

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

PEDRO AUGUSTO SOARES E SILVA

**Microencapsulação de óleo de açaí em emulsões
estabilizadas com isolado proteico de soja para
incorporação em iogurte**

Pirassununga

2022

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

PEDRO AUGUSTO SOARES E SILVA

**Microencapsulação de óleo de açaí em emulsões estabilizadas
com isolado proteico de soja para incorporação em iogurte**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo, como
parte dos requisitos para a obtenção
do Título de Mestre 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)

S586m Silva, Pedro Augusto Soares
Microencapsulação de óleo de açaí em emulsões
estabilizadas com isolado proteico de soja para
incorporação em iogurte / Pedro Augusto Soares Silva
; orientadora Samantha Cristina Pinho. --
Pirassununga, 2022.
94 f.

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

1. óleo de açaí. 2. antocianinas. 3.
proantocianidinas. 4. iogurte. I. Pinho, Samantha
Cristina, orient. II. Título.

Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte - o autor

“Sê como o sândalo, que perfuma até o machado que o fere”

- Provérbio popular

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a minha mãe, Divamária Soares da Silva e meu pai, José Paulo Guandelini da Silva. Sem o apoio e confiança inabalável deles, nenhum passo desse sonho seria realizado.

Em segundo, a Olivia, minha companheira, eterna amiga e amante, pessoa da qual resiliência e força de vontade transbordam. Seu apoio foi fundamental durante a realização desse projeto.

Posteriormente, especialmente a minha orientadora, Prof^a Dr^a Samantha Pinho, que sempre me apoiou e nunca desistiu da realização desse sonho, mesmo nos momentos de maior dificuldade. Pessoas com a sua habilidade e competência são raras. O coração, é de mãe.

À Nayla Souki, pela paciência e parceria nas análises dessa Dissertação de Mestrado.

À Thaís Brito, pela colaboração imensurável na realização das análises reológicas.

A todos os amigos e colegas do laboratório LENALIS que contribuíram direta e indiretamente para que o objetivo fosse alcançado, Marluci Ghiraldi, Matheus Chaves, Letícia Ferreira e Dannaya Gomes

Aos técnicos e especialistas dos laboratórios da FZEA-USP que colaboraram na realização das análises deste projeto, Camila Molina, Carla Mônaco, Keila Aracava e especialmente ao Marcelo Thomazini.

A Prof^a Dr^a Marta Kushida, pela colaboração na realização das análises microbiológicas dos iogurtes.

A meus irmãos Lucas e Carol, os quais enfrentaram todas as batalhas da vida junto comigo.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

RESUMO

SILVA, Pedro Augusto Soares. **Microencapsulação de óleo de açaí em emulsões estabilizadas com isolado proteico de soja para incorporação em iogurte**. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2021.

O interesse sobre os benefícios que a ingestão dos antioxidantes traz para consumidores saúde humana tem crescido significativamente na última década. O enriquecimento de produtos alimentícios com bioativos com atividade antioxidante, como extratos, óleos essenciais, antioxidantes, fitoesteróis e vitaminas também ganharam força nos últimos anos, trazendo para o consumidor alimentos mais saudáveis e com maiores apelos nutricionais. Dentro desse contexto, o objetivo da presente Dissertação foi a microencapsulação de óleo de açaí (com alta concentração de substâncias com atividade antioxidante comprovada) em emulsões estabilizadas com isolado proteico de soja (IPS) para posterior incorporação em iogurte. As emulsões de óleo de açaí foram formuladas com a utilização de IPS como tensoativo e tiveram sua estabilidade avaliada com e sem a adição de goma xantana à dispersão. As amostras com adição de 0,2 e 0,3 g/100 g emulsão de goma xantana demonstraram maior estabilidade físico-química quando comparadas com emulsões sem adição da referida goma. As emulsões produzidas foram avaliadas quanto ao tamanho de médio e distribuição de tamanho de gotas, potencial zeta, quantificação de antocianinas e proantocianidinas totais, bem como a atividade antioxidante durante armazenagem por 28 dias. O teor de antocianinas e proantocianidinas nas emulsões se mantiveram constantes no intervalo de tempo avaliado, destacando a capacidade das emulsões de encapsular e proteger os compostos bioativos do óleo de açaí. Posteriormente, as emulsões foram adicionadas a amostras de iogurtes, entre 1 e 10 g/100 g iogurte. Os iogurtes foram avaliados para a avaliação físico-química e microbiologicamente. As propriedades reológicas dos iogurtes enriquecidos com emulsão se mostraram dependentes da concentração de emulsão nas amostras do produto lácteo. Em relação aos parâmetros físico-químicos e microbiológicos, as amostras se mantiveram dentro do padrão exigido pela legislação, pelo tempo de 15 dias de armazenagem.

Palavras-chave: óleo de açáí, antocianinas, proantocianidinas, iogurte

ABSTRACT

SILVA, Pedro Augusto Soares. **Microencapsulation of acai oil in emulsions stabilized with soy protein isolate for incorporation into yogurt**. Dissertation (Master) - Faculty of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga, 2021.

Interest in the benefits that the ingestion of antioxidants brings to human health consumers has grown significantly in the last decade. The enrichment of food products with bioactives with antioxidant activity, such as extracts, essential oils, antioxidants, phytosterols and vitamins have also gained strength in recent years, bringing healthier foods to consumers with greater nutritional appeal. Within this context, the objective of the present Dissertation was the microencapsulation of acai oil (with a high concentration of substances with proven antioxidant activity) in emulsions stabilized with soy protein isolate (SPI) for later incorporation into yogurt. Acai oil emulsions were formulated using SPI as a surfactant and their stability was evaluated with and without the addition of xanthan gum to the dispersion. The samples with the addition of 0.2 and 0.3 g/100 g xanthan gum showed higher physicochemical stability when compared to emulsions without the addition of xanthan gum. The emulsions produced were evaluated for mean size and droplet size distribution, zeta potential, quantification of total anthocyanins and proanthocyanidins, as well as antioxidant activity during storage for 28 days. The content of anthocyanins and proanthocyanidins in the emulsions remained constant in the time interval evaluated, highlighting the ability of the emulsions to encapsulate and protect the bioactive compounds of acai oil. Subsequently, the emulsions were added to yogurt samples, between 1 and 10 g/100 g yogurt. Yogurts were evaluated for physical-chemical and microbiological evaluation. The rheological properties of yoghurts enriched with emulsion were shown to be dependent on the emulsion concentration in the dairy product samples. Regarding the physical-chemical and microbiological parameters, the samples remained within the standard required by the legislation, for a period of 15 days of storage.

Keywords: acai oil, anthocyanins, proanthocyanidins, yogurt

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Comparação do conteúdo lipídico do óleo de açaí (<i>Euterpe oleracea</i> Mart.) extraído de diferentes partes do fruto (% mássica).....	28
Tabela 2 - Tabela comparativa de iogurtes enriquecidos com compostos bioativos	29
Tabela 3 - Avaliação da integridade aparente das emulsões produzidas com diferentes concentrações de goma xantana.....	45
Tabela 4 - Diâmetro médio de gotas (D_{43}), e span das emulsões produzidas com diferentes formulações	46
Tabela 5 - Valores médios para os índices D_{43} e span da emulsão 4.....	48
Tabela 6 - Valores médios de Cromo (C^*) e ângulo de Hue (h^*).....	52
Tabela 7 - Determinação dos valores médios de EC_{50} (g de emulsão/ g de DPPH da emulsão 4 ao longo do tempo de armazenagem.	53
Tabela 8 - Determinação da atividade antioxidante da emulsão 4 pelo método de captura do radical ABTS+ ao longo do tempo de armazenamento.	55
Tabela 9 - Quantificação de compostos fenólicos totais pelo método da redução do reagente de Folin-Ciocalteu, da emulsão 4, ao longo do tempo de armazenagem.	57
Tabela 10 - Quantificação da atividade antioxidante das emulsões pelo método da redução do ferro ao longo do tempo de armazenagem.....	59
Tabela 11 - Quantificação da atividade antioxidante das emulsões de óleo de açaí por diferentes métodos.....	60
Tabela 12 – Quantificação de antocianinas totais do óleo de açaí e das emulsão 4 avaliada durante armazenagem de 21 dias.....	62
Tabela 13 – Concentração de proantocianidinas na emulsão 4 ao longo do tempo de armazenagem.	63
Tabela 14 - Avaliação da oxidação lipídica das emulsões de óleo de açaí (Índice de peróxido e TBARS).	65
Tabela 15 - Avaliação da estabilidade dos parâmetros colorimétricos dos iogurtes adicionados de emulsão ao longo do tempo de armazenagem.....	67
Tabela 16 - Valores médios de pH dos iogurtes adicionados com emulsão de óleo de açaí durante o tempo de armazenagem.	69

Tabela 17 – Valores médios de acidez titulável das amostras dos iogurtes ao longo do tempo de armazenagem.....	70
Tabela 18 - Valores médios referentes a contagem de fungos filamentosos e leveduras, bactérias lácticas e coliformes totais ao longo do tempo de armazenagem	72
Tabela 19 - Parâmetros do modelo Herschel–Bulkley obtidos por meio do ajuste aos dados de curva de fluxo dos iogurtes no segundo aumento de taxa de deformação.	76
Tabela 20 - Valores de viscosidade aparente determinadas a 12 s^{-1} das amostras de iogurte em diferentes dias de armazenamento.....	77
Tabela 21 - Parâmetros do modelo Lei da Potência obtidos a partir do ajuste aos dados experimentais de varredura de frequência dos iogurtes produzidos com diferentes concentrações de emulsão, ao longo do tempo de armazenagem.	82

Lista de Figuras

Figura 1 - Palmeira e fruto do açaí	20
Figura 2 – Estrutura molecular genérica das antocianinas.....	21
Figura 3 - Estrutura molecular da cianidina-3-glicosídeo	22
Figura 4 - Estrutura molecular da cianidina-3-rutinosídeo.....	22
Figura 5 - Estrutura genérica de unidade de flavan-3-ols.....	24
Figura 6 - Representação das ligações do tipo B (à esquerda) e tipo A (direita) das subunidades de flavan-3-ols.....	25
Figura 7 - Requisitos que facilitam a formação e estabilização de emulsões...	31
Figura 8 - Estrutura genérica da goma xantana	32
Figura 9 – Fluxograma do processo industrial de produção de iogurtes.	37
Figura 10 - Curvas de distribuição de tamanho de gota das emulsões com diferentes formulações: (a) Emulsão 1; (b) Emulsão 2; (c) Emulsão 3; e (d) Emulsão 4, em termos de volume.....	47
Figura 11 - Curvas de distribuição do diâmetro de gotas da emulsão 4 avaliada ao longo do tempo de armazenagem.....	48
Figura 12 - Valores de potencial zeta para a emulsão 4.	50
Figura 13 - Dados colorimétricos instrumentais (parâmetros L*, a* e b*) da emulsão 4 durante o tempo de estocagem.	51
Figura 14 - Curva de fluxo (segundo aumento de taxa de deformação) para amostras de iogurte nos dias 01 (A) e 15 (B) de armazenamento com ajuste do modelo HB.....	75
Figura 15 - Valores de tixotropia calculados das diferentes amostras em diferentes dias de armazenamento.	78
Figura 16 - Resultados dos ensaios de varredura de deformação para amostras de iogurte produzidas com diferentes concentrações de emulsão.....	80
Figura 17 - Resultados dos ensaios de varredura de frequência para amostras de iogurte produzidas com diferentes concentrações de emulsão.....	81

Lista de Abreviaturas e Siglas

A/O – Água em óleo

O/A – Óleo em água

O/A/O – Emulsão múltipla óleo/água/ óleo

TBA - Ácido tricloroacético

TBARS - TBA *reactive substances* (substâncias reativas ao TBA, ácido tiobarbitúrico)

TCA – *Trichloroacetic acid* (ácido tricloroacético)

DPPH – 1,1-difenil-2-picrilhidrazil

ABTS – 2,20-azino-bis (ácido 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfônico)

FRAP – *Ferric reducing antioxidant power* (capacidade de redução de ferro)

Lista de Símbolos

σ = tensão de cisalhamento

K = índice de consistência

γ = taxa de deformação

PV = valor de peróxido

abs = absorvância da amostra

m = coeficiente angular da curva de calibração

m_o = massa em gramas da fase oleosa da emulsão

C* = croma

h* = ângulo de Hue

Sumário

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1. Açaí: características, produção e mercado	19
2.2. Óleo de açaí	27
2.3. Emulsões: definição e estabilidade.....	29
2.4. Goma xantana: características, propriedades e funcionalidade	31
2.5. Isolado proteico de soja: propriedades e funcionalidade	33
2.6. Iogurtes	35
2.6.1. Definição e processamento.....	35
2.6.2. Consumo e perspectiva de mercado de iogurtes no Brasil.....	37
3. OBJETIVOS	31
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
4.1. MATERIAIS.....	32
4.2. MÉTODOS	33
4.2.1. Produção das emulsões.....	33
4.2.2. Testes preliminares para determinação da condição de produção das emulsões	34
4.2.3. Determinação do diâmetro médio e distribuição do tamanho de gota	34
4.2.4. Determinação do potencial zeta	35
4.2.5. Avaliação da atividade antioxidante das emulsões	35
4.2.5.1. Determinação da capacidade antioxidante através da quantificação do sequestro de radicais DPPH.....	35
4.2.5.2. Determinação da capacidade antioxidante através da captura do radical livre ABTS ⁺	36
4.2.5.3. Teor de fenólicos totais.....	36
4.2.6. Quantificação de antocianinas totais.....	37
4.2.7. Quantificação de proantocianidinas totais	37
4.2.8. Avaliação da oxidação lipídica	38

4.2.8.1. Determinação de produtos primários da oxidação lipídica	38
4.2.8.2. Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	38
4.2.9. Avaliação da estabilidade físico-química das emulsões	39
4.2.10. Formulação do iogurte enriquecido com emulsão de óleo de açaí .	39
4.2.11. Análises microbiológicas dos iogurtes	40
4.2.11.1. Contagem de bolores e leveduras.....	40
4.2.11.2. Contagem de bactérias lácticas	40
4.2.11.3. Contagem de coliformes totais e termorresistentes.....	40
4.2.12. Análises reológicas	41
4.2.13. Análise colorimétrica dos iogurtes adicionados de emulsão	42
4.2.14. Determinação do pH e acidez livre dos iogurtes.....	42
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5.1. Determinação das condições de produção das emulsões de óleo de açaí	44
5.2. Determinação do tamanho médio e distribuição do tamanho de gota ...	45
5.3. Avaliação do potencial zeta	49
5.4. Avaliação da cor instrumental	51
5.5. Avaliação da atividade antioxidante das emulsões	53
5.5.1. Determinação da capacidade antioxidante através da quantificação do sequestro de radicais DPPH•.....	53
5.5.2. Determinação da capacidade antioxidante através da captura do radical livre ABTS ⁺	55
5.5.3. Teor de fenólicos totais.....	57
5.5.4. Quantificação da atividade antioxidante pelo método da redução do ferro (FRAP)	59
5.6. Quantificação de antocianinas totais.....	61
5.7. Quantificação de proantocianidinas totais	63
5.8. Avaliação da oxidação lipídica	64

5.9. Avaliação tecnológica da incorporação do óleo de açaí emulsionado nos iogurtes.....	66
5.9.1. Formulação do iogurte enriquecido com emulsão de óleo de açaí .	66
5.9.2. Avaliação colorimétrica de iogurtes adicionados de emulsão com óleo de açaí	66
5.9.3. Determinação do pH e acidez livre dos iogurtes.....	68
5.9.4. Análises microbiológicas dos iogurtes	71
5.9.5. Análises reológicas	73
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84

1. INTRODUÇÃO

O interesse sobre os benefícios que a ingestão de bioativos antioxidantes traz para os consumidores tem crescido bastante na última década. O enriquecimento de produtos alimentícios com extratos, óleos essenciais, antioxidantes, fitoesteróis e vitaminas também ganharam força nos últimos anos, trazendo para o consumidor alimentos mais saudáveis e com maiores apelos nutricionais.

Nesse aspecto, o açaí ganha força entre os alimentos considerados saudáveis, devido à sua rica composição em antioxidantes. Tais compostos possuem atividades biológicas, por meio do combate ao estresse oxidativo e redução de radicais livres, reduzindo o risco de doenças cardiovasculares, promovendo o retardo do envelhecimento (PORTINHO; ZIMMERMANN; BRUCK, 2012).

Dentre os antioxidantes presentes no óleo de açaí, as antocianinas e as proantocianidinas se destacam pela quantidade presente na semente e na polpa, bem como pelo alto poder antioxidante. Dessa maneira, o consumo de óleo de açaí pode ser interessante quando se buscam ingredientes com quantidades significativas de antioxidantes na dieta.

Apesar do consumo da polpa de açaí ter crescido nos últimos anos no Brasil, não houve grandes novidades na indústria de alimentos relacionadas com o consumo de óleo de açaí. Devido ao alto índice de acidez livre, pigmentos e fosfolípidios, torna-se inviável a utilização desse óleo em processos de frituras, tanto industriais quanto domésticos. Contudo, os benefícios trazidos pelo consumo do óleo podem ser obtidos através, por exemplo, do consumo de cápsulas de suplementos alimentares disponíveis no mercado (SOUZA et al., 2011).

No entanto, produtos alimentícios contendo óleo de açaí não são ainda encontrados no mercado. Como alternativa para esse desafio, emulsões podem ser utilizadas, pois possibilitam a estabilização dos compostos lipídicos na presença de água, através da dispersão do óleo em pequenas gotículas na fase aquosa ou contínua. Diante desse cenário, uma emulsão de óleo em água pode ser um ótimo veículo para se incorporar óleo de açaí em uma matriz aquosa, visando o enriquecimento nutricional de produtos alimentícios.

Nesse contexto, o objetivo principal da presente Dissertação foi o desenvolvimento de formulações de iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí como fase lipídica estabilizadas com isolado proteico de soja. As emulsões foram caracterizadas físico-quimicamente, tendo sido escolhida uma formulação mais estável para incorporação em iogurte. Após a incorporação no iogurte, o produto foi caracterizado físico-química e microbiologicamente. Os resultados mostraram que foi possível produzir um ingrediente (emulsão de óleo de açaí) com, teoricamente, alta atividade antioxidante, possível de ser adicionado a um alimento comumente associado ao conceito de saudabilidade.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Açaí: características, produção e mercado

Nas duas últimas décadas, a indústria de alimentos tem percebido e utilizado de forma crescente o potencial de mercado do açaí, fruta de origem brasileira, da região amazônica, comumente produzido e tradicionalmente consumido nos Estados da região Norte do Brasil. Essa região do país detém o maior percentual na produção nacional, com cerca de 92 % do total das 215 mil toneladas de açaí produzidas no ano de 2016, com um valor de produção de R\$ 548 milhões. O Estado do Pará é o principal produtor da referida fruta, sendo responsável por 61,2% do total, obtendo o número de mais de 130 mil toneladas no mesmo ano (IBGE, 2016).

Com o crescimento de mercado, o açaí encontrou seu espaço nas grandes capitais do sudeste do país, e também entrou na rota dos mercados internacionais, principalmente Estados Unidos e Europa. O principal destaque é por se tratar de um fruto cuja polpa possui elevada qualidade nutricional e propriedades antioxidantes (PORTINHO; ZIMMERMANN; BRUCK, 2012).

A *Euterpe oleracea* Mart. – nome científico da principal espécie de açaí produzida e comercializada - é uma palmeira, podendo variar de 3 a 20 m de altura, e o diâmetro de seu caule pode chegar até 18 cm (YAMAGUCHI et al., 2015). O açaí, fruto dessa palmeira, possui forma arredondada e uma casca de coloração arroxeada, sendo a semente como principal componente do fruto (representando 90% de sua massa). A polpa se apresenta como uma fina camada entre a semente e a casca e representa os 10% restantes da massa do fruto (RODRIGUES et al., 2006).

A polpa do açaí é conhecida por apresentar um elevado teor de lipídeos, carboidratos, fibras, vitaminas e minerais, trazendo um grande aporte nutricional e energético para os consumidores. Há ainda presença de componentes minoritários na polpa, como os antioxidantes e fitoesteróis, que são de grande interesse para as indústrias de alimentos e cosméticos, por suas diversas alegadas propriedades biológicas (ROGEZ, 2000).

A Figura 1 mostra palmeira de açaí e o fruto já na fase madura:

Figura 1 - Palmeira e fruto do açaí



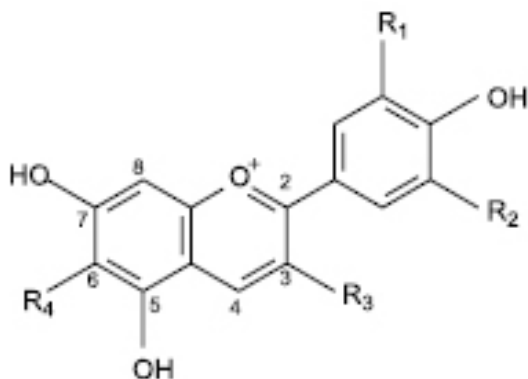
Fonte: STARR, F.; STARR K. Starr Environmental, 2018.

Dos mais de 90 compostos bioativos encontrados na polpa do açaí, os flavonoides são os compostos fenólicos que representam a maior fração, com 31% e 23% respectivamente, seguidos pelas antocianinas (9%). Além disso, o açaí possui em sua polpa diversos outros compostos em menores concentrações (YAMAGUCHI et al., 2015).

As antocianinas são glicosídeos das antocianidinas, hidrossolúveis, pertencentes a classe dos flavonoides, que apresentam um íon *flavinium* em seu núcleo básico. Ou seja, apresentam uma deficiência em elétrons, e por isso se caracterizam pela alta reatividade. São os compostos responsáveis pela cor, nos vegetais, variando do vermelho ao roxo, podendo sofrer alterações dependendo

do pH do meio em que se encontra, e também conferem atividade antioxidante ao açaí. A Figura 2 mostra a estrutura química genérica das antocianinas:

Figura 2 – Estrutura molecular genérica das antocianinas

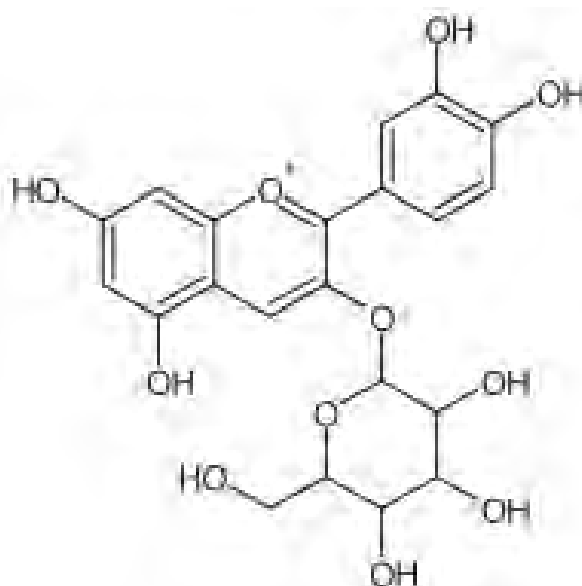


Fonte: GUIMARAES, W.; ALVES, M. I. R.; FILHO, N. R. A. Antocianinas em extratos vegetais: Aplicação em titulação ácido-base e identificação via cromatografia líquida/espectrometria de massas. *Química Nova*. 35, 8, p.1673–1679, 2012.

Dentre os flavonoides encontrados no açaí, as antocianinas representam a maior parte, conferindo cor e ainda atuando como antioxidante natural. Os tipos mais comuns de antocianinas encontrados no açaí são a cianidina-3-glicosídeo e a cianidina-3-rutinosídeo. Suas estruturas estão mostradas nas Figuras 3 e 4, sendo que totalizam mais de 90% das antocianinas presente na polpa do açaí (PORTINHO; ZIMMERMANN; BRUCK, 2012).

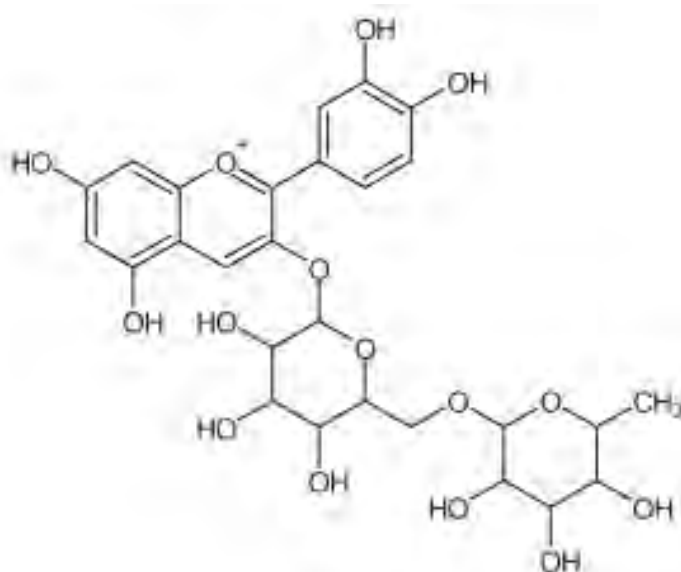
Contudo, as antocianinas representam apenas 10% da capacidade antioxidante do açaí, levando a crer que há ainda a presença de outros compostos em menores concentrações, mas que também apresentam alto poder antioxidante, como os ácidos fenólicos, flavonóis e flavonóis, que por sua vez, acabam atuando como coadjuvantes na ação bioativa das antocianinas (DELPOZO-INSFRAN; BRENES; TALCOTT, 2004).

Figura 3 - Estrutura molecular da cianidina-3-glicosídeo



Fonte: YAMAGUCHI, K. K. L.; PEREIRA, L. F. R.; LAMARÃO, C. V.; LIMA, E. S.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Amazon acai: Chemistry and biological activities: A review. Food Chemistry. v. 179, p. 137–151, 2015.

