)	3,49 ^{B,a} ± 0,20	3,65 ^{B,a} ± 0,11	4,01 ^{B,b} ± 0,08
C (5,0 % inulina)	3,50 ^{B,a} ± 0,16	3,83 ^{AB,b} ± 0,11	4,10 ^{A,c} ± 0,07
Iogurte controle X iogurte sem inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	3,73 ^{A,a} ± 0,17	3,76 ^{AB,a} ± 0,10	3,94 ^{A,b} ± 0,05
D (8 % emulsão)	2,82 ^{B,a} ± 0,14	3,07 ^{B,b} ± 0,08	3,19 ^{B,b} ± 0,08
G (10 % emulsão)	2,46 ^{C,a} ± 0,14	2,77 ^{D,b} ± 0,05	2,95 ^{C,c} ± 0,08
J (12 % emulsão)	2,52 ^{C,a} ± 0,10	2,88 ^{C,b} ± 0,07	3,01 ^{C,c} ± 0,05
Iogurte controle X iogurte 2,5 % de inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	3,73 ^{A,a} ± 0,17	3,76 ^{A,a} ± 0,10	3,94 ^{A,b} ± 0,05
B (0 % emulsão)	3,49 ^{B,a} ± 0,20	3,65 ^{A,a} ± 0,11	4,01 ^{A,b} ± 0,08
E (8 % emulsão)	2,94 ^{C,a} ± 0,17	3,06 ^{B,a} ± 0,06	3,54 ^{B,b} ± 0,09
H (10 % emulsão)	2,86 ^{C,a} ± 0,15	3,18 ^{B,b} ± 0,08	3,31 ^{C,c} ± 0,06
K (12 % emulsão)	2,34 ^{D,a} ± 0,11	2,72 ^{C,b} ± 0,07	2,94 ^{D,c} ± 0,07
Iogurte controle X iogurte 5,0 % de inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	3,73 ^{A,a} ± 0,17	3,76 ^{A,a} ± 0,10	3,94 ^{B,b} ± 0,05
C (0 % emulsão)	3,50 ^{B,a} ± 0,16	3,83 ^{A,b} ± 0,11	4,10 ^{A,c} ± 0,07
F (8 % emulsão)	3,08 ^{C,a} ± 0,07	3,22 ^{B,b} ± 0,05	3,36 ^{C,c} ± 0,10
I (10 % emulsão)	2,94 ^{C,a} ± 0,06	3,24 ^{B,b} ± 0,06	3,40 ^{C,c} ± 0,06
L (12 % emulsão)	2,49 ^{D,a} ± 0,12	2,91 ^{C,b} ± 0,07	3,12 ^{D,c} ± 0,08

Fonte: Própria autoria

*Amostras seguidas da mesma letra minúscula na mesma linha indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

** Amostras seguidas da mesma letra maiúscula na mesma coluna indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

O parâmetro croma indica a manutenção da intensidade de cor da amostra. Observou-se que houve um aumento nos valores de croma ao longo do tempo de armazenamento, com diferenças

significativas entre os resultados obtidos. A variação após 30 dias de armazenamento ocorreu em todas as amostras, inclusive para a amostra controle A.

A adição de inulina promoveu inicialmente uma redução nos valores de croma, porém, após 30 dias de armazenamento este valor aumentou com o aumento da concentração de inulina. As amostras com inulina diferiram significativamente da amostra controle em relação à intensidade da cor. Porém, quando avaliada visualmente, a alteração da intensidade da cor das amostras com o aumento na concentração de inulina ao longo dos 30 dias de armazenamento não foi percebida.

A adição de emulsão e o aumento em sua concentração promoveram a redução dos valores de croma, levando à redução do parâmetro quanto maior foi a concentração de emulsão. Este comportamento foi similar para os três pontos de estabilidade estudados e todas as amostras adicionadas de emulsão apresentaram diferenças significativas quando comparadas ao valor de croma da amostra controle A.

O ângulo de Hue das amostras variou entre -0,016 a -0,012, não apresentando diferenças entre as amostras (resultado não apresentado).

Os valores de diferença total de cor (TDC) dos iogurtes nos dias 15 e 30 podem ser observados na Tabela 18.

Tabela 18 - Valores de diferença total de cor (ΔE^*) dos iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí e/ou inulina ao longo de 30 dias de armazenamento.

Iogurte	Dia 15	Dia 30
A	$0,86 \pm 0,30$	$0,56 \pm 0,32$
B	$0,51 \pm 0,13$	$0,62 \pm 0,24$
C	$0,99 \pm 0,23$	$1,30 \pm 0,16$
D	$0,61 \pm 0,06$	$0,72 \pm 0,14$
E	$0,72 \pm 0,45$	$0,83 \pm 0,14$
F	$0,33 \pm 0,05$	$0,45 \pm 0,21$
G	$0,48 \pm 0,11$	$0,59 \pm 0,14$
H	$0,46 \pm 0,11$	$0,60 \pm 0,14$
I	$0,47 \pm 0,13$	$0,53 \pm 0,14$
J	$0,77 \pm 0,09$	$0,98 \pm 0,12$
K	$1,00 \pm 0,19$	$1,08 \pm 0,19$
L	$0,53 \pm 0,12$	$0,71 \pm 0,07$

Fonte: Própria autoria

Para todas as amostras os valores encontrados de diferença total de cor foram baixos indicando uma pequena variação na cor global dos iogurtes resultando em iogurtes com estabilidade na cor durante 15 e 30 dias de armazenamento.

5.3.2 Determinação do pH

Os valores de pH dos iogurtes foram medidos nos dias 1, 15 e 30 de armazenamento (sob refrigeração a 4 °C) e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 19.

Tabela 19 - Valores de pH dos iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí e/ou inulina ao longo de 30 dias de armazenamento.

Iogurte controle X iogurte variando a concentração de inulina, sem emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	4,49 ^{A,a} ± 0,03	4,33 ^{AB,b} ± 0,02	4,37 ^{A,b} ± 0,01
B (2,5 % inulina)	4,50 ^{A,a} ± 0,03	4,38 ^{A,b} ± 0,01	4,40 ^{A,b} ± 0,05
C (5,0 % inulina)	4,46 ^{A,a} ± 0,01	4,28 ^{AB,b} ± 0,06	4,43 ^{A,a} ± 0,04
Iogurte controle X iogurte sem inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	4,49 ^{A,a} ± 0,03	4,33 ^{AB,b} ± 0,02	4,37 ^{A,b} ± 0,01
D (8 % emulsão)	4,49 ^{A,a} ± 0,01	4,42 ^{A,b} ± 0,00	4,42 ^{A,b} ± 0,04
G (10 % emulsão)	4,37 ^{B,ab} ± 0,02	4,26 ^{B,a} ± 0,07	4,40 ^{A,b} ± 0,05
J (12 % emulsão)	4,36 ^{B,ab} ± 0,06	4,28 ^{B,b} ± 0,01	4,37 ^{A,a} ± 0,01
Iogurte controle X iogurte 2,5 % de inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	4,49 ^{A,a} ± 0,03	4,33 ^{AB,b} ± 0,02	4,37 ^{A,b} ± 0,01
B (0 % emulsão)	4,50 ^{A,a} ± 0,03	4,38 ^{A,b} ± 0,01	4,40 ^{A,b} ± 0,05
E (8 % emulsão)	4,38 ^{C,ab} ± 0,02	4,29 ^{AB,a} ± 0,08	4,43 ^{A,b} ± 0,04
H (10 % emulsão)	4,40 ^{BC,a} ± 0,02	4,32 ^{AB,b} ± 0,04	4,40 ^{A,a} ± 0,02
K (12 % emulsão)	4,47 ^{AB,a} ± 0,02	4,26 ^{B,b} ± 0,01	4,44 ^{A,a} ± 0,02
Iogurte controle X iogurte 5,0 % de inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	4,49 ^{A,a} ± 0,03	4,33 ^{A,b} ± 0,02	4,37 ^{A,b} ± 0,01
C (0 % emulsão)	4,46 ^{A,a} ± 0,01	4,28 ^{A,b} ± 0,06	4,42 ^{A,b} ± 0,04
F (8 % emulsão)	4,36 ^{A,a} ± 0,04	4,28 ^{A,a} ± 0,07	4,39 ^{A,a} ± 0,06
I (10 % emulsão)	4,40 ^{A,a} ± 0,03	4,35 ^{A,a} ± 0,03	4,41 ^{A,a} ± 0,04
L (12 % emulsão)	4,43 ^{A,a} ± 0,10	4,26 ^{A,b} ± 0,01	4,46 ^{A,a} ± 0,03

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra minúscula na mesma linha indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

** Amostras seguidas da mesma letra maiúscula na mesma coluna indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

Observou-se que ocorreram pequenas alterações nos valores de pH dos iogurtes com o tempo, apesar de os resultados terem apresentado diferenças estatísticas. Como o iogurte utilizado foi um produto comercial adquirido no mercado local, não foi possível monitorar o

seu pH a partir do primeiro dia de produção, uma vez que sua aquisição ocorreu passados alguns dias de sua vida de prateleira. Mesmo a baixas temperaturas as bactérias ácido-láticas mantêm o seu crescimento, porém de forma mais lenta e assim, o processo de fermentação da lactose também é mantido, tendo como produto da fermentação o ácido lático, que reduz o pH do produto (GASPAR et al., 2013). Segundo Rodas (2001) o pH do iogurte varia entre 3,6 e 4,2, chegando a atingir um valor de 4,5 ao final da sua vida de prateleira. Desta forma, as amostras em estudo apresentaram valores de pH dentro dos valores aceitáveis para iogurtes. Provavelmente, como o iogurte já possuía uma idade após sua data de produção, o pH do produto adquirido já apresentou valores estáveis, indicando que a pequena variação ao longo do tempo obtida pelos resultados acima podem ter tido maior influência da adição de emulsão e/ou inulina do que da manutenção da fermentação pelas bactérias ácido-láticas em baixa temperatura.

A adição de emulsão interferiu nos valores de pH dos iogurtes, promovendo uma redução nestes valores com o aumento da concentração de emulsão. A redução foi mais pronunciada nos iogurtes adicionados de emulsão com 0 e 2,5 % de inulina nos dias 1 e 15 de armazenamento. Nos iogurtes com 5 % de inulina não houve diferenças significativas entre as amostras com o aumento na concentração de emulsão. Após 30 dias de armazenamento, todas as amostras tiveram seus valores de pH estáveis, não apresentando diferenças significativas entre si.

Molina *et al.* (2019) estudaram a influência da incorporação de micropartículas lipídicas sólidas encapsulando beta-caroteno em iogurte integral adoçado. Os autores encontraram valor de pH do iogurte controle (iogurte integral adoçado) igual a 4,68 no primeiro dia após a produção e de 4,32 no 25º dia de armazenamento, ou seja, redução no valor de pH com o tempo. Quanto à adição de micropartículas lipídicas sólidas (MLS), os autores também concluíram que não ocorreram alterações significativas nos valores de pH dos iogurtes formulados com MLS em relação ao iogurte controle, havendo também a redução nos valores de pH dos iogurtes formulados após 25 dias de armazenamento.

Em relação à adição da inulina, esta não promoveu alterações significativas nos valores de pH do iogurte entre as concentrações de 2,5 e 5,0 %, não ocorrendo interferência nos resultados obtidos.

Güven *et al.* (2005) estudaram a influência da adição de diferentes concentrações de inulina como substituta de gordura em iogurte desnatado. Os autores observaram que a adição de inulina não promoveu alterações nos valores de pH dos iogurtes. Eles encontravam valores

de pH que variaram de 4,46 e 4,53 no dia 1 e 4,20 e 4,28 no 15º dia de armazenamento, resultados de acordo com os obtidos no presente estudo.

Em um estudo conduzido por Costa *et al.* (2015a), os autores estudaram a influência da adição de 5 % de inulina em iogurte de leite de cabra. Os autores observaram que o pH aumentou no início do armazenamento devido ao crescimento das bactérias adicionadas ao leite para a fermentação, *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. O pH das amostras enriquecidas com inulina aumentou após 14 dias de armazenamento, mantendo os valores mais altos passados 28 dias. Os autores sugerem que tenha ocorrido o consumo de todo o açúcar e iniciado o consumo proteico, liberando aminas biogênicas, que promoveram o aumento no valor do pH.

Por sua vez, El-Kholy, Aamer e Ali (2020) estudaram se houve melhoria na adição de inulina extraída da raiz de chicória nas propriedades de iogurte desnatado. Os autores avaliaram se ocorreu influência da adição de inulina no pH dos iogurtes e concluíram que a inulina não interferiu neste parâmetro. Os valores de pH encontrados no dia 1 pelos autores foram de 4,52 para a amostra controle e de 4,57; 4,55 e 4,53 nas amostras que tiveram 0,5; 1,0 e 2,0 % de inulina, respectivamente.

5.3.3 Acidez titulável

Os valores de acidez titulável estão apresentados na Tabela 20.

Tabela 20 - Valores de acidez titulável (g ácido láctico/100 g iogurte) dos iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí e/ou inulina ao longo de 30 dias de armazenamento.

