

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

GABRIELA APARECIDA GNOATTO

**ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO IOGURTE ADICIONADO DE MEL DE
ABELHAS JATAÍ (*TETRAGONISCA ANGUSTULA*) DURANTE O TEMPO DE
ESTOCAGEM**

PATO BRANCO - PR

2023

GABRIELA APARECIDA GNOATTO

ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO IOGURTE ADICIONADO DE MEL DE ABELHAS JATAÍ (*TETRAGONISCA ANGUSTULA*) DURANTE O TEMPO DE ESTOCAGEM

Preparation and characterization of yogurt added with honey from Jataí bees (*Tetragonisca angustula*) during storage time

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentada como requisito para obtenção do título de Bacharel em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Orientadora: Solange Teresinha Carpes.

PATO BRANCO - PR

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Pato Branco
Departamento de Química
Curso de Bacharelado em Química



TERMO DE APROVAÇÃO

Preparação e caracterização de iogurte adicionado com mel de abelhas Jataí
(*Tetragonisca Angustula*) durante o tempo de armazenamento

por

Gabriela Aparecida Gnoatto

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado(a) em 16 de junho de 2023 às 08h:30min como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho Aprovado.

Solange Teresinha Carpes
Prof. Orientador

Edimir Andrade Pereira
Membro titular

Simone Beux
Membro titular

Nota: O Documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se no SEI processo 23064.027264/2023-66 e documento 3512120.

Dedico este trabalho à minha família e aos meus amigos próximos pelos momentos bons e ruins que passamos juntos nesta trajetória.

AGRADECIMENTOS

Certamente os parágrafos a seguir não vão abranger todas as pessoas que fizeram parte dessa importante fase de minha vida. Portanto, já peço desculpas àquelas que não estão presentes entre essas palavras, mas elas podem estar certas de que fazem parte do meu pensamento e de minha gratidão.

Inicialmente agradeço à Deus pela vida, saúde e sabedoria durante minha trajetória acadêmica.

Agradeço principalmente à minha família pelo apoio, pela ajuda financeira, pelos conselhos e por tudo. Especialmente ao meu pai, se não fosse por ele não teria feito a matrícula e não estaria terminando o curso agora.

Agradeço a minha avó que acabei perdendo durante a graduação, onde no começo da graduação morei com ela e que todo dia sempre me esperava chegar da faculdade para ver se eu estava bem, sei que estaria muito orgulhosa de mim, brilha muito aí no céu minha estrelinha.

Agradeço aos meus amigos da faculdade Matheus Assis, Luciano Ramos e Thaliny Chaves, vocês me mostraram o verdadeiro sentido da palavra amizade, tantos momentos bons e ruins que vivenciamos juntos. Agradeço ao Matheus por sempre me apoiar nessa jornada, pelos conselhos, pelos chocolates e principalmente pelo apoio quando eu não estava bem muitas vezes. Agradeço em especial ao Luciano que me ajudou muito no laboratório durante as minhas análises de TCC, uma amizade tão pura e verdadeira que compartilhamos juntos. A Thaliny agradeço por ter sido como uma irmã, pelos momentos que vivenciamos fora e dentro da faculdade que foram inesquecíveis. Espero que esse laço entre nós quatro nunca se solte.

Agradeço a minha orientadora Prof.(a) Dr.(a) Solange Teresinha Carpes, por ter sido a melhor orientadora de IC, estágio e TCC que eu poderia ter, por todo apoio, por ser amiga, pelos conselhos, presentes que compartilhamos e principalmente momentos bons e ruins que vivenciamos juntas durante minha trajetória acadêmica. Acho que foi Deus que te colocou para ser tudo isso em minha vida, pois acredite se não fosse por ela eu não teria motivos para estar terminando o curso, uma pessoa maravilhosa e empática.

Agradeço em especial a Prof.(a) Dr.(a) Simone Beux por ser além de professora, uma pessoa humilde e maravilhosa, pelo apoio sobre o TCC, por se preocupar comigo e principalmente por ser empática, espero que nunca perca essa sua essência, pois os alunos que virão também vão precisar de uma professora amiga como você.