Figura 4 - Estrutura molecular da cianidina-3-rutinosídeo



Fonte: YAMAGUCHI, K. K. L.; PEREIRA, L. F. R.; LAMARÃO, C. V.; LIMA, E. S.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Amazon acai: Chemistry and biological activities: A review. Food Chemistry. v. 179, p. 137–151, 2015.

As antocianinas podem ainda se associar com outros compostos presentes na polpa do fruto, como aminoácidos, ácidos orgânicos,

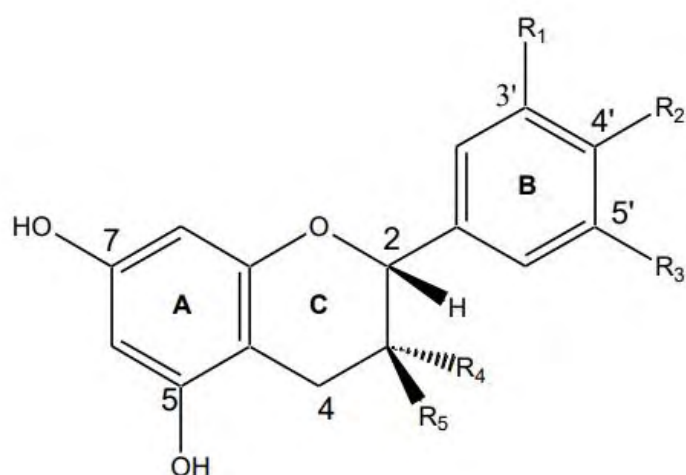
polissacarídeos, alguns metais e também com outras moléculas de antocianinas. Esse tipo de interação é descrito como *copigmentação intermolecular* e acontece com o objetivo de se aumentar a estabilidade das antocianinas e aumentar seu efeito antioxidante (DEL POZO-INSFRAN; BRENES; TALCOTT 2004).

Dentre esses copigmentos encontrados na polpa do açaí, se destacam as proantocianidinas, que são taninos condensados, consideradas um grupo de compostos fenólicos que podem ser formados por duas ou mais unidades de flavan-3-ols (Figura 5), onde as unidades monoméricas mais comuns na natureza são as catequinas e a epicatequinas. Essas unidades são ligadas por uma ligação covalente entre os carbonos C4 e C8, denominada ligações do tipo B, ou ainda podem estar ligadas entre si por uma ligação entre os carbonos C4 e C8 auxiliado por uma ligação éter entre os carbonos C2 e C7, conhecido como ligação tipo A, evidenciado na Figura 5 (HO; RAFI; GHAI, 2010).

As proantocianidinas se diferenciam entre si pela composição das unidades monoméricas, onde as proantocianidinas formadas apenas por unidades de epicatequina/catequina são chamadas de procianidinas. As prodelfinidas e as propelargonidinas são constituídas pelas subunidades de epigalocatequinas e epiafzelequinas respectivamente. Podem ainda se diferenciar pelo tamanho da cadeia polimérica, se apresentando de dímeros até as proantocianidinas poliméricas (FIGUEIREDO; ALBUQUERQUE; ROMEIRO, 2013).

Presentes em frutas como o açaí, uva, romã e também encontradas em chás, cervejas, suco de frutas e ainda algumas espécies de grãos e cereais, as proantocianidinas são, entre outras características, responsáveis por conferirem um sabor amargo e promover adstringência nos alimentos (DIXON; XIE; SHARMA, 2004). Contudo, a relevância dos estudos sobre proantocianidinas aumentou significativamente principalmente pelos benefícios trazidos pelo consumo de alimentos que contenham essas substâncias (GU et al., 2002).

Figura 5 - Estrutura genérica de unidade de flavan-3-ols



Flavan-3-ols:	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Afzelequina:	H	OH	H	H	OH
(Epi)afzelequina:	H	OH	H	OH	H
Catequina:	H	OH	OH	H	OH
(Epi)catequina:	H	OH	OH	OH	H

Fonte: Adaptado de FIGUEIREDO, P. et al. Proantocianidinas na dieta humana. Influência na prevenção de doenças cardiovasculares. Studia, Lisboa, Portugal, 2013.

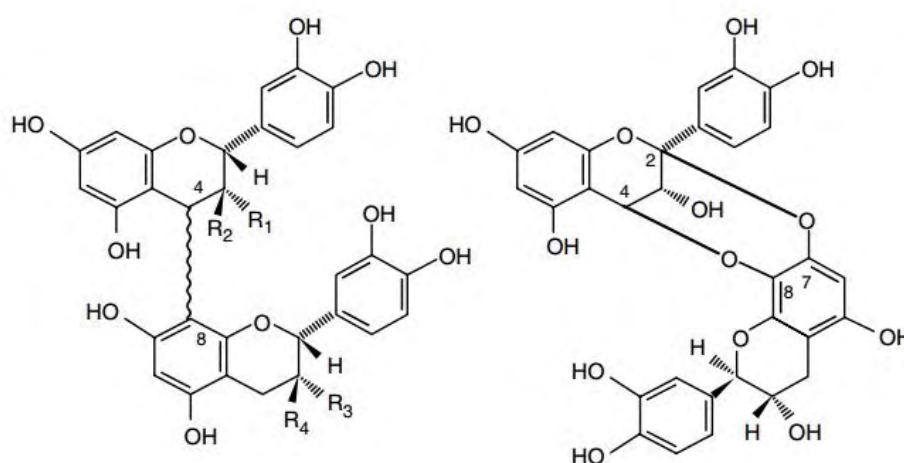
Um dos benefícios atribuídos às proantocianidinas é a atividade antiobesidade, onde há pode haver promoção da inibição da lipase pancreática como estratégia de prevenção do excesso de peso. Já foi observado que proantocianidinas presentes no mirtilo apresentam uma alta capacidade de inibição de certas enzimas (KIMURA et al., 2011). Também já foi relatada a ação das proantocianidinas na diminuição do risco de acidentes cardiovasculares, apesar dos mecanismos de absorção e atuação no corpo humano não estarem totalmente elucidados (FIGUEIREDO; ALBUQUERQUE; ROMEIRO, 2013)

Outra característica importante é o fato de as proantocianidinas apresentarem alta capacidade de sequestrar radicais livres e a capacidade de se ligar a íons divalentes, como o ferro e magnésio, aumentando sua capacidade antioxidante, devido a presença de grupo fenólicos poli-hidroxilados, o que, por sua vez, tal fato também confere às proantocianidinas capacidade de quelar íons metálicos (BREECHER, 2004).

Apesar das antocianinas e proantocianidinas serem considerados os maiores responsáveis por promover a atividade antioxidante do açaí, as concentrações encontradas na fruta são relativamente pequenas (KANG et al., 2010).

No açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) já foram detectadas proantocianidinas com diferentes graus de polimerização, de monômeros (epicatequinas e catequinas) até decâmeros, porém, a maior porcentagem das proantocianidinas encontradas no açaí estão em forma polimérica formadas por ligações do tipo B (SCHAUSS et al., 2006). Foi também constatado que o perfil de proantocianidinas encontradas no açaí é muito semelhante ao do mirtilo (GU et al., 2002).

Figura 6 - Representação das ligações do tipo B (à esquerda) e tipo A (direita) das subunidades de flavan-3-ols



Fonte: Adaptado de FENNEMA, Food Chemistry, 4^a ed., 2010.

Para a identificação e quantificação das proantocianidinas é necessário que se utilize um método eficiente, sendo encontrado na literatura principalmente métodos colorimétricos e cromatográficos. Grande parte do desenvolvimento das pesquisas sobre as proantocianidinas se deu através de métodos colorimétricos simples, capazes de estimar a presença e quantidade total desses compostos. Atualmente, há metodologias capazes de conjugar as técnicas, como a cromatografia líquida ou gasosa associado a espectrometria de massa

(GC-MS ou LC-MS). Além, pode-se encontrar na literatura a identificação e quantificação desses compostos utilizando-se cromatografia líquida de alta performance (DEL POZO-INSFRAN; BRENES; TALCOTT, et al., 2004), ou ainda pelo método espectrofotométrico como descrito em Skerget et al. (2004). A associação de técnicas como a de *time-of-flight* (TOF) e *matrix-assisted laser desorption/ionization* (MALDI) acopladas à espectrometria de massa também se mostram eficazes na identificação e quantificação das proantocianidinas (MATEOS-MARTIN et al., 2012).

Dentre os diversos métodos existentes para a identificação e quantificação das proantocianidinas, as metodologias colorimétricas são fundamentadas por diferentes princípios e mecanismos. Um dos mais utilizados é o método de Folin-Ciocalteu, utilizado para a quantificação de compostos fenólicos totais, não sendo específico para as proantocianidinas (PAYNE et al., 2010).

Outra possível alternativa são os métodos baseados em reações com aldeídos como a reação com o 4-dimetilaminocinamaldeído (DMAC), onde os compostos fenólicos com anéis aromáticos comendo-se de duas ou três grupamentos OH⁻ orientados na posição meta reagem com aldeídos aromáticos em condições de acidez controlada, que por sua vez, produz compostos de coloração verde/azul sendo capazes de ser lidos a 640 nm e quantificados por comparação ao padrão. A simplicidade e especificidade fazem desse método um dos mais utilizados para esse processo (GUYOT, 2012).

Mesmo com tantas vantagens ao se buscar a quantificação das proantocianidinas, os métodos colorimétricos não se mostram capazes de identificar individualmente os compostos presentes quando se tem uma amostra com alto teor de proantocianidinas polimerizadas (GUYOT, 2012).

Para esse propósito, os métodos conjugados já citados nesse trabalho se tornam alternativas mais viáveis.

Outra classe de nutrientes presente em altas concentrações na polpa do açaí são os lipídeos. Composta majoritariamente por ácidos graxos monoinsaturados, a polpa de açaí é formada por quase 70% de ácidos palmitoleico (16:1) e oleico (18:1), enquanto aproximadamente 9% do conteúdo lipídico é formado por ácidos graxos poli-insaturados, sendo eles linoleico (18:2)

e linolênico (18:3), além de 21% de gorduras saturadas. Apesar de também rica em lipídeos, a semente do açaí apresenta um perfil lipídico diferente quando comparado com dados da literatura para a polpa. (WYCOFF et al. 2015).

A partir da polpa, pode-se obter o óleo bruto do fruto, que por sua vez, também possui um elevado teor de pigmentos (antioxidantes), muito utilizados na indústria de cosméticos. Alguns nativos da principal região produtora também utilizam o óleo do fruto do açaizeiro como produto medicinal, com ação antidiarreica e antimalárica, quando combinado com outras espécies *Caricapapaya*, *Citrus Sp.* e *Quassia amara* (PORTINHO; ZIMMERMANN; BRUCK, 2012).

2.2. Óleo de açaí

O óleo de açaí pode ser obtido de sua polpa ou de sua semente. O perfil físico-químico obtido do óleo varia principalmente de acordo com a parte do fruto da qual foi extraído. O óleo extraído das sementes do açaí roxo possui um alto teor de ácidos graxos saturados, se aproximando de 76%, sendo o restante uma mistura de ácidos graxos monoinsaturados, 12,7%, além de ácido linoleico e linolênico, 7,8% e 4,1% respectivamente (WYCOFF et al. 2015).

Por outro lado, o óleo de açaí extraído da polpa do fruto apresenta um perfil físico-químico diferente, sendo rico em ácidos graxos monoinsaturados – palmitoleico e oleico – além de uma fração maior de ácidos graxos poli-insaturados como o ácido linoleico e linolênico (LUO et al, 2012). A Tabela 1 evidencia a diferença entre os óleos obtidos das diferentes partes do fruto.

Além do perfil lipídico de alto interesse nutricional, o óleo de açaí extraído da polpa possui ainda outros compostos de atenção das indústrias de alimentos e cosméticos, como as antocianinas já citadas, que possuem uma alta atividade antioxidante, além de outros compostos fenólicos e fitoesteróis. Tais compostos possuem ação na prevenção do envelhecimento cutâneo e para redução de processos inflamatórios, como o beta-sitosterol, stigmasterol e campesterol (SOUZA et al., 2011).

Tabela 1 - Comparação do conteúdo lipídico do óleo de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) extraído de diferentes partes do fruto (% mássica)

Origem do óleo	Ácidos graxos saturados	Ácidos palmitoleico + oleico (16:1 + 18:1)	Ácido linoleico (18:2)	Ácido linolênico (18:3)	
Sementes	75,4	12,7	7,8	4,1	Wycoff et al, 2015.
Polpa	21,5	69,6	7,4	1,5	Luo et al, 2012.
	26,7	62,3	10,6	0,5	Rufino et al., 2011.

Fonte: Própria autoria.

Segundo Wycoff et al. (2015), o óleo de açaí extraído da semente do fruto apresentou um valor de 4,7% de extrato metanólico total, porém não foram detectados traços de cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo, ao contrário do óleo obtido através da polpa, uma vez que esses são os compostos majoritários das antocianinas detectadas.

Outro fato importante é que, devido ao alto teor de acidez livre, o óleo de açaí não é recomendado para processos de fritura. O conteúdo elevado de matéria insaponificável faz com que o processo de refino do óleo também tenha que ser criterioso, uma vez que normalmente se deseja a manutenção desses compostos no produto final. Tais características fazem do óleo de açaí um potencial produto para consumo na alimentação humana, comparável com o azeite de oliva e o óleo de abacate (NASCIMENTO et al., 2008).

A partir da polpa, o óleo pode ainda ser extraído por duas vias diferentes, a saber, via química e a via enzimática. A utilização de solventes orgânicos é realizada na via química, processo que proporciona maior rendimento de extração, mas carrega alguns compostos indesejáveis. Portanto, torna-se necessário uma etapa de refino do produto, além da separação e recuperação do solvente utilizado. Já na via enzimática, o processo de separação do óleo é feito através de centrifugação, uma vez que o óleo está disperso no meio de extração após o vegetal ter suas estruturas onde o óleo estava contido rompidas pela ação das enzimas utilizadas no processo, resultando em um produto final praticamente isentos de fosfatídeos, de alta translucidez (NASCIMENTO et al., 2008).

Além do consumo *in natura* do óleo, é possível se encontrar no mercado cápsulas para consumo diário, na forma de suplementos, buscando os benefícios proporcionados pelo açaí. Contudo, há na indústria de alimentos, principalmente quando se refere aos alimentos processados, uma necessidade crescente de melhoria do perfil nutricional desses produtos. Uma das maneiras de fazê-lo seria a aplicação de compostos bioativos no alimento, o que pode ser proporcionado pela adição do óleo extraído da polpa do açaí em alimentos encontrados no mercado.

2.3. Emulsões: definição e estabilidade

Buscando atender às necessidades de uma população em geral, ou ainda, de um nicho específico de mercado, o enriquecimento de alimentos já é utilizado como prática no objetivo de se diferenciar um produto de uma gama de muitos outros ou de se atender uma determinada carência de vitaminas e outros compostos bioativos. Contudo, antes de se partir para essa alternativa, deve-se levar em conta a influência de fatores como a solubilidade em água dos compostos de interesse e sua degradação frente aos processos aos quais os produtos serão exigidos, além da biodisponibilidade e absorção do composto pelo organismo (GONNET; LETHUAUT; BOURI, 2010).

A encapsulação de substâncias hidrofóbicas, como diversos tipos de antioxidantes, fitosteróis, pigmentos e outros compostos bioativos se torna uma alternativa de interesse para garantir a disponibilidade desses nutrientes em alimentos constituídos em sua maior parte por matrizes aquosas. Uma das possíveis técnicas para tal é o processo de emulsificação (MCCLEMENTS; RAO, 2011). Emulsões do tipo óleo em água (O/A) são componentes de diversos produtos como alimentos, suplementos alimentares, remédios, produtos de higiene pessoal e defensivos agrícolas (MCCLEMENTS; JAFARI, 2018).

As emulsões são sistemas coloidais que consistem em pequenas gotículas de óleo/água dispersas em uma fase aquosa/oleosa contínua. São termodinamicamente instáveis e devido a vários mecanismos físico-químicos como separação de fases, coalescência das partículas dispersas, floculação e separação gravitacional, tendem à separação de fases com o tempo (MCCLEMENTS, 2015). Dessa maneira, para se aumentar o tempo de vida útil

da emulsão, faz-se uso de estabilizadores como os emulsificantes e agentes de textura (MCCLEMENTS, 2011).

Emulsificantes são moléculas anfifílicas, ou seja, caracterizam-se por apresentarem regiões hidrofóbicas e hidrofílicas na mesma estrutura. Tal propriedade faz com que essas moléculas possam atuar reduzindo a tensão interfacial entre as fases contínua/dispersa (MCCLEMENTS; JAFARI, 2018). É possível encontrar no mercado diversos tipos de emulsificantes, sintéticos e naturais. A facilidade de formação da emulsão e ainda características do produto final podem ser afetados pela natureza do emulsificante utilizado em sua formulação. Assim sendo, a escolha do emulsificante certo é de suma importância para produtos à base de emulsão, como molhos, cremes, iogurtes, queijos e bebidas lácteas (KRALOVA; SJOBLOM, 2009).

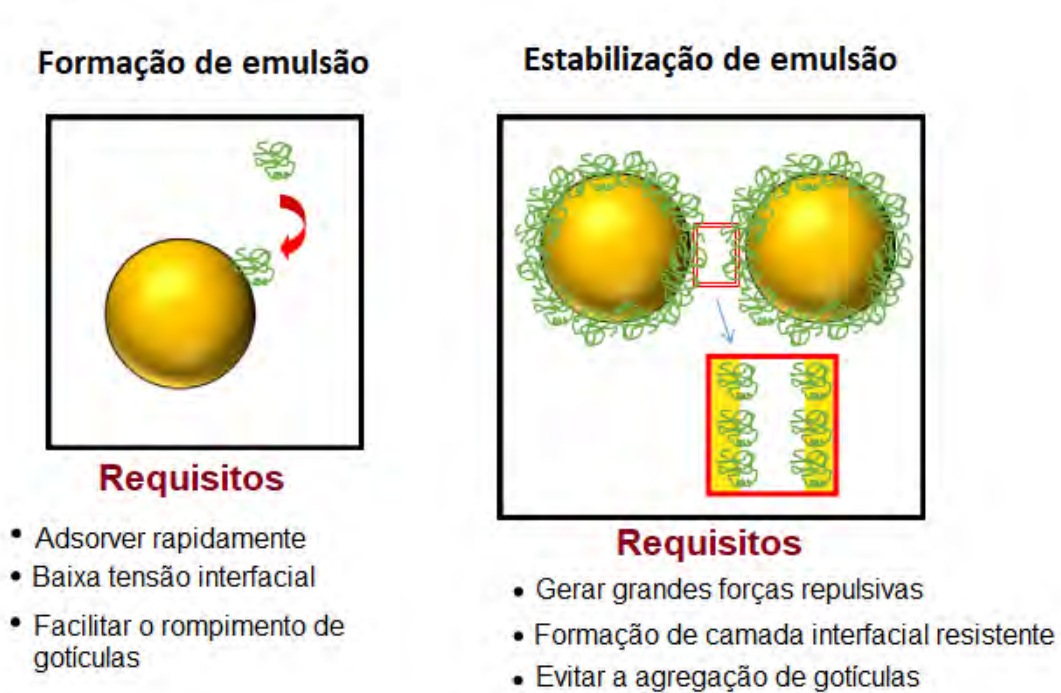
Dentre os emulsificantes sintéticos, destacam-se os polissorbatos (ou *tweens*) e os ésteres de sorbitan (*spans*), bem como o PGPR (polirricinoleato de poliglicerol), amplamente utilizados pela indústria de alimentos. Tais emulsificantes são conhecidos por apresentarem, geralmente, uma eficácia superior quando comparado com os emulsificantes de origem natural. Contudo, uma nova realidade de mercado mostra que os consumidores buscam cada vez mais por alimentos que contenham em sua formulação ingredientes naturais (MCCLEMENTS; BAI; CHUNG, 2017), o que faz com que o uso de tais tensoativos tenha sido cada vez mais questionado.

Segundo McClements e Gumus (2016), são classificados como emulsificantes naturais os fosfolipídios, proteínas, polissacarídeos, biosurfactantes e biopolímeros que não passaram por processo químico de modificação.

Tanto os polissacarídeos quanto as proteínas, e ainda as misturas entre esses dois tipos de biopolímeros, são capazes de serem aplicados em formulação com o objetivo de estabilizar emulsões (Figura 7). Os polissacarídeos são geralmente moléculas altamente hidrofílicas e apresentam uma baixa atividade interfacial, capazes de contribuir para o aumento da viscosidade da fase contínua, e de promover a redução do movimento da fase dispersa, levando a um aumento da estabilidade do sistema. Por outro lado, tais características, faz com que os polissacarídeos não demonstrem uma boa capacidade de emulsificação (DICKINSON, 2003; MCCLEMENTS; GUMUS, 2016). Em

contrapartida, é possível se encontrar alguns tipos de polissacarídeos de origem natural e modificada que possuem grupamentos hidrofóbicos ligado a cadeia hidrofílica, tornando-os uma molécula anfifílica, como, por exemplo, os amidos modificados esterificados, goma arábica e pectinas (DICKINSON, 2003).

Figura 7 - Requisitos que facilitam a formação e estabilização de emulsões



Fonte: Adaptado de MCCLEMENTS, D. J.; GUMUS, C. E. Natural emulsifiers - biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: molecular and physicochemical basis of functional performance. *Advances in Colloid Interface Science*, v. 234, p. 3–26, 2016.

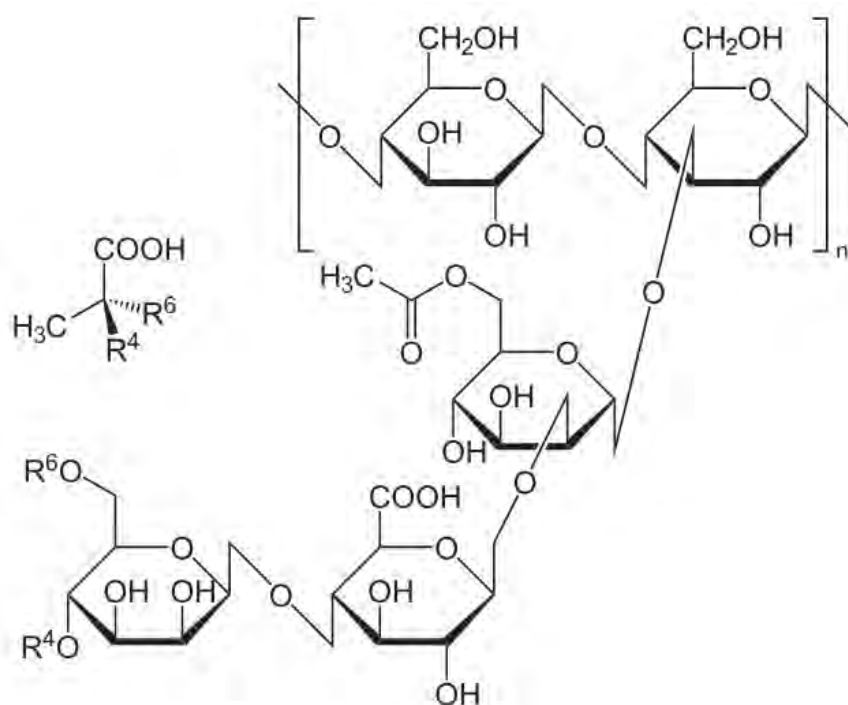
2.4. Goma xantana: características, propriedades e funcionalidade

Frente a tantas opções disponíveis entre os polissacarídeos, a goma xantana se destaca como um dos primeiros biopolímeros produzidos em escala industrial. Começou a ser utilizada na década de 50, e sua primeira produção industrial data dos anos 60, sendo sintetizado por uma bactéria do gênero *Xhantomonas* (MARGARITIS; ZAJIC, 1978) e considerada seguro para consumo humano, sem apresentar toxicidade em até 20 g/kg de peso corporal (FREITAS et al., 2015).

A goma xantana é conhecida por apresentar uma boa solubilidade tanto em água quente quanto em água fria, sendo um exopolissacarídeo de alto peso

molecular e de cadeia polimérica ramificada. Sua formação primária consiste em subunidades de pentoses (D-glicossil, D-manosil e D-glucoronil) e apresenta uma estrutura linear, semelhante a celulose (Figura 8) (JANSSON; KENNE; LINDBERG, 1975).

Figura 8 - Estrutura genérica da goma xantana



Fonte: NERY, T. B. R. et al. Biossíntese de goma xantana a partir da fermentação de soro de leite: rendimento e viscosidade. *Química Nova*, São Paulo, v. 31, nº 8, 2008.

Devido a sua estrutura helicoidal, as moléculas de goma xantana apresentam uma maior resistência a despolicimerização e estabilidade térmica quando comparados com outros polissacarídeos solúveis em água, além de ser estável em uma grande faixa de pH. Dessa forma, quando expostas a tratamentos térmicos, a viscosidade das soluções de goma xantana são minimamente afetadas (STOKKE; CHRISTENSEN, 1996). Esse biopolímero ainda é muito usado na indústria de alimentos devido à sua capacidade de formar soluções com alta viscosidade em baixas concentrações (FARIA et al., 2011).

A capacidade da goma xantana de aumentar a viscosidade de uma emulsão é afetada pela sua concentração e peso molecular e em caso de emulsões estabilizadas com proteínas, deve-se levar em conta a relação de interação entre a goma-proteína e o pH do meio, uma vez que as proteínas

apresentam uma variação de carga (do negativo para o positivo) à medida que se reduz o pH. No entanto, pouco se encontra na literatura sobre a influência da goma xantana na estabilização de emulsões contendo gotículas de óleos revestidas por proteínas (FU et al., 2018).

2.5. Isolado proteico de soja: propriedades e funcionalidade

Como já citado neste trabalho, proteínas e polissacarídeos podem ser usados para estabilizar emulsões devido ao seu caráter anfifílico (TAVERNIER et al., 2017). Para se obter uma estabilização mais eficiente contra a separação de fases e a coalescência das gotículas de óleo, uma das possibilidades é a mistura entre dois ou mais polímeros como estabilizantes de uma emulsão. Com o aumento do consumo de produtos de alto valor agregado e a possibilidade de maior rentabilidade as proteínas de soja ganham destaque na indústria de alimentos como uma alternativa de origem vegetal frente a proteínas de origem animal (MANION; CORREDIG, 2006).