Iogurte controle X iogurte variando a concentração de inulina, sem emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	0,91 ^{A,a} ± 0,010	0,95 ^{A,b} ± 0,003	0,91 ^{A,a} ± 0,015
B (2,5 % inulina)	0,89 ^{AB,a} ± 0,004	0,92 ^{B,b} ± 0,004	0,91 ^{AB,a} ± 0,005
C (5,0 % inulina)	0,88 ^{B,a} ± 0,006	0,91 ^{B,b} ± 0,007	0,89 ^{B,ab} ± 0,011
Iogurte controle X iogurte sem inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	0,91 ^{A,a} ± 0,010	0,95 ^{A,b} ± 0,003	0,91 ^{A,a} ± 0,015
D (8 % emulsão)	0,86 ^{B,a} ± 0,007	0,88 ^{B,b} ± 0,002	0,85 ^{B,a} ± 0,009
G (10 % emulsão)	0,85 ^{B,a} ± 0,009	0,87 ^{B,a} ± 0,015	0,86 ^{B,a} ± 0,003
J (12 % emulsão)	0,83 ^{C,a} ± 0,002	0,86 ^{B,b} ± 0,016	0,84 ^{B,ab} ± 0,002
Iogurte controle X iogurte 2,5 % de inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	0,91 ^{A,a} ± 0,010	0,95 ^{A,b} ± 0,003	0,91 ^{A,a} ± 0,015
B (0 % emulsão)	0,89 ^{A,a} ± 0,004	0,92 ^{B,b} ± 0,004	0,91 ^{A,a} ± 0,005
E (8 % emulsão)	0,84 ^{B,a} ± 0,019	0,87 ^{C,a} ± 0,009	0,86 ^{B,a} ± 0,004
H (10 % emulsão)	0,82 ^{B,a} ± 0,022	0,85 ^{D,a} ± 0,006	0,83 ^{C,a} ± 0,002
K (12 % emulsão)	0,80 ^{C,a} ± 0,006	0,84 ^{D,b} ± 0,003	0,83 ^{C,b} ± 0,004
Iogurte controle X iogurte 5,0 % de inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	0,91 ^{A,a} ± 0,010	0,95 ^{A,b} ± 0,003	0,91 ^{A,a} ± 0,015
C (0 % emulsão)	0,88 ^{B,a} ± 0,006	0,91 ^{A,b} ± 0,007	0,89 ^{B,ab} ± 0,011
F (8 % emulsão)	0,84 ^{C,a} ± 0,002	0,85 ^{B,a} ± 0,018	0,82 ^{C,a} ± 0,004
I (10 % emulsão)	0,79 ^{D,a} ± 0,008	0,85 ^{B,b} ± 0,025	0,81 ^{C,a} ± 0,004
L (12 % emulsão)	0,79 ^{D,a} ± 0,003	0,84 ^{B,b} ± 0,018	0,80 ^{C,a} ± 0,008

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra minúscula na mesma linha indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

** Amostras seguidas da mesma letra maiúscula na mesma coluna indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

Foi observado que, assim como para os valores de pH, para os valores de acidez titulável houve uma pequena variação nos resultados, apesar de ter havido diferenças estatísticas ao longo do tempo de armazenamento. Conforme discutido no item 5.2.3, o iogurte utilizado no

estudo já apresentou uma idade após o tempo de produção por ter sido adquirido e não produzido, o que não permitiu que as medidas dos valores de acidez titulável fossem realizadas a partir do primeiro dia de produção. Desta forma, os iogurtes já foram utilizados contendo um valor de acidez titulável estável, conforme pode ser observado nos resultados obtidos na Tabela 20. Assim, a alteração nos valores de acidez ocorreu entre amostras pela substituição de iogurte por emulsão de óleo de açaí e/ou inulina.

A adição de inulina promoveu a redução na concentração de ácido láctico do iogurte, tanto para 2,5 % quanto para 5 %, em que elas diferiram do controle ao longo de todo o tempo de armazenamento. Porém, as amostras contendo 2,5 e 5 % de inulina não diferiram entre si em todo o tempo avaliado.

A adição e o aumento gradual na concentração de emulsão no iogurte promoveram a redução nos valores de ácido láctico em relação à amostra controle, levando a diferenças significativas que se mantiveram ao longo de todo o tempo de armazenamento. Maior redução nos valores de acidez titulável pôde ser observada quanto maior foi a adição de inulina e emulsão ao iogurte. Os resultados obtidos podem ser explicados devido à substituição parcial do iogurte pela mesma massa em emulsão, inulina ou (emulsão + inulina), variando de acordo com as formulações específicas de cada amostra, o que reduziu a concentração em iogurte e consequentemente, menor concentração em ácido láctico.

Segundo o *Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados*, a legislação exige uma concentração mínima de 0,6 g de ácido láctico/100 g de iogurte (BRASIL, 2007). O iogurte integral apresentou no primeiro dia de análise um valor de 0,91 g/100 g. Este valor encontrado está de acordo com os valores exigidos pela legislação para iogurtes. A adição de emulsão e de inulina reduziram este valor em que a menor concentração de ácido láctico apresentada foi para a amostra contendo maior adição em inulina (5 %) e emulsão (10 e 12 %), concomitantemente (amostras I e L), que foi de 0,79 g/100 g. Apesar de a adição de emulsão e inulina terem promovido a redução na concentração de ácido láctico, os resultados obtidos se mantiveram dentro dos padrões exigidos pela legislação. Os resultados foram mantidos até o 30º dia de armazenamento.

Güven *et al.* (2005) estudaram a adição de diferentes concentrações de inulina (1, 2 e 3%) como substituta de gordura em iogurte desnatado e observaram que a amostra contendo 1 % de inulina elevou um pouco o valor da acidez, porém não houve diferenças significativas entre as amostras adicionadas de inulina e o iogurte controle. Os autores também observaram aumento nos valores de acidez titulável após 15 dias de armazenamento.

Por sua vez, Molina *et al.* (2019) avaliaram a influência da adição de 5 % de micropartículas lipídicas sólidas (MLS) encapsulando beta-caroteno nos resultados de acidez titulável em iogurte integral adoçado. Os autores encontraram valores próximos a 0,95 g ácido láctico/100 g de iogurte e não observaram diferenças entre os valores de acidez titulável entre as amostras adicionadas de MLS e o controle. Os autores observaram o aumento nos valores de acidez titulável após 25 dias de armazenamento, sendo que estes valores aumentaram para, em média, 1,07 g ácido láctico/100 g.

Gurbuz, Erkaya-Kotan e Sengul (2021) avaliaram a influência da adição de mucilagem de semente de marmelo em pó, avaliado como um novo estabilizador natural, na acidez titulável de iogurte. Os autores avaliaram a inclusão de 0,05; 0,1; 0,15 e 0,2 % do pó de semente de marmelo aos iogurtes. Os resultados indicaram que não houve efeito significativo da concentração de pó de semente de marmelo nos valores de acidez, e que, apenas o tratamento com 0,2 % apresentou um maior valor de acidez comparado aos outros tratamentos nos dias 7 e 14 de armazenamento. Os autores observaram também que ocorreu o aumento no valor de acidez durante o período de estocagem e atribuíram o ocorrido à atividade de fermentação das bactérias durante o tempo de estocagem.

5.3.4 Sinérese

A sinérese reflete a capacidade de retenção de água na estrutura gelificada dos iogurtes durante o período de estocagem (LI *et al.*, 2019). Os resultados de sinérese dos iogurtes ao longo de 30 dias de armazenamento podem ser observados na Tabela 21.

Tabela 21 - Sinérese (% , g/100 g) dos iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí e/ou inulina ao longo de 30 dias de armazenamento.

Iogurte controle X iogurte variando a concentração de inulina, sem emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	15,03 ^{B,a} ± 2,58	19,32 ^{A,a} ± 1,90	18,71 ^{A,a} ± 1,40
B (2,5 % inulina)	18,11 ^{AB,a} ± 1,11	19,19 ^{A,a} ± 1,70	18,44 ^{A,a} ± 2,69
C (5,0 % inulina)	22,41 ^{A,a} ± 2,16	18,53 ^{A,ab} ± 0,48	18,04 ^{A,b} ± 1,90
Iogurte controle X iogurte sem inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	15,03 ^{B,a} ± 2,58	19,32 ^{B,a} ± 1,90	18,71 ^{B,a} ± 1,40
D (8 % emulsão)	23,01 ^{A,a} ± 0,41	19,67 ^{B,b} ± 0,57	19,50 ^{B,b} ± 1,58
G (10 % emulsão)	21,60 ^{A,a} ± 2,07	20,67 ^{AB,a} ± 0,99	20,59 ^{AB,a} ± 0,83
J (12 % emulsão)	23,07 ^{A,a} ± 0,55	23,95 ^{A,a} ± 1,83	23,47 ^{A,a} ± 0,11
Iogurte controle X iogurte 2,5 % de inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	15,03 ^{C,a} ± 2,58	19,32 ^{B,a} ± 1,90	18,71 ^{AB,a} ± 1,40
B (0 % emulsão)	18,11 ^{BC,a} ± 1,11	19,19 ^{B,a} ± 1,70	18,44 ^{B,a} ± 2,69
E (8 % emulsão)	23,32 ^{AB,a} ± 1,83	21,72 ^{AB,a} ± 3,04	20,51 ^{AB,a} ± 1,03
H (10 % emulsão)	19,00 ^{BC,a} ± 2,58	19,38 ^{B,a} ± 0,31	20,96 ^{AB,a} ± 0,96
K (12 % emulsão)	25,32 ^{A,a} ± 1,70	24,24 ^{A,a} ± 0,74	22,72 ^{A,a} ± 0,53
Iogurte controle X iogurte 5,0 % de inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	15,03 ^{B,a} ± 2,58	19,32 ^{BC,a} ± 1,90	18,71 ^{AB,a} ± 1,40
C (0 % emulsão)	22,41 ^{A,a} ± 2,16	18,53 ^{C,ab} ± 0,48	18,04 ^{AB,b} ± 1,90
F (8 % emulsão)	23,71 ^{A,a} ± 2,46	23,37 ^{A,a} ± 0,61	22,25 ^{A,a} ± 2,28
I (10 % emulsão)	24,05 ^{A,a} ± 0,46	22,14 ^{AB,a} ± 2,07	22,23 ^{A,a} ± 1,62
L (12 % emulsão)	20,82 ^{A,a} ± 0,86	21,06 ^{ABC,a} ± 0,25	17,66 ^{B,b} ± 0,67

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra minúscula na mesma linha indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

** Amostras seguidas da mesma letra maiúscula na mesma coluna indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

Observou-se que no primeiro dia de armazenamento a adição de inulina (amostras A, B e C) promoveu o aumento nos valores de sinérese quanto maior foi a concentração adicionada, diferindo da amostra controle. Após 15 dias de armazenamento, os resultados obtidos entre as

amostras não diferiram entre si, tendo apresentado aumento no valor de sinérese do iogurte controle, porém não foi um aumento significativo. O mesmo resultado foi observado após 30 dias. A amostra B, contendo 2,5 % de inulina não apresentou diferenças significativas durante os 30 dias de armazenamento. Porém, a amostra C, contendo 5 % de inulina apresentou redução dos valores de sinérese com o passar dos dias. A inulina possui a capacidade de formar géis, e é utilizada como substituta à gordura em iogurtes desnatados. O resultado obtido a partir do dia 15 para a amostra C pode estar relacionado a esta capacidade da inulina juntamente à capacidade em reter a água/soro pelo gel formado pelas proteínas do iogurte. Desta forma, os resultados da amostra A (controle) e da amostra B foram estáveis ao longo de 30 dias, ao contrário da amostra C, com 5 % de inulina, que apresentou diferenças significativas no armazenamento, reduzindo a sinérese após 30 dias.

A adição de emulsão promoveu o aumento nos valores de sinérese em relação à amostra controle no dia 1, de certa forma que as amostras diferiram do controle no primeiro dia de armazenamento. Com o passar dos dias, a partir do dia 15, os valores de sinérese das amostras reduziram, ao contrário do controle que apresentou aumento com o passar dos dias, porém as alterações não foram significativas. Estes resultados foram observados tanto para amostras com emulsão e sem inulina, como para amostras com emulsão e com inulina. Como sugerido no parágrafo acima, nas amostras contendo inulina, provavelmente há uma relação com a capacidade de a inulina reter água, reduzindo a sinérese. Além disso, as amostras com emulsão possuem goma xantana em sua composição, que também pode ter favorecido a retenção da água/soro. Desta forma, após 15 dias de armazenamento, as amostras passaram a diferir menos em relação ao controle, seguindo o comportamento após 30 dias de armazenamento. Estes resultados podem ser observados pela menor diferença estatística entre as amostras e o controle no dia 30.

Yeung, Lee e Chang (2019) estudaram a possibilidade de substituir a pectina comercial pela pectina extraída de *Ulmus davidiana* em amostras de iogurte. Dentre os estudos realizados, os autores avaliaram a influência da substituição deste polissacarídeo na sinérese do iogurte integral. Os autores observaram que a variação na concentração da pectina influenciou os resultados de sinérese, reduzindo-a com a adição de 0,2 e 0,4 % e aumentando a sinérese ao adicionar 0,6 % de pectina. A sinérese do iogurte controle estudado foi de aproximadamente 37%.

El-Kholy, Aamer e Ali (2020) avaliaram se a adição de inulina de raiz de chicória teve influência na capacidade de retenção de água de iogurtes. Segundo os autores, a adição de 0,5; 1 e 2 % de inulina ao iogurte desnatado levou ao aumento da capacidade de retenção de água.

O iogurte controle, iogurte desnatado sem adição de inulina, apresentou capacidade de retenção de água de 51,82 % enquanto os iogurtes adicionados de 0,5; 1 e 2 % de inulina apresentaram 56,8; 61,4 e 63,6 % de capacidade de retenção de água. Assim, os autores concluíram que a inulina levou à melhora na capacidade de retenção de água do iogurte desnatado. Desta forma, os resultados obtidos no presente trabalho estão de acordo com resultados encontrados na literatura, confirmando a redução da sinérese dos iogurtes promovida pela adição de inulina.

5.3.5 Capacidade antioxidante do iogurte

Os resultados da atividade antioxidante dos iogurtes relacionada à massa de iogurte estimada, capaz de reduzir o radical DPPH em 50 % estão apresentados na Tabela 22.

Tabela 22 - Massa de iogurte (mg) estimada para ocasionar redução de 50% do radical DPPH.