Aos meus amigos Mateus Bortoluzzi e Iago Gil que me ajudaram muito no meu TCC, principalmente o Mateus que tirava seu tempo me ajudando no laboratório e deixar o momento da pesquisa tão leve quando tudo estava tenso.

Gostaria de deixar registrado também, o meu reconhecimento à Edenes e ao Everton responsáveis pelos laboratórios pelo apoio e conselhos.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização desta pesquisa e durante minha trajetória dentro da faculdade. Terei gratidão eterna a todos citados e aos que não citei, mas me ajudaram de alguma forma.

A felicidade não entra em portas trancadas.
(CHICO XAVIER).

RESUMO

O iogurte é um dos principais produtos lácteos consumidos mundialmente, por apresentar benefícios nutricionais e a saúde. O mel de abelhas sem ferrão naturalmente apresenta compostos antioxidantes, perfil específico de açúcar e características sensoriais únicas. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo elaborar quatro formulações. A formulação IP foi considerada como formulação de iogurte padrão (sem adição de antioxidantes), o iogurte da formulação IM3 continha 3% de mel, a formulação IM5 foi adicionado 5% de mel. A quarta formulação IBHT continha antioxidante comercial BHT (Hidroxitolueno de butila). As formulações de iogurte foram analisadas quanto ao teor de bactérias lácticas (*Lactococcus* e *Lactobacillus*) e oxidação lipídica a cada 15 dias ao longo de 45 dias a temperatura de refrigeração (6°C). Inicialmente o extrato de mel foi analisado quanto ao teor de compostos fenólicos totais (CFT) pelo método de Folin Ciocalteau e expresso em EAG.g⁻¹ (EAG: Equivalente em ácido gálico) e a atividade antioxidante (AA) determinada pelos métodos DPPH e ABTS expressos em equivalente de Trolox (ET. g⁻¹). O poder redutor do ferro (FRAP) foi também determinado no extrato de mel e expresso em Fe²⁺.g⁻¹). As quatro formulações de iogurte foram submetidas a análises de viabilidade das bactérias lácticas, pH e determinação de oxidação lipídica (TBARS). O extrato de mel apresentou teores de 3,21x10⁻⁶ mg EAG.g⁻¹ (CFT), 0,37 mmol de ET. g⁻¹ (DPPH), 88,86 mmol de ET. g⁻¹ (ABTS) e 44,62 μmol Fe²⁺. g⁻¹ (FRAP). Os iogurtes apresentaram valores de pH que variaram de 4,32 a 4,6 e esses resultados foram de acordo com a legislação brasileira vigente durante o tempo de estocagem. A presença de bactérias lácticas ficou abaixo do limite preconizado pela Legislação Brasileira que é de 10⁷ a partir de 15 dias de estocagem. Nas análises de oxidação lipídica as formulações acrescidas com mel demonstram resultados satisfatórios até os 45 dias de estocagem em comparação as formulações que não foram adicionadas mel. De acordo com a legislação vigente, nem todas as análises apresentaram resultados esperados nos parâmetros estabelecidos, sugerindo refazer as formulações e novas análises para melhor resultado do produto.

Palavras-chave: Antioxidantes; bactérias lácticas; iogurte; mel.