Segundo Dickinson (2010), emulsões estabilizadas com proteínas sofrem grande influência de fatores extrínsecos como pH e temperatura. Emulsões que são expostas a tratamentos térmicos tendem a apresentar coalescência devido à desnaturação das proteínas. Além disso, o ponto isoelétrico do isolado proteico de soja é em torno do pH 4,5, o que por sua vez, limita o uso dessa proteína em aplicações em grande parte dos alimentos e bebidas, uma vez que a solubilidade se torna o fator limitante (LIU et al., 2016).

Mesmo com os fatores limitantes, o isolado proteico de soja é uma alternativa muito utilizada no processamento de produtos cárneos, principalmente embutidos. Por sua capacidade emulsificante/gelificante, o baixo custo de produção e características nutricionais, o IPS é também aplicado em produtos de conveniência – molhos, caldos e sopas – e produtos lácteos (LIU, 1997).

O isolado proteico de soja é formado por dois componentes majoritários, sendo eles a glicina (globulina 11S) e a β -conglucina (globulina 7S). Suas propriedades funcionais variam conforme a concentração de cada um desses componentes. Esses dois principais componentes sofrem diferentes alterações quando submetidos a mudanças de pH, temperatura, força iônica, e ainda outros

fatores que podem levar a mudanças estruturais das moléculas (DAMODARAM, 2010).

A fração 11S do isolado proteico de soja é um hexâmero de alto peso molecular, formado por cinco subunidades, onde cada uma delas é composta por polipeptídeos ácidos (35 KDa) e básicos (20 KDa) unidos por ligações dissulfeto, enquanto a fração 7S (β -conglícinina) são glicoproteínas compostas por três subunidades: α (67 KDa), α' (71kDa) e β (50 KDa) (BADLEY et al., 1975; PENG et al., 1984). Já a composição de aminoácidos do IPS ainda não foi totalmente desvendada devido a difícil cristalização e indefinição da estrutura tridimensional (UTSUMI; MATSUMURA; MORI, 1997).

O isolado proteico de soja é comumente utilizado na indústria de alimentos em conjunto com outras proteínas e/ou polissacarídeos para a produção de um efeito sinérgico aumentando a estabilidade do produto final. Tavenier et al. (2016) avaliaram a utilização de um complexo IPS: κ -carragena na produção de oleogéis baseados em modelos de emulsão, através da formação de uma emulsão altamente concentrada, seguido da evaporação da fase aquosa, resultando na prisão do óleo na rede polimérica. Pode-se encontrar também estudos sobre a estabilidade de emulsões de óleos corporais tendo como estabilizante a mistura de IPS e pectina (IWANAGA et al., 2008) e carragenas (WU et al., 2011). Por sua vez, Yuan et al. (2013) observaram que as propriedades físico-químicas e funcionais do complexo IPS:quitosana podem ser moduladas quando aquecidas, levando em consideração a razão de mistura, pesos moleculares e densidade das cargas de quitosana.

Apesar da existência de uma vasta gama de estudos com a utilização de goma xantana e isolado proteico de soja como estabilizantes de emulsões, pouco se encontra sobre estudos avaliando a interação desses dois biopolímeros, o que por sua vez, ressalta a importância da investigação de novas soluções para os anseios do mercado de alimentos.

2.6. Iogurtes

2.6.1. Definição e processamento

Os produtos lácteos são amplamente conhecidos e consumidos em todo o mundo. Diversos produtos que conhecemos são oriundos da conversão de lactose em ácido láctico realizada por uma cultura de microrganismos. Uma técnica utilizada desde muito antes de qualquer dado ou informação sobre microrganismos, consistia em *inocular* o leite fresco com uma “muda” ou uma pequena quantidade de leite azedo. Dessa forma se eram produzidas bebidas fermentadas com propriedades diferentes do leite fresco. Pela elevada acidez, as bebidas já fermentadas mantinham-se por mais tempo aptas ao consumo, pois o pH do meio inibia o crescimento de microrganismos patogênicos (ARYANA; OLSON, 2017).

Louis Pasteur, no século 19, definiu como fermentação a condição de “vida sem ar”. O termo descreve o processo de metabólico para obtenção de energia por uma via anaeróbia, ou seja, sem a presença de oxigênio. Dentre as várias bebidas lácteas fermentadas existentes, o iogurte (palavra derivada do adjetivo *yoğun*, que significa “tornar denso”) se destaca como uma das mais consumidas no Brasil e no mundo. Tal bebida é obtida a partir da fermentação do leite a partir de uma cultura mista de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, porém, com o avanço da tecnologia de processamento, outras bactérias lácteas passaram a ser empregadas como adjunto na produção industrial dos iogurtes, como por exemplo *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei*, and *Lactobacillus jugurti* ou ainda certos tipos de bifidobactérias (CHANDAN et al., 2017).

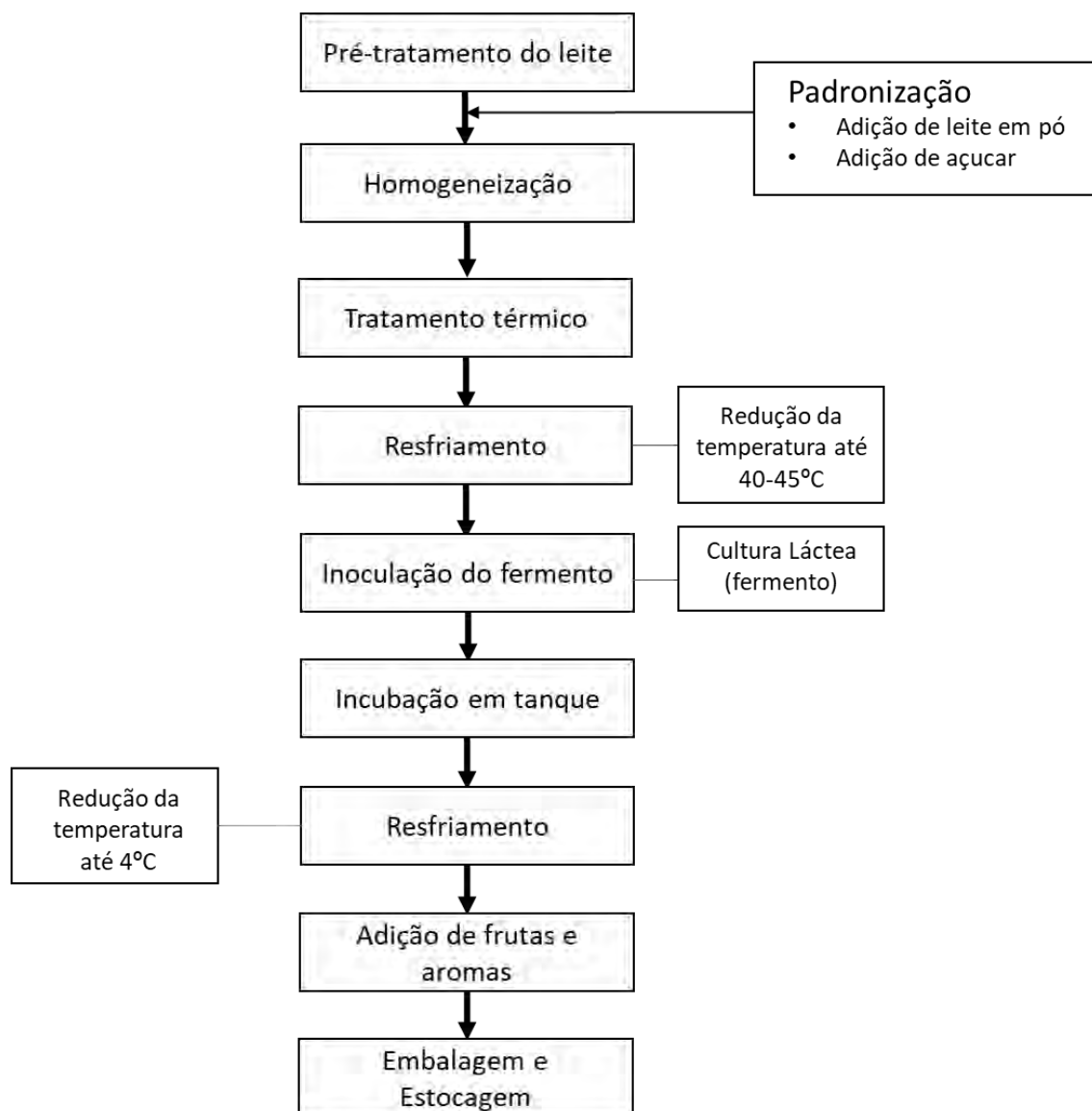
No Brasil, o *Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade* descreve os leites fermentados como produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do pH do leite; ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de microrganismos específicos e classifica os iogurtes como o produto cuja fermentação é realizada a partir de cultivos de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, podendo ou não ser acompanhado de outras bactérias ácido-lácticas (BRASIL, 2007).

Em se tratando de escala industrial, o leite destinado a produção de iogurtes passa por um processo de pasteurização, onde se visa garantir a *esterilidade* do meio para as culturas a serem inoculadas. A curva de “tempo vs. temperatura” utilizada normalmente encontra-se na faixa de 85 °C por pelo menos 30 minutos. Após o pré-tratamento, o leite é então inoculado e levado para os tanques de fermentação a 42°C por 4 h (CHANDAN et al., 2017).

Nas primeiras horas subsequentes à inoculação das culturas nota-se o crescimento da população de *Streptococcus thermophilus*, promovendo o acúmulo de ácido láctico e a redução do pH do meio, além de formar compostos orgânicos aminados, o que por sua vez estimula o crescimento populacional do *Lactobacillus bulgaricus*. Com o decorrer do processo, com a elevação da acidez do meio, o *S. thermophilus* tem a redução da inclinação de sua curva de crescimento, ao contrário do *L. bulgaricus*, que, por ser mais resistente a queda de pH, mantém seu desenvolvimento. O processo de fermentação pode ser finalizado ao se obter um valor de pH entre 4,5 e 4,6. O leite já fermentado segue então para a etapa de resfriamento até uma faixa de temperatura de 4 a 5 °C, visando impedir a proliferação de microrganismos e o aumento da acidez por eles promovida, formando, então, a base para a produção de iogurtes de diversos sabores e/ou com polpa de frutas. O iogurte pronto segue enfim para as etapas de envase e é mantido estocado sob refrigeração (ROBERT, 2008).

O fluxograma mostrado na Figura 9 descreve em etapas simplificadas a produção industrial de iogurtes.

Figura 9 – Fluxograma do processo industrial de produção de iogurtes.



Fonte: Adaptado de ROBERT, N. F. Dossiê Técnico: Fabricação de Iogurtes. Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas, 2008.

2.6.2. Consumo e perspectiva de mercado de iogurtes no Brasil

Por se tratar de produtos com uma relação de custo-benefício elevado, os derivados lácteos em geral apresentam-se como uma excelente fonte de obtenção de nutrientes para a manutenção da vida saudável, atuando como principais fontes de proteínas, cálcio e vitaminas A e D no Brasil (SIQUEIRA, 2018). Também por ser um tipo de alimento de relativo fácil acesso e produção, os iogurtes estão disponíveis em gôndolas de mercados em todos os lugares do mundo. Devido a tais características, as bebidas fermentadas

lácteas se tornaram alvo das pesquisas científicas, principalmente devido ao seu viés de saudabilidade. Nos dias atuais, pode-se encontrar facilmente uma grande gama de iogurtes e outros derivados, enriquecidos ou não com algum composto bioativo, seja prébióticos ou probióticos, fitoesteróis, antioxidantes naturais ou em uma combinação de todos estes apelos mercadológicos.

Durante o desenvolvimento e produção de iogurtes enriquecidos, encontra-se algumas barreiras pertinentes a determinadas características do que se deseja adicionar à fórmula do produto, sendo necessário a utilização de agentes de encapsulação de compostos bioativos. Nesse sentido, é possível encontrar na literatura uma elevada quantidade de estudos empregando diferentes agentes encapsulantes e compostos bioativos, e ainda diferentes sistemas de encapsulação desses compostos. A Tabela 2 traz um resumo de estudos recentes, evidenciando o leque de oportunidades quando se trata de adição de compostos bioativos em iogurtes e derivados lácteos.

Mesmo com um alto número de publicações relativas a iogurtes e outras bebidas lácteas fermentadas nas últimas décadas, nota-se o crescimento no aparecimento de novos produtos ou novos apelos de mercado. Tais condições também contribuem para que haja o aumento do consumo desse tipo de alimento. No Brasil, a produção de lácteos se consolidou como segundo setor mais importante da indústria de alimentos, perdendo somente para o setor de derivados cárneos (ABIA, 2017 *apud* SIQUEIRA, 2018).

Tratando-se especificamente de iogurtes, pode-se perceber, da mesma forma, uma tendência de crescimento na produção e consumo desse alimento. Dados apontam uma produção nacional média de 400 mil toneladas nos últimos anos, representando mais de 70% do total de derivados lácteos. Mesmo com essa tendência, o Brasil ainda figura distante dos principais mercados consumidores no mundo, com apenas 6,5 kg *per capita*/ano, valor este, muito abaixo dos números apresentados pela França e Holanda, países responsáveis pelo consumo 20,7 e 42 kg *per capita*/ano, respectivamente (FANI, 2015).

Tabela 2 - Tabela comparativa de iogurtes enriquecidos com compostos bioativos

Autor	Título	Agente de encapsulação	Bioativo	Sistema de encapsulação
CHAVES et al. (2021)	Nanoliposomes coencapsulating curcumin and vitamin D3 produced by hydration of proliposomes: Effects of the phospholipid composition in the physicochemical characteristics of vesicles and after incorporation in yoghurts	Prolipossomas	Curcumina e Vitamina D ₃	Nanolipossomas
LIN et al. (2020)	Anthocyanin-loaded double Pickering emulsion stabilized by octenylsuccinate quinoa starch: Preparation, stability and in vitro gastrointestinal digestion	Amido de quinoa	Antocianinas	Emulsão A/O/A (água-em-óleo-em-água)
SVANBERG et al. (2019)	Effect of anthocyanins on lipid oxidation and microbial spoilage in value-added emulsions with bilberry seed oil, anthocyanins and cold set whey protein hydrogels	Isolado proteico de soro de leite	Antocianinas	Ultra-agitação (ultra-turrax)
LIU et al. (2019)	Protection of anthocyanin-rich extract from pH-induced color changes using water-in-oil-in-water emulsions	Poliricinoleato de glicerol (hidrofóbico) + Saponinas de quilaia (hidrofílico)	Antocianinas	Emulsão A/O/A (água-em-óleo-em-água)
MOLINA et al. (2019)	Physicochemical characterization and sensory evaluation of yogurts incorporated with beta-carotene-loaded solid lipid microparticles stabilized with hydrolyzed soy protein isolate.	Proteína isolada de soja	β-caroteno	Micropartículas partículas sólidas
MATOS, R. (2019)	Nanoemulsificação de óleo de castanha do Brasil (<i>Bertholletia excelsa</i>) pelo método do ponto de inversão da emulsão e encapsulação de vitamina D ₃	Tween 80 e Brij 30	Vitamina D ₃	Emulsões O/A
SOUZA et al (2018)	Functional properties and encapsulation of a proanthocyanidin-rich cinnamon extract (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>) by complex coacervation using gelatin and different polysaccharides	Gelatina + polissacarídeos	Proantocianidinas	<i>Coacervação complexa</i>
PAULA et al. (2018)	Increased thermal stability of anthocyanins at pH 4.0 by guar gum in aqueous dispersions and in double emulsions W/O/W	Goma guar	Antocianinas	Emulsão A/O/A (água-em-óleo-em-água)
TONIAZZO et al. (2014)	β-carotene-loaded liposome dispersions stabilized with xanthan and guar gums: Physico-chemical stability and feasibility of application in yogurt.	Goma Xantana e Goma Guar	β-caroteno	Lipossomas

Fonte: Própria autoria.

Seguindo as tendências de mercado, o que se espera no Brasil é o aumento do consumo dos iogurtes no Brasil, não somente pela razão custo-benefício, mas também por uma mudança de hábitos da população em relação ao consumo de alimentos mais saudáveis. Para além, outros fatores como a sustentabilidade da cadeia de produção e a utilização de ingredientes de origem natural também demandam a atenção dos consumidores no momento da escolha de qual produto adquirir. (BDT, 2017).

Desta forma, a partir do exposto nesta Revisão Bibliográfica, por se tratar de um óleo com alto valor nutricional, rico em gorduras monoinsaturadas e por apresentar alegada atividade antioxidante, o óleo de açaí pode ser uma alternativa muito interessante para o aumento da qualidade nutricional dos alimentos. Com a avaliação dos dados mostrados, percebe-se uma janela de crescimento acelerada na área de derivados lácteos, principalmente nos iogurtes, o que incentiva a realização de diferentes estudos.

Dentro do contexto apresentado nessa Revisão Bibliográfica, a presente Dissertação teve como finalidade a incorporação de compostos antioxidantes em iogurtes, por meio da incorporação de emulsões de óleo de açaí estabilizadas com isolado proteico de soja e goma xantana. As emulsões foram produzidas por alto cisalhamento, caracterizadas em relação à sua estabilidade físico-química, para determinar se seriam adequadas para incorporação no produto lácteo. A formulação mais estável físico-quimicamente foi incorporada em iogurtes, os quais foram caracterizados também do ponto de vista físico-químico e microbiológico.

3. OBJETIVOS

O presente Mestrado apresentou como principal objetivo o desenvolvimento de iogurtes enriquecidos com óleo de açaí utilizando emulsões estabilizadas com isolado proteico de soja.

Para que o referido objetivo principal fosse atingido, os seguintes objetivos específicos foram delineados:

- Definição da formulação da emulsão com óleo de açaí a ser incorporada na formulação dos iogurtes utilizando isolado proteico de soja como tensoativo;
- Avaliação da estabilidade físico-química das emulsões de óleo de açaí ao longo do tempo de armazenagem;
- Caracterização físico-química das emulsões de óleo de açaí;
- Estudo da produção dos iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí;
- Avaliação microbiológica dos iogurtes enriquecidos produzidos;

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

- Produção das emulsões: óleo de açaí composto (60% óleo de girassol e 40% óleo de polpa de açaí) (Gran Oils, São Paulo, SP, Brasil); isolado proteico de soja (Protmarti M-90 – Marsul, Montenegro, RS, Brasil); goma xantana (Grindsted Xanthan 80®, Du Pont, Cotia, SP, Brasil); 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, Áustria); ácido clorídrico (Dinâmica Química Contemporânea Ltda, Indaiatuba, SP, Brasil); butilhidroxitoluol (BHT, Synth, Labsynth, Diadema, SP, Brasil)
- logurte: logurte integral (Batavo, Lactalis do Brasil, Carambeí – PR, Brasil). Esse iogurte possui registro no Ministério da Agricultura SIF/DIPOA sob o nº 0042/2128, e, portanto, segue os requisitos de boas práticas de fabricação.
- 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. Produção das emulsões

Para a produção das emulsões foram preparadas, primeiramente, dispersões de isolado proteico de soja, juntamente com a goma xantana, quando presente (1,5 g IPS/100 g de emulsão e 0,2 g de goma xantana/100 g de emulsão e 0,3 g de goma xantana/100 g de emulsão) em água deionizada, sob agitação magnética durante 30 min. Em seguida, essa dispersão foi submetida a um pré-tratamento térmico a uma temperatura de 80 °C por 30 min. Após o tratamento, verteu-se a fase aquosa sobre a fase oleosa (5 g de óleo de açaí/100 g de emulsão). A mistura foi submetida a um processo de ultra-agitação (T25, IKA, Staufen, Alemanha) a 15.000 rpm por 5 min, em temperatura ambiente. A seguir, as emulsões produzidas foram armazenadas sob refrigeração a 8 °C.

4.2.2. Testes preliminares para determinação da condição de produção das emulsões

Testes preliminares de produção das emulsões foram realizados aplicando-se diferentes pré-tratamentos térmicos no isolado proteico de soja antes da produção da emulsão. O IPS foi submetido a diferentes temperaturas processo, num intervalo entre 60 °C e 80 °C, com variação de 5 °C, durante os tempos de 15 e 30 min, em banho maria, conforme descrito na Tabela 3. Por fim, as emulsões foram produzidas pelo método de ultra-agitação descrito no item seguinte, tendo apenas o isolado proteico de soja como tensoativo.

Posteriormente, visando obter um aumento na estabilidade, foram produzidas emulsões com a adição de goma xantana, buscando-se aumentar a viscosidade do meio e reduzir a mobilidade das gotículas, utilizando-se do mesmo método inicial de produção. As concentrações de goma xantana avaliadas foram de 0,1 g a 0,3 g de goma xantana por 100 g de emulsão, com variação de 0,05 g aplicando o pré-tratamento térmico na dispersão de IPS + goma xantana nas temperaturas de 75 °C e 80 °C.

4.2.3. Determinação do diâmetro médio e distribuição do tamanho de gota

Para a obtenção dos valores de diâmetro médio e distribuição do tamanho de gota foi utilizado um difratômetro a laser (SALD-201v, Shimadzu, Kyoto, Japão), a 25 °C. O comprimento de onda utilizado foi de 670 nm, com variação de 0 a 5 mV e resolução de 0,01 mV. Os dados de leitura obtidos foram analisados pelo software incluso no sistema (Wing-1) e o tamanho das gotículas de óleo dispersas foi expresso em diâmetro Broukere (D_{43}) (conforme a Eq. 1). Já o índice de polidispersidade (span) foi calculado de acordo com a Eq. 2.

$$D_{43} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (1)$$

Onde:

D_i = diâmetro médio de partícula

n_i = número de partículas

$$span = \frac{d_{90} - d_{10}}{d_{50}} \quad (2)$$

Onde:

D₁₀ = frequência de tamanho de 10% das partículas (µm)

D₅₀ = frequência de tamanho de 50% das partículas (µm)

D₉₀ = frequência de tamanho de 90% das partículas (µm)

4.2.4. Determinação do potencial zeta

Para a realização da medição dos valores de potencial zeta foi adotado o método de mobilidade eletroforética avaliados pelo ZetaPlus (Brookhaven Instruments Company, Holtsville, NY, EUA). O modelo utilizado para o cálculo da mobilidade eletroforética foi o de Helmholtz-Smoluchowski. As amostras foram previamente diluídas em solução de 1mM de KCl antes de se realizar as corridas no equipamento. O número de corridas foi de 10, gerando uma média do potencial zeta encontrado (mV) e o respectivo desvio padrão, para cada amostra.

4.2.5. Avaliação da atividade antioxidante das emulsões

4.2.5.1. Determinação da capacidade antioxidante através da quantificação do sequestro de radicais DPPH

A avaliação da atividade antioxidante pela captura do radical DPPH⁺ foi realizada de acordo com Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) com adaptações. Uma solução etanólica contendo 60 µM do radical DPPH⁺ foi preparada e armazenada em vidro âmbar a 4 ± 1 °C por 24 h. Alíquotas de 0,1 mL de emulsão foram adicionadas a 3,9 mL da solução contendo o radical DPPH⁺ e mantidas em repouso - ambiente escuro – durante 60 min para estabilização. Realizou-se a leitura das amostras em espectrofotômetro (Genesys 10S, ThermoFischer Scientific, Waltham, MA, EUA) utilizando o comprimento de onda de 515 nm. Uma curva padrão foi obtida na faixa de 0 a 60 µM do radical DPPH⁺ (R² = 0,999). Os resultados foram expressos em forma de EC₅₀, considerando a quantidade de agente ativo necessária para a redução da absorbância inicial do radical DPPH em 50% dentro do período de tempo estabelecido.

4.2.5.2. Determinação da capacidade antioxidante através da captura do radical livre ABTS⁺

Previamente preparou-se uma solução contendo o radical ABTS⁺, partindo da reação, em ambiente escuro, da solução de ABTS (7mM) com uma solução de persulfato de potássio (2,45 mM), na reação de 2:1, pelo período de 24 horas. A solução resultante foi lida em espectrofotômetro (Genesys 10S, ThermoFischer Scientific, Waltham, MA, EUA) no comprimento de onda de 734 nm. Em seguida, adicionou-se alíquotas dos agentes ativos de 0,3 µL, previamente diluídas, a 3 mL de solução do radical ABTS⁺ e foi realizado a leitura decorrido 6 minutos de reação, segundo o protocolo descrito em Re et al. (1999).

A curva padrão foi obtida utilizando-se uma solução de Trolox (2,5 mM) na faixa de 0 a 2500 µM ($R^2 = 0,999$) e o resultado expresso em capacidade antioxidante equivalente Trolox (mM Trolox/µL amostra) e EC₅₀ (µL/mL ensaio).

Para o cálculo da redução do radical ABTS⁺ em 50, foi utilizado a Eq. (3):

$$\%Inibição = \frac{Abs_{inicial} - Abs_{final}}{Abs_{inicial}} \times 100 \quad (3)$$

sendo: Abs_{inicial} = absorbância do controle

Abs_{final} = absorbância da amostra em contato com o radical ABTS⁺

4.2.5.3. Teor de fenólicos totais

Para a identificação do teor de fenólicos totais, foi utilizado o procedimento descrito em Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1999) com adaptações. As amostras foram previamente diluídas em água deionizada, e em seguida, uma alíquota de 250 µL dessas amostras foram adicionadas a 2 mL de água deionizada e 250 µL do reagente de Folin-Ciocalteu. Posteriormente a solução foi agitada em vortex (QL-901, Biomixer, São Paulo, SP, Brasil) por 30 s e deixada em temperatura ambiente por 3 min seguido da adição de 250 µL de solução saturada de carbonato de sódio e agitação em vortex novamente. As amostras foram então levadas ao banho-maria (MA127, Marconi, Piracicaba, SP, Brasil) a temperatura de 37 °C por 30 min. A leitura da absorbância ocorreu a 750 nm em espectrofotômetro (Genesys 10S, ThermoFischer Scientific,

Waltham, MA, EUA) e o conteúdo de fenólicos totais foi calculado a partir da curva analítica obtida com ácido gálico, sendo expresso em mg equivalente de ácido gálico/mL de amostra.