Iogurte controle X iogurte variando a concentração de inulina, sem emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	299,4 ^{A,a} ± 32,2	258,0 ^{B,a} ± 16,8	297,7 ^{A,a} ± 35,9
B (2,5 % inulina)	310,3 ^{A,a} ± 28,2	314,2 ^{A,a} ± 13,3	307,3 ^{A,a} ± 32,7
C (5,0 % inulina)	371,5 ^{A,a} ± 85,5	312,4 ^{A,a} ± 23,8	335,8 ^{A,a} ± 28,6
Iogurte controle X iogurte sem inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	299,4 ^{A,a} ± 32,2	258,0 ^{A,a} ± 16,8	297,7 ^{A,a} ± 35,9
D (8 % emulsão)	311,2 ^{A,a} ± 28,7	290,7 ^{A,a} ± 50,9	263,3 ^{B,a} ± 13,9
G (10 % emulsão)	297,7 ^{A,a} ± 50,66	310,0 ^{A,a} ± 47,4	282,0 ^{AB,a} ± 15,3
J (12 % emulsão)	265,9 ^{A,a} ± 24,42	269,7 ^{A,a} ± 14,0	253,6 ^{B,a} ± 6,6
Iogurte controle X iogurte 2,5 % de inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	299,4 ^{A,a} ± 32,2	258,0 ^{C,a} ± 16,8	297,7 ^{B,a} ± 35,9
B (0 % emulsão)	310,3 ^{A,a} ± 28,2	314,2 ^{A,a} ± 13,3	307,3 ^{B,a} ± 32,7
E (8 % emulsão)	277,2 ^{A,a} ± 31,5	279,3 ^{BC,a} ± 32,5	281,5 ^{B,a} ± 18,9
H (10 % emulsão)	288,1 ^{A,a} ± 15,7	268,2 ^{BC,a} ± 19,9	389,4 ^{A,b} ± 30,2
K (12 % emulsão)	312,1 ^{A,a} ± 20,7	296,0 ^{AB,a} ± 12,8	302,9 ^{B,a} ± 28,6
Iogurte controle X iogurte 5,0 % de inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	299,4 ^{A,a} ± 32,2	258,0 ^{B,a} ± 16,8	297,7 ^{B,a} ± 35,9
C (0 % emulsão)	371,5 ^{A,a} ± 85,5	312,4 ^{AB,a} ± 23,8	335,8 ^{AB,a} ± 28,6
F (8 % emulsão)	377,6 ^{A,a} ± 52,4	397,9 ^{A,a} ± 144,6	309,5 ^{B,a} ± 18,1
I (10 % emulsão)	306,2 ^{A,a} ± 19,9	308,7 ^{AB,a} ± 20,6	312,6 ^{B,a} ± 18,4
L (12 % emulsão)	335,8 ^{A,a} ± 32,3	307,5 ^{AB,a} ± 11,2	361,7 ^{A,b} ± 36,3

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra minúscula na mesma linha indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

** Amostras seguidas da mesma letra maiúscula na mesma coluna indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

A massa média de iogurte capaz de reduzir o radical DPPH em 50 % foi de 300 mg. Nas amostras A, B, e C, a capacidade em reduzir o radical foi a mesma para todas as amostras e ao longo do tempo. A inclusão de 2,5 e 5 % de inulina nos iogurtes não alterou significativamente

os resultados, apesar de as amostras B e C terem apresentado maior massa necessária à redução. Este resultado foi coerente uma vez que a adição de inulina, que não possui atividade antioxidante, reduziu a concentração das proteínas do leite, que possuem atividade antioxidante, levando ao aumento na massa de iogurte capaz de reduzir o radical.

Os resultados foram similares nas amostras com emulsão e sem inulina. As amostras A, D, G e J não apresentaram alterações significativas nos valores de redução ao longo dos 30 dias. Além disso, nos dias 1 e 15 os resultados obtidos para estas amostras não diferiram entre si. Porém, a partir do dia 30, as amostras D, G e J diferiram do controle A, apresentando menor massa necessária à redução do radical. A partir destes resultados, foi possível observar que a substituição do iogurte por emulsão não promoveu alterações da atividade antioxidante do iogurte, ou seja, a substituição de iogurte por emulsão de óleo de açaí não levou a um aumento nem a uma redução da atividade antioxidante do produto. Segundo Cao, Fu e He (2007), as proantocianidinas possuem a capacidade de precipitar alguns tipos de proteína, como a caseína do leite, por exemplo, formando complexos insolúveis com estes compostos. Desta forma, os resultados indicam que pode ter ocorrido a complexação das proantocianidinas, presentes no óleo, com as proteínas do leite, o que impediu que a atividade antioxidante do óleo aparecesse nos resultados.

Nas amostras com adição de 2,5 % de inulina variando a concentração de emulsão (amostras B, E, H e K) as amostras não diferiram ao longo dos 30 dias de armazenamento e no dia 1 não apresentaram diferenças em relação à amostra controle (A). A massa necessária para reduzir o DPPH em 50 % aumentou para a amostra B uma vez que ela possui apenas inulina como substituinte, mas a diferença não foi significativa. A partir do dia 15, as amostras passaram a diferir do controle, que apresentou a maior capacidade antioxidante. Resultados similares foram obtidos nas amostras com 5 % de inulina, que não diferiram do controle no dia 1, porém apresentaram diferenças a partir de 15 dias. Desta maneira, de uma forma geral, a adição concomitante de inulina e emulsão de óleo de açaí não contribuiu para aumentar a atividade antioxidante do iogurte, em termos de redução do radical DPPH.

Sengul *et al.* (2012) estudaram a adição de polpa de cereja azeda em iogurte e sua influência na atividade antioxidante dos tratamentos durante o período de estocagem que foi de 14 dias, avaliando a cada 7 dias. Os autores estudaram a adição de 8, 12 e 16 % de polpa e observaram que o aumento na concentração de polpa promoveu o aumento na atividade antioxidante dos iogurtes. O iogurte controle apresentou a menor atividade antioxidante quando comparado aos demais tratamentos. Os autores observaram o aumento na atividade antioxidante do controle passados 7 dias. Para os demais tratamentos houve uma redução da atividade antioxidante após

14 dias de armazenamento. Os autores associaram a perda de atividade antioxidante à atividade fermentativa das bactérias ácido-láticas, que promoveram o aumento na acidez levando à alteração em alguns compostos fenólicos com a alteração do pH do meio, reduzindo sua atividade antioxidante.

Yadav *et al.* (2018) estudaram as propriedades antioxidantes de iogurte enriquecido com extrato de semente de uva. Os autores estudaram a inclusão de 1 % de extrato de semente de uva encapsulado e nano-encapsulado no iogurte e compararam a diferença entre os dois processos com um controle na estabilidade antioxidante do extrato adicionado ao iogurte. Os materiais de parede utilizados na encapsulação foram concentrado proteico de soro do leite e goma arábica. Os resultados observados indicaram que o iogurte com extrato encapsulado apresentou resultados similares ao controle quanto às propriedades sensoriais, capacidade de retenção de água, acidez, cor e viscosidade, porém apresentou um aumento de três a quatro vezes na capacidade antioxidante em relação ao controle. Já o tratamento contendo extrato nano-encapsulado apresentou capacidade antioxidante superior ao tratamento encapsulado, porém apresentou características sensoriais inferiores. Além disso, ao longo do tempo o tratamento com extrato encapsulado se manteve estável por 21 dias, ao contrário do nano-encapsulado que sofreu degradação e perda de atividade a partir de 6 dias de armazenamento.

Marand *et al.* (2020) estudaram a atividade antioxidante de iogurte com adição de semente de linhaça em pó. Os autores estudaram a adição de 1, 3 e 5 % de pó de semente de linhaça e estudaram a influência destas concentrações na capacidade de reduzir o radical DPPH. Os resultados observados indicaram um aumento na atividade antioxidante do iogurte com os dias até 14 dias de armazenamento, aumento associado à atividade das bactérias ácido-láticas pelo aumento de peptídeos e dos aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína) presentes na semente de linhaça que possuem, ambos, capacidade antioxidante. O aumento na concentração de semente de linhaça em pó aumentou a capacidade antioxidante do iogurte. Após 14 dias de armazenamento a atividade antioxidante decaiu, mais especificamente após 21 dias.

Os resultados da atividade antioxidante dos iogurtes relacionada à massa estimada de iogurte capaz de reduzir o radical ABTS em 50 % estão apresentados na Tabela 23.

Tabela 23 - Massa de iogurte estimada, em mg, capaz de reduzir o radical ABTS em 50%.

Iogurte controle X iogurte variando a concentração de inulina, sem emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	58,6 ^{A,a} ± 2,3	53,5 ^{A,b} ± 3,2	49,1 ^{A,c} ± 2,6
B (2,5 % inulina)	54,2 ^{A,a} ± 2,7	49,5 ^{A,ab} ± 4,1	48,8 ^{A,b} ± 2,6
C (5,0 % inulina)	54,6 ^{A,a} ± 4,6	50,0 ^{A,a} ± 2,2	51,5 ^{A,a} ± 3,7
Iogurte controle X iogurte sem inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	58,6 ^{A,a} ± 2,3	53,5 ^{A,b} ± 3,2	49,1 ^{C,c} ± 2,6
D (8 % emulsão)	58,9 ^{A,a} ± 1,8	48,3 ^{B,b} ± 2,4	50,1 ^{BC,b} ± 1,7
G (10 % emulsão)	54,3 ^{A,a} ± 3,9	51,9 ^{AB,a} ± 2,8	55,5 ^{A,a} ± 3,8
J (12 % emulsão)	55,3 ^{A,a} ± 4,0	49,5 ^{AB,b} ± 2,3	54,9 ^{AB,ab} ± 4,4
Iogurte controle X iogurte 2,5 % de inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	58,6 ^{A,a} ± 2,3	53,5 ^{A,b} ± 3,2	49,1 ^{AB,c} ± 2,6
B (0 % emulsão)	54,2 ^{B,a} ± 2,7	49,5 ^{AB,ab} ± 4,1	48,8 ^{B,b} ± 2,6
E (8 % emulsão)	50,4 ^{B,ab} ± 2,7	47,0 ^{B,a} ± 3,1	53,5 ^{A,b} ± 2,2
H (10 % emulsão)	51,6 ^{B,a} ± 2,8	51,1 ^{AB,a} ± 2,3	53,3 ^{AB,a} ± 2,3
K (12 % emulsão)	53,6 ^{B,a} ± 1,6	53,7 ^{A,a} ± 1,0	50,2 ^{AB,a} ± 3,6
Iogurte controle X iogurte 5,0 % de inulina, variando a concentração de emulsão			
Iogurte	Dia 1	Dia 15	Dia 30
A (Controle)	58,6 ^{A,a} ± 2,3	53,5 ^{A,b} ± 3,2	49,1 ^{B,c} ± 2,6
C (0 % emulsão)	54,6 ^{AB,a} ± 4,6	50,0 ^{AB,a} ± 2,2	51,5 ^{B,a} ± 3,7
F (8 % emulsão)	52,8 ^{B,a} ± 1,1	49,1 ^{AB,b} ± 3,2	53,9 ^{AB,a} ± 2,3
I (10 % emulsão)	52,8 ^{B,a} ± 3,0	52,3 ^{A,a} ± 2,8	43,7 ^{AB,a} ± 2,3
L (12 % emulsão)	50,9 ^{B,a} ± 1,7	45,8 ^{B,b} ± 4,1	57,2 ^{A,c} ± 3,3

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra minúscula na mesma linha indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

** Amostras seguidas da mesma letra maiúscula na mesma coluna indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

A massa média de iogurte capaz de reduzir o radical ABTS em 50 % foi em torno de 50 mg, massa menor do que a massa necessária para reduzir o DPPH, o que confirma que o ABTS é muito mais sensível e reativo para este tipo de amostra. Nas amostras A, B, e C, a capacidade

em reduzir o radical foi similar para as três amostras nos três tempos estudados, indicando que a substituição de inulina não interferiu na atividade antioxidante do iogurte. Porém, ao longo do tempo, as amostras A e B apresentaram alterações significativas no armazenamento com um valor reduzido de massa, indicando aumento da atividade antioxidante com o tempo. A amostra C não apresentou alterações significativas ao longo do tempo, provavelmente relacionado à menor concentração de iogurte na amostra devido à substituição de 5 % por inulina, composto que não apresenta atividade antioxidante.

As amostras A, D, G e J, amostras sem inulina e com diferentes concentrações de emulsão, não apresentaram resultados distintos em relação à amostra controle no dia 1 de armazenamento, apesar de ter apresentado maior atividade antioxidante em relação ao controle. Porém, a partir do dia 15, todas as amostras diferiram da amostra controle apresentando menor atividade antioxidante, principalmente após 30 dias. Com exceção da amostra G, todas as amostras apresentaram diferenças significativas ao longo dos dias.

Nas amostras B, E, H e K, com 2,5 % de inulina e variadas concentrações de emulsão, todas as amostras apresentaram diferenças significativas em relação à amostra controle, no dia 1, apresentando maior atividade antioxidante. As amostras B e E apresentaram aumento da atividade antioxidante com o passar dos dias, enquanto as amostras H e K mantiveram os seus valores estáveis. A amostra controle A apresentou aumento na atividade antioxidante após 30 dias, aproximando dos valores obtidos para as amostras contendo emulsão.

Nas amostras C, F, I e L, com 5 % de inulina e variadas concentrações de emulsão, as amostras tiveram o mesmo comportamento que as amostras com 2,5 % de inulina, diferindo da amostra controle e com maior atividade antioxidante no dia 1 e reduzindo as diferenças em relação ao controle com o passar dos dias.

Desta forma, a inclusão de óleo de açaí aumentou inicialmente a atividade antioxidante do iogurte quando avaliada pelo método ABTS. Porém, passados 30 dias as amostras com emulsão mantiveram suas atividades antioxidantes constantes, ao contrário da amostra controle que aumentou a sua atividade com o passar dos dias igualando os resultados. De uma forma geral, as amostras mantiveram-se estáveis ao longo dos 30 dias de armazenamento. A adição de inulina, apesar de substituir uma parcela de iogurte reduzindo a concentração proteica não promoveu perda da atividade antioxidante. Da mesma forma, a substituição de uma parcela de iogurte por emulsão, reduzindo a concentração proteica e aumentando a concentração de água (fase contínua da emulsão) não reduziu a atividade antioxidante. Ainda no mesmo contexto, a inclusão de óleo de açaí, que possui atividade antioxidante, não promoveu um aumento na atividade antioxidante do iogurte. Assim, concluiu-se que a adição de emulsão de óleo de açaí

não prejudicou a capacidade antioxidante promovida pelo iogurte, mas também não promoveu uma fortificação neste quesito pelos métodos avaliados. Assim como discutido anteriormente nos resultados de sequestro do radical DPPH, pode ter ocorrido a complexação das proantocianidinas com a caseína do iogurte, o que impediu que a atividade antioxidante dos compostos fosse apresentada.

5.3.6 Caracterização reológica do iogurte

5.3.6.1 Ensaios estacionários - Curvas de fluxo

Os ajustes das curvas de fluxo dos iogurtes do presente estudo foram realizados de acordo com o modelo Herschel-Bulkley. Neste modelo, as propriedades reológicas são definidas pelos parâmetros: coeficiente de consistência (k), que representa a resistência do iogurte ao fluxo, e pelo índice de comportamento do fluido (n), que caracteriza a natureza reológica do material. Tais parâmetros são estimados pela relação entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação. Adicionalmente, define-se a tensão de cisalhamento inicial (τ_0) que representa a tensão mínima requerida para que o iogurte comece a fluir (PRAJAPATI *et al.*, 2016).

Os resultados obtidos nos ensaios estacionários para as amostras de iogurte A, C, F, I e L ao longo de 30 dias podem ser observados na Figura 30.

Figura 30 - Curva de fluxo das amostras de iogurte nos seguintes tempos de estocagem: a) Dia 1; b) Dia 15; e, c) Dia 30. Os marcadores cheios representam a curva real da amostra e a linha contínua representa o modelo Herschel-Bulckey (HB).

Fonte: Própria autoria.

A tensão de cisalhamento foi maior para a amostra A, representada pelo iogurte integral sem adições. A amostra C, representada pelo iogurte com 5 % de inulina, apresentou uma curva com valores de tensão de cisalhamento entre o iogurte integral e os iogurtes adicionados de inulina e emulsão. Por fim, as amostras F, I e L, contendo 8, 10 e 12 % de emulsão e 5 % de inulina apresentaram os menores valores de tensão de cisalhamento, na ordem decrescente de redução para as amostras F, I e L. Os resultados obtidos são coerentes com o esperado uma vez que o iogurte integral apresentou maior viscosidade quando comparado aos iogurtes adicionados de inulina e/ou emulsão. Foi observado que quanto maior a concentração de emulsão menor foi o valor de tensão de cisalhamento inicial dado pela curva, ou seja, menor resistência a iniciar o fluxo. Apesar disso, a diferença entre as curvas de F, I e L foi menor com o passar do tempo, tendo havido quase uma sobreposição de curvas passados 30 dias.

Os parâmetros reológicos obtidos na análise podem ser observados na Tabela 24.

Tabela 24 - Parâmetros reológicos τ_0 (tensão de cisalhamento inicial), k (índice de consistência) e n (índice de comportamento do fluido) dos iogurtes.

Tempo de armazenagem (dias)	Iogurte	τ_0 (Pa)	k (Pa.s ⁿ)	n	Coefficiente de correlação
1	A	56,74 ^a ± 2,86	0,926 ^b ± 0,084	0,894 ^a ± 0,011	0,807
	C	22,15 ^b ± 0,44	6,034 ^a ± 1,532	0,501 ^b ± 0,062	0,954
	F	12,98 ^c ± 1,43	4,424 ^{ab} ± 1,061	0,534 ^b ± 0,035	0,983
	I	10,54 ^c ± 1,18	3,891 ^{ab} ± 0,658	0,543 ^b ± 0,007	0,979
	L	6,58 ^c ± 1,29	2,868 ^{ab} ± 0,647	0,608 ^b ± 0,081	0,978
15	A	43,72 ^a ± 3,21	1,159 ^c ± 0,204	0,831 ^a ± 0,055	0,860
	C	25,22 ^b ± 2,16	5,777 ^a ± 0,988	0,500 ^b ± 0,013	0,931
	F	14,51 ^c ± 1,15	3,492 ^{ab} ± 0,795	0,573 ^b ± ,055	0,971
	I	15,85 ^c ± 1,30	4,270 ^{ab} ± 0,023	0,514 ^b ± 0,007	0,960
	L	9,82 ^c ± 0,81	2,651 ^{bc} ± 0,005	0,570 ^b ± 0,003	0,981
30	A	61,20 ^a ± 6,60	0,663 ^a ± 0,011	0,961 ^a ± 0,034	0,741
	C	33,28 ^b ± 0,95	3,510 ^a ± 3,186	0,641 ^{ab} ± 0,187	0,899
	F	23,35 ^{bc} ± 0,66	2,586 ^a ± 0,921	0,621 ^{ab} ± 0,083	0,942
	I	15,68 ^c ± 2,20	3,734 ^a ± 0,229	0,546 ^b ± 0,020	0,956
	L	16,53 ^c ± 0,99	4,228 ^a ± 0,088	0,477 ^b ± 0,010	0,922

Fonte: Própria autoria.

*Amostras seguidas da mesma letra na mesma coluna indicam médias sem diferenças significativas a 95 % de confiança pelo teste de Tukey.

** As amostras são constituídas por: A = iogurte controle (sem adição de inulina e de emulsão); C = 5 % de inulina; F = 5 % de inulina + 8 % de emulsão; I = 5 % de inulina + 10 % de emulsão; e. L = 5 % de inulina e 12 % de emulsão.

Os valores obtidos de tensão inicial foram maiores para o iogurte integral, com redução com a adição de inulina e, de inulina e emulsão. Foi observado que quanto maior a concentração de emulsão adicionada, menor foi o valor da tensão inicial necessária para iniciar o fluxo do iogurte para todos os tempos estudados. Este resultado se deve à maior concentração de água na emulsão e devido à substituição parcial do iogurte para que ocorresse a adição de emulsão, reduzindo assim a concentração em agregados proteicos e gordura e aumentando a fluidez. Apesar da redução do valor de tensão inicial, não houve diferenças estatísticas entre os valores de tensão inicial para as amostras F, I e L, indicando que um aumento de 8 para 12 % de emulsão

não promoveu diferenças estatísticas na tensão necessária para que se iniciasse o fluxo do iogurte. Em todos os tempos estudados, a amostra C, composta apenas por iogurte e 5 % de inulina, apresentou diferenças estatísticas tanto da amostra A, composta por iogurte integral, quanto das amostras F, I e L, adicionadas de inulina e emulsão. Desta forma, a tensão inicial requerida para que o iogurte C fluísse foi menor do que a tensão requerida para o iogurte A e maior do que a tensão requerida para os iogurtes F, I e L.

Quanto aos valores de tensão de cisalhamento inicial de cada amostra ao longo do tempo, foi possível observar que para todas as amostras houve aumento nos valores de tensão inicial das amostras com o tempo, com exceção da amostra A que diminuiu após 15 dias e aumentou passados 30 dias.

O índice de consistência (k) apresentou valores estatisticamente diferentes entre o iogurte controle e os iogurtes adicionados com emulsão e/ou inulina confirmando que a adição de emulsões e/ou inulina promoveu alteração na estrutura do iogurte.

Iogurtes possuem comportamentos de fluxo não-newtonianos com forte dependência do tempo tanto em tixotrópicos como em viscoelásticos (PRAJAPATI *et al.*, 2016). Segundo Vélez-Ruiz (2019), fluidos newtonianos apresentam $n = 1$, enquanto fluidos pseudoplásticos apresentam valores de $n < 1$ (resultado comumente encontrado para os fluidos alimentícios), e fluidos dilatantes apresentam $n > 1$ (resultado raramente encontrado para fluidos alimentícios). De acordo com os valores obtidos e representados na Tabela 24, todas as amostras apresentaram valores de n abaixo de 1 levando a concluir que todas as amostras em estudo apresentaram comportamento de fluido do tipo pseudoplástico.

5.3.6.2 Ensaios de reologia dinâmica oscilatória de pequena amplitude

Segundo Steffe (1996), os ensaios oscilatórios são uma das formas mais comuns de se medir e estudar o comportamento viscoelástico de alimentos devido à alta sensibilidade que apresentam às alterações na composição química e, conseqüentemente, na estrutura física do alimento. As propriedades reológicas dos iogurtes são complexas e influenciadas pela concentração de sólidos, estado físico e conteúdo de gordura e proteínas do leite (bem como o tipo de proteína), temperatura e composição do leite, intensidade da agitação mecânica e quebra do coágulo, uso de estabilizantes, tipo e quantidade de cultura *starter* inoculada (PASKOV, KARSHEVA; PENTCHEV, 2010), acidez, temperatura de fermentação e condições de estocagem do produto final (SENDRA *et al.*, 2010; PRAJAPATI *et al.*, 2016). Basicamente,

como produto final, os iogurtes integrais são dispersões de partículas formados por agregados de caseína e glóbulos de gordura do leite. A interação entre estas partículas influencia o comportamento reológico do iogurte uma vez que os glóbulos de gordura atuam como agentes ligantes das micelas de caseína. Desta forma, iogurtes integrais tendem a apresentar módulo elástico mais altos do que iogurtes parcialmente desnatados ou desnatados (SANDOVAL-CASTILLA *et al.*, 2004).

Os valores de módulo elástico (G') são medidos pela energia estocada pela amostra ao ser submetida a uma certa deformação devido a um processo de cisalhamento, representando o comportamento elástico da amostra. Já o módulo viscoso (G'') é a medida da energia de deformação dissipada no processo de cisalhamento, representando o comportamento viscoso da amostra. Desta forma, se G' é maior do que G'' , a amostra terá um comportamento do tipo sólido, com deformações elásticas. Caso contrário, se G'' for maior do G' , a energia utilizada no processo de deformação é dissipada e a amostra é classificada com um comportamento do tipo líquido, ou seja, com deformação do tipo viscosa (CRUZ *et al.*, 2013; TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÂNOVAS, 2005).

Os resultados dos ensaios de reologia dinâmica oscilatória de pequena amplitude das amostras de iogurte nomeadas A, C, F, I e L podem ser observados na Figura 31.

Figura 31 - Curva de frequência das amostras de iogurte nos seguintes tempos de estocagem: a) Dia 1; b) Dia 15; e, c) Dia 30.

Fonte: Própria autoria.

Todas as amostras estudadas apresentaram dependência com a frequência indicando que a estrutura das amostras de iogurte em estudo é formada por géis fracos, característica típica de

iogurtes. De acordo com Steffe (1996), os géis fracos são dependentes da frequência e o módulo elástico é maior do que o módulo viscoso não havendo cruzamento entre as curvas de G' e de G'' . Já em géis fortes, não há dependência dos módulos com a frequência, ou seja, eles não variam com o aumento da frequência. Estes resultados também podem ser observados em ensaios estacionários, em que um gel fraco sofre escoamento a altas deformações, enquanto um gel forte sofre ruptura (GUERREIRO; MENEGUELLI, 2009; IKEDA; NISHINARI, 2001). Desta forma, o comportamento de gel fraco também pode ser observado nos resultados de ensaios estacionários discutidos no item anterior.

Os resultados obtidos para todas as amostras analisadas indicaram que os valores de G' foram maiores do que os valores de G'' , indicando comportamento de gel para todas as amostras. Os resultados indicaram que a amostra controle apresentou o maior valor de G' e G'' para todos os tempos estudados. Estes resultados foram coerentes uma vez que era esperado que a adição de emulsão aos iogurtes promovesse uma perda de viscosidade devido a uma maior fluidez da emulsão, como consequência da sua concentração em água, quando comparada ao iogurte controle. Desta forma, a adição de emulsão promoveu uma redução nos valores de G' e G'' . As concentrações de emulsões incorporadas ao iogurte foram de 8, 10 e 12 % (m/m). Foi observado que os valores dos módulos elástico e viscoso para as três diferentes concentrações apresentaram curvas sobrepostas, ou seja, o aumento na concentração de emulsão de 8 para 12 % não teve influência nos resultados de G' e G'' .

Baba *et al.* (2018) estudaram as propriedades reológicas de pequena amplitude de amostras de iogurte fortificadas com óleo de linhaça e óleo de noz emulsionados com goma guar. Diferentemente do presente estudo, a emulsão foi preparada a partir da homogeneização de 2 % dos óleos, adicionados separadamente em suas respectivas amostras, e diferentes concentrações de goma guar (0; 0,025 % e 0,05 %). Em cada amostra ocorreu a homogeneização da mistura de óleo e goma guar com o leite, produzindo uma emulsão do tipo óleo em água, quando então ocorreu a incubação e a produção do iogurte. Os resultados obtidos indicaram $G' > G''$ para todas as amostras, bem como dependência com a frequência indicando a formação de géis fracos. Os autores observaram que a goma guar fortaleceu a estrutura do gel devido à interação do hidrocoloide com a matriz de caseína, tendo sido maiores os módulos com o aumento na concentração de goma guar. Além disso, a presença de óleo também promoveu um reforço na estrutura do iogurte, aumentando os módulos. O óleo de linhaça apresentou maior reforço da rede de gel quando comparado ao reforço promovido pelo óleo de noz. Comparado ao presente estudo, como a emulsão foi preparada a partir da própria água presente no leite, os módulos aumentaram com a adição de óleo e goma guar uma vez que não

ocorreu a adição extra da água utilizada para produzir a emulsão que foi adicionada ao iogurte já preparado e levou a uma redução dos módulos.

Uma concentração de 5 % de inulina foi adicionada a todas as formulações (C, F, I e L), com exceção da amostra controle, o que pode ter tido influência sobre os resultados. A amostra C, composta apenas de iogurte integral e 5 % de inulina apresentou parâmetros reológicos (G' e G'') menores do que os valores encontrados no iogurte controle e maiores do que os resultados obtidos nas amostras F, I e L (amostras com emulsão). Segundo Chiavaro, Vittadini e Corradini (2007), a inulina promove a quebra da estrutura das redes do gel proteico devido à formação de complexos com os agregados de proteína presentes no iogurte por meio de ligações de hidrogênio (CRUZ *et al.*, 2013). Assim, nas amostras com 8, 10 e 12 % de emulsão, além da perda de viscosidade dada pela presença da emulsão e redução da concentração de proteínas ocasionada pela substituição de iogurte por emulsão, pode ter ocorrido a formação de complexos entre a inulina e os agregados proteicos, favorecendo a redução nos valores dos módulos elástico e viscoso. Além disso, a curva do iogurte formulado com inulina com valores menores do que os obtidos pelo iogurte controle pode ter sofrido influência da adição da inulina no iogurte comercial já pronto para o consumo ao invés de ter sido adicionada ao processo antes da fermentação. Desta forma, para que ocorresse a adição da inulina foi necessário realizar a sua mistura ao iogurte já pronto para o consumo, uma vez que as amostras foram produzidas a partir de um produto comercial, o que promoveu nova quebra na estrutura da rede de gel do produto, levando ao seu enfraquecimento e, conseqüentemente, valores dos módulos elástico e viscoso menores do que os módulos do iogurte controle. Diferentemente, nas amostras F, I e L, a dispersão da inulina ocorreu primeiramente na emulsão e, por fim, a mistura foi adicionada ao iogurte para reduzir a necessidade de dois processos de agitação e, conseqüentemente, quebra na estrutura do gel.