4.2.6. Quantificação de antocianinas totais

A quantificação de antocianinas totais nas emulsões foi realizada de acordo com o protocolo descrito em Francis (1982) com adaptações. Previamente, uma alíquota da emulsão foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL, tendo seu volume completado com uma solução de etanol:HCl 1,5 N (85:15, v/v). A leitura da absorbância do extrato produzido foi realizada em espectrofotômetro (Genesys 10S, ThermoFischer Scientific, Waltham, MA, EUA) utilizando o comprimento de onda de 535 nm. O cálculo do teor de antocianinas totais foi executado através da Eq. (4) e expresso em mg de antocianinas/100 g de emulsão.

$$Antocianinas\ Totais = \frac{A_{535} \times V_{emuls\tilde{a}o} \times V_E}{\frac{V_{aliquota} \times m}{E_{1\ cm}^{1\%}}} \times 100 \quad (4)$$

Em que:

$A_{535\ (nm)}$: é a absorbância do extrato produzido

$V_{emuls\tilde{a}o}$: é o volume total da emulsão

V_E : volume do extrato produzido

$V_{aliquota}$: volume da alíquota destinada a produção do extrato

m : massa de emulsão

$E_{1\ cm}^{1\%}$: 98,2 (coeficiente de extinção médio para antocianinas)

4.2.7. Quantificação de proantocianidinas totais

As proantocianidinas totais serão quantificadas pelo método descrito em Walton et al. (1983) com adaptações. Uma amostra de 1 mL previamente diluída da fração oleosa foi misturada com 5 mL de solução reagente de vanilina (vanilina:HCl:metanol – 4:10:86) e deixada a temperatura ambiente por 20 min. A leitura da absorbância ocorrerá após o tempo decorrido no comprimento de onda de 500 nm em espectrofotômetro (Genesys 10S, ThermoFischer Scientific,

Waltham, MA, EUA). Como branco, será utilizado 1 mL de padrão (catequina diluída em metanol 80%).

4.2.8. Avaliação da oxidação lipídica

4.2.8.1. Determinação de produtos primários da oxidação lipídica

Para a determinação dos produtos primários da oxidação lipídica utilizou-se o protocolo descrito em Shantha e Decker (1994). Previamente, extraiu-se a fase oleosa da emulsão. Para tal, uma amostra de 10 mL da emulsão foi agitada em vórtex 3 vezes durante 1 min com 14 mL de butanol acidificado e 6 mL de água deionizada. Após a separação das fases por centrifugação, uma alíquota de 200 µL da fase superior foi adicionada a 2,8 mL de solução de clorofórmio/metanol (7:3 v/v), 15 µL de solução de tiocianato de amônio 3,9 M e 15µL de solução de ferro ferroso (razão de cloreto de bário 0,132 M e sulfato ferroso 0,144 M de 1:1). As amostras foram agitadas e postas a reagir no escuro por 5 min, com as absorvâncias sendo medidas em espectrofotômetro (Genesys 10S, ThermoFischer Scientific, Waltham, MA, EUA) no comprimento de onda de 500 nm. Uma curva padrão de solução de Fe³⁺ foi construída para a determinação da concentração de hidroperóxido e os índices de peróxido foi determinado pela Equação 5, expressa em miliequivalentes de peróxido por quilo da fase oleosa.

$$PV = \frac{Abs \times m}{55,84 \times m_0 \times 2} \quad (5)$$

Em que:

PV = valor de peróxido

Abs = absorvância da amostra

M = coeficiente angular da curva de calibração

M₀ = massa em gramas da fase oleosa

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

4.2.8.2. Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

O teor de oxidação lipídica também foi avaliado pelo método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. A concentração de malonaldeído (MDA), resultado da reação de oxidação lipídica, foi medida como substância reativa ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) segundo o procedimento descrito por Lee et al. (2011). Primeiramente, preparou-se a solução de TCA (ácido tricloroacético) – TBA – HCl na proporção de 15 g e 0,33 g (respectivamente) e 1,8 mL de HCl 12 M em 83 mL de água deionizada. Posteriormente, foi adicionado 3 mL de solução de BHT (butilhidroxitoluol) 2 % (m/m) em etanol. Uma alíquota de 2 mL da fração oleosa previamente extraída foi misturada com 2 mL da solução produzida em tubos de 15 mL. Após a homogeneização, as amostras foram aquecidas a 100 °C por 15 min e resfriadas a temperatura ambiente, seguindo para centrifugação a 1000 g/20 min (Z 216 MK, Hermle Labor Technik GmbH, Wehingen, Alemanha). As leituras das absorbâncias das amostras foram realizadas em espectrofotômetro (Genesys 10S, ThermoFischer Scientific, Waltham, MA, EUA) a 532 nm. Uma curva de calibração com massa conhecida de MDA foi construída utilizando o 1,1,3,3 – tetraetoxipropano (TEP) como padrão para quantificar o valor de MDA nas emulsões. Todo o experimento foi realizado em triplicata.

4.2.9. Avaliação da estabilidade físico-química das emulsões

As emulsões foram produzidas em triplicata e armazenadas em ambiente refrigerado e, em tempos predeterminados, foram retiradas alíquotas para a avaliação do tamanho médio e distribuição do tamanho de gota (segundo o protocolo descrito no item 4.2.3), potencial zeta (item 4.2.4) e avaliação da atividade antioxidante e de oxidação lipídica ao longo do tempo pelos métodos já citados no item 4.2.8.

4.2.10. Formulação do iogurte enriquecido com emulsão de óleo de açaí

As emulsões produzidas foram incorporadas nas amostras de iogurtes, que foram produzidos em cinco tratamentos (% de substituição em massa):

IE1 – Iogurte enriquecido adicionado de emulsão, utilizando substituição de 1% de iogurte por emulsão de óleo de açaí.

IE2,5 – Iogurte enriquecido adicionado de emulsão em substituição de 2,5% de iogurte por emulsão de óleo de açaí.

IE5 – Iogurte enriquecido adicionado de emulsão em substituição de 5% de iogurte por emulsão de óleo de açaí.

IE7,5 – Iogurte enriquecido adicionado de emulsão em substituição de 7,5% de iogurte por emulsão de óleo de açaí.

IE10 – Iogurte enriquecido adicionado de emulsão em substituição de 10% de iogurte por emulsão de óleo de açaí.

4.2.11. Análises microbiológicas dos iogurtes

4.2.11.1. Contagem de bolores e leveduras

Para determinação de fungos e leveduras foram preparadas diluições 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} e retirado uma alíquota de 0,1 mL das diluições para inoculação em placas de Petri contendo o ágar DRBC solidificado. Com o auxílio de uma alça de Drigalsky, o inóculo foi cuidadosamente espalhado na placa até sua completa absorção. As placas foram incubadas, sem inversão, a 25 ± 1 °C, por 30 dias.

4.2.11.2. Contagem de bactérias lácticas

Foi preparado uma solução contendo 1 mL de iogurte e 9 mL de água peptonada. As diluições foram 10^{-6} , 10^{-7} e 10^{-8} . O plaqueamento foi realizado por profundidade (colocou-se 1 mL da amostra e verteu-se o meio MRS - Man, Rogosa e Sharpe - sobre a amostra). Após a solidificação do meio, as placas foram colocadas invertidas na estufa, a 37 °C por 30 dias.

4.2.11.3. Contagem de coliformes totais e termorresistentes

Para determinação de coliformes totais e termorresistentes prepararam-se diluições 10^{-2} e 10^{-3} , e inoculou-se 0,1 mL das diluições em placas de Petri preenchidas com ágar Mueller-Hinton. O espalhamento foi feito cuidadosamente com auxílio de uma alça de Drigalsky até a total absorção. Em seguida, as placas foram incubadas em estufa a 37 ± 1 °C por 21 ± 3 h para enumeração simultânea de E. coli e coliformes totais. As avaliações ocorreram repetidamente durante 28 dias.

4.2.12. Análises reológicas

Os ensaios reológicos dos iogurtes foram desenvolvidos em reômetro rotacional (AR 2000, TA Instruments, New Castle, DE, EUA), com geometria de placas paralelas, 60 mm de diâmetro e 1 mm de gap, a 10 °C. Para a acomodação das amostras no reômetro e relaxação de quaisquer tensões, foi fixado um intervalo de 2 min entre a adição dos iogurtes e o início de cada experimento. As curvas de fluxo foram obtidas a partir da variação da taxa de deformação de 0,01 a 100 s⁻¹ (curva ascendente I), de 100 s⁻¹ a 0,01 s⁻¹ (curva descendente) e novamente de 0,01 a 100 s⁻¹ (curva ascendente II), visando avaliar e reduzir efeitos da tixotropia (CRUZ et al., 2013). As curvas ascendentes II foram analisadas utilizando-se o modelo Herschel–Bulkley, de acordo com a Eq. (6).

$$\tau - \tau_0 = k \dot{\gamma}^n \quad (6)$$

onde: k é o índice de consistência (Pa.s); σ é a tensão de cisalhamento (Pa); $\dot{\gamma}$ é a taxa de deformação (s⁻¹); n o índice de comportamento de fluxo (adimensional).

Os resultados foram analisados usando o software de análise de dados Advantage V.5.3.1 Rheology (TA Instruments, New Castle, DE, EUA) e os valores de viscosidade aparente foram determinados para a taxa de deformação fixa de 12 s⁻¹.

Os ensaios de varredura de deformação foram desenvolvidos a 10 °C, a uma frequência constante de 1 Hz, com a deformação variando de 0,01 a 100%, para a determinação da região de viscoelasticidade linear (RVL). A partir desses testes, uma deformação constante de 1 % foi selecionada para o desenvolvimento dos ensaios de varredura da frequência, que foram realizados a 10 °C, com frequência variando de 0,1 a 10 Hz. Os resultados de G' e G'' em função da frequência angular foram expressos por meio das Eq. (7) e (8), do tipo Lei da Potência (CHANG et al., 2014; ÖZKAN; XIN; CHEN, 2002).

$$G' = K' \cdot \omega^{n'} \quad (7)$$

$$G'' = K'' \cdot \omega^{n''} \quad (8)$$

Onde:

- K' e K'' são constantes de Lei da Potência, utilizados para a obtenção de informações a respeito da força dos géis (dimensão de G' e G'');
- n' e n'' são expoentes de frequência, utilizados para o dimensionamento da dependência dos parâmetros G' e G'' com a frequência ω , conseqüentemente, para a compreensão das respostas viscosas e elásticas dos sistemas;
- ω é a frequência angular.

Os ensaios descritos foram realizados em triplicata para cada formulação e os dados foram tratados no programa Advantage V.5.3.1 (TA Instruments, New Castle, DE, EUA).

4.2.13. Análise colorimétrica dos iogurtes adicionados de emulsão

A avaliação dos parâmetros colorimétricos observados nas amostras de iogurtes enriquecidos de emulsão com óleo de açaí foi determinada em colorímetro (Miniscan XE, HunterLab, Reston, VA, EUA). A calibração foi realizada com duas placas, sendo uma preta e outra branca. As amostras foram colocadas em placas de Petri e os parâmetros colorimétricos L^* , a^* e b^* foram avaliados utilizando-se D65 como iluminador e ângulo de 10° .

4.2.14. Determinação do pH e acidez livre dos iogurtes

A determinação da acidez total titulável foi baseada na neutralização dos ácidos presentes no meio, utilizando NaOH (0,1 M) para o atingimento do ponto de equivalência até a faixa de pH 8,0-8,1, utilizando fenolftaleína como indicador. Para a realização da análise foi utilizado o potenciômetro Mater MB-10, São Paulo, SP, Brasil. A quantificação da acidez total titulável foi realizada de acordo

com a metodologia descrita em Instituto Adolfo Lutz (2008) para leites fermentados.

4.2.15. Análises estatísticas

Para avaliação estatística dos dados obtidos, fez-se uso da ferramenta estatística Sigmaplot, versão 14.5, por análise de variância ANOVA e teste de Tukey, ao nível de 5%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Determinação das condições de produção das emulsões de óleo de açaí

O presente trabalho de Mestrado teve como etapa inicial a definição dos parâmetros de produção das emulsões de óleo de açaí, tais como a concentração das fases aquosa/oleosa, intensidade, temperatura de processo e concentração de emulsificante/estabilizante (tensoativo e não-tensoativo).

Os testes realizados de acordo com o protocolo descrito no item 4.2.1. revelaram a necessidade da realização de um pré-tratamento térmico do isolado proteico de soja antes da emulsificação. As emulsões produzidas utilizando o IPS sem pré-tratamento ou com pré-tratamento térmico utilizando temperaturas abaixo de 80 °C e por menos de 30 min não foram estáveis por mais de 24 h após a produção. O pré-tratamento térmico do IPS a 80 °C por 30 min permitiu um aumento na estabilidade da emulsão, tendo sua duração aumentada para, pelo menos, 2 a 3 dias antes dos primeiros sinais de separação de fases. Tal observação condiz com estudos anteriores do grupo de pesquisa utilizando IPS como emulsificante, para emulsões de estearina de palma (Brito-Oliveira et al., 2017) e óleo de castanha (Ferreira et al., 2021).

Após a determinação das melhores condições de pré-tratamento do IPS, as emulsões tiveram a adição de goma xantana em sua formulação, com o objetivo de funcionar como espessante, aumento da viscosidade do meio e, conseqüentemente, elevar a estabilidade do sistema emulsionado. Dentre as condições observadas, as amostras com concentrações menores que 0,3 g GX/100 g emulsão. As amostras avaliadas com uma concentração de GX acima de 0,3 g GX/100 g emulsão apresentaram problemas de dissolução da goma no sistema, levando a formação de grumos na emulsão, impedindo a ação correta esperada dos hidrocoloides. Por sua vez, as emulsões produzidas com a concentração de 0,3% de goma xantana avaliadas apresentaram os melhores resultados referentes a estabilidade, com ausência de separação de fases por até 20 dias sob refrigeração, conforme Tabela 3.

Tabela 3 - Avaliação da integridade aparente das emulsões produzidas com diferentes concentrações de goma xantana

Concentração de goma xantana (%) (m/m)	Temperatura de pré-tratamento do IPS (°C)	Dias de integridade da emulsão
0,05	80	5
0,10		6
0,15		9
0,20		16
0,25		20
0,30		22

Fonte: Própria autoria.

Dessa forma, foram definidas as melhores condições para produção das emulsões contendo óleo de açaí e estabilizadas com isolado proteico de soja destinadas a incorporação nos iogurtes. As amostras produzidas com isolado proteico de soja e adição de 0,25 g e 0,3 g GX/100 g emulsão foram escolhidas para a continuação da caracterização e posterior incorporação nos iogurtes.

5.2. Determinação do tamanho médio e distribuição do tamanho de gota

A partir das emulsões avaliadas no item anterior, foi realizado a determinação do tamanho médio e distribuição do tamanho de gota de 4 (quatro) amostras de emulsões, variando a temperatura de pré-tratamento do IPS (75 °C e 80 °C) e as concentrações de GX de 0,25 g e 0,3 g de GX.

As emulsões produzidas de acordo com a Tabela 3 foram armazenadas sob refrigeração e tiveram sua estabilidade observada ao longo do tempo de estocagem em relação ao diâmetro médio e a distribuição do diâmetro das gotículas. Os valores obtidos para o diâmetro médio, em volume, durante o tempo de avaliação estão presentes na Tabela 4.

Foram observadas diferenças significativas entre as formulações avaliadas quanto ao diâmetro médio. O grau de uniformidade da distribuição das gotículas pode ser analisado pelos valores de *span*, uma vez que quanto menor seu valor, menor é a variação do diâmetro de gota da emulsão. Contudo, os dados expostos na Tabela 4 não devem ser estudados de maneira individual.

Curvas de distribuição de tamanho ao longo do tempo foram construídas e avaliadas, mostradas na Figura 10.

Tabela 4 - Diâmetro médio de gotas (D_{43}), e span das emulsões produzidas com diferentes formulações

Tempo de armazenagem (dias)	Emulsão 1 (75 °C/0,25 % GX)		Emulsão 2 (80 °C/0,25 % GX)		Emulsão 3 (75 °C/0,30 % GX)		Emulsão 4 (80 °C/0,3 % GX)	
	D_{43}	span	D_{43}	span	D_{43}	span	D_{43}	span
	(μm)		(μm)		(μm)		(μm)	
1	2,38±	1,31 ±	2,44 ±	1,24 ±	2,22 ±	1,20 ±	2,31 ±	1,19 ±
	0,09 ^a	0,14 ^a	0,13 ^a	0,09 ^a	0,04 ^a	0,01 ^a	0,03 ^a	0,02 ^a
3	2,30±	1,26 ±	2,75 ±	1,52 ±	2,24 ±	1,19 ±	2,35 ±	1,18 ±
	0,11 ^a	0,07 ^a	0,55 ^a	0,26 ^a	0,06 ^{ab}	0,03 ^a	0,11 ^{ab}	0,03 ^a
10	2,34±	1,41 ±	2,71 ±	1,35 ±	2,31 ±	1,25 ±	2,37 ±	1,16 ±
	0,15 ^a	0,21 ^a	0,31 ^a	0,08 ^a	0,10 ^b	0,08 ^a	0,09 ^{ab}	0,02 ^a
15	-	-	2,51±	1,24 ±	-	-	2,46 ±	1,24 ±
			0,22 ^a	0,10 ^a			0,08 ^b	0,06 ^b

Médias acompanhadas de letras iguais não apresentam diferença estatística entre si pelo teste de Tuckey ($p < 0,05$)

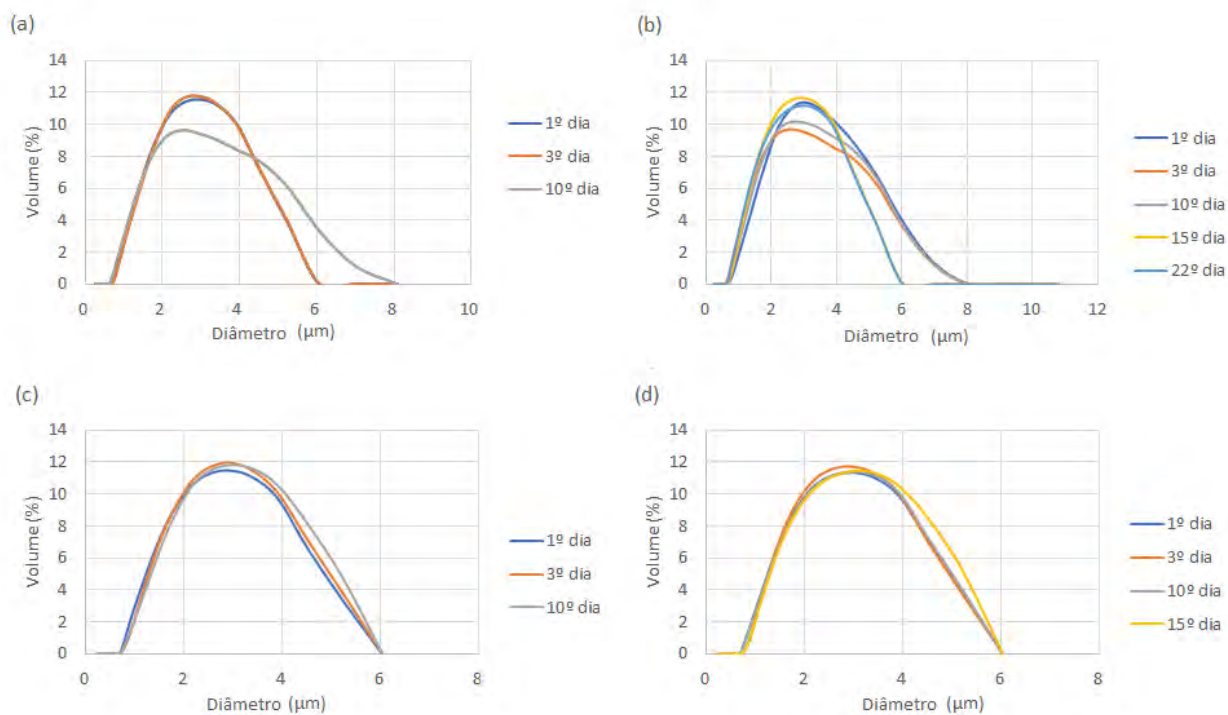
Fonte: Própria autoria.

De acordo com os dados apresentados, nota-se que, apesar de as curvas de distribuição de tamanho apresentarem bandas largas e populações entre 0,3 μm e 9 μm , o diâmetro médio das partículas não apresentou variação significativa ao longo do tempo, demonstrando estabilidade. Tal comportamento se justifica possivelmente devido aos mecanismos de estabilização da goma xantana, que através do aumento da viscosidade da fase contínua, dificulta o movimento das gotículas (DICKINSON; STAINSBY, 1988).

A partir dos resultados observados, a emulsão 4 foi a escolhida para a continuação da caracterização da emulsão contendo óleo de açaí estabilizada com isolado proteico de soja. Apesar das emulsões 2 e 4 apresentarem valores que indicavam maior estabilidade quando comparado com as amostras 1 e 3 (as quais desestabilizaram antes do 15º dia do tempo de armazenagem), Brito-Oliveira (2017) concluiu que o pré-tratamento térmico aplicado ao isolado proteico de soja a temperatura de 80°C e 30 minutos se faz o binômio mais

eficiente. A Tabela 5 mostra os resultados da nova avaliação do diâmetro médio e span da emulsão escolhida (Emulsão 4).

Figura 10 - Curvas de distribuição de tamanho de gota das emulsões com diferentes formulações: (a) Emulsão 1; (b) Emulsão 2; (c) Emulsão 3; e (d) Emulsão 4, em termos de volume.



Valores seguidos da mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$), para a mesma amostra ao longo do tempo de estocagem.

Fonte: Própria autoria.

Tabela 5 - Valores médios para os índices D₄₃ e span da emulsão 4.

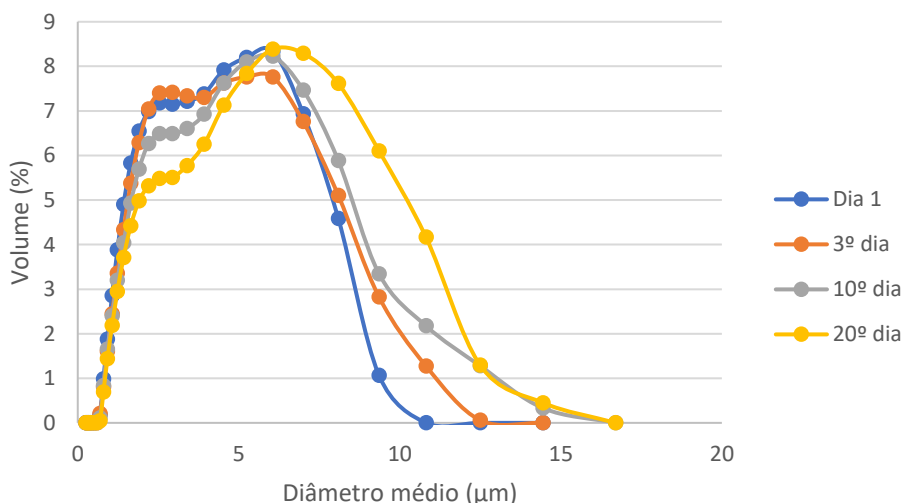
Tempo de armazenagem (dias)	Emulsão 4	
	D ₄₃ (µm)	Span
1	2,92 ± 0,10 ^a	1,70 ± 0,05 ^a
3	3,09 ± 0,20 ^a	1,75 ± 0,10 ^{ab}
10	3,10 ± 0,27 ^a	1,62 ± 0,10 ^a
20	3,59 ± 0,30 ^a	1,73 ± 0,05 ^{ab}

Valores seguidos da mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$), para a mesma amostra ao longo do tempo de estocagem.

Fonte: Própria autoria.

De acordo com os dados expostos, é possível perceber um indicativo de estabilidade pela ausência de diferenças estatísticas entre os valores de diâmetro médio ao longo do tempo de armazenagem. A hipótese de estabilidade é reforçada pelos resultados de distribuição de gota das emulsões ao longo dos dias avaliados, mostrados na Figura 11.

Figura 11 - Curvas de distribuição do diâmetro de gotas da emulsão 4 avaliada ao longo do tempo de armazenagem.



Fonte: Própria autoria.

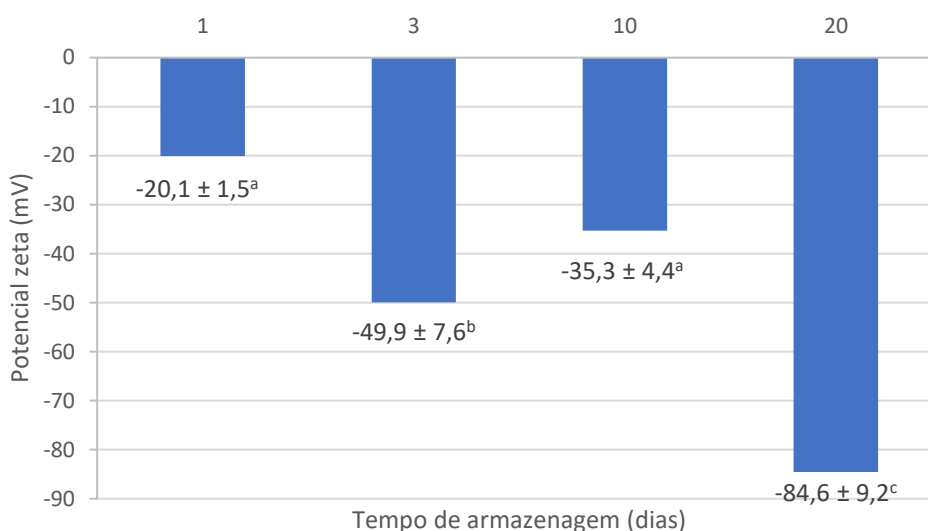
5.3. Avaliação do potencial zeta

O potencial zeta pode ajudar a avaliar a estabilidade de um sistema disperso, que é o caso de uma emulsão. Bouyer et al. (2012) sugeriu que o mecanismo de estabilização de emulsões se origina como uma conjunção de dois processos simultâneos, que foi denominado *repulsão eletrostérica*. Tal mecanismo resultaria da interação estérica e eletrostática dos polímeros. A determinação do potencial zeta de uma emulsão é um índice relativo à estabilização eletrostática (WIACEK; CHIBOWSKI, 1999).