Cruz *et al.* (2013) estudaram o comportamento reológico de iogurtes enriquecidos com oligofrutose como prebióticos em iogurtes, variando as concentrações em 0, 2, 4, 6 e 8 % de oligofrutose. Os autores observaram que para todas as amostras o módulo G' foi maior do que o módulo G'' para toda a faixa de frequências estudadas, caracterizando as amostras como géis fracos, resultado tipicamente encontrado em iogurtes. Os autores observaram que a adição de oligofrutose influenciou os resultados, em que as curvas obtidas para o iogurte sem oligofrutose apresentaram valores de G' e de G'' maiores do que as curvas obtidas nas amostras com oligofrutose. Além disso, os autores observaram que as variações na concentração de 2 a 8 % não tiveram influência nos resultados e não foram dependentes do tempo de estocagem. Os autores sugeriram a influência negativa de oligossacarídeos na formação do gel proteico.

Outro resultado observado foi o aumento nos valores dos módulos (G' e G'') com o tempo de estocagem, principalmente após 30 dias de armazenamento. O mesmo resultado foi encontrado por Cruz *et al.* (2013) em iogurtes adicionados de oligofrutose, um prebiótico da classe dos oligossacarídeos, e pode estar associado às interações entre as proteínas durante o armazenamento, bem como a rearranjos nas estruturas da rede de gel.

5.3.7 Caracterização microbiológica do iogurte

Os iogurtes foram caracterizados ao longo de 30 dias, em intervalos de 15 dias, quanto à contagem de fungos filamentosos e leveduras e bactérias ácido-láticas.

Os resultados obtidos para contagem de bolores e leveduras dos iogurtes ao longo de 30 dias de armazenamento podem ser observados na Tabela 25.

Tabela 25 - Contagem de bolores e leveduras dos iogurtes.

Bolores e leveduras (UFC/g)			
Amostra	Dia 1	Dia 15	Dia 30
Amostra A	Ausência	Ausência	Ausência
Amostra F	Ausência	Ausência	Ausência
Amostra I	Ausência	Ausência	Ausência
Amostra L	Ausência	Ausência	Ausência

Fonte: Própria autoria.

Os resultados de contagem de bolores e leveduras para os iogurtes A, F, I e L ao longo de 30 dias, indicaram que não houve crescimento de fungos filamentosos e leveduras nas quatro amostras analisadas durante a armazenagem. Estes resultados indicam que os iogurtes podem ser considerados seguros para o consumo ao longo dos 30 dias de armazenamento.

Os resultados obtidos para contagem de bactérias ácido-láticas dos iogurtes ao longo de 30 dias de armazenamento podem ser observados na Tabela 26.

Tabela 26 - Contagem de bactérias ácido-láticas dos iogurtes.

Bactérias ácido-láticas (UFC/mL)			
Amostra	Dia 1	Dia 15	Dia 30
Amostra A	4,50 x 10 ⁶	4,25 x 10 ⁶	1,94 x 10 ⁶
Amostra F	3,65 x 10 ⁶	3,90 x 10 ⁶	1,79 x 10 ⁶
Amostra I	4,90 x 10 ⁶	3,20 x 10 ⁶	1,58 x 10 ⁶
Amostra L	4,10 x 10 ⁶	2,08 x 10 ⁶	1,18 x 10 ⁶

Fonte: Própria autoria.

Os resultados obtidos para as amostras A, F, I e L de iogurte, ao longo de 30 dias de armazenamento, indicaram uma redução na contagem das bactérias ao longo do tempo de armazenamento para as quatro amostras. Os resultados indicaram que não houve diferença na contagem de bactérias ácido-láticas entre as amostras A, F, I e L no primeiro dia de armazenamento. A adição de inulina não promoveu benefícios ou alteração na contagem das bactérias para todos os tempos estudados.

Passados 15 dias de armazenamento, os valores indicaram redução no número de bactérias ácido-láticas com o aumento da concentração de emulsão e, conseqüentemente, redução na concentração de iogurte das amostras A, F, I e L, respectivamente, em ordem decrescente em concentração de iogurte. O mesmo ocorreu com as amostras passados 30 dias de armazenamento. O resultado é coerente com a concentração de iogurte uma vez que a adição de emulsão tem como consequência a substituição de uma parcela deste. Desta forma, com a redução na concentração de iogurte há uma menor concentração em bactérias ácido-láticas, promovendo menor crescimento destes microrganismos.

Após 30 dias de armazenamento houve queda na contagem das bactérias. Este resultado é comumente encontrado em iogurtes uma vez que, com o passar dos dias os microrganismos mantêm a fermentação da lactose levando à uma maior produção em ácido lático o que reduz o pH, promovendo uma redução na viabilidade das bactérias (ANUYAHONG; CHUSAK; ADISAKWATTANA, 2020).

Os requisitos de contagem de bactérias ácido-láticas em iogurtes exigidos pela legislação do MAPA, IN 46/2007 (BRASIL, 2007), é de no mínimo 10⁷ UFC/g de iogurte. Os resultados encontrados no iogurte em estudo não estiveram de acordo com os resultados exigidos pela legislação. Porém, segundo Terpou *et al.* (2019), a partir de 10⁶ UFC/g em bactérias ácido-láticas o iogurte já passa a promover benefícios à saúde uma vez que se trata de

uma concentração suficiente para garantir a viabilidade das bactérias ácido-láticas após a passagem pelo estômago alcançando o intestino de forma viável.

Muitos fatores podem ter influenciado para que o resultado de contagem fosse abaixo do esperado, tais como parâmetros de processo como temperatura, concentração de cultura *starter*, concentração de lactose no leite, problemas de temperatura durante o armazenamento e distribuição. Provavelmente, ocorreram problemas no armazenamento e distribuição do produto que levaram à redução da contagem das bactérias ácido-láticas no produto. Por se tratar de um produto adquirido no mercado local da cidade de Pirassununga, interior do estado de São Paulo, não houve como controlar as etapas de conservação do produto a partir do produto acabado e distribuído. Dentre os fatores que podem ter contribuído para a baixa contagem, o controle da temperatura de transporte e armazenamento do produto acabado parece ter sido o principal motivo da perda na contagem das bactérias ácido-láticas.

6 CONCLUSÃO

O óleo de açaí utilizado, mesmo sendo uma mistura de óleo de açaí e óleo de girassol, apresentou atividade antioxidante em termos de sequestro dos radicais DPPH e ABTS, bem como composição em fenólicos totais e proantocianidinas, compostos de alta capacidade antioxidante.

Todas as emulsões produzidas foram estáveis ao longo de 22 dias de armazenamento em termos de diâmetro médio, *span* e distribuição de tamanho das gotas. Todas as amostras foram produzidas a partir de óleo de açaí, maltodextrina e dextrina em diversas concentrações. Além disso, as emulsões foram estáveis em relação aos parâmetros colorimétricos ao longo do tempo de armazenamento.

A emulsão contendo 8 % de óleo de açaí, 4 % de maltodextrina e 4 % de dextrina apresentou, como esperado, atividade antioxidante, bem como concentração em proantocianidinas, estáveis ao longo dos 29 dias de armazenamento.

Os iogurtes apresentaram valores de pH conforme os valores exigidos pela legislação. A adição de emulsão e inulina não promoveram alterações nos valores de pH, que se mantiveram de acordo com os valores permitidos pela legislação, estáveis durante os 30 dias de armazenamento. Os valores calculados para acidez titulável reduziram com a adição de emulsão e inulina, entretanto se mantiveram de acordo com os valores exigidos pela legislação.

A adição de inulina aumentou a sinérese do iogurte no dia 1, porém a partir de 15 dias de armazenamento a sinérese estabilizou, resultado associado à capacidade de retenção de água da inulina em reduzir a sinérese com o passar dos dias. A adição de emulsão aumentou a sinérese dos iogurtes e não promoveu uma melhora na atividade antioxidante dos iogurtes.

As propriedades reológicas dos iogurtes foram influenciadas pela concentração de emulsão, tendo sido reduzidos os valores de tensão de cisalhamento, módulo elástico (G') e módulo de perda (G''), quanto maior a concentração de emulsão adicionada ao iogurte.

As características microbiológicas dos iogurtes indicaram ausência de crescimento de bolores e leveduras. A contagem de bactérias ácido-láticas apresentou resultados abaixo daquele exigido pela legislação, porém dentro de uma concentração capaz de atingir o intestino de forma viável. Além disso, a adição de emulsão promoveu uma redução na contagem de bactérias ácido-láticas e a adição de inulina não promoveu benefícios ao crescimento das bactérias.

REFERÊNCIAS

- ABHYANKAR, A. R.; MULVIHILL, D. M.; AUTY, M. A E. Combined confocal microscopy and large deformation analysis of emulsion filled gels and stirred acid milk gels. **Food Structure**, Chicago, v. 1, p. 127-136, 2014.
- ABURTO, L. C.; TAVARES, D. Q.; MARTUCCI, E. T.; Microencapsulação de óleo essencial de laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 45-48, 1998.
- ADRIANO, E.; LEONEL, S.; EVANGELISTA, R.M. Qualidade de fruto de aceroleira Cv. Olivier em dois estádios de manutenção. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, p. 541-545, 2011. Volume especial.
- AGOSTINI, F. **Obtenção e análise de óleo e compostos fenólicos de sementes de diferentes variedades de uva (vitis vinifera e vitis labrusca) cultivadas no rio grande do sul**. 2011. Tese (Doutorado) - Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2011.
- AKBARI, S. *et al.* Extraction, characterization, and antioxidant activity of fenugreek (*Trigonella Foenum Graecum*) seed oil. **Materials Science for Energy Technologies**, Beijing, v. 2, p. 349-355, 2019.
- AKIN, M. B.; AKIN, M. S.; KIRMACHI, Z. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yoghurt and probiotic bacteria and the physical characteristics in probiotic ice-cream. **Food Chemistry**, London, v. 104, p. 93-99, 2007.
- ALIZADEH, A. *et al.* Essential oil composition, total phenolic content, antioxidant activity and antifungal properties of Iranian *Thymus daenensis* subsp *daenensis* Celak. as influenced by ontogenetical variation. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, London, v. 16, n. 1, p. 59-70, 2013.
- ALSHAIBANI, D.; ZHANG, R.; WU, V. C. H. Antibacterial characteristics and activity of *Vaccinium macrocarpon* proanthocyanidins against diarrheagenic *Escherichia coli*. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 39, p. 133-138, 2017.
- AL-SHERAJI, S. H. *et al.* Prebiotics as functional foods: A review. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 5, n. 4, p. 1542-1553, 2013.
- ALVAREZ-SABATEL, S.; MARAÑÓN, I. M.; ARBOLEYA, J. C. Impact of high-pressure homogenisation (HPH) on inulin gelling properties, stability and development during storage. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 44, p. 333-344, 2015.
- AMATATONGCHAI, M. *et al.* Simple flow injection for screening of total antioxidant capacity by amperometric detection of DPPH radical on carbon nanotube modified glassy carbon electrode. **Talanta**, London, v. 97, p. 267-272, 2012.
- AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Official Methods and recommended practices of the American Oil Chemists's Society**. 4th. ed. Champaign: AOCS, 1995.
- ANDERSON, J. W. Dietary fiber and human healthy. **HortScience**, St. Joseph, v. 25, p. 1488-1495, 1990.
- ANDREO, D.; JORGE, N. Capacidade antioxidante e estabilidade oxidativa de *Gengiber officinale*. **UNOPAR Científica**. Ciências biológicas e da saúde, Londrina, v. 13, n. 1, p. 33-37, 2011.
- ANTHERO, A. G. S. **Termoconversão do amido de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) na presença do ácido láctico**: caracterização de propriedades físico-químicas e aplicação como material

encapsulante do ácido ascórbico. 2014. Trabalho de conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.

ANTONIASSI, R. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos (CEPPA)**, Curitiba, v. 19, n. 2, 2001.

ANUYAHONG, T.; CHUSAK, C.; ADISAKWATTANA, S. Incorporation of anthocyanin-rich riceberry rice in yougurts: Effect on physicochemical properties, antioxidante activity *in vitro* gastrointestinal digestion. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 129, 2020. In press.

AOCS. **Official methods and recommended practices of the AOCS**. 5th ed. Champaign, IL: American Oil Chemists' Society, 1998.

ARIMBOOR, R.; ARUMUGHAN, C. Effect of polymerization on antioxidant and xanthine oxidase inhibitory potential of sea buckthorn (*H. rhamnoides*) proanthocyanidins. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 77, p. 1036-1041, 2012.

ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 11, n. 11, p. 419-421, 2000.

ARYANA, K. J.; OLSON, D. W. A 100-Year Review: Yogurt and other cultured dairy products. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 100, p. 9987-10013, 2017.

ASAD, U.; EMENAKER, N. J.; MILNER, J. A. Colorectal cancer prevention: The role of prebiotics. In: GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. (Ed.). **Handbook of prebiotics**. Boca Raton: CRC Press, 2008. p. 285-294.

ASIF, M. Chemistry and antioxidant activity of plants containing some phenolic compounds. **Chemistry International**, Oxford, v. 1, n.1, p. 35-52, 2015.

AWIKA, J. M. *et al.* Processing of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products alters procyanidin oligomer and polymer distribution and content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 5516–5521, 2003.

BABA, W. N. *et al.* Techno-functional properties of yoghurts fortified with walnut and flaxseed oil emulsions in guar gum. **LWT – Food Science and Technology**, London, v. 92, p. 242 – 249, 2018.

BAGCHI, D. *et al.* Free radical scavenging, antioxidant and cancer chemoprevention by grape seed proanthocyanidin: An overview. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 768, p. 69-73, 2014.

BAIANO, A. *et al.* Changes in phenolic content and antioxidant activity of Italian extra-virgin olive oils during storage. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 74, n. 2, p. 177-183, 2009.

BARBOSA, P. O. *et al.* Açaí (*Euterpe oleracea* Martius) supplementation improves oxidative stress biomarkers in liver tissue of dams fed a high-fat diet and increases antioxidant enzymes' gene expression in offspring. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, Paris, v. 139, 2021.

BARCLAY, T. *et al.* Inulin – a versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses. **Journal of Excipients and Food Chemicals**, [s.l.], v. 1, p. 27-50, 2010.

BELLAVER, C.; ZANOTTO, D. L. Parâmetros de qualidade em gorduras e subprodutos proteicos de origem animal. **Conferência APINCO**, Santos, 2004.

- BOENI, S.; POURAMAHD, R. Use of inulin and probiotic lactobacilli in symbiotic yogurt production. **Annals of Biological Research**, [s.l.], v. 3, p. 3486-3491, 2012.
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-30, 1999.
- BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH• free radical method. **Food Science and Technology**, London, v. 30, p. 609-615, 1997.
- BONNES, T.; GUÉRIN, T. Is malonaldehyde a valuable of peroxidation? **Biochemical Pharmacology**, New York, v. 44, n. 5, p.9 85-988, 1992.
- BONOMO, L. F.; SILVA, M. Functional benefits of açaí. In: TODOROV, S. D.; PIERI, F. A. **Tropical fruits: from cultivation to consumption and health benefits**. New York: Nova Science Publishers, 2018.
- BOT, A. *et al.* Influence of crystallisation conditions on the large deformation rheology of inulin gels. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 18, p. 547–556, 2004.
- BOUYER, E. *et al.* Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 436, n. 1-2, p. 359-378, 2012.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidante activity. **LWT – Food Science and Technology**, London, v. 28, n. 1, p. 24-31, 1995.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 270**. Ministério da Saúde, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados**. Instrução Normativa nº 46, 2007.
- BRASIL DAIRY TRENDS 2020. **Tendências do mercado de produtos lácteos**. Campinas: Ital, 2017. Disponível em: <http://www.brasildairyrends.com.br/3/#zoom=z>. Acesso em: 10 jun. 2020.
- BRONDIZIO, E.; SAFAR, C.; SIQUEIRA, A. The urban market of açaí fruit (*Euterpe oleracea* Mart.) and rural land use change: Ethnographic insights into the role of price and land tenure constraining agricultural choices in the Amazon estuary. **Urban Ecosystems**, New York, v. 6, p. 67–97, 2002.
- BUFFO, R. A.; REINECCIUS, G. A.; OEHLERT, G. W. Factors affecting the emulsifying and rheological properties of gum acacia in beverage emulsions. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 15, p. 53-66, 2001.
- CALEFFI, E. R. *et al.* Isolation and prebiotic activity of inulin-type fructan extracted from *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen roots. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 80, p. 392-399, 2015.
- CANBULAT, Z.; OZCAN, T. Effects of short-chain and long-chain inulinon the quality of prebiotic yoghurt containing *Lactobacillus rhamnosus*. **Journal of Food Proccessing and Preservation**, [s.l.], v. 39, p. 1251-1260, 2015.
- CAO, G. H.; ALESSIO, H. M.; CUTLER, R. G. Oxygen-radical absorbency capacity assay for antioxidants. **Free Radical Biology e Medicine**, Philadelphia, v.14, p.303- 311, 1993.

CAO, N.; FU, Y.; HE, J. Mechanical properties of gelatin films cross-linked, respectively: By ferulic acid and tannin acid. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 21, p. 575–584, 2007.

CARNEIRO, H. C. F. **Microencapsulação de óleo de linhaça por *spray drying***: Influência da utilização de diferentes combinações de materiais de parede. 2011. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Campinas, 2011.

CARNEIRO, H. C. F. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, London, v. 115, n. 4, p. 443–451, 2013.

CARARETO, N. D. D. *et al.* Water activity of aqueous solutions of ethylene oxide-propylene oxide block copolymers and maltodextrins. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, São Paulo, v. 27, p. 173–181, 2010.

CASEMIRO, R. C. **Estabilidade oxidativa e avaliação sensorial de emulsões com extratos de ervas antioxidantes**. 2016. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

CASTELO-BRANCO, V. N.; TORRES, A. G. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 173–187, 2011.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 441–449, 2007.

CHANG, S.K.; ALASALVAR, C.; SHAHIDI, F. Superfruits: Phytochemicals, antioxidant efficacies, and health effects - a comprehensive review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, New York, v. 59, p. 1580–1604, 2019.

CHIAVARO, E.; VITTADINI, E.; CORRADINI, C. Physicochemical characterization and stability of inulin gels. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 225, p. 85–94, 2007.

CHRONAKIS, I. S.; KASAPIS, S. Preparation and analysis of water continuous very low fat spreads. **LWT – Food Science and Technology**, London, v. 28, p. 488–494, 1995.

CHRONAKIS, I. S. Structural–functional and water-holding studies of biopolymers in low fat content spreads. **LWT – Food Science and Technology**, London, v. 30, p. 36–44, 1997.

CIEŚLA, Ł. *et al.* Approach to develop a standardized TLC-DPPH test for assessing free radical scavenging properties of selected phenolic compounds. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 70, p. 126–135, 2012.

CLAY, J.; CLEMENT, C. **Selected species and strategies to enhance income generation from amazonian forests**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations Corporate Document Repository, 1993.

CODEX ALIMENTARIUS. **Fats, oils and related products**. 2nd ed. Roma, 2001. v. 8.

COÏSSON, J. D. *Euterpe oleracea* juice as functional pigment for yogurt. **Food Research International**, Oxford, v. 38, p. 847–853, 2005.

CONTENTE, D. M. L. **Obtenção e caracterização de nanoemulsão de óleo em água a partir de óleo de açaí (*Euterpe oleracea*)**. 2016. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Belém, PA, 2016.

COSTA, M. P. *et al.* Determination of biogenic amines by high-performance liquid chromatography (HPLC-DAD) in probiotic cow's and goat's fermented milks and acceptance. **Food Science and Nutrition**, New York, v. 3, p. 172-178, 2015a.

COSTA, M. P. *et al.* Cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) pulp, probiotic, and prebiotic: Influence on color, apparent viscosity, and texture of goat milk yogurts. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 98, p. 5995-6003, 2015b.

CRISPÍN-ISIDRO, G. *et al.* Effect of inulin and agave fructans addition on the rheological, microstructural and sensory properties of reduced-fat stirred yoghurt. **LWT – Food Science and Technology**, London, v. 62, p. 438-444, 2015.

CRUZ, A. G. *et al.* Developing a prebiotic yogurt: Rheological, physico-chemical and microbiological aspects and adequacy of survival analysis methodology. **Journal of Food Engineering**, London, v. 114, 323–330, 2013.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DEL POZO-INSFRAN, D.; BRENES, C.; TALCOTT, S. Phytochemical composition and pigment stability of Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 1539–1545, 2004.

DELEHANTY, J. B. *et al.* Binding and neutralization of lipopolysaccharides by plant proanthocyanidins. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 70, n. 11, p. 1718–1724, 2007.

DEWULF, E. M. *et al.* Insight into the prebiotic concept: lessons from an exploratory, double blind intervention study with inulin-type fructans in obese women. **Gut**, London, v. 6, p. 1112–1121, 2013.

DICKINSON, E.; STAINSBY, G. **Colloids in foods**. London: Elsevier, 1982.

DICKINSON, E. **Na Introduction to Food Colloids**. Oxford, UK: Oxford Univ. Press, 1992. 216 p.

DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 17, p. 25–39, 2003.

DICKINSON, E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 23, p. 1473-1482, 2009.

DOKIC-BAUCAL, L.; DOKIC, P.; JAKOVLJEVIC, J. Influence of different maltodextrins on properties of O/W emulsions. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 18, p. 233–239, 2004.

DURMAZ, G. *et al.* Roasting-related changes in oxidative stability and antioxidant capacity of apricot kernel oil. **Journal of the American Oils Chemists' Society**, v. 87, p. 401-409, 2010.

DURMAZ, G. Freeze-dried ABTS method: A ready-to-use radical powder to assess antioxidant capacity of vegetable oils. **Food Chemistry**, London, v. 133, p. 1658-1663, 2012.

DWYER, J. T. Do functional components in foods have a role in helping to solve current health issues? **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 137, p. 2489S–2492S, 2007.

EL-KHOLY, W. M.; AAMER, R. A.; ALI, A. N. A. Utilization of inulin extracted from chicory (*Cichorium intybus* L.) roots to improve the properties of low-fat synbiotic yoghurt. **Annals of Agricultural Sciences**, [s.l.], v. 65, p. 59 -67, 2020.

ELLEGARD, L.; ANDERSON, H.; BOSAEUS, I. Inulin and oligofructose do not influence the absorption of cholesterol, and the excretion of cholesterol, Fe, Ca, Mg, and bile acids but increase energy excretion in man. A blinded, controlled cross-over study in ileostomy subjects. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 51, p. 1-5, 1997.

ESATBEYOGLU, T.; WRAY, V.; WINTERHALTER, P. Isolation of dimeric, trimeric, tetrameric and pentameric procyanidins from unroasted cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) using countercurrent chromatography. **Food Chemistry**, London, v. 179, p. 278–289, 2015.

EVERARD, A. *et al.* Responses of gut microbiota and glucose and lipid metabolism to prebiotics in genetic obese and diet-induced leptin-resistant mice. **Diabetes**, New York, v. 60, p. 2775–2786, 2011.

EVERARD, A. *et al.* Microbiome of prebiotic-treated mice reveals novel targets involved in host response during obesity. **The ISME Journal**, London, v. 8, p. 2116–2130, 2014.

FABI, J. P. **Avanços recentes nas pesquisas e conceito de prebiótico**. 2020. (Série de documentos ILSI Brasil - Contribuições técnico-científicas).

FAVACHO, H. A. S. *et al.* Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Euterpe oleracea* oil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 105-114, 2011.

FEENY, P. Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. **Ecology**, Brooklyn, v. 51, p. 565-581, 1970.

FIORAMONTI, J.; THEODOROU, V.; BUENO, L. Probiotics: what are they? What are their affects on gut physiology? **Best practice and Research: Clinical Gastroenterology**, Oxford, v. 17, p. 711-724, 2003.

FREDERICK, E.; WALSTRA, P.; DEWETTINK, K. Factors governing partial coalescence in oil-in-water emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 153, p. 30-42, 2010.

FREITAS, M. The benefits of yogurt, cultures, and fermentation. In: FLOCH, M. H.; RINGEL, Y.; ALLAN, W. **The Microbiota in gastrointestinal pathophysiology**: implication for human health, prebiotics, probiotics and dysbiosis. United States: Academic Press, 2017. p. 209-223.

FRESCO, P. *et al.* The anticâncer properties of dietary polyphenols and relation with apoptosis. **Current Pharmaceutical Design**, San Francisco, v. 16, n. 1, p. 114-134, 2010.

FRIBERG, S.; LARSSON, K.; SJOBLOM, J. **Food emulsions**. 4th ed. New York: Marcel Dekker, 2004.

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

GALLEGO, T. B. **Potencial antioxidante do chá da *artemisia annua* em diferentes modos de preparo**. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2017.

GALLORI, S. *et al.* Polyphenolic constituents of fruit pulp of *Euterpe oleracea* Mart. (açai palm). **Chromatographia**, New York, v. 59, p. 739–743, 2004.

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

GASPAR, P. *et al.* From physiology to systems metabolic engineering for the production of biochemicals by lactic acid bacteria. **Biotechnology Advances**, New York, v. 31, p. 764-788, 2013.

GHARBY, S. *et al.* The stability of vegetable oils (sunflower, rapeseed and palm) sold on the Moroccan market at high temperature. **International Journal of Chemical and Biochemical Sciences**, v. 5, p. 47-54, 2014.

GHARIB, F. A. E.; SILVA, J. A. T. Composition, total phenolic content and antioxidant activity of the essential oil of four lamiaceae herbs. **Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology**, [s.l.], v. 7, n. 1, p. 19-27, 2012.

GHARSALLAOUI, A. *et al.* Applications of spray drying in Microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, Oxford, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v. 125, p. 1401-1412, 1995.

GIBSON, G. R. *et al.* Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 17, p. 259-275, 2004.

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**, London, v. 14, p. 491 – 502, 2017.

GIRARD, A. L. *et al.* Interactions mechanisms of condensed tannins (proanthocyanidins) with wheat gluten proteins. **Food Chemistry**, London, v. 245, p. 1154-1162, 2018.

GLIBOWSKI, P.; WASKO, A. Effect of thermochemical treatment on the structure of inulin and its gelling properties. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 43, p. 2075-2082, 2008.

GLIBOWSKI, P.; PIKUS, S. Amorphous and crystal inulin behavior in a water environment. **Carbohydrate Polymer**, London, v. 83, p. 635-639, 2011.

GOMES, A.; COSTA, A. L. R.; CUNHA, R. L. Impact of oil type and WPI/Tween 80 ratio at the oil-water interface: adsorption, interfacial rheology and emulsion features. **Colloids Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 164, p. 272-280, 2018.

GRIFFIN, I. J. *et al.* Enriched chicory inulin increases calcium absorption mainly in girls with lower calcium absorption. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 23, p. 901-909, 2003.

GUERREIRO, L. M. R.; MENEGUELLI, F. C. Influência do tratamento térmico e da acidez no comportamento reológico de amidos nativos funcionais de milho cerosos orgânicos comerciais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 412-419, 2009.

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

GURBUZ, Z.; ERKAYA-KOTAN, T.; SENGUL, M. Evaluation of physicochemical, microbiological, texture and microstructure characteristics of set-style yoghurt supplemented with quince seed mucilage powder as a novel natural stabiliser. **International Dairy Journal**, Barking, v. 114, 2021. In press.

GUVEN, M. *et al.* The effect of inulin as a fat replacer on the quality of set-type low-fat yogurt manufacture. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 58, p. 180-184, 2005.

GUZEY, D.; MCCLEMENTS, D. J. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 128, p. 227-48, 2006.

GUZEY D, MCCLEMENTS D. J. Impact of electrostatic interactions on formation and stability of emulsions containing oil droplets coated by beta-lactoglobulin-pectin complexes. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 55, p. 475-85, 2007.

HAGERMAN, A. E.; RICE, M. E.; RITCHARD, N. T. Mechanisms of protein precipitation for two tannins, pentagalloyl glucose and epicatechin16 (4 → 8) catechin (procyanidin). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, p. 2590-2595, 1998.