Ao se avaliar o potencial zeta de uma emulsão, deve-se atentar também para o valor absoluto do resultado e não somente se são positivos ou negativos. Quanto maior o valor absoluto do potencial zeta, maior a tendência de ocorrer repulsão entre as gotas, reduzindo a possibilidade de agregação entre elas, e, portanto, indicando maior estabilidade coloidal. Quando o potencial zeta apresenta de uma emulsão apresenta valores pequenos, é um sinal de que pode não haver no sistema forças repulsivas suficientemente fortes para evitar a agregação das gotas, promovendo instabilidade na dispersão. Valores de potencial zeta acima de +30 mV ou menores que - 30 mV são normalmente considerados como indicativos de emulsões estáveis (McClements, 2005).

Os valores de potencial zeta para a emulsão 4 ao longo do tempo de armazenagem podem ser vistos na Figura 12.

Figura 12 - Valores de potencial zeta para a emulsão 4 ao longo do tempo de armazenagem



Médias seguidas por letras minúsculas diferentes diferem estatisticamente entre si ($p > 0,05$) ao longo do tempo de estocagem pelo teste de Tuckey.

Fonte: Própria autoria.

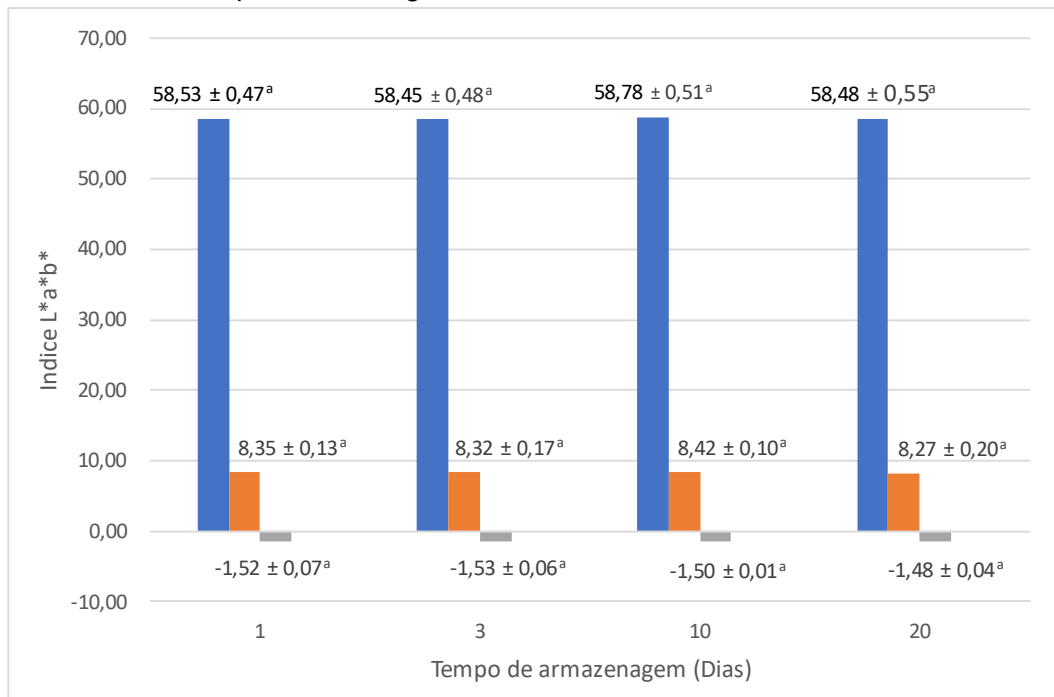
Os valores de potencial zeta encontrados no primeiro dia de estocagem foram menores que -30 mV, seguido de um aumento expressivo no valor observado após 3 dias de produção. Apesar da diferença significativa entre as médias alcançadas, as amostras tiveram resultados abaixo de -30 mV durante todo o tempo de estabilidade após o 3º dia de armazenamento. Tal comportamento pode ser explicado pelas cargas elétricas presentes na cadeia biopolimérica do IPS utilizado na estabilização da emulsão avaliada.

Os resultados observados após 20 dias de estocagem sugerem uma boa estabilidade eletrostática a emulsões estabilizadas com proteína isolada de soja, e goma xantana. Em geral, cargas elétricas de gotículas dispersas em emulsões apresentam diferenças quando comparado com soluções puras de proteína. O fenômeno de adsorção pode provocar alterações na superfície ativa de proteínas, consequentemente alterando a rede de cargas. Devido ao maior tamanho apresentado pela interface de uma emulsão, íons de cargas opostas podem interagir com partes de moléculas causando alterações no campo elétrico e no potencial zeta por consequência (DAMODARAN et al., 2010).

5.4. Avaliação da cor instrumental

A observação do comportamento dos parâmetros colorimétricos pode indicar uma medida indireta de estabilidade de compostos que conferem cor aos alimentos. As antocianinas são as responsáveis pela pigmentação arroxeadada, inclusive ao óleo de açaí, o qual foi utilizado na produção das emulsões testadas. Dessa forma, avaliar a estabilidade colorimétrica das emulsões, em função do tempo, pode ser considerada uma avaliação indireta de estabilidade das antocianinas, uma vez que se trata do pigmento responsável pela cor das amostras. Os parâmetros colorimétricos das emulsões avaliados por um período de 20 dias de armazenamento estão mostrados na Figura 13 e na Tabela 6.

Figura 13 - Dados colorimétricos instrumentais (parâmetros L*, a* e b*) da emulsão 4 durante o tempo de estocagem.



Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si estatisticamente (p < 0,05).

Fonte: Própria autoria.

Tabela 6 - Valores médios de Croma (C*) e ângulo de Hue (h*)

Parâmetros colorimétricos	Dia 1	Dia 3	Dia 10	Dia 20
C*_{ab} (Croma)	8,4 ± 0,13 ^a	8,5 ± 0,16 ^a	8,5 ± 0,10 ^a	8,4 ± 0,20 ^a
h*_{ab} (Ângulo de Hue)	-10,3 ± 0,56 ^a	-10,4 ± 0,55 ^a	-10,1 ± 0,16 ^a	-10,2 ± 0,25 ^a

Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si estatisticamente (p<0,05).

Fonte: Própria autoria.

O parâmetro de luminosidade (L*) observado apresentou valor elevado e positivo, com valores aproximados durante todo o tempo de armazenagem, não existindo diferença estatística entre as médias dos dias de estabilidade avaliados. Os valores observados são caracterizados pela opacidade da emulsão, promovida pelo isolado proteico. Da mesma maneira, os parâmetros a* e b* também tiveram médias constantes em todos os dias avaliados.

O parâmetro a* está relacionado com a escala cromática que varia do verde ao vermelho, com valores positivos para a cor vermelha e negativos para a cor verde. O valor observado condiz com o esperado de acordo com a cor do óleo de açaí utilizado na produção das emulsões. De tal maneira, o parâmetro b* está relacionado com a escala cromática variando do amarelo (positivo) ao azul (negativo). Assim, os valores obtidos nas avaliações colorimétricas reforçam o esperado quanto a cor aparente das emulsões, com valores positivos para o índice a* e negativos para b*.

Ainda em relação aos índices L*, a*, b*, C*_{ab} e h*_{ab} pode-se observar que não houve diferença estatística entre as médias de todos os índices, estabelecendo assim o conceito de estabilidade indireta das antocianinas, levando a acreditar que a emulsão de isolado proteico de soja estabilizada com goma xantana foi suficiente para evitar a degradação desses pigmentos.

5.5. Avaliação da atividade antioxidante das emulsões

5.5.1. Determinação da capacidade antioxidante através da quantificação do sequestro de radicais DPPH•

Dentre as metodologias propostas para a avaliação da atividade antioxidante, a captura de radicais DPPH⁺ é conhecida por apresentar uma melhor resolução em relação a determinação de fenólicos totais em uma amostra, uma vez que outros compostos redutores podem interagir com o reagente de Folin-Ciocalteu, levando a uma quantificação superestimada da atividade antioxidante dessa amostra (HUANG et al., 2005). Na literatura é possível encontrar os resultados da determinação da atividade antioxidante expressos nas mais diversas formas. Porém, é percebido como consenso que a apresentação dos dados obtidos deve aparecer como valor de EC₅₀, que é a quantidade de amostra necessária para reduzir a concentração de DPPH⁺ em 50% (BRAND-WILLIAMS et al, 1995).

A Tabela 7 mostra os valores determinados da atividade antioxidante pelo método da captura de radicais DPPH⁺ :

Tabela 7 - Determinação dos valores médios de EC₅₀ (g de emulsão/ g de DPPH da emulsão 4 ao longo do tempo de armazenagem.

Tempo de armazenagem (dias)	EC₅₀ (g de emulsão/ g de DPPH)
1	71,2 ± 1,60 ^a
7	72,8 ± 3,43 ^a
14	70,7 ± 5,55 ^a
21	74,9 ± 2,25 ^a
28	72,1 ± 5,19 ^a

Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si estatisticamente (p<0,05) ao longo do tempo de armazenagem pelo teste de Tuckey.

Fonte: Própria autoria.

Pela avaliação dos valores presentes na Tabela 7, é possível perceber a estabilidade da atividade antioxidante das emulsões adicionadas de óleo de açaí, uma vez que os valores médios de EC₅₀ se mostram constantes dentro do tempo avaliado. Nesse aspecto, as emulsões se mostram excelentes veículos

para carregar compostos com alta atividade antioxidante, possibilitando a aplicação dessas substâncias em alimentos e bebidas.

Ao comparar os resultados obtidos com a literatura, a atividade antioxidante das emulsões se diferencia dos dados de EC₅₀ para o óleo de açaí puro. Rufino et al. (2011) relatou valores médios de 646,30 ± 38,40 para EC₅₀, expressos em g de óleo/g de DPPH, fato que também chama atenção, uma vez que expressa uma capacidade antioxidante, ainda que considerada elevada, muito inferior a relatada neste trabalho. Em contrapartida, os valores de EC₅₀ relatados ainda se distanciam muito dos resultados encontrados para antioxidantes conhecidos por serem aplicados em alimentos, como o BHT por exemplo, que apresenta um EC₅₀ de 0,18 g/g de DPPH.

Essa diferença em relação ao óleo de açaí bruto pode ser explicada pela aplicação de enzimas ou adição de antioxidantes sintéticos ou ainda, devido a presença de antioxidantes presentes naturalmente nos óleos vegetais. O óleo de açaí utilizado nesse projeto é adicionado de óleo de girassol refinado, o que por sua vez, faz com que se espere uma alta atividade antioxidante avaliada através da captura do radical DPPH, uma vez que há, naturalmente, tocoferol em sua composição. Presente na maioria dos óleos vegetais, o antioxidante pode aparecer de quatro formas distintas, sendo elas α , β , γ e δ , de acordo com a posição do grupo metila no anel aromático. Todas as formas conhecidas apresentam atividade antioxidante advinda da capacidade de doar prótons às moléculas de radicais livres proveniente da oxidação lipídica, evitando assim a reação oxidativa em cadeia. A atividade antioxidante relativa dos tocoferóis pode variar ainda de acordo com vários fatores, entre eles a composição e a forma que se encontra o óleo (*in natura* ou emulsionado) e também a concentração do antioxidante (WARNER et al., 2003).

Ademais, os óleos vegetais refinados podem ainda ter adição de tocoferol de origem sintética visando aumentar a vida de prateleira desse tipo de produto.

5.5.2. Determinação da capacidade antioxidante através da captura do radical livre ABTS⁺

O radical ABTS⁺ (2,2 – azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico) pode ser obtido por diferentes reações, podendo ser de natureza química, eletroquímica ou ainda enzimática. Após a produção do radical, de coloração verde-escura, o mesmo é reduzido na presença de antioxidantes doadores de oxigênio, formando compostos de coloração verde-clara e promovendo uma redução da absorvância da solução. Além disso, o radical é capaz de reagir com moléculas de natureza tanto lipofílica quanto hidrofílica, possibilitando a detecção da atividade antioxidante de compostos fenólicos, como também de carotenóides e outros compostos lipofílicos (RE et al., 1999).

A Tabela 8 mostra os resultados obtidos a partir da reação de estabilização do radical ABTS⁺. Os resultados obtidos são apresentados em micromoles equivalentes de Trolox por grama de emulsão.

Tabela 8 - Determinação da atividade antioxidante da emulsão 4 pelo método de captura do radical ABTS⁺ ao longo do tempo de armazenamento.

Tempo de armazenamento (dias)	Valores médios ($\mu\text{mol de Trolox/g emulsão}$)
1	2,31 \pm 0,02 ^a
7	2,24 \pm 0,06 ^{ab}
14	2,31 \pm 0,02 ^a
21	2,28 \pm 0,02 ^a
28	2,24 \pm 0,03 ^{ab}

Médias acompanhadas da mesma letra minúscula não diferem estatisticamente entre si ($p < 0.05$).

Fonte: Própria autoria.

Pela observação dos resultados obtidos é possível perceber a estabilidade da atividade antioxidante das emulsões ao longo dos 28 dias de estocagem. Assim como na quantificação pelo método da captura do radical DPPH⁺, a quantificação da atividade antioxidante determinada pela captura do radical ABTS⁺ foi constante durante todo o tempo de armazenamento das

emulsões, demonstrando que as amostras são eficazes na manutenção da capacidade antioxidante do óleo de açaí encapsulado.

Analisando-se os valores encontrados e comparando com dados encontrados na literatura, é possível perceber que os resultados mostram uma menor capacidade antioxidante quando comparado ao extrato de açaí produzido por Cenzi et al. (2018) para uso em emulsões aplicadas a cosméticos (57,8 $\mu\text{mol Trolox/g}$ de extrato). Rufino et al. (2011) e Minighin (2019) também relataram valores semelhantes para a mensuração da atividade antioxidante de extratos aquosos da polpa de açaí roxo (*Euterpe oleracea* Mart), com valores médios de $55,79 \pm 1,12$ e $55,05 \pm 2,83 \mu\text{mol Trolox/g}$ de matéria seca, respectivamente. Em contrapartida, ao se comparar as emulsões com o óleo de açaí, Silva et al. (2019) encontrou valores médios variando de $54,04 \pm 1,60$ até $140,70 \pm 2,57 \mu\text{mol Trolox/g}$ de óleo, levando a acreditar que as emulsões possuem atividade antioxidante de aproximadamente 5% do potencial do óleo de açaí puro, condizente com a quantidade de óleo de açaí presente na emulsão, também de 5 %.

5.5.3. Teor de fenólicos totais

Os compostos fenólicos são uma classe de compostos conhecidos pela alta atividade antioxidante e ganharam atenção nas últimas décadas pela ação benéfica a saúde dos seres humanos e pelo fato de se tratar de substâncias de origem natural. Nesse contexto, é possível encontrar muitos desses compostos solubilizados no óleo extraído da polpa do açaí, como ácidos fenólicos e flavan-3-ols (PACHECO-PALENCIA et al., 2008).

A quantificação desses compostos pode ser realizada por mais de um método, porém a quantificação pela redução do reagente Folin-Ciocalteu se destaca por ser extensivamente difundido. Apesar da alta utilização da metodologia, a técnica não possui alta seletividade, determinando a quantidade de compostos redutores que não são obrigatoriamente de origem fenólica (SOUZA et al., 2007).

A Tabela 9 apresenta os dados obtidos da avaliação da atividade antioxidante das emulsões pela redução do reagente de Folin-Ciocalteu ao longo de 28 dias de armazenagem.

Tabela 9 - Quantificação de compostos fenólicos totais pelo método da redução do reagente de Folin-Ciocalteu, da emulsão 4, ao longo do tempo de armazenagem.

Tempo de armazenagem (em dias)	Valores médios (mg EAG/L de óleo de açaí)
1	194 ± 10,6 ^a
7	191 ± 11,7 ^a
14	188 ± 12,3 ^a
21	186 ± 13,8 ^a
28	184 ± 9,50 ^a

Médias seguidas entre si pela mesma letra minúscula não se diferem entre si estatisticamente ($p < 0,05$).

Fonte: Propria autoria.

Em acordo com as outras metodologias utilizadas para avaliação da atividade antioxidante, pelos dados expostos na Tabela 9, pode-se notar a estabilidade da emulsão em relação a manutenção da atividade dos compostos fenólicos solubilizados na fração oleosa, apresentando médias estatisticamente

iguais a partir da primeira semana de estocagem e mantendo a estabilidade até o vigésimo oitavo dia de armazenagem.

Os compósitos fenólicos encontrados no óleo de açaí são também encontrados na polpa do fruto amazônico, porém em concentrações diferentes para cada tipo de matriz (oleosa ou aquosa). Pacheco-Palencia e colaboradores (2008) relataram valores de 540 a 1607 mg EAG/L de óleo para compostos fenólicos, bem acima dos valores obtidos do extrato da polpa do fruto, de 159 a 577 mg EAG/L extrato aquoso da polpa de açaí. No óleo, os compostos predominantes foram o ácido vanílico e procianidinas, enquanto catequinas e epicatequinas aparecem apenas no extrato aquoso.

Em contrapartida, Guimarães et al (2020) relataram valores elevados de fenólicos totais em bebidas fermentadas enriquecidas com óleo de açaí, apresentando o dobro do valor de fenólicos totais quando comparado com a bebida sem a adição do óleo, sendo 42,8 mg EAG/g de amostra e 29,7 mg EAG/g amostra respectivamente. No óleo puro de açaí, os valores encontrados são significativamente maiores, com teores de 204 mg EAG/g de óleo. Silva et al. (2013) também encontrou valores semelhantes, próximo a 400 mg EAG/g de óleo, valores estes muito discrepantes dos relatados por Pacheco-Palencia (2008) e por este trabalho.

Tal diferença pode ser explicada pelas diferentes condições de obtenção do óleo de açaí: diferença no grau de maturação do fruto, tipo de solvente ou enzima utilizado na extração do óleo, a fonte de obtenção do óleo (polpa ou semente), tempo de e local de armazenagem do óleo de açaí ou ainda presença ou não antioxidantes adicionados ao óleo.

5.5.4. Quantificação da atividade antioxidante pelo método da redução do ferro (FRAP)

O método da redução do ferro (*Ferric Reducing Antioxidant Power* - FRAP) é um dentre os muitos métodos existentes para realização da quantificação da capacidade antioxidante. É altamente indicado para avaliações de capacidade antioxidante de alimentos, bebidas ou ainda para extratos purificados de compostos naturais, apresentando uma elevada correlação, por exemplo, com concentrações de ácido ascórbico e compostos fenólicos (THAIPONG et al. 2013).

Dessa forma, a técnica apresentada foi uma das utilizadas para a quantificação da atividade antioxidantes da emulsão . A Tabela 10 apresenta os dados obtidos durante o período de avaliação de estabilidade:

Tabela 10 - Quantificação da atividade antioxidante das emulsões pelo método da redução do ferro ao longo do tempo de armazenagem.

Tempo de armazenagem (dias)	Concentração de sulfato ferroso ($\mu\text{mol/g}$ de óleo)
1	$19,9 \pm 1,34^b$
7	$22,1 \pm 1,24^a$
14	$18,2 \pm 1,12^{bc}$
21	$17,4 \pm 1,45^{cd}$
28	$17,3 \pm 1,07^{de}$

Valores médios acompanhados da mesma letra minúscula não apresentam diferenças entre si ($P < 0,05$).

Fonte: Própria autoria.

Os valores médios obtidos durante todo o período de estabilidade avaliado se mostraram promissores quanto a efetividade da atividade antioxidante do óleo de açaí. Além, a baixa variação apresentada entre os dias avaliados, sugere uma estabilidade aparente do potencial antioxidante das amostras, uma vez que não houve diferença estatística significativa durante todo o período de avaliação. Quando comparado com valores encontrados na literatura, pode-se acreditar que o óleo de açaí é estável e fornece uma atividade antioxidante durante todo o tempo analisado, apresentando valores aproximados ao obtido por Minighin (2019) na avaliação da capacidade antioxidante de polpa

de açaí pelo mesmo método aplicado, com $19,74 \pm 1,19$ e $24,69 \pm 1,90$ expressos em μM de sulfato ferroso/g de amostra respectivamente.

A fim de se obter uma correlação eficiente das metodologias aplicadas, foram empregadas 4 técnicas diferentes para a quantificação da atividade antioxidante das emulsões. Quando confrontados os dados obtidos pelas diferentes técnicas, pode-se perceber que houve uma estabilidade do potencial antioxidante das amostras, apresentando médias constantes nos testes realizados pelos métodos da captura do radical DPPH, do radical ABTS⁺ e pela redução do reagente de Folin-Ciocalteu, sendo o método da redução do ferro III o único que apresentou diferença estatística significativa ao longo do tempo total de estudo da estabilidade. A Tabela 11 contempla todos os valores obtidos e os métodos aplicados.

Tabela 11 - Quantificação da atividade antioxidante das emulsões de óleo de açaí por diferentes métodos.

Tempo de armazenagem (dias)	EC ₅₀ (g de emulsão/ g de DPPH)	mM Trolox (mmol de Trolox/L de emulsão)	Valores médios (mg EAG/L de óleo de açaí)	μM sulfato ferroso ($\mu\text{mol/g}$ de óleo)
1	$71,2 \pm 1,60^a$	$2,49 \pm 0,02^a$	$193^a \pm 10,6^a$	$19,9 \pm 1,34^b$
7	$72,8 \pm 3,43^a$	$2,42 \pm 0,06^{ab}$	$184^a \pm 11,7^a$	$22,1 \pm 1,24^a$
14	$70,7 \pm 5,55^a$	$2,49 \pm 0,02^a$	$179^a \pm 12,3^a$	$18,2 \pm 1,12^{bc}$
21	$74,9 \pm 2,25^a$	$2,46 \pm 0,02^a$	$178^a \pm 13,8^a$	$17,4 \pm 1,45^{cd}$
28	$72,1 \pm 5,19^a$	$2,42 \pm 0,03^{ab}$	$180^a \pm 9,5^a$	$17,3 \pm 1,07^{de}$

Médias acompanhadas de letras minúsculas diferentes dentro da mesma coluna apresentam diferença estatística significativa entre si pelo teste de Tuckey ($p < 0,05$).

Fonte: Própria autoria.

Os dados expostos na Tabela 11 indicam que as emulsões de óleo de açaí produzidas demonstraram um desempenho satisfatório em relação a proteção dos compostos bioativos, mantendo a capacidade antioxidante do óleo de açaí, pelo tempo de 28 dias, sob refrigeração. Para além, o óleo de açaí avaliado neste projeto tem em parte da sua composição uma parcela de óleo de girassol, o que por sua vez, certamente contribui para os altos valores de capacidade antioxidante relatados nas análises, devido à presença de tocoferol,

um antioxidante presente naturalmente nos óleos vegetais e amplamente utilizado na indústria de alimentos.

5.6. Quantificação de antocianinas totais

Antocianinas são compostos fenólicos, caracterizados pela ligação de antocianidinas com moléculas de açúcares, sendo as cianidinas uma das mais abundantes encontradas na natureza (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). Para a quantificação desses compostos, Giusti e Wrolstad (2001) desenvolveram o método baseado na medição da absorvância em dois comprimentos de ondas diferentes, 510 e 700 nm, em que se possibilita a avaliação no comprimento de onda de maior absorção e a quantificação de compostos decorrentes da degradação das antocianinas respectivamente, evitando uma possível contagem superestimada da concentração observada.

Além disso, a metodologia empregada possibilita tanto a quantificação das antocianinas totais quanto das antocianinas monoméricas, uma vez que as absorvâncias são medidas em pH 1,0 (antocianinas totais) e pH 4,5 (antocianinas monoméricas). Ao se atingir o pH 4,5, as antocianinas monoméricas adquirem a configuração de hemiacetal e deixam de apresentar coloração aparente. A quantificação final pode ser definida pela diferença entre as absorvâncias observadas em pH 1,0, subtraídas da diferença das absorvância medida em pH 4,5, descontando o valor que corresponde as antocianinas monoméricas (CRUZ, 2008).

Foi realizada a quantificação de antocianinas em amostras de óleo de açaí e nas amostras de emulsões estocadas durante 21 dias. A Tabela 12 apresenta os dados obtidos durante o período.

Levando em consideração os dados expostos e comparando com dados encontrados na literatura, pode-se perceber que a concentração de antocianinas no óleo de açaí é pequena quando comparada com os valores encontrados na polpa do fruto, o que por sua vez, corrobora com o esperado, uma vez que antocianinas possuem caráter hidrofílico. Ribeiro et al. (2011) e Kuskoski (2006) obtiveram valores médios de 60,61 mg e 22,8 mg/100 g de polpa de açaí.

Tabela 12 – Quantificação de antocianinas totais do óleo de açaí e das emulsão 4 avaliada durante armazenagem de 21 dias.

	Óleo de açaí (mg/L de óleo)	Emulsão 4 (mg/L de óleo)	
Antocianinas totais (expressas em equivalente cianidina- 3-glucosídeo)	2,29 ± 0,17	Dia 1	2,82 ± 0,15 ^a
		Dia 7	2,72 ± 0,27 ^a
		Dia 14	2,62 ± 0,26 ^a
		Dia 21	2,28 ± 0,35 ^b

Médias seguidas por letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste t de Tuckey ($p < 0,05$).

Fonte: Própria autoria.

Mesmo sem afinidade com a fração oleosa, acredita-se pelos resultados que parte dessas moléculas acabam sendo arrastadas para essa fração devido ao processo de extração do óleo obtido da polpa de açaí.

Ao se avaliar as médias obtidas ao longo dos 21 dias de estocagem é possível perceber uma estabilidade relativa das antocianinas nas emulsões, apresentando decaimento na concentração apenas após 21 dias de armazenagem. Em comparação com os valores obtidos na quantificação do óleo puro de açaí, os dados apresentaram uma pequena disparidade, que pode ser explicada devido ao uso de diferentes solventes para extração das antocianinas da fase oleosa.

Ao examinar o exposto, acredita-se que a emulsão de óleo de açaí estabilizado com isolado proteico de soja e goma xantana se mostra um meio apropriado para promover a estabilidade das antocianinas, possibilitando a aplicação das emulsões em iogurtes, com o objetivo de enriquecer esse tipo de alimento com a presença de compostos bioativos de interesse para a saúde humana.

5.7. Quantificação de proantocianidinas totais

As proantocianidinas são compostos fenólicos também conhecidos como taninos condensados. Devido ao seu grande potencial antioxidante, esses compostos ganharam atenção no mercado de alimentos como um ingrediente bioativo poderoso para a saúde humana. (SANTOS, 2008).

Apesar da predominância hidrofílica das proantocianidinas, parte desses compostos são arrastados para o óleo de açaí durante a extração da polpa do fruto. Quando comparados, o óleo e a polpa de açaí apresentam composições similares quanto a ácidos fenólicos, flavonoides e procianidinas, porém, em concentrações diferentes (PACHECO-PALENCIA, 2008).

Pelos dados expostos na Tabela 13, pode-se observar a redução da concentração das proantocianidinas ao longo do tempo avaliado. Os valores médios explicitados apresentaram diferença estatística significativa e um índice de redução de 48% ao longo das 4 semanas de avaliação.

Tabela 13 – Concentração de proantocianidinas na emulsão 4 ao longo do tempo de armazenagem.

Tempo de armazenagem (dias)	Concentração de proantocianidinas totais (mg eq. proantocianidinas B2/L_{óleo})
1	1991 ± 257 ^a
7	1646 ± 36 ^b
14	1186 ± 29 ^c
21	1031 ± 18 ^d

Médias acompanhadas de letras minúsculas diferentes possuem diferença estatística significativa entre si pelo teste de Tuckey ($p < 0,05$).

Fonte: Própria autoria.

Pacheco-Palencia et al. (2008) relatam valores médios de proantocianidinas totais de 1030 ± 130 mg/L de óleo, resultado este, compatível com o observado nas amostras de emulsão contendo óleo de açaí. Contudo, é possível encontrar dados de concentrações mais elevadas de proantocianidinas totais em óleo de açaí, como em Matta et al. (2020) com $3,40 \pm 1,42$ mg/g de óleo de açaí roxo contra $2,07 \pm 0,27$ mg/g de óleo açaí (1º dia de armazenamento) utilizado nesse trabalho.

Ao contrário do observado na quantificação da atividade antioxidante das emulsões, onde se destaca a estabilidade das emulsões, a concentração de proantocianidinas totais não se manteve constante ao longo do tempo avaliado. Conhecidas pela alta reatividade e capacidade antioxidante, as proantocianidinas podem sofrer degradação ao longo do tempo devido a diversos fatores como temperatura elevada, pH, ou ainda pelas interações proteínas-taninos (LUCK et al., 1994).

5.8. Avaliação da oxidação lipídica

O óleo de açaí é conhecido por apresentar uma composição rica em ácidos graxos com insaturações, principalmente monoinsaturados como o ácido oleico (RUFINO, 2011). Tal fato o coloca como potencialmente susceptível a reações de oxidação lipídica, mesmo quando encapsulado em emulsões. Reações de oxidação dos ácidos graxos promovem vários efeitos adversos nos alimentos, incluindo a formação de possíveis compostos tóxicos, alterações sensoriais produzindo odor e sabor de ranço, degradação de ácidos graxos essenciais e ainda redução do valor nutricional. Tais efeitos podem reduzir significativamente a aceitação de um alimento por parte dos consumidores.

Dessa forma, realizou-se o monitoramento da formação de produtos de oxidação primária nas emulsões com óleo de açaí por meio da análise de índice de peróxido e produtos secundários da oxidação lipídica pela quantificação de substância reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), pelo período de 28 dias.

Durante todo o período avaliado, as amostras estocadas não apresentaram nenhuma condição aparente que possa ser relacionado com a oxidação lipídica. Não foi percebido nenhuma alteração de cor e odor no decorrer do tempo de estocagem, e de acordo com as análises de quantificação de antocianinas e proantocianidinas, pode-se destacar uma pequena queda nas concentrações desses compostos bioativos.

Para a avaliação dos produtos primários da oxidação lipídica, apesar da diferença estatística observada entre as médias obtidas, os valores de índice de peróxido expostos não ultrapassaram valores maiores que 0,023 miliequivalentes de peróxido/kg de fase oleosa em nenhum dos dias avaliados como exibido na Tabela 14. Contudo, há de se considerar que após os primeiros

7 dias de armazenagem houve um aumento significativo estatisticamente do índice de peróxido nas emulsões, porém sem que houvesse prejuízo na estabilidade das emulsões. Na quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico os valores obtidos também se mostraram constantes ao longo de 14 dias de observação, apresentando diferença significativa a partir do 21º dia de armazenagem das emulsões, sendo 2,9 mg TEP/kg de emulsão o maior valor médio observado.

Tabela 14 - Avaliação da oxidação lipídica das emulsões de óleo de açaí (Índice de peróxido e TBARS).

Tempo de armazenagem (dias)	m_{eq} de peróxido/kg de fase oleosa	mg TEP/kg de emulsão
1	$2,03 \times 10^{-2} \pm 3,7 \times 10^{-4}$ ^a	$2,67 \pm 0,26^a$
7	$2,22 \times 10^{-2} \pm 7,7 \times 10^{-4}$ ^b	$2,93 \pm 0,22^a$
14	$2,31 \times 10^{-2} \pm 2,6 \times 10^{-4}$ ^{bc}	$2,59 \pm 0,30^a$
21	$2,22 \times 10^{-2} \pm 3,0 \times 10^{-4}$ ^b	$2,08 \pm 0,27^b$
28	$2,21 \times 10^{-2} \pm 4,0 \times 10^{-4}$ ^b	$2,29 \pm 0,26^b$

Médias acompanhadas de letras minúsculas diferentes possuem diferença estatística significativa entre si pelo teste de Tuckey ($p < 0,05$).

Fonte: Própria autoria.

A oxidação lipídica pode ocorrer em emulsões devido a múltiplas razões, dentre elas o pH, quesito importante que pode influenciar diretamente na estabilidade de compostos tensoativos, principalmente proteínas, conseqüentemente influenciando diretamente na estabilidade da emulsão, as características físico-químicas da fase oleosa e o tipo de tensoativo utilizado os quais podem acelerar ou retardar as reações de oxidação. Outros fatores como a concentração de oxigênio e a presença ou não de antioxidantes também devem ser levados em consideração para estudos relacionados a estabilidade lipídica das emulsões (ARAUJO, 2011).

Para a execução deste trabalho, foram produzidas emulsões utilizando-se proteína isolada de soja (SPI) como tensoativo e goma xantana como polissacarídeo espessante, promovendo um aumento da viscosidade e reduzindo a mobilidade do sistema. O processo de ultra-agitação utilizado ocorreu em temperatura ambiente, buscando a redução de danos aos ácidos

graxos e compostos bioativos pela temperatura da fase aquosa (SPI). Para além, a presença de compostos como as antocianinas e as proantocianidinas identificadas no óleo de açaí e de tocoferol, comumente adicionado em óleo vegetais comerciais, sugerem a presença de atividade antioxidante da fase oleosa. Apesar de não possuir antioxidantes adicionados nas formulações avaliadas, as condições acima expostas possibilitam explicar a estabilidade encontrada nas análises de oxidação lipídica.

5.9. Avaliação tecnológica da incorporação do óleo de açaí emulsionado nos iogurtes

5.9.1. Formulação do iogurte enriquecido com emulsão de óleo de açaí

Foram avaliadas 5 formulações iogurtes, adicionados com quantidades entre 1 e 10%, em massa, de emulsão de óleo de açaí (emulsão 4), e mais a formulação controle (iogurte sem adição de emulsão de óleo de açaí). Os iogurtes apresentaram uma redução aparente de viscosidade com o aumento da porcentagem de incorporação de emulsão ao iogurte. Devido a presença das antocianinas do óleo de açaí, pode-se também notar a mudança de coloração com o aumento da concentração de emulsão, evidenciado pela avaliação colorimétrica.

5.9.2. Avaliação colorimétrica de iogurtes adicionados de emulsão com óleo de açaí

Os dados observados na Tabela 15 evidenciam a capacidade de conferir cor a emulsão de óleo de açaí nas amostras de iogurtes enriquecidos. Todas as amostras apresentarem diferença significativa de cor quando comparadas entre si, levando a conclusão de que a tonalidade do produto muda com o aumento da concentração de emulsão adicionada.

Tabela 15 - Avaliação da estabilidade dos parâmetros colorimétricos dos iogurtes adicionados de emulsão ao longo do tempo de armazenagem.

Parâmetros Colorimétricos	Amostras	Tempo de armazenagem (em dias)		
		1	15	30
L*	Controle	77,91 ± 0,01 ^a	73,61 ± 0,02 ^b	73,01 ± 0,05 ^b
	IE1	73,89 ± 0,02 ^a	70,48 ± 0,01 ^b	69,50 ± 0,04 ^b
	IE2,5	70,41 ± 0,02 ^a	66,55 ± 0,04 ^b	65,21 ± 0,04 ^b
	IE5	68,74 ± 0,01 ^a	62,74 ± 0,08 ^b	63,33 ± 0,03 ^{ab}
	IE7,5	66,29 ± 0,02 ^a	61,27 ± 0,03 ^b	60,69 ± 0,01 ^b
	IE10	66,20 ± 0,01 ^a	62,40 ± 0,02 ^a	64,98 ± 0,07 ^a
a*	Controle	-1,48 ± 0,04 ^a	-0,33 ± 0,01 ^a	-1,13 ± 0,04 ^a
	IE1	1,56 ± 0,02 ^a	1,02 ± 0,03 ^a	1,01 ± 0,02 ^a
	IE2,5	2,49 ± 0,04 ^a	1,79 ± 0,05 ^b	1,44 ± 0,01 ^c
	IE5	3,33 ± 0,02 ^a	2,81 ± 0,02 ^b	2,37 ± 0,04 ^c
	IE7,5	4,02 ± 0,05 ^a	3,88 ± 0,02 ^a	3,25 ± 0,01 ^b
	IE10	4,70 ± 0,08 ^a	4,03 ± 0,04 ^b	3,86 ± 0,03 ^b
b*	Controle	14,12 ± 0,02 ^a	14,10 ± 0,03 ^a	13,92 ± 0,05 ^a
	IE1	14,05 ± 0,01 ^{ab}	14,55 ± 0,03 ^a	13,89 ± 0,03 ^b
	IE2,5	13,54 ± 0,03 ^a	13,30 ± 0,01 ^a	13,31 ± 0,05 ^a
	IE5	13,85 ± 0,01 ^a	13,47 ± 0,05 ^a	13,60 ± 0,04 ^a
	IE7,5	13,14 ± 0,04 ^a	12,84 ± 0,02 ^a	13,06 ± 0,06 ^a
	IE10	12,38 ± 0,08 ^a	12,63 ± 0,03 ^a	12,01 ± 0,02 ^a

Médias acompanhadas de letras minúsculas iguais, na mesma linha, não apresentam diferença significativa ao longo do tempo avaliado ($p < 0,05$).

Fonte: Própria autoria.

A luminosidade das amostras de iogurte adicionados de emulsão foi semelhante as amostras de iogurte sem adição de emulsão, devido a opacidade desse tipo de alimento. O parâmetro a*, indicador da faixa de cor que vai do

verde (-) ao vermelho (+), evidencia a influência do aumento da concentração de emulsão adicionada nos iogurtes, característico da coloração do óleo de açaí utilizado nesse projeto. Já o parâmetro b^* , responsável pela faixa de cor do azul (-) ao amarelo (+), apresentou relação inversamente proporcional ao aumento da concentração de emulsão nas amostras.

Apesar das amostras apresentarem diferença estatística significativa entre si em relação aos parâmetros de cor, as mesmas não apresentaram variação significativa de cor ao longo do tempo de estabilidade estudado, sendo uma evidência indireta da estabilidade das emulsões e dos iogurtes. A avaliação dos parâmetros colorimétricos também mostrou a estabilidade relativa dos pigmentos do óleo de açaí a pequenas variações de pH ao longo dos dias avaliados. Tal comportamento é corroborado pelos dados obtidos nas avaliações de estabilidade das emulsões, como colorimetria, quantificação de antocianinas e proantocianidinas, quantificação da atividade antioxidante, tamanho médio e distribuição de gota, mostrando que os compostos bioativos de interesse do óleo de açaí têm sua atividade preservada ao longo do tempo de estocagem das amostras (30 dias).

5.9.3. Determinação do pH e acidez livre dos iogurtes

A acidez livre dos iogurtes está intimamente relacionada com as características organolépticas, principalmente ao se tratar de sabor e consistência desses alimentos. Durante o armazenamento, é comum a ocorrência da pós-acidificação, processo onde há a continuação da atividade das bactérias ácido-lácticas dos iogurtes pós-produção, fazendo com que haja o aumento da acidez total titulável e por consequência a redução do pH do meio. Tais reações provocam alterações no sabor, diminuindo a palatabilidade do alimento, além de afetar sua viscosidade (SHAH, 2017).

É possível encontrar uma abrangente gama de estudos e publicações relacionadas a acidez total titulável e pH dos iogurtes. De modo geral, considerados como aceitáveis valores de pH entre 3,8 e 4,3 para esse tipo de alimento. Já o valor de acidez total titulável considerado ideal para um iogurte de qualidade se encontra na faixa de 1% até 1,5%. Moraes (2004) relatou valores médios na faixa de 0,69 a 1,0% para diferentes marcas de iogurtes do mercado brasileiro. Tal variação pode se dar em função da atividade metabólica resistente

das bactérias ácido-lácticas, capazes de continuar o processo de acidificação durante o armazenamento do produto sob refrigeração.

Nas amostras observadas nesse projeto os valores obtidos de pH se encontram dentro da faixa considerada como aceitável, demonstrado pela Tabela 16. Os valores de pH observados destacam a capacidade de estabilidade em relação ao pH e acidez dos iogurtes adicionados de emulsão. Contudo, para amostras de iogurtes adicionadas de emulsão acima de 7,5% (mássica), os valores de pH iniciais se encontram fora da faixa tida como aceitável para alimentos dessa categoria, uma vez que ultrapassam o limite de até 4,3 estabelecido pela legislação brasileira. Há de se observar, porém, que do 15º dia de estabilidade em diante, todas as amostras se mantiveram dentro da faixa de pH considerada ideal para iogurtes até o último dia de avaliação.

Tabela 16 - Valores médios de pH dos iogurtes adicionados com emulsão de óleo de açaí durante o tempo de armazenagem.

pH dos iogurtes (valores médios)						
Tempo de armazenagem (dias)	Controle	IE1,0	IE2,5	IE5,0	IE7,5	IE10,0
1	4,18 ± 0,04 ^{aA}	4,19 ± 0,02 ^{aA}	4,19 ± 0,02 ^{aA}	4,20 ± 0,02 ^{aA}	4,23 ± 0,03 ^{aAB}	4,31 ± 0,06 ^{aB}
15	4,14 ± 0,01 ^{aA}	4,18 ± 0,02 ^{aA}	4,16 ± 0,04 ^{aA}	4,17 ± 0,03 ^{abA}	4,21 ± 0,03 ^{aB}	4,23 ± 0,04 ^{abC}
30	3,93 ± 0,02 ^{bA}	4,01 ± 0,05 ^{bB}	4,09 ± 0,02 ^{bB}	4,12 ± 0,03 ^{bBC}	4,19 ± 0,02 ^{aDC}	4,16 ± 0,03 ^{bC}

Médias dispostas nas colunas acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tuckey ($p < 0,05$). Médias dispostas nas linhas acompanhadas de letras maiúsculas iguais não apresentam diferença significativa entre si, de acordo com o Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Própria autoria.

Tabela 17 – Valores médios de acidez titulável das amostras dos iogurtes ao longo do tempo de armazenagem.

Tempo de armazenagem (dias)	Acidez titulável (%)					
	Controle	IE1	IE2,5	IE5	IE7,5	IE10
1	1,02 ± 0,01 ^{aA}	1,00 ± 0,03 ^{abA}	0,97 ± 0,02 ^{abcA}	0,95 ± 0,02 ^{abcA}	0,91 ± 0,02 ^{abcdA}	0,90 ± 0,04 ^{dA}
15	1,14 ± 0,02 ^{aB}	1,06 ± 0,03 ^{bAB}	0,98 ± 0,02 ^{cA}	1,04 ± 0,02 ^{bB}	0,95 ± 0,02 ^{cAB}	0,92 ± 0,03 ^{cAB}
30	1,20 ± 0,01 ^{aC}	1,12 ± 0,06 ^{abB}	1,08 ± 0,04 ^{bcB}	1,07 ± 0,03 ^{bcB}	1,02 ± 0,05 ^{bcB}	0,99 ± 0,03 ^{cB}

Médias dispostas nas colunas acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tuckey ($p < 0,05$). Médias dispostas nas linhas acompanhadas de letras maiúsculas iguais não apresentam diferença significativa entre si, de acordo com o Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fonte: Própria autoria.

É possível perceber também, em concordância com os dados expostos nas tabelas de pH e acidez livre dos iogurtes (Tabelas 16 e 17), que houve um aumento significativo da acidez titulável ao longo do tempo de estabilidade observado, tendo uma única amostra fora da faixa de acidez total livre tida como ideal para iogurtes. As amostras com maior teor de emulsão incorporadas apresentaram menores valores de acidez titulável quando comparadas com as amostras de iogurtes sem emulsão ou com concentrações menores de emulsão adicionada. Ainda que apresentem diferença significativa entre si, todas as amostras apresentaram valores de pH e acidez titulável dentro da faixa considerada apta para um alimento de qualidade sensorial e nutricional.

5.9.4. Análises microbiológicas dos iogurtes

Para caracterização da estabilidade dos iogurtes também foram realizadas análises microbiológicas, dentre elas, a contagem de bolores e leveduras, contagem de bactérias ácido lácticas e de coliformes totais.

Em relação à contagem de bolores e leveduras, tanto nas amostras adicionadas de emulsão quanto no controle (iogurte sem emulsão) foram observados valores abaixo de 10^2 UFC/g durante os 30 dias de estocagem. Tal contagem está em acordo com os limites dispostos na legislação brasileira (BRASIL, 2003).

Outro fator importante na caracterização microbiológica dos iogurtes é a contagem de bactérias ácido lácticas. Os resultados observados foram praticamente constantes, estando em todos os intervalos avaliados, acima do limite mínimo estabelecido na legislação brasileira para células viáveis de 10^7 UFC/mL de iogurte (BRASIL, 2007). A pequena variação apresentada entre os pontos avaliados pode ser descrita como efeito da variação de pH devido a incorporação da emulsão com óleo de açaí no sistema, fato já observado por Matos (2019) em iogurtes enriquecidos com emulsão contendo óleo de soja. A variação do pH nos iogurtes tem influência direta no crescimento de uma população de microrganismos, mesmo que pequena, o que por sua vez, pode ocasionar o crescimento de determinada população enquanto há o decréscimo de outra (SILVA, 2014).

A Tabela 18 abaixo descreve os resultados obtidos classificados pelo tipo de análise e formulação avaliada.

Tabela 18 - Valores médios referentes a contagem de fungos filamentosos e leveduras, bactérias lácticas e coliformes totais ao longo do tempo de armazenagem

Análise microbiológica	Tempo de armazenagem (dias)	Iogurte			
		Controle	IE2,5	IE5	IE10
Contagem de fungos filamentosos e Leveduras (UFC/g)	1	Entre 20 e 23	Entre 33 e 38	Entre 35 e 41	Entre 37 e 42
	15	Entre 27 e 33	Entre 39 e 44	Entre 35 e 41	Entre 32 e 38
	30	Entre 42 e 47	Entre 38 e 43	Entre 38 e 43	Entre 40 e 45
Bactérias lácticas (UFC/mL)	1	Entre $1,9 \times 10^7$ e $4,7 \times 10^8$	Entre $1,8 \times 10^7$ e $5,3 \times 10^8$	Entre $2,1 \times 10^7$ e $4,7 \times 10^8$	Entre $1,7 \times 10^7$ e $3,8 \times 10^8$
	15	Entre $2,1 \times 10^7$ e $3,9 \times 10^8$	Entre $1,5 \times 10^7$ e $4,4 \times 10^8$	Entre $1,2 \times 10^7$ e $3,5 \times 10^8$	Entre $2,5 \times 10^7$ e $4,8 \times 10^8$
	30	Entre $3,7 \times 10^7$ e $8,4 \times 10^8$	Entre $4,2 \times 10^7$ e $5,6 \times 10^8$	Entre $2,8 \times 10^7$ e $6,4 \times 10^8$	Entre $4,1 \times 10^7$ e $6,7 \times 10^8$

Fonte: Própria autoria.

5.9.5. Análises reológicas

Para a avaliação do efeito da incorporação de diferentes concentrações de emulsão nas propriedades reológicas e na respectiva estabilidade dos iogurtes, as amostras foram avaliadas em diferentes dias de armazenamento (01 e 15) quanto às suas curvas de fluxo, e os resultados estão apresentados na Figura 14. Tais resultados revelaram um comportamento não-Newtoniano para todas as formulações analisadas, o que, segundo a literatura, é esperado para a maior parte dos produtos alimentícios (TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005).

Dentre os modelos utilizados para a classificação de produtos a partir de sua curva de fluxo, aquele que melhor representou os dados experimentais mostrados na Figura 14 foi o de Herschel–Bulkley (HB) ($R^2 > 0,73$) e os parâmetros obtidos a partir do ajuste estão apresentados na Tabela 19. De acordo com Molina et al. (2019), o modelo HB é geralmente efetivo para representar o comportamento reológico de iogurtes uma vez que ele quantifica adequadamente a tensão de cisalhamento inicial apresentada por esses produtos. Tal tensão está relacionada com a estrutura interna deste tipo de matriz alimentícia, que é uma rede proteica gelificada e pode ser capaz de impedir o movimento das amostras quando submetidas a tensões de cisalhamento menores que um valor limite (MENDONÇA, 2002). Quando as tensões superam esse valor limite, a estrutura gelificada dos iogurtes tende a “colapsar”, permitindo que haja um escoamento. Nesse sentido, a tensão de cisalhamento inicial, representada no modelo HB, é geralmente utilizada para se discutir a firmeza/força dos iogurtes (SMITH, 1978; FELIX-DA-SILVA et al., 2017).

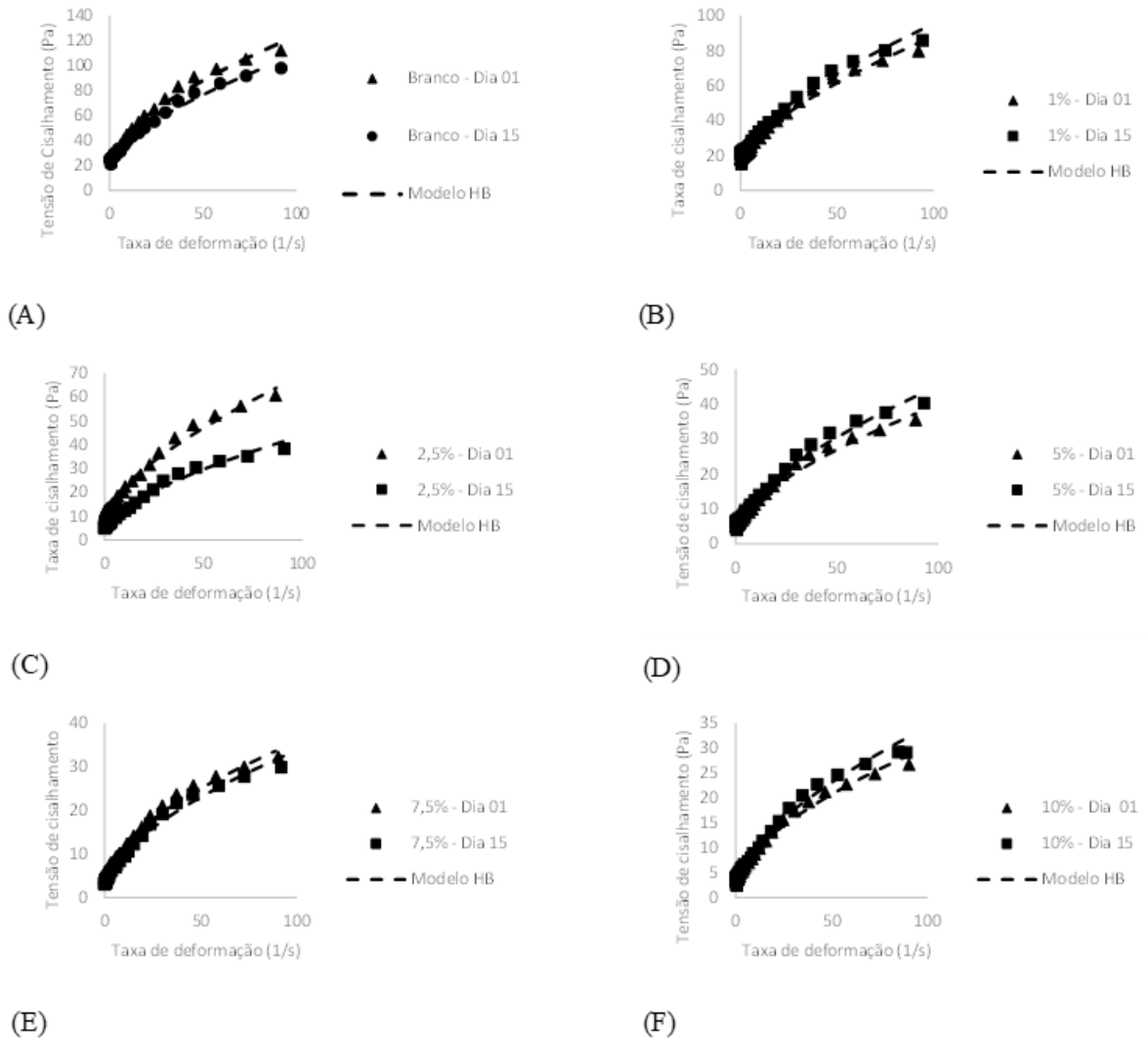
A partir dos dados apresentados na Tabela 19 é evidente, portanto, que a incorporação de emulsão aos iogurtes, reduziu a firmeza dos mesmos, reduzindo os valores de σ_0 e os valores de K' . Comportamento semelhante foi verificado por Molina et al. (2019), quando investigou o efeito da incorporação de dispersões de micropartículas lipídicas sólidas (MLS) aos iogurtes e verificou uma significativa redução de tais parâmetros. Segundo os autores, esses resultados estavam relacionados à grande quantidade de água nas amostras de MLS, que resultaram em uma “diluição” no iogurte, como também verificado no presente estudo. Essa “diluição” também afetou os valores de viscosidade

aparente das amostras, ilustrados na Tabela 20, que reduziram progressivamente com o aumento de concentração de emulsão.