HAMID, A. A. *et al.* Antioxidants: Its medicinal applications and pharmacological applications. **African Journal of Pure and Applied Chemistry**, [s.l.], v. 4, n. 8, p. 142-145, 2010.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, Oxford, v. 55, n. 6, p. 481-504, 2000.

HASLAM, E. **Plant polyphenols, vegetable tannins revisited**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989.

HARDAS, N. *et al.* Accelerated stability studies of microencapsulated anhydrous milk fat. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, London, v. 33, p. 506-513, 2000.

HAULY, M. C. O.; MOSCATTO, J. A. Inulina e oligofrutosos: uma revisão sobre propriedades funcionais, efeito prebiótico e importância na indústria de alimentos. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológica**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 105-118, 2002.

HAWTHORNE, K. M.; ABRAMS, S. A. Prebiotics and the absorption of minerals: a review of experimental and human data. In: GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. (Ed.). **Handbook of prebiotics**. Boca Raton: CRC Press, 2008. p. 105-113.

HEINKEN, A. *et al.* Functional metabolic map of *Faecali bacterium prausnitzii*, a beneficial human gut microbe. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 196, p. 3289-3302, 2014.

HENDERSON, A. **The Palms of the Amazon**. New York: Oxford University Press, 1995.

HOGAN, S. A. *et al.* Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. **International Dairy Journal**, Barking, v. 11, p. 137-144, 2001.

HOND, E. D.; GEYPENS, B.; GOOS, Y. Effect of high-performance chicory inulin on constipation. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 20, p. 731-736, 2000.

HUTKINS, R. W. *et al.* Prebiotics: why definitions matter. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 37, p. 1-7, 2016.

IKEDA, S.; NISHINARI, K. "Weak-gel" type rheological properties of aqueous dispersions of non-aggregated r-carrageenan helices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 9, p. 4436-4441, 2001.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Brasília: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 f.

JAIN, P. K. *et al.* Influence of symbiotic containing *Lactobacillus acidophilus* La 5, *Bifidobacterium lactis* Bb12, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* and oligofructose on gut barrier function and sepsis in critically ill patients: a randomized controlled trial. **Clinical Nutrition**, Edinburgh, v. 23, n. 4, p. 467- 475, 2004.

JERÔNIMO, V. T. **Desenvolvimento e avaliação de emulsões contendo cristais líquidos utilizando óleo de açaí (*Euterpe oleracea*) e resveratrol para uso tópico como radioprotetor**. 2013. 103 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2013.

JIANG, X. *et al.* Proanthocyanidin prevents lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice via neuroinflammatory pathway. **Brain Research Bulletin**, New York, v. 135, p. 40-46, 2017.

JOHNSON, B. J. *et al.* Immobilized proanthocyanidins for the capture of bacterial lipopolysaccharides. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 80, n. 6, p. 2113–2117, 2008.

KAEWPRAPAN, K. *et al.* Macromolecular surfactants synthesized by lipase-catalyzed transesterification of dextran with vinyl decanoate. **Carbohydrate polymers**, London, v. 88, p. 313-320, 2012.

KARAKAYA, S. Bioavailability of phenolic compounds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, New York, v. 44, n. 6, p. 453-464, 2004.

KARIMI, N.; MOHAMMADIFAR, M. A. Role of water soluble and water swellable fractions of gum tragacanth on stability and characteristic of model oil in water emulsion. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 37, p. 124–133, 2014.

KEDARE, S.; SINGH, R. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 48, n. 4, p. 412-422, 2011.

KIM, Y.; FAQIH, M. N.; WANG, S. S. Factors affecting gel formation of inulin. **Carbohydrate Polymers**, London, v. 46, p. 135–145, 2001.

KIM *et al.* Protective effects of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from defatted grape seeds on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative damage in HepG2 cells. **Food Chemistry**, London, v. 137, p. 136–141, 2013.

KLINKESORN, U. *et al.* Stability and rheology of corn oil-in-water emulsions containing maltodextrin. **Food Research International**, Oxford, v. 37, p. 851–859, 2004.

KNUDSEN, K. E. B.; HESSOV, I. Recovery of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) in the small intestine of man. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 74, p. 101-113, 1995.

KRUGER, M. J. *et al.* Proanthocyanidins, anthocyanins and cardiovascular diseases. **Food Research International**, Oxford, v. 59, p. 41 -52, 2014.

KUSKOSKI, E. M. *et al.* Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, p. 726-732, 2005.

KYNGMI, M. S.; EBELER, E. Flavonoid effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 46, p. 96-104, 2008.

LACOMBE, A. *et al.* Antimicrobial action of the American cranberry constituents; phenolics, anthocyanins, and organic acids, against *Escherichia coli* O157: H7. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 139, p. 102–107, 2010.

LARRAURI, L. New approaches in the preparation of high dietary fibre powders from fruit by-products. **Trends Food Science and Technologies**, [United States], v. 10, p. 3-8, 1999.

LAZZAROTTO, S. R. S. *et al.* Método de Folin-Ciocalteu adaptado para quantificar polifenóis em extratos de erva-mate. **Revista Movimenta**, Goiânia, v. 13, n. 3, p. 419-426, 2020.

LEE, S. J. *et al.* Protein-stabilized nanoemulsions and emulsions: Comparison of physicochemical stability, lipid oxidation, and lipase digestibility. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 59, n. 1, p. 415–427, 2011.

LI, Y. *et al.* Effects of cross-linked inulin with different polymerization degrees on physicochemical and sensory properties of set-style yoghurt. **International Dairy Journal**, Barking, v. 94, p. 46-52, 2019.

LIAN, G. *et al.* A mathematical model of volatile release in mouth from the dispersion of gelled emulsion particles. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 98, p. 139–55, 2004.

LIONG, M. T.; SHAH, N. P. Production of organic acids from fermentation of mannitol, fructooligosaccharide and inulin by a cholesterol removing *Lactobacillus acidophilus* strain. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 99, p. 783–793, 2005.

LIU, S. X.; WHITE, E. Extraction and Characterization of proanthocyanidins from grape seeds. **The Open Food Science Journal**, Sharjah, v. 5, p. 5-11, 2012.

LUBRANO, C.; ROBIN, J.; KHAIAT, A. Composition en acides gras, sterols, et tocopherols d'huiles de pulpe de fruits de six especes de palmiers de Guyane. **Oleagineux**, Paris, v. 49, p. 59–65, 1994.

LUO, L. *et al.* An approach for degradation of grape seed and skin proanthocyanidin polymers into oligomers by sulphurous acid. **Food Chemistry**, London, v. 256, p. 203-211, 2018.

MACFARLANE, G. T.; STEED, H.; MACFARLANE, S. Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 104, n. 2, p. 305–344, 2007.

MAMTA, P. *et al.* **Antioxidants**: biotransformation of waste biomass into high value biochemicals. New York: Springer, 2014. 504 p.

MANTOVANI, I. S. B. *et al.* Constituintes apolares do fruto do açaí (*Euterpe oleracea* M. – *Arecaceae*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 13, p. 41-42, 2003.

MARAND, M. A. *et al.* Fortification of yoghurt with flaxseed powder and evaluation of its fatty acid profile, physicochemical, antioxidant, and sensory properties. **Powder Technology**, Lausanne, v. 359, p. 76-84, 2020.

MARC, F. *et al.* Studies of several analytical methods for antioxidant potential evaluation in food. **Medecine Sciences**, Montrouge, v. 20, p. 458–463, 2004.

MARTINEZ, S. *et al.* Cyclic voltammetry study of plasma antioxidant capacity- comparison with the DPPH and TAS spectrophotometric methods. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, Lausanne, v. 588, n. 1, p. 68-73, 2006.

MARTINS, G. R. *et al.* Chemical characterization, antioxidante and antimicrobial activities of açai seed (*Euterpe oleracea Mart.*) extracts containing A- and B- type procyanidins. **LWT – Food Science and Technologies**, London, v. 132, art. 109830, 2020.

MARTINS, F. S. **Cultivar de açaizeiro BRS Pará**. Embrapa Amazônia Oriental. Disponível em: <https://www.embrapa.br/amazonia-oriental/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/925/cultivar-de-acaizeiro-brs-para>. Acesso em: 08 jun. 2018.

MARTYSIAK-ZUROWSKA, D.; WENTA, W. A comparison of abts and dpph methods for assessing the total antioxidant capacity of human milk. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, Poznań, v. 1, p. 83-89, 2012.

MASON, T. G. *et al.* Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. **Journal of Physics: Condensed Matter**, Bristol, v. 18, p. R635-R666, 2006.

MATTA, F. V. *et al.* Chemical composition and bioactive properties of commercial and non-commercial purple and white açai berries. **Foods**, Basel, v. 9, p. 1481, 2020.

MCCLEMENTS, D. J. **Food emulsions: principles, practice, and techniques**. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2005.

MC CLEMENTS, D. J. Emulsion design to improve the delivery of functional lipophilic componentes. **Food Science and Technology**, London, v. 1, p. 241-269, 2009.

McCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 65, p. 1270-1282, 2000.

MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A.; WEISS, J. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 72, p. 109-124, 2007.

MCCLEMENTS, D. J. *et al.* Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods. **Critical reviews in food science and nutrition**, New York, v. 49, n. 6, p. 577-606, 2009.

McCLEMENTS, D. J.; LI, Y. Structured emulsion-based delivery systems: controlling the digestion and release of lipophilic food components. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 159, p. 213-228, 2010.

MCKINLEY, M. The nutrition and health benefits of yoghurt. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 58, p. 1-12, 2005.

MENEZES, E. M. S. *et al.* Valor nutricional da polpa de açai (*Euterpe oleracea Mart.*) liofilizada. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 38, p. 214-224, 2008.

MEYER, D. *et al.* Inulin as texture modifier in dairy products. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 25, p. 1881-1890, 2011.

MICHAEL, M.; PHEBUS, R.; SCHMIDT, K. Impact of a plant extract on the viability of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in nonfat yogurt. **International Dairy Journal**, Barking, v. 20, n. 10, p. 665-672, 2010.

MIQUEL, S. *et al.* Ecology and metabolism of the beneficial intestinal commensal bacterium *Faecalibacterium prausnitzii*. **Gut Microbes**, Austin, v. 5, p. 146–151, 2014.

MOGHADAM, B. E. *et al.* Inulin addition to yoghurt: Prebiotic activity, health affects and sensory properties. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 72, p. 183-197, 2019.

MOLINA, C. V. *et al.* Physicochemical characterization and sensory evaluation of yogurts incorporated with beta-carotene-loaded solid lipid microparticles stabilized with hydrolyzed soy protein isolate. **Food Science and Biotechnology**, Republic of Korea, v. 28, p. 59-66, 2019.

MORAES, K. F. P.; SATO, A. C. K.; CUNHA, R. L. Emulsões O/A gelificadas: avaliação da oxidação lipídica e estabilidade digestiva. *In*: CONGRESSO INTERNO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNICAMP, 19., 2011, Campinas. **Anais [...]**. Campinas, 2011. p. 313.

MORDOR INTELLIGENCE. **Yogurt market: growth, trends and forecasts (2020-2025)**. 2019. Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/yogurt-market>. Acesso em: 10 jun. 2019.

MORRIS, C.; MORRIS, G. A. The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. **Food Chemistry**, London, v. 133, p. 137-248, 2012.

MOSCA, A. C. *et al.* Inhomogeneous distribution of fat enhances the perception of fat-related sensory attributes in gelled foods. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 27, n. 2, p. 448-455, 2012.

MUSA, K. H. *et al.* A novel high throughput method based on the DPPH dry reagent array for determination of antioxidant activity. **Food Chemistry**, London, v. 141, n. 4, p. 4102-4106, 2013.

NASCIMENTO, R. J.; ARAÚJO, C. R.; MELO, E. A. Atividade antioxidante de extratos de resíduo agroindustrial de goiaba (*Psidium guajava* L.). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 2, p. 209-216, 2010.

NICOLI, J. R. *et al.* Probióticos: experiências com animais gnotobióticos. *In*: FERREIRA, C. L. L. F.; ed. Probióticos e probióticos: atualização e prospecção. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p. 123 – 133, 2003.

NINESS, K. R. Inulin and oligofructose: what are they? **The Journal of Nutrition**, Rockville v.129, p.1402-1406, 1999.

NOHYNEK, L. J. *et al.* Berry phenolics: Antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. **Nutrition and Cancer**, Philadelphia, v. 54, n. 1, p. 18–32, 2006.

OH, H. I. *et al.* Hydrophobic interaction in tannin-protein complexes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 28, p. 394–398, 1980.

OH, N. S. *et al.* Microbiological characterization and functionality of set-type yogurt fermented with potential prebiotic substrates *Cudrania tricuspidata* and *Morus alba* L. leaf extracts. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 99, n. 8, p. 6014-6025, 2016.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 17, n. 1, p. 36-44, 2015

OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, p. 4619-4626, 2001.