Todas as amostras, no entanto, apresentaram comportamento pseudoplástico, como verificado a partir dos valores do índice de comportamento de fluxo (n) menores que 1. Esses dados indicam um decréscimo dos valores de viscosidade aparente dos sistemas com o aumento da taxa de deformação, o que, segundo a literatura é um comportamento típico de iogurtes (DEBON et al., 2010; HENNIGSSON et al., 2006; PASEEPHOL et al., 2008). Assim, embora a adição de emulsão tenha alterado a firmeza dos iogurtes, ela não afetou o padrão de comportamento reológico esperado para o produto.

Além disso, os dados revelaram uma elevada estabilidade das amostras, na ausência e na presença de emulsão, que, em geral, apresentaram propriedades reológicas constantes entre os dias 01 e 15 de armazenamento (Tabelas 19 e 20).

Figura 14 - Curva de fluxo (segundo aumento de taxa de deformação) para amostras de iogurte nos dias 01 (A) e 15 (B) de armazenamento com ajuste do modelo HB.



Fonte: Própria autoria.

Tabela 19 - Parâmetros do modelo Herschel–Bulkley obtidos por meio do ajuste aos dados de curva de fluxo dos iogurtes no segundo aumento de taxa de deformação.

Tempo de armazenamento (dias)	Iogurte	σ_0	K'	n	R^2
1	Controle	24,10 ^{aA} ± 4,07	5,24 ^{aA} ± 0,76	0,642 ^{aB} ± 0,001	0,78
	IE1	15,95 ^{aB} ± 2,86	3,36 ^{aB} ± 0,48	0,667 ^{aAB} ± 0,01	0,79
	IE2,5	10,19 ^{aBC} ± 1,32	2,58 ^{aBC} ± 0,18	0,681 ^{aA} ± 0,003	0,76
	IE5	3,97 ^{aCD} ± 0,21	1,89 ^{aC} ± 0,04	0,644 ^{aAB} ± 0,004	0,74
	IE7,5	4,32 ^{aCD} ± 2,29	1,99 ^{aC} ± 0,23	0,601 ^{aC} ± 0,028	0,76
	IE10	2,26 ^{aD} ± 0,32	1,77 ^{aC} ± 0,04	0,598 ^{aC} ± 0,016	0,75
15	Controle	22,46 ^{aA} ± 3,07	3,95 ^{aA} ± 0,41	0,67 ^{aAB} ± 0,02	0,81
	IE1	19,08 ^{aA} ± 0,20	3,34 ^{aA} ± 0,50	0,677 ^{aC} ± 0,015	0,82
	IE2,5	4,78 ^{bB} ± 0,36	1,96 ^{bB} ± 0,02	0,648 ^{bABC} ± 0,008	0,75
	IE5	5,10 ^{aB} ± 1,20	1,93 ^{aB} ± 0,16	0,658 ^{aABC} ± 0,016	0,75
	IE7,5	2,90 ^{aB} ± 0,23	1,83 ^{aB} ± 0,06	0,614 ^{aC} ± 0,009	0,73
	IE10	2,81 ^{aB} ± 0,38	1,73 ^{aB} ± 0,07	0,626 ^{aBC} ± 0,023	0,76

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) para amostras com a mesma formulação em diferentes dias de armazenamento. Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) para amostras com diferentes formulações no mesmo dia de armazenamento.

Fonte: Própria autoria.

Outra classificação importante feita a partir do comportamento reológico de produtos como o iogurte está relacionada a característica de variação da viscosidade aparente com o tempo. Segundo a literatura, sistemas podem ser classificados como tixotrópicos quando, a uma taxa de deformação fixa, a viscosidade decresce com o tempo, ou reopéticos, quando, a uma taxa de deformação fixa, a viscosidade aumenta com o tempo (MENDONÇA, 2002). Em geral, estudos envolvendo a caracterização reológica de iogurtes apontam comportamentos tixotrópicos para tais produtos (DEBON et al., 2010; HENNIGSSON et al., 2006; PASEEPHOL et al., 2008), como também foi verificado na presente Dissertação (Figura 15).

Tabela 20 - Valores de viscosidade aparente determinadas a 12 s⁻¹ das amostras de iogurte em diferentes dias de armazenamento.

Tempo de armazenagem (dias)	Iogurte	Viscosidade aparente (Pa.s)
1	Controle	4,05 ^{aA} ± 0,62
	IE1	2,74 ^{aB} ± 0,43
	IE2,5	1,96 ^{aB} ± 0,21
	IE5	1,04 ^{aC} ± 0,04
	IE7,5	1,01 ^{aC} ± 0,20
	IE10	0,78 ^{aC} ± 0,05
15	Controle	3,55 ^{aA} ± 0,31
	IE1	3,04 ^{aB} ± 0,18
	IE2,5	1,13 ^{bC} ± 0,05
	IE5	1,16 ^{bC} ± 0,20
	IE7,5	0,88 ^{aC} ± 0,04
	IE10	0,85 ^{aC} ± 0,04

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) para amostras com a mesma formulação em diferentes dias de armazenamento. Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) para amostras com diferentes formulações no mesmo dia de armazenamento.

Fonte: Própria autoria.

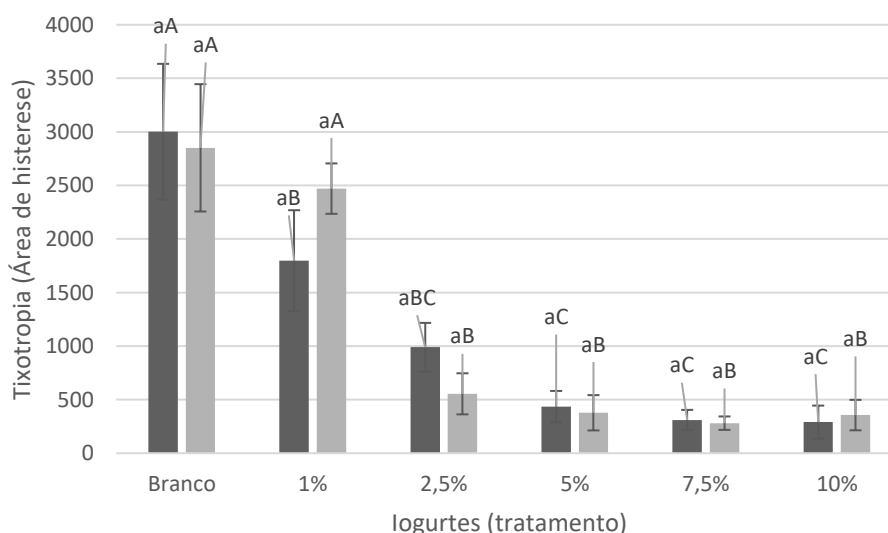
Os valores de tixotropia são, segundo a literatura, proporcionais à área de histerese, podendo, por tanto, ser estimados a partir da diferença entre as áreas sob as curvas da taxa de tensão de cisalhamento (STEFFE, 1996; CRUZ ET AL 2013). De acordo com a literatura, essa relação é justificada pelo fato da tixotropia ser característica de sistemas frágeis, cuja rede tridimensional é destruída durante o experimento, e depender da energia necessária para romper a estrutura original das amostras (CRUZ ET AL 2013).

Como verificado na Figura 15, os valores de tixotropia dos iogurtes sofreram uma significativa redução com o aumento na concentração de emulsão, indicando que as gotículas presentes nas amostras analisadas aumentaram a reversibilidade estrutural das amostras durante o ensaio (PURWANDARI et al., 2007). Além disso, todas as amostras apresentaram uma boa estabilidade, não sofrendo alterações significativas entre os dias 01 e 15 de armazenamento.

Esse comportamento está possivelmente relacionado com a interação entre as gotículas de emulsão e as redes tridimensionais que formam os iogurtes. Iogurtes, como os analisados na presente pesquisa, podem ser classificados como géis carregados com emulsões, por consistirem em gotículas lipídicas aprisionadas em sistemas gelificados (DICKINSON, 2012; OLIVER; SCHOLTEN; VAN AKEN, 2015). É amplamente aceito que as propriedades de géis carregados com emulsões dependem das interações existentes entre os seus componentes e, de maneira geral, gotículas lipídicas estabilizadas com ingredientes proteicos (como o isolado proteico de soja aplicado no presente estudo), tendem a interagir fortemente com redes proteicas gelificadas (como é o caso do iogurte) (DICKINSON, 2012).

Ou seja, embora a incorporação das gotículas de emulsão tenha reduzido a firmeza e a viscosidade dos iogurtes devido a maior quantidade de água dos sistemas, a interação dessas estruturas estabilizadas com IPS com a rede gelificada aumentou a energia necessária para a “destruição” irreversível das matrizes durante o experimento.

Figura 15 - Valores de tixotropia calculados das diferentes amostras em diferentes dias de armazenamento.



Médias seguidas de letras minúsculas diferentes diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) para amostras com a mesma formulação em diferentes dias de armazenamento. Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) para amostras com diferentes formulações no mesmo dia de armazenamento.

Fonte: Própria autoria.

Além de ensaios para a avaliação das curvas de fluxo, os iogurtes foram submetidos a análises de varredura de deformação e varredura de frequência, e os resultados estão apresentados nas Figuras 16 e 17.

A partir dos ensaios de varredura de deformação (Figura 16), foi possível determinar a região de viscoelasticidade linear das amostras. Uma vez que todas as formulações apresentaram limites de linearidade superiores a 1% para os dois dias de armazenamento analisados, tal valor de deformação foi selecionada para o desenvolvimento dos ensaios de varredura de frequência, cujos resultados estão ilustrados na Figura 17.

Tais resultados evidenciaram que, para todas as amostras, os valores de G' foram maiores que os valores de G'' , indicando comportamento de sólido viscoelástico, em que as deformações aplicadas são, em grande parte, elasticamente recuperáveis (RAO, 1999; TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005).

Os dados experimentais obtidos a partir dos ensaios de varredura de frequência foram modelados ($R^2 > 0,99$) utilizando o modelo Lei da Potência e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 21. Esses resultados confirmaram que o aumento da concentração de emulsão enfraqueceu os géis, como verificado a partir da redução dos valores de G' e G'' , e, portanto, K' e K'' . Por outro lado, foram verificadas reduções nos valores de n' e n'' com a presença e aumento da concentração das gotas, indicando uma redução na dependência de G' e G'' com a frequência.

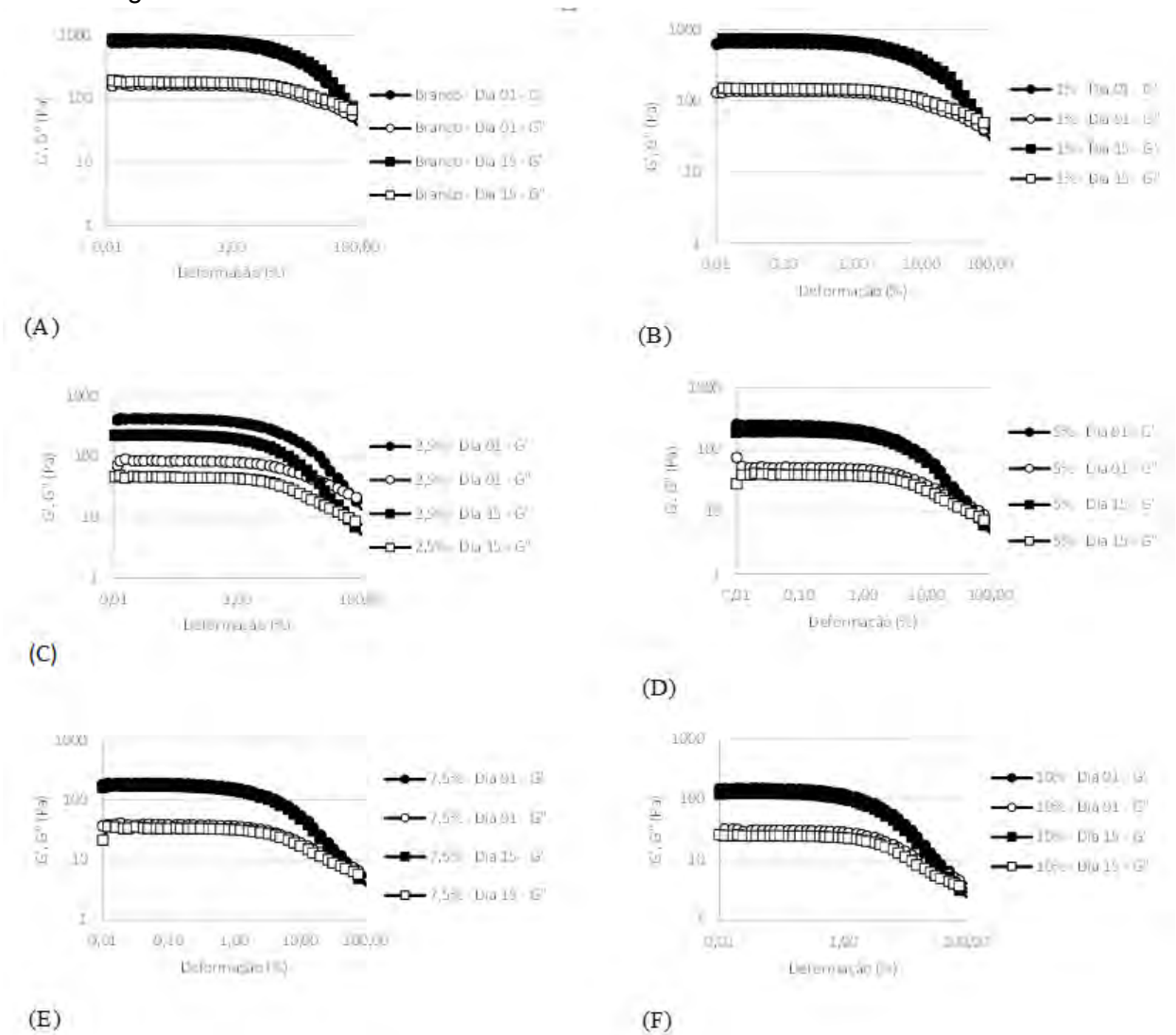
Segundo a literatura, a dependência de G' e G'' com a frequência indica o tipo de gel formado (Stading e Hermansson, 1990). De maneira geral, géis covalentes ou químicos, que tendem a ser mais fortes, costumam apresentar baixa dependência, sem o cruzamento de G' e G'' , enquanto géis físicos, que tendem a ser mais fracos, costumam apresentar elevada dependência, mas sem o cruzamento de G' e G'' (Stading e Hermansson, 1990).

Sendo assim, as interações existentes entre as gotículas estabilizadas com IPS e a rede gelificada dos iogurtes, que reduziram a tixotropia das amostras durante os ensaios de curva de fluxo, também reduziram a dependência dos parâmetros G' e G'' com a frequência, por alterarem as intensidades e as propriedades das ligações presentes na rede gelificada,

embora a maior presença de água tenha reduzido a força geral das estruturas, reduzindo G' e G'' .

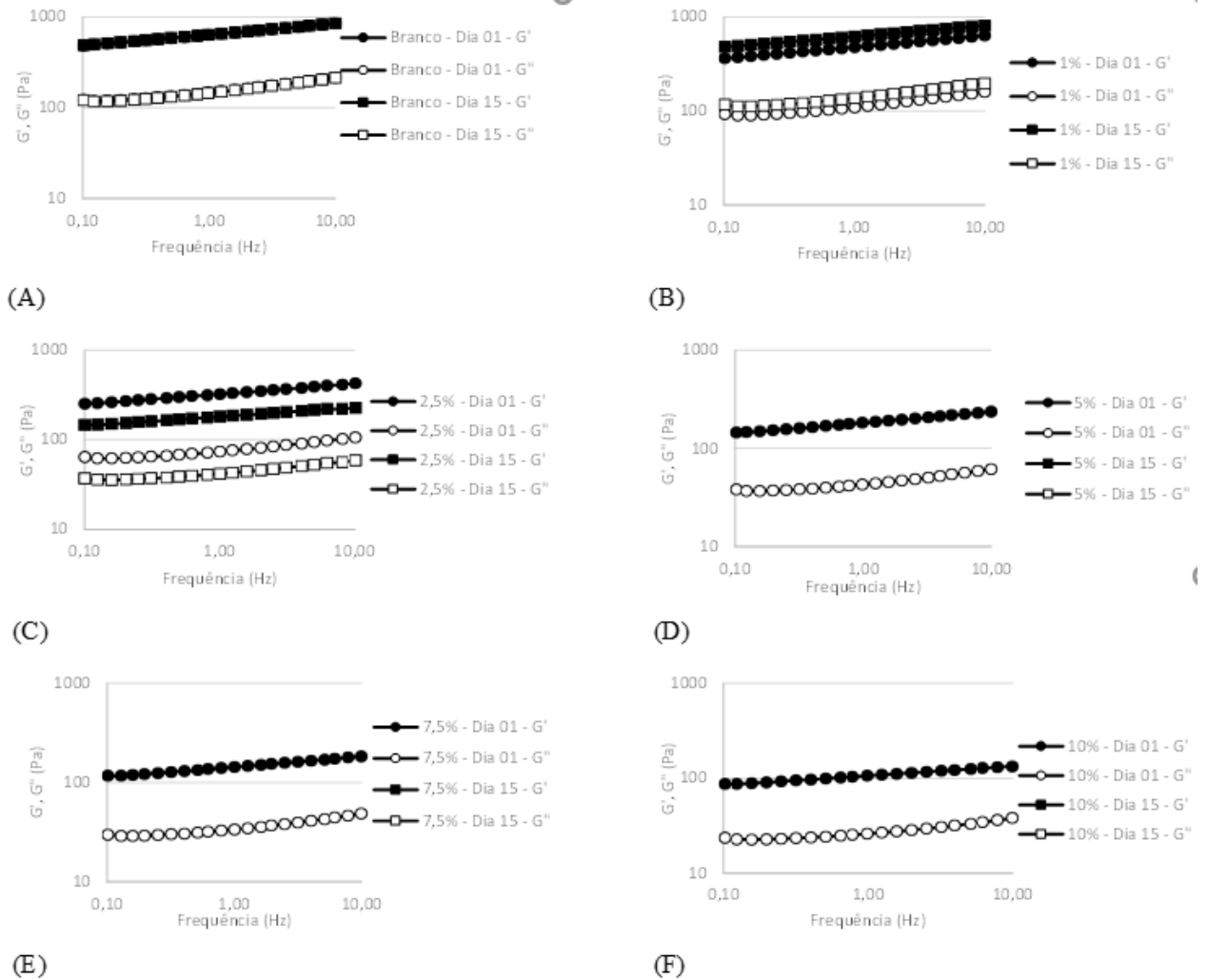
Quanto a estabilidade, todas as amostras apresentaram bons resultados com pequena ou nenhuma alteração de comportamento reológico durante os 15 dias de armazenamento, confirmando os resultados obtidos e discutidos anteriormente.

Figura 16 - Resultados dos ensaios de varredura de deformação para amostras de iogurte produzidas com diferentes concentrações de emulsão, durante o tempo de armazenagem.



Fonte: Própria autoria.

Figura 17 - Resultados dos ensaios de varredura de frequência para amostras de iogurte produzidas com diferentes concentrações de emulsão, durante o tempo de armazenagem



Fonte: Própria autoria.

Tabela 21 - Parâmetros do modelo Lei da Potência obtidos a partir do ajuste aos dados experimentais de varredura de frequência dos iogurtes produzidos com diferentes concentrações de emulsão, ao longo do tempo de armazenagem.

Tempo de armazenagem (em dias)	Formulação	K'	n'	R ²	K''	n''	R ²
1	Controle	639,45 ^{aA}	0,1221 ^{aA} ±	0,9997	151,74 ^{aA} ±	0,1336 ^{aA}	0,9717
		± 56,81	0,028		14,54	± 0,0018	
	IE1	478,88 ^{bB}	0,1205 ^{aAB}	0,9998	112,23 ^{bB} ±	0,1365 ^{bA}	0,9841
		± 19,02	± 0,0005		4,56	± 0,0008	
	IE2,5	324,66 ^{aC}	0,1151 ^{aBC}	0,9996	75,94 ^{aC} ±	0,1273 ^{aB}	0,9779
		± 21,56	± 0,0011		4,50	± 0,0005	
	IE5	182,63 ^{aD}	0,1097 ^{aCD}	0,9996	44,36 ^{aD} ±	0,1209 ^{bC}	0,9685
± 25,98		± 0,0020	6,15		± 0,0007		
IE7,5	143,70 ^{aD}	0,1035 ^{aDE}	0,9991	34,77 ^{aD} ±	0,1214 ^{bC}	0,9653	
	± 15,98	± 0,0040		3,20	± 0,0016		
IE10	105,33 ^{aD}	0,1016 ^{aE} ±	0,9987	26,33 ^{aD} ±	0,1215 ^{aC}	0,9552	
	± 7,90	0,0028		2,37	± 0,0018		
15	Controle	641,56 ^{aA}	0,1206 ^{aA} ±	0,9996	149,85 ^{aA} ±	0,1357 ^{aA}	0,9711
		± 42,19	0,0007		10,19	± 0,0013	
	IE1	623,59 ^{aA}	0,1159 ^{bA} ±	0,9997	139,90 ^{aA} ±	0,1409 ^{aA}	0,9898
		± 13,91	0,0004		3,75	± 0,0015	
	IE2,5	181,84 ^{bBC}	0,1045 ^{bB} ±	0,9997	42,79 ^{bBC} ±	0,1234 ^{aB}	0,9783
		± 17,30	0,0038		3,97	± 0,0045	
	IE5	205,76 ^{aB}	0,1050 ^{aB} ±	0,9997	48,20 ^{aB} ±	0,1253 ^{aB}	0,9779
± 7,32		0,0054	2,60		± 0,0023		
IE7,5	133,39 ^{aCD}	0,1040 ^{aB} ±	0,9994	32,38 ^{aCD} ±	0,1251 ^{aB}	0,9702	
	± 2,57	0,0044		0,73	± 0,0012		
IE10	104,29 ^{aD}	0,1025 ^{aB} ±	0,9977	25,55 ^{aD} ±	0,1258 ^{aB}	0,9638	
	± 13,69	0,0044		3,15	± 0,0035		

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) para amostras com a mesma formulação em diferentes dias de armazenagem. Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) para amostras com diferentes formulações no mesmo dia de armazenagem.

Fonte: Própria autoria.

CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos nessa Dissertação, pode-se concluir que:

- As emulsões produzidas com o isolado proteico de soja se mostraram estáveis durante o período avaliado segundo os dados de tamanho médio e distribuição de tamanho de gota;

- Os dados obtidos através das análises colorimétricas associados a quantificação da capacidade antioxidante por diferentes métodos, bem como de antocianinas totais, indicaram alta capacidade de manutenção dos compostos bioativos presentes no óleo de açaí.

- Os dados de oxidação lipídica, tanto primária quanto secundárias, mostraram também a estabilidade oxidativa do óleo de açaí ao longo do tempo de armazenagem das emulsões.

- Os iogurtes enriquecidos com emulsão de óleo de açaí estabilizados com isolado proteico de soja apresentaram parâmetros reológicos satisfatórios quando comparado com o iogurte sem adição de emulsão.

- Em relação a microbiologia, os iogurtes se mostraram seguros para o consumo e com a contagem de bactérias ácido lácticas dentro do limite estabelecido pela legislação brasileira.

Dessa forma, pode-se concluir que o enriquecimento de iogurtes por meio de adição de emulsão de óleo de açaí estabilizada com isolado proteico de soja se mostra como alternativa viável para a disponibilização dos compostos bioativos presente no óleo do fruto amazônico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABHYANKAR, A. R. Techniques for localization of Konjac glucomannan in model milk protein-polissaccharide mixed systems: Physicochemical and microscopic investigations. *Food Chemistry*, London, v. 129, p. 1362-1368, 2011.

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

AOAC, Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the association of analytical chemists (method 942.15B). Arlington, 1995.

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

ARAUJO, J. M. A. Química dos alimentos: teoria e prática. 5^{ed}. Viçosa, MG. Editora UFV, 2011.

BADLEY, R. A.; ATKINSON, D.; HAUSER, H.; OLDANI, D.; GREEN, J. P.; STUBB, J. M. The structure, physical and chemical properties of the soy bean protein glycinin. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 412, p. 214-228, 1975.