- PACHECO-PALENCIA, L. A.; MERTENS-TALCOTT, S.; TALCOTT, S. Chemical composition, antioxidant properties, and thermal stability of a phytochemical enriched oil from Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, p. 4631-4636, 2008.
- PANDEY, K. R.; NAIK, S. R.; VAKIL, B. V. Probiotics, prebiotics and synbiotics - a review. **Journal of Food Science & Technology**, Mysore, v. 52, n. 12, p. 7577-7587, 2015.
- PASKOV, V.; KARSHEVA, M.; PENTCHEV, I. Effect of starter culture and homogenization on the rheological properties of yoghurts. **Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy**, [Bulgaria], v. 45, n. 1, p. 59-66, 2010.
- PASEEPHOL, T.; SMALL, D. M.; SHERKAT, F. Rheology and texture set yoghurt as affected by inulin addition. **Journal of Texture Studies**, Westport, v. 39, p. 617-634, 2008.
- PAULO, B. B. *et al.* Performance of oil-in-water emulsions stabilized by different types of surface-active components. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 190, 110939, 2020.
- PEREIRA, L. J. B.; GARCIA-ROJAS, E. E. G. Emulsões múltiplas: formação e aplicação em microencapsulamento de componentes bioativos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 1, p. 155-162, 2015.
- PERINA, N. P. *et al.* Effect of vegetal-oil emulsion and passion fruit peel-powder on sensory acceptance of functional yoghurt. **Food Research International**, Oxford, v. 70, p. 134-141, 2015.
- PESCE, C. **Oleaginosas da Amazônia**. 2. ed. Belém: Núcleo de Estudos Agrários e Desenvolvimento Rural, 2009.
- PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. **Handbook of hydrocolloids**. Boca Raton: CRC Press, 2000. p. 41-65.
- PINEIRO, M. *et al.* FAO Technical meeting on prebiotics. **Journal of Clinical Gastroenterology**, New York, v. 42, Suppl 3, 2008.
- PORTER, L. J.; HRSTICH, L. N.; CHAN, B. G. The conversion of procyanidin and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. **Phytochemistry**, Oxford, v. 25, n. 1, p. 223-230, 1985.
- PORTER, C. J. H.; TREVASKIS, N. L.; CHARMAN, W. N. **Nature reviews Drug Discovery**, London, v. 6, n. 3, p. 231-248, 2007.
- PORTER, C. J. H.; WASAN, K. M.; CONSTANTINIDES, P. Lipid-based systems for the enhanced delivery of poorly water-soluble drugs. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v. 60, n. 6, p. 615-616, 2008.
- PRADO, A. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. 2009. 107 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.
- PRAJAPATI, D. M. *et al.* Textural and rheological properties of yoghurt: a review. **Advances in Life Sciences**, v. 5, n. 13, p. 5238-5254, 2016.
- RAMADAN, M. F.; MOERSEL, J. T. Screening of the antiradical action of vegetable oils. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 19, p. 838-42, 2006.
- RAMALAKSHMI, K.; KUBRA, I. R.; RAO, L. J. M. Antioxidant potential of low-grade coffee beans. **Food Research International**, Oxford, v. 41, n. 1, p. 96-103, 2008.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RAMIREZ-FARIAS, C. *et al.* Effect of inulin on the human gut microbiota: stimulation of *Bifidobacterium adolescentis* and *Faecalibacterium prausnitzii*. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 101, p. 541-550, 2009.

RASTALL, R. A. Functional oligosaccharides: Application and manufacture. **Annual Reviews in Food Science Technology**, [s.l.], v. 1, p. 305-339, 2010.

REINECCIUS, G. A. Flavor encapsulation. **Food Reviews International**, New York, v. 5, n. 2, p. 147-176, 1989.

REINECCIUS, G. A. Carbohydrates for flavor encapsulation. **Food Technology**, Chicago, p. 144-149, 1991.

RIENER, J. *et al.* A comparison of selected quality characteristics of yoghurts prepared from thermosonicated and conventionally heated milks. **Food Chemistry**, London, v. 119, p. 1108-1113, 2010.

ROBERFROID, M. B.; VAN LOO, J.; GIBSON, G. R. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. **The Journal of Nutrition**, Rockville, n. 128, p. 11-19, 1998.

ROBERFROID, M. B. **Inulin-type fructans: functional food ingredients**. [New York]: CRC Press, 2005.

RODAS, M. A. B. Caracterização físico-química, histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 3, p. 304-309, 2001.

RONKART, S. N. *et al.* Determination of physical changes of inulin related to sorption isotherms: Na X-ray diffraction, modulated differential scanning calorimetry and environmental scanning electron microscopy study. **Carbohydrate Polymers**, London, v. 63, p. 210-217, 2006.

ROSA, P. M. *et al.* Chemical composition of Brazilian sunflower varieties. **Helia**, v. 32, n. 50, p. 145-156, 2009.

ROSA, P. *et al.* Desonide nanoencapsulation with açai oil core: Physicochemical characterization, photostability study and *in vitro* phototoxicity evaluation. **Journal of Photochemistry & Photobiology B: Biology**, Lausanne, v. 199, 2019.

RUFINO, M. *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **Comunicado Técnico Online**, Fortaleza, n. 125, 2006.

RUFINO, M. *et al.* Açai (*Euterpe oleraceae*) 'BRS Pará': A tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. **Food Research International**, Oxford, v. 44, p. 2100-2106, 2011.

SADTLER, V. M.; IMBERT, P.; DELLACHERIE, E. Ostwald ripening of oil-in-water emulsions stabilized by phenoxy-substituted dextrans. **Journal of Colloid and Interface Science**, New York, v. 254, p. 355-361, 2002.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, London, v. 8, n. 3, p. 121-137, 2002.

SANDOVAL-CASTILLA, O. *et al.* Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers. **International Dairy Journal**, Barking, v. 14, p. 151 - 159, 2004.

SANTOS-BUELGA, C.; SCALBER, A. Review proanthocyanidins and tannin-like compounds – Nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, P. 1094–1117, 2000.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, Oxford, v. 30, p. 3875-3883, 1991.

SCHAUSS, A. *et al.* Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried amazonian palm berry *Euterpe oleracea Mart.* (açai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, p. 8598-8603, 2006.

SCHAUSS, A. G. Advances in the study of the health benefits and mechanisms of action of the pulp and seed of the Amazonian palm fruit, *Euterpe oleracea Mart.*, known as “Açaí”. In: WATSON, R. R.; PREEDY, V. R. (ed.). **Fruits, vegetables and herbs**. Oxford: Academic Press, 2016. p. 177-220.

SCHUBERT, H.; ENGEL, R. Product and formulation engineering of emulsions. **Chemical Engineering Research and Design**, London, v. 82, p. 1137-1143, 2004.

SEIFERT, S.; WATZL, B. **Prebiotics and the 156ilic system: Review of experimental and human data**. In: GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. (ed.). **Handbook of prebiotics**. Boca Raton: CRC Press, 2008. p. 143–162.

SENDRA, E. *et al.* Viscoelastic properties of orange fiber enriched yogurt as a function of fiber dose, size and thermal treatment. **LWT – Food Science and Technology**, London, v. 43, n. 4, p. 708-714, 2010.

SENGUL, M. *et al.* The effect of adding sour cherry pulp into yoghurt on the physicochemical properties, phenolic content and antioxidant activity during storage. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 65, p. 429-436, 2012.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, New, York, v. 33, p. 501-547, 1993.

SHANMUGAM, A.; ASHOKKUMAR, M. Ultrasonic preparation of stable flax seed oil emulsions in dairy systems – Physicochemical characterization. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 39, p. 151-162, 2014.

SHANTA, N. C.; DECKER, E. A. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 77, p. 421-424, 1994.

SHOAIB, M. *et al.* Inulin: properties, health benefits and food application. **Carbohydrate Polymer**, London, v. 147, p. 444-454, 2016.

SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Experimental Physiology**, Cambridge, v. 82, n. 2, p. 291–295, 1997.

SILVA, R. F. Use of inulin as a natural texture modifier. **Cereal Foods World**, Minneapolis, v. 41, n. 10, p. 792-794, 1996.

SILVA, N. *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2010.

SILVA, J. J. M.; ROGEZ, H. Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo bruto de açaí (*Euterpe oleracea*) na presença de compostos fenólicos puros ou de extratos vegetais amazônicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 400-406, 2013.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, p. 144-158, 1965.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, New York, v. 299, p. 178-184, 1999.

SIQUEIRA, K. **Consumo de lácteos na pandemia, estudo da Embrapa**. 2020. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/colunas/kennya-siqueira/consumo-de-lacteos-na-pandemia-estudo-da-embrapa-219327/>. Acesso em: 10 jun. 2020.

SOLE, I. *et al.* Optimization of nano-emulsion preparation by low-energy methods in an ionic surfactant system. **Langmuir**, Washington, v. 22, p. 8326-8332, 2006.

SOUSA, C. M. M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUSA, B.A.A. **Funcionalidade dos extratos fenólicos obtidos pelo cultivo semi-sólido de resíduos de abacaxi (*Ananas comosus* L.) e goiaba (*Psidium guajava* L.)**. 2009. 118 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicais. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 14, n. 3, p. 202-210, 2011.

SOUZA, V. B. **Aproveitamento dos subprodutos de vinificação da uva Bordô (*Vitis labrusca*) para obtenção de pigmentos com propriedades funcionais**. 2013. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

SRISUVOR, N. *et al.* Effects of inulin and polydextrose on physicochemical and sensory properties of low-fat set yoghurt with probiotic-cultured banana puree. **LWT- Food Science and Technology**, London, v. 51, p. 30-36, 2013.

STORZ, E.; STEFFENS, J. K. Feasibility study for determination of the dextrose equivalent (DE) of starch hydrolysis products with Near-Infrared Spectroscopy (NIRS). **Starch/Strärke**, Weinheim, v. 56, p. 58-62, 2004.

STEFFE, J. F. **Rheological methods in food process engineering**. 2. ed. East Lansing: USA. Freeman Press, 1996.

SUCUPIRA, N. R. *et al.* Métodos para determinação de atividade antioxidante de frutos. **UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012.

SUPATITVIPATANA, P. **Effect of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* and yogurt ingredients on properties of corn milk yogurts**. 2007. Tese (Doutorado) - Chiang Mai University, Thailand, 2007.

- SZYDLOWSKA-CZERNIAK, A. *et al.* Comparison of two analytical methods for assessing antioxidant capacity of rapeseed and olive oils. **Journal of American Oil Chemists Society**, Berlin, v. 85, p. 141-49, 2008.
- SWEEDMAN, M. C. *et al.* Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: A review. **Carbohydrate Polymers**, London, v. 92, p. 905-920, 2013.
- TABILO-MUNIZAGA, G., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Rheology for the food industry. **Journal of Food Engineering**, London, v. 67, p. 147-156, 2005.
- TADROS, T. *et al.* Formation and stability of nano-emulsions. **Advances in Colloid Interface Science**, Amsterdam, v. 108-109, p. 303-318, 2004.
- TERPOU, A. *et al.* Probiotics in food systems: Significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. **Nutrients**, Basel, v. 11, p. 1591, 2019.
- UDOMRATI, S.; IKEDA, S; GOHTANI, S. Rheological properties and stability of oil-in-water emulsions containing tapioca maltodextrin in the aqueous phase. **Journal of Food Engineering**, London, v. 116, p. 170-175, 2013.
- UDOMRATI, S.; GOHTANI, S. Enzymatic esterification of tapioca maltodextrin fatty acid ester. **Carbohydrate Polymers**, London, v. 99, p. 379-384, 2014.
- UDOMRATI, S.; GOHTANI, S. Tapioca maltodextrin fatty acid ester as a potential stabilizer for Tween 80-stabilized oil-in-water emulsions. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 44, p. 23-31, 2015.
- VAHEDI, N.; TEHRANI, M. M.; SHAHIDI, F. Optimizing of fruit yoghurt formulation and evaluating its quality during storage. **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science**, [s.l.], v. 3, p. 922-927, 2008.
- VAN IMMERSEEL, F. *et al.* The use of organic acids to combat Salmonella in poultry: A mechanistic explanation of the efficacy. **Avian Pathology**, Huntingdon, v. 35, n. 3, p. 182-188, 2006.
- VÉLEZ-RUIZ, J. F. Rheological characterization and pipeline transport needs of two fluid dairy products (flavoured milk and yogurt). In: GRUMEZESCU, A. M.; HOLBAN, A. M. **Milk-based beverages**. England: Elsevier Science, 2019. p. 427-472.
- WALSTRA, P. Emulsion stability. In: BECHER, P. **Encyclopedia of emulsion technology**. New York: Marcel Dekker, 1996. v. 4, cap. 1.
- WALSTRA, P. Proteins. In: WALSTRA, P. **Physical chemistry of foods**. New York: Marcel Dekker, 2003. cap. 7.
- WANG, Y. J.; WANG, L. Structures and properties of commercial maltodextrins from corn, potato and rice starches. **Starch-Starke**, Weinheim, v. 52, n. 8-9, p. 296-304, 2000.
- WASILEWSKI, A. *et al.* Beneficial effects of probiotics, prebiotics, synbiotics, and sychobiotics in inflammatory bowel disease. **Inflammatory Bowel Diseases**, New York, v. 21, p. 1674-1682, 2015.
- WOOSTER, T. J.; GOLDING, M.; SANGUANSRI, P. Impact of oil type on nanoemulsion formation and Ostwald ripening stability. **Langmuir**, Washington, v. 24, p. 12758-65, 2008.
- WU, X. *et al.* Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n° 12, p. 4026-37, 2004.

XIAO, F. *et al.* Guidelines for antioxidant assays for food components. **Food Frontiers**, [s.l.], v. 1, p. 60-69, 2020.

YADAV, K. *et al.* Evaluation of total phenol content and antioxidant properties of encapsulated grape seed extract in yoghurt. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 71, p. 96-103, 2018.

YAMAGUCHI, K. K. L. *et al.* Amazon açai: Chemistry and biological activities: A review. **Food Chemistry**, London, v. 179, p. 137- 151, 2015.

YAN, H.; ZHENG BIAO, G. U. Morfology of modified starches prepared by different methods. **Food Research International**, Oxford, v. 43, n. 1, p. 767–772. 2010.

YEUNG, Y. K.; LEE, Y.; CHANG, Y. H. Physicochemical, microbial, and rheological properties of yogurt substituted with pectin polysaccharide extracted from *Ulmus davidiana*. **Journal of Food Processing and Preservation**, Westport, v. 43, p. 1-11, 2019.

ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P.; INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 148-154.

ZHAO, Q. *et al.* High stability of bilayer nano-emulsions fabricated by Tween 20 and specific interfacial peptides. **Food Chemistry**, London, v. 340, p. 127877, 2021.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Curva padrão utilizada para análise de índice de peróxido.

Fonte: Própria autoria.

APÊNDICE B – Curva padrão utilizada para a análise de TBARS.

Fonte: Própria autoria.

APÊNDICE C - Curva padrão utilizada para análise de capacidade redutora do Folin-Ciocalteu (fenólicos totais) do óleo de açaí.

Fonte: Própria autoria.

APÊNDICE D – Curva padrão utilizada para análise de capacidade sequestro dos radicais DPPH.

Fonte: Própria autoria.

APÊNDICE E – Curva padrão utilizada para análise de capacidade de sequestro dos radicais ABTS.

Fonte: Própria autoria.

APÊNDICE F – Curva padrão utilizada para análise de quantificação das proantocianidinas totais.

Fonte: Própria autoria.