BARBOSA, P. P. M.; GALLINA, D. A. Viabilidade de bactérias (starter e probióticas) em bebidas elaboradas com iogurte e polpa de manga. *Revista Instituto Cândido Tostes, Juiz de Fora*, v. 72, n. 2, p. 85-95, 2017.

BEECHER, G. R. Proanthocyanidins: biological activities associated with human health. *Pharmaceutical Biology*, v. 42, Supplement, p. 2–20, 2004.

BEMILLER, J. N.; HUBER, K. C. Carboidratos. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. Química de Alimentos de Fennema. 4^{ed}. Porto Alegre: Artmed, 2010. cap. 3, p. 75-130.

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, v436, p. 359-378, 2012.

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (DISPOA). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União, Brasília, 26 de agosto de 2003.

BRASIL. Ministério Da Saúde. Resolução RDC N°12 de 02 de Janeiro de 2001. Brasília: ANVISA.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. Instrução Normativa nº 46, de 23/10/2007. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, 24 out. 2007. Seção 1, p. 4-7.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. Instrução Normativa nº 46, de 23/10/2007. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, Seção 1, p. 4-7, 24 out. 2007.

BRITO, C. A.; FERREIRA, I. J.; CAVALCANTE, M. P.; MENEZES, L. R. Avaliação do efeito estabilizante e antioxidante do óleo de laranja sobre nanoestruturas contendo óleo de açaí. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, v. 7, p. 64-69, 2019.

BRITO-OLIVEIRA, T. C. Curcumina encapsulada em micropartículas lipídicas incorporadas em géis carregados: um estudo comparativo com géis proteicos e géis biopoliméricos mistos obtidos a frio. Universidade de São Paulo. Dissertação de mestrado, 2017.

BRITO-OLIVEIRA, T. C.; BISPO, M.; MORAES, I. C. F.; CAMPANELLA, O. H.; PINHO, S. C. Stability of curcumin encapsulated in solid lipid microparticles incorporated in cold-set emulsion filled gels of soy protein isolate and xanthan gum. *Food Research International*. Barking, v. 102, p. 759-767, 2017.

CENSI, R.; PEREGRINA, D. V.; LACAVA, G.; AGAS, D.; LUPIDI, G.; SABBieti, M. G.; MARTINO, P. Cosmetic Formulation Based on an Açaí Extract. *Cosmetics*, v. 5, p. 48-59, 2018.

CHANDAN, R. C.; GANDHI, A.; SHAH, N. P. Yogurt: Historical background, health benefits, and global trade. In: SHAH, N. P. *Yogurt in Health and Disease Preventions*. Elsevier Inc., 2007.

CHANG, Y.; LI, D.; WANG, L.; BI, C.; ADHIKARI, B. Effect of gums on the rheological characteristics and microstructure of acid-induced SPI-gum mixed gels. *Carbohydrate Polymers*, Nova Iorque, v. 108, p. 183–191, 2014.

CHAVES, M. A.; FRANKLIN, V.; SINIGAGLIA-COIMBRA, R.; PINHO, S. C. Nanoliposomes coencapsulating curcumin and vitamin D₃ produced by hydration of proliposomes: Effects of the phospholipid composition in the physicochemical characteristics of vesicles and after incorporation in yoghurts. *International Journal Of Dairy Technology*, v. 74, p. 107-117, 2021.

CONSTANT, P. B. L. Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (*Euterpe oleraea*, M.). Tese de doutorado. Universidade de Viçosa, 2003.

CRUZ, A. G.; CAVALCANTI, R. N.; GUERREIRO, L. M. R.; SANT'ANA, A. S.; NOGUEIRA, L. C.; OLIVEIRA, C. A. F.; DELIZA, R.; CUNHA, R. L.; FARIA, J. A. F.; BOLINI, H. M. A. Developing a prebiotic yogurt: rheological, physico-chemical

and microbiological aspects and adequacy of Survivor analysis methodology. *Journal of Food Engineering*, v. 114, p. 323-330, 2013.

CRUZ, A. P. G. Avaliação da influência da extração e microfiltração do açaí sobre sua composição e atividade antioxidante. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-graduação em Bioquímica - Rio de Janeiro, UFRJ/ IQ, 2008.

DAMODARAN, S. Aminoácidos, peptídeos e proteínas. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. *Química de alimentos de Fennema*. 4 ed. Porto Alegre: Arned, 2010. Cap 5., p. 180-260.

DEBON, J.; PRUDENCIO, E. S.; PETRUS, J. C. C. Rheological and physico-chemical characterization of prebiotic microfiltered fermented milk. *Journal of Food Engineering*, v. 99, p. 128– 135, 2010.

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

DICKINSON, E. Flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 81, p. 130–140, 2010.

DICKINSON, E. Emulsion gels: the structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplets. *Food Hydrocolloids*, Oxford, v. 28, p. 224-241, 2012.

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.; STAINSBY, G. Emulsion Stability. In *Advances in Food Emulsions and Foams*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, London. 1^a ed., p. 1- 41, 1988.

DILLE, M. J.; HATTREM, M. N.; DRAGET, K. I. Bioactively filled gelatin gels; challenges and opportunities. *Food Hydrocolloids*. Oxford, v. 76, p. 17-29, 2018.

DIXON, R. A.; XIE, D.; SHARMA, S. B. Proanthocyanidins – a final frontier in flavonoid research?. *New Phytologist*, v 165, p. 9-28, 2004.

FANI, M. O Saudável Mercado dosiogurtes. *Revista Aditivos e Ingredientes*. Editora Insumos, n. 120, Julho de 2015.

FARIA, S.; DE OLIVEIRA PETKOWICZ, C. L.; DE MORAIS, S. A. L.; TERRONES, M. G. H.; DE RESENDE, M. M., DE FRANÇA, F. P.; CARDOSO, V. L. Characterization of xanthan gum produced from sugar cane broth. *Carbohydrate Polymers*, v. 86, p. 469–476, 2011.

FELIX-DA-SILVA, D.; TENORIO-JUNIOR, N. N.; GOMES, R. G.; POZZA, M. S. S.; BRITTEN, M.; MATUMOTO-PINTRO, P. T. Physical, microbiological and rheological properties of probiotic yogurt supplemented with grape extract. *Journal of Food Science and Technology*, v. 54(6), p. 1608–1615, 2017.

FENG, L.; JIA, X.; ZHU, Q.; LIU, Y.; LI, J.; YIN, L. Investigation of the mechanical, rheological and microstructural properties of sugar beet pectin /soy protein isolate-based emulsion-filled gels, *Food Hydrocolloids*. Oxford, 2018.

FENG, W.; YUE, C.; WUSIGALE; NI, Y.; LIANG, L. Preparation and characterization of emulsion-filled gel beads for the encapsulation and protection of resveratrol and α -tocopherol. *Food Research International*. Barking, v. 108, p. 161-171, 2018.

FIGUEIREDO, P.; ALBUQUERQUE, F.; ROMEIRO, S. Proantocianidinas na dieta humana. Influência na prevenção de doenças cardiovasculares. *Studia*. Lisboa, Portugal. 2013.

FREITAS, F.; ALVES, V. D.; REIS, M. A. Bacterial polysaccharides: production and applications in cosmetic industry. In: RAMAWAT, K. G.; MERILLON, J. *Polysaccharides - Bioactivity Biotechnology*. Springer, cap. 66, p. 2017–2043, 2015.

FU, D.; DENG, S.; MCCLEMENTS, D. J.; ZHOU, L.; ZOU, L.; YI, J.; LIU, C.; LIU, W. Encapsulation of β -carotene in wheat gluten nanoparticle-xanthan gum-stabilized Pickering emulsions: enhancement of carotenoid stability and bioaccessibility. *Food Hydrocolloids*, Oxford, v. 89, p. 80-89, 2018.

GEREMEIAS-ANDRADE, I.; SOUKI, N.; MORAES, I. C. F.; PINHO, S. Rheology of emulsion-filled gels applied to the development of food materials. *Gels*, Basel, v. 2, p. 22-40, 2016.

GONNET, M.; LETHUAUT, L.; BOURY, F. New Trends in encapsulation of liposoluble vitamins. *Journal of Controlled Release*, Amsterdam, v. 146, p. 276-290, 2010.

GU, L.; KELM, M.; HAMMERSTONE, J. F.; BEECHER, G.; CUNNINGHAM, D.; VANNOZZI, S.; PRIOR, R. L. Fractionation of polymeric procyanidins from lowbush blueberry and quantification of procyanidins in selected foods with an optimized normal-phase HPLC-MS fluorescent detection method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v 50, p. 4852-4860, 2002.

GUIMARÃES, W.; ALVES, M. I. R.; FILHO, N. R. A. Antocianinas em extratos vegetais: Aplicação em titulação ácido-base e identificação via cromatografia líquida/espectrometria de massas. *Química Nova*. 35, 8, p.1673–1679, 2012.

GUIMARÃES, S. C. N. et al. Desenvolvimento de formulações fermentadas probióticas mistas enriquecidas com óleos de frutos amazônicos. *Brazilian Journal of Development*, v.6, n. 3, p. 10882-10901, 2020.

GUYOT, S. Flavan-3-ols and proanthocyanidins. In: NOLLET L. M. L.; TOLDRÁ, F. *Handbook of Analysis of Active Components in Functional Foods*. CRC Press, p. 317-348, 2012.

HENNIGSSON, M., ÖSTERGREN, K., DEJMEK, P. Plug flow of yoghurt in piping as determined by cross-correlated dual-plane electrical resistance tomography. *Journal of Food Engineering*, v. 76, p. 163–168, 2006.

HO, C. T.; RAFI, M. M.; GHAI, G. Substâncias bioativas: nutracêuticas e tóxicas. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. *Química de alimentos de Fennema*. 4. Ed. Porto Alegre: Artmed, p. 585-609, 2010.

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- IBGE. *Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura - 2016*. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/74/pevs_2016_v31.pdf. Acesso em 21/08/2018.

IWANAGA, D.; GRAY, D.; DECKER, E. A.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J. Stabilization of soybean oil bodies using protective pectin coatings formed by electrostatic deposition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, London, v. 56, p. 2240-2245, 2008.

JANSSON, P. E.; KENNE, L.; LINDBERG, B. Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. *Carbohydrate Research*, Amsterdam, v. 45, p. 275–282, 1975.

KANG, J.; LI, Z.; WU, T.; JENSEN, G. S.; SCHAUSS, A. L.; WU, X. Antioxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp. *Food Chemistry*, v. 122, p. 610-617, 2010.

KIMURA, H.; OGAWA, S.; AKIHIRO, T.; YOKOTA, K. Structural analysis of A-type or B-type highly polymeric proanthocyanidins by thiolytic degradation and the implication in their inhibitory effects on pancreatic lipase. *Journal of Chromatography A*, v. 1218, p. 7704–7712, 2011.

KRALOVA, I.; SJOBLUM, J. Surfactants used in food industry: a review. *Journal of Dispersion Science and Technology*, v. 30, p. 1363-1383, 2009.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T.; FETT, R. Wild fruits and pulps of frozen fruits: antioxidant activity, polyphenols and anthocyanins. *Ciência Rural*, v. 36, n. 4, 2006.

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, p. 415-427, 2011.

LIU, K. *Soybeans: Chemistry, Technology and Utilization*. New York: Chapman and Hall, 1997, p. 532.

LIU, Q.; QI, J.; YIN, S.; WANG, J.; GUO, J.; FENG, J.; CHENG, M.; CAO, J.; WENG, J.; YANG, X. The influence of heat treatment on acid-tolerant emulsions

prepared from acid soluble soy protein and soy soluble polysaccharide complexes. *Food Research International*, Barking, v. 89, p. 211-218, 2016.

LUCK, G.; HUA, L.; MURRAY, N. J.; GRIMMER, H. R.; WARMINSKI, E. E.; WILLIANSO, M. P.; LILLEY T. H.; HASLAM, E. Polyphenols, astringency and Prolinerich proteins. *Phytochemistry*, v. 37, p. 357-371, 1994.

LUO, R.; TRAN, K.; LEVINE, R. A.; NICKOLS, S. M.; MONROE, D. M.; SABAA-SRUR, A. U. O.; SMITH, R. E. Distinguishing components in Brazilian acai (*Euterpe oleracea* Mart.) and in products obtained in the USA by using NMR. *Natural Products Journal*, v2, p.86–94, 2012.

MANION, B.; CORREDIG, M. Interactions between whey protein isolate and soy protein fractions at oil-water interfaces: Effects of heat and concentration of protein in the aqueous phase. *Journal of Food Science*, Champaign v. 71, p. 343–349, 2006.

MANTELET, M.; PANOUILLE, M.; BOUE, F.; BOSC, V.; RESTAGNO, F.; SOUCHON, I.; MATHIEU, V. Impact of sol-gel transition on the ultrasonic properties of complex model foods: Application to agar/gelatin gels and emulsion filled gels. *Food Hydrocolloids*. Oxford, v.87, p. 506-518, 2018.

MARGARITIS, A.; ZAJIC, J. E. Mixing, mass transfer, and scale-up of polysaccharide fermentations. *Biotechnology and Bioengineering*, Ontario, Canadá, v. 20, nº 7, p. 939-1001, 1978.

MATEOS-MARTÍN, M. L.; FUGUET, E.; QUERO, C.; PEREZ-JIMENEZ, J.; TORRES, J.L. New identification of proanthocyanidins in cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* L.) using MALDI-TOF/TOF mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 402, p. 1327-1336, 2012.

MATOS, R. Nanoemulsificação de óleo de castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*) pelo método do ponto de inversão da emulsão e encapsulação de vitamina D3. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, 2019.

MATTA, F. V.; XIONG, J.; LILA, M. A.; WARD, N. I.; FELIPE-SOTELO, M.; ESPOSITO, D. Chemical Composition and Bioactive Properties of Commercial and Non-Commercial Purple and White Açaí Berries. *Foods*, n. 9, v. 1481, 2020.

MENDONÇA, E. Estudo do comportamento reológico de iogurtes comerciais. Dissertação de mestrado em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, 2002.

MCCLEMENTS, D. J. Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. *Soft Matter*, v. 7, p. 2297-2316, 2011.

MCCLEMENTS, D. J. Food emulsions: principles, practices, and techniques. 3rd ed. Boca Raton, 2005.

MCCLEMENTS, D. J.; BAI, L.; CHUNG, C. Recent advances in the utilization of natural emulsifiers to form and stabilize emulsions. *Annual Review of Food Science and Technology*, Palo Alto, v 8., p. 205-236, 2017.

MCCLEMENTS, D. J.; GUMUS, C. E. Natural emulsifiers - biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: molecular and physicochemical basis of functional performance. *Advances in Colloid Interface Science*, v. 234, p. 3–26, 2016.

MCCLEMENTS, D. J.; JAFARI, S. M. Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*. Elsevier B.V., v. 251, p. 55-79, 2018.

MCCLEMENTS, D. J.; RAO, J. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate and potential toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v. 51, p. 285-330, 2011.

MINIGHIN, E. C. composição centesimal, perfil de ácidos graxos e efeitos da digestão in vitro sobre o teor de minerais, compostos fenólicos e atividade antioxidante de polpas comerciais de açaí (*euterpe oleracea* mart.) roxo e branco. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Belo Horizonte, 2019.

MOLINA, Camila 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*, v. 28, n. 1, p. 59-66, 2019.

MORAES, P. C. B. T. Avaliação de iogurtes líquidos comerciais sabor morango: estudo de consumidor e perfil sensorial. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, 2004.

NASCIMENTO, R.J.S.; COURI, S.; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S. P. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. *Revista Brasileira de Fruticultura*. v.30, nº2, p. 498–502, 2008.

OLIVER, L; SCHOLTEN, E.; VAN AKEN, G.A. Effect of fat hardness on large deformation rheology of emulsion-filled gels. *Food Hydrocolloids*, Oxford, v. 43, p. 299-310, 2015.

OSADA, Y.; GONG, J. P. Soft and wet materials: polymer gels. *Advanced Materials*, v. 10, nº 11, p. 827-837, 1998.

ÖZKAN, N.; XIN, H.; CHEN, X. D. Application of a depth sensing indentation hardness test to evaluate the mechanical properties of food materials. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 67, n. 5, p. 1814–1820, 2002.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; MERTENS-TALCOTT, S.; TALCOTT, S. T. Chemical composition, antioxidant properties, and thermal stability of a

phytochemical enriched oil from açai (*Euterpe oleracea* Mart.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 12, p. 4631-4636, 2008.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; MERTENS-TALCOTT, S.; TALCOTT, S. T. Absorption and biological activity of phytochemical-rich extracts from açai (*Euterpe Oleracea* Mart.) pulp and oil in vitro. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 10, p. 3593-3600, 2008.

PARADISO, V. M.; GIARNETTI, M.; SUMMO, C.; PASQUALONE, A.; MINERVINI, F.; CAPONIO, F. Production and characterization of emulsion filled gels based on inulin and extra virgin olive oil. Food Hydrocolloids. Oxford, v. 45, p. 30-40, 2015.

PASEEPHOL, T.; SMALL, D. M.; SHERKAT, F. Rheology and texture of set yoghurt as affected by inulin addition. Journal of Texture Studies, v. 39, p. 617–634, 2008.

PAYNE, M. J.; HURST, W. J.; STUART, D. A.; OU, B.; FAN, E.; JI, H.; KOU, Y. Determination of total procyanidins in selected chocolate and confectionery products using DMAC. Journal of AOAC International, v. 93, n. 1, p. 89–96, 2010.

PENG, I. C.; QUASS, D. W.; DAYTON, W. R.; ALLEN, C. E. The physicochemical and functional properties of soybean 11S globulin: a review. Cereal Chemistry, v. 61, p. 480-490, 1984.

PORTINHO, J. A.; ZIMMERMANN, L. M.; BRUCK, M. R. Efeitos benéficos do açai. International Journal of Nutrology, v. 5, n. 1, p. 15–20, 2012.

PURWANDARI, U.; SHAH, N. P.; VASILJEVIC, T. Effects of exopolysaccharide producing strains of *Streptococcus thermophiles* on technological and rheological properties of set-type yoghurt. International Dairy Journal, v. 17, p. 1344–1352, 2007.

RAO, M. A. Rheology of Fluid, Semisolid, and Solid Foods: principles and applications. Food Engineering Series. Nova Iorque: Springer Science & Business Media. 2014.

RIBEIRO, E. P., SERAVALLI, E. A. G. Química de alimentos. São Paulo: Edgard Blücher, Instituto Mauá de Tecnologia, p. 184, 2004.

RIBEIRO, L. O.; MENDES, M. F.; PEREIRA, C. S. S. Avaliação da Composição Centesimal, Mineral e Teor de Antocianinas da Polpa de Juçai (*Euterpe edulis* Martius). Revista Eletrônica TECCEN, v. 4, n. 2, p. 5-16, 2011.

ROBERT, N. F. Dossiê Técnico: Fabricação de Iogurtes. Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas, 2008.

ROGEZ, H. Açai: preparo, composição e melhoramento da conservação. EDUFPA, Belém, 2000.

RUFINO, M. S. M.; PEREZ-JIMENEZ, J.; ARRANZ, S.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; OLIVEIRA, M. S. P.; SAURA-CALIXTO, F. Açaí (*Euterpe oleraceae*) 'BRS Pará': A tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. *Food Research International*, v. 44, p. 2100-2106, 2011.

SALA, G.; VAN AKEN, G. A.; STUART, M. A. C.; VAN DE VELDE, F. Effect of droplet–matrix interactions on large deformation properties of emulsion-filled gels. *Journal of Texture Studies*. Dordrecht, v.38, p. 511-535, 2007.

SANTOS, G. M.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; COSTA, J. M. C.; FIGUEIREDO, R. W.; PRADO, G. M. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, v.58, n. 2, p.187-192, 2008.

SCHAUSS, A. G.; WU, X.; PRIOR, R. L.; OU, B.; PATEL, D.; HUANG, D.; KABABICK, J. P. Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried amazon palm berry, *Euterpe oleraceae* Mart. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 54, p. 8598-8603, 2006.

SHAH, N. P. *Yogurt in Health and Disease Prevention*. Academic Press, Elsevier. London, 2017.

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

SILVA, L. C. et al. Aspectos microbiológicos, pH e acidez de iogurtes de produção caseira comparados aos industrializados na região de Santa Maria – RS. *Disciplinarum. Scientia. Série: Ciências da Saúde*, Santa Maria, v. 13, n. 1, p. 111-120, 2012.

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 of Enzymology*, v. 299, p. 152-178, 1999.

SIQUEIRA, K. B. *O Mercado Consumidor de Leites e Derivados*. Circular Técnica ISSN 1678-037X, Embrapa – Juiz de Fora/MG, 2019.

SILVA, E. K. et al. Ultrasound-assisted formation of annattoseed oil emulsions stabilized by biopolymers. *Food Hydrocolloids*, Oxford, v.47, p. 1-13, 2015.

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*, v.36, p.400-406, 2013.

SILVA, M. P.; CUNHA, V. M. B.; SOUSA, S. H. B.; MENEZES, E. G. O.; BEZERRA, P. N.; NETO, J. T. F.; FILHO, G. N. R.; ARAUJO, M. E.; CARVALHO, R. N. Supercritical CO₂ extraction of lyophilized Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp oil from three municipalities in the state of Pará, Brazil. *Journal of CO₂ Utilization*, v. 31, p. 226-234, 2019.

SKELLAND, A. H. P. Non-newtonian flow and heat transfer. New York, Jhon Wiley & Sons, p. 469, 1967.

SKERGET, M.; KOTNIK, P.; HADOLIN, M.; HRAS, A. R.; SIMONIC, M. S.; KNEZ, Z. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, v 89, p. 191-198, 2005.

SMITH, E. G. Routine quality control technics. *Journal of Histotechnology*, v.1 p. 99–99, 1978.

SOUZA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIERA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; DA COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Total phenolics and antioxidant activity of five medicinal plants. *Química Nova*, v. 30, nº 2, p. 351-355, São Paulo, 2007.

SOUZA, M. O.; SANTOS, R. C.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L. Açaí (*Euterpe oleraceae* Martius): chemical composition and bioactivity. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr. = J. Brazilian Soc. Food Nutr.*, São Paulo, SP, v. 36, n. 2, p. 161-169, ago. 2011.

STADING, M.; HERMANSSON, A. M. Viscoelastic behaviour of b-lactoglobulin structures. *Food Hydrocolloids*, v. 4(2), p. 121-135, 1990.

STARR, F.; STARR K. Starr Environmental, 2018. Disponível em: <https://www.flickr.com/photos/starr-environmental/>. Acesso em: 03/06/2018.

STEFFE, J. F. *Rheological Methods in Food Process Engineering*, second ed. Freeman Press, East Lansing, p. 412, 1996.

STOKKE, B. T.; CHRISTENSEN, B. E. Release of disordered xanthan oligomers upon partial acid hydrolysis of double-stranded xanthan. *Food Hydrocolloids*, Oxford, v. 10, p. 83–89, 1996.

SUN, T.; HO, C. Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chemistry*, v. 90, p. 743-749, 2005.

TABILO-MUNIZAGA, G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Rheology for the food industry. *Journal of Food Engineering*, Oxford, v. 67, n. 2-3, p. 147–156, 2005.

TAVERNIER, I.; PATEL, A. R.; VAN DER MEEREN, P.; DEWETTINCK, K. Emulsion-templated liquid oil structuring with soy protein and soy protein: k-carrageenan complexes. *Food Hydrocolloids*, Oxford, v. 65, p. 107-120, 2017.

THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BYRNE, D. H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, San Diego, v.19, p.669-675, 2006.

TONIAZZO, T. Dispersões lipossomas encapsulando beta-caroteno: caracterização, estabilidade, físico-química e incorporação em iogurte. Dissertação de Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

TONIAZZO, T.; BERBEL, I. F.; CHO, S.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; MORAES, I. C. F.; PINHO, S. C. β -carotene-loaded liposome dispersions stabilized with xanthan and guar gums: Physico-chemical stability and feasibility of application in yogurt. *Food Science and Technology*, v. 59, p. 1265-1273, 2014.

UTSUMI, S.; MATSUMURA, Y.; MORI, T. Structure-function relationships of soy proteins. In: *Food proteins and Their Applications*, 1^a ed., New York, 1997.

VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de polpa de frutos tropicais. *Rev. Bras. Frutic.*, v. 33, n 3, p. 888-897, 2011.

WARNER, K.; NEFF, W. E.; ELLER, F. J. Enhancing quality and oxidative stability of aged fried food with gamma-tocopherol. *J. Agric. Food Chemistry*, v. 51, p. 623, 2003,

WLODARCZYK, D.; MERICQ, J-P.; SOUSSAN, L.; BOUYER, D.; FAUR, C. Enzymatic gelation to prepare chitosan gels: Study of gelation kinetics and identification of limiting parameters for controlled gel morphology. *International Journal of Biological Macromolecules*. Guildford, v. 107, p. 1175-1183, 2018.

WU, N. N.; YANG, X. Q.; TENG, Z.; YIN, S. W.; ZHU, J. H.; QI, J. R. Stabilization of soybean oil body emulsions using kappa, iota, lambda-carrageenan at different pH values. *Food Research International*, Barking v. 44, p. 1059-1068, 2011.

WYCOFF, W.; LUO, R.; SCHAUSS, A. G.; NEAL-KABABICK, J.; SABAA-SRUR, A. U. O.; MAIA, J. G. S.; TRAN, K.; RICHARDS, K. M.; SMITH, R. E. Chemical and nutritional analysis of seeds from purple and white açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). *Journal of Food Composition and Analysis*, v.41, p. 181–187, 2015.

XIAO, J.; LI, Y. Q.; HUANG, Q. Recent advances on food-grade particles stabilized pickering emulsions: fabrication, characterization and research trends. *Trends in Food Science & Technology*, v. 55, p. 48-60, 2016.

YAMAGUCHI, K.K.L.; PEREIRA, L. F. R.; LAMARÃO, C. V.; LIMA, E. S.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Amazon acai: Chemistry and biological activities: A review. *Food Chemistry*.v.179, p. 137–151, 2015.