ABSTRACT

Yogurt is one of the main dairy products consumed worldwide, due to its nutritional and health benefits. Honey from stingless bees naturally features antioxidant compounds, a specific sugar profile and unique sensory characteristics. Thus, the present work aimed to elaborate four formulations. The IP formulation was considered as a standard yogurt formulation (without added antioxidants), the IM3 formulation yogurt contained 3% honey, the IM5 formulation had 5% honey added. The fourth IBHT formulation contained commercial antioxidant BHT (butyl hydroxytoluene). Yoghurt formulations were analyzed for lactic bacteria (*Lactococcus* and *Lactobacillus*) content and lipid oxidation every 15 days over 45 days at refrigeration temperature (6°C). Initially, the honey extract was analyzed for the content of total phenolic compounds (TFC) by the Folin Ciocalteu method and expressed in EAG.g⁻¹ (EAG: Equivalent in gallic acid) and the antioxidant activity (AA) determined by the DPPH and ABTS expressed in Trolox equivalent (ET. g⁻¹). The iron reducing power (FRAP) was also determined in the honey extract and expressed as Fe²⁺.g⁻¹). The four yogurt formulations were subjected to lactic acid bacteria viability, pH and lipid oxidation determination (TBARS) analyses. The honey extract showed contents of 3,21x10⁻⁶ mg EAG.g⁻¹ (CFT), 0,37 mmol of ET. g⁻¹ (DPPH), 88,86 mmol ET. g⁻¹ (ABTS) and 44,62 μmol Fe²⁺. g⁻¹ (FRAP). Yoghurts had pH values ranging from 4,32 to 4,6 and these results were in accordance with current Brazilian legislation during storage time. The presence of lactic bacteria was below the limit recommended by Brazilian legislation, which is 10⁷ after 15 days of storage. In the analysis of lipid oxidation, the formulations added with honey showed satisfactory results up to 45 days of storage compared to the formulations that were not added with honey. According to current legislation, not all analyzes showed expected results in the established parameters, suggesting redoing the formulations and new analyzes for better product results.

Keywords: Antioxidants; honey; lactic acid bacteria; yogurt.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Média e variação dos componentes do leite de bovinos	Erro! Indicador não definido.
Figura 2 - Fluxograma do processo de fabricação das formulações de iogurtes	Erro! Indicador não definido.
Figura 3 – Curva padrão de TBARS	Erro! Indicador não definido.
Figura 4- Curva padrão de ácido gálico	23
Figura 5 - Curva padrão de Trolox - DPPH	24
Figura 6- Curva padrão de Trolox 2000 μM- ABTS	25
Figura 7- Curva padrão de sulfato ferroso 2000 μM	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulação do iogurte acrescido de mel de abelha Jataí.....	Erro!
Indicador não definido.	
Tabela 2 - Resultados das análises de antioxidantes e compostos fenólicos do extrato de mel.	Erro! Indicador não definido.7
Tabela 3 - Aferição do pH durante 42 do iogurte elaborado com e sem adição de mel e adição de antioxidante comercial (BHT) em sua formulação.....	28
Tabela 4 - Resultados referentes às análises de TBARS (mg de malonaldeído. g⁻¹) nos diferentes períodos de armazenamento e nas diferentes formulações do iogurte	29
Tabela 5 - Contagem de bactérias lácticas (<i>Streptococcus salivarius subsp. Thermophilus</i>) nos diferentes períodos de armazenamento e nas diferentes formulações do iogurte.....	30
Tabela 6 - Contagem de bactérias lácticas (<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus</i>) nos diferentes períodos de armazenamento e nas diferentes formulações do iogurte.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
FRAP	Potencial antioxidante de redução do ferro
ABTS	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
DPPH	1,1-difenil-2-picrihidrazil
EAG	Equivalente de ácido gálico
BHT	Hidroxitolueno de butila
BHA	Hidroxianisol de butila
UFC	Unidade formadora de colônia
MRS	Agar de Man, Rogosa e Sharpe
pH	Potencial hidrogeniônico
AA	Atividade antioxidante
TE	Equivalente em Trolox
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo Geral	15
2.2	Objetivos Específicos	15
3	REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1	Leite	16
3.2	Iogurte	16
3.3	Mel de abelha Jataí (<i>Tetragonisca angustula</i>)	17
3.4	Atividade antioxidante	18
4	MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1	Obtenção do leite e mel	19
4.2	Formulação do iogurte	19
4.3	Preparo do extrato de mel	20
4.4	Análises físico-químicas do iogurte	20
4.4.1	Avaliação da estabilidade físico-química	20
<u>4.4.1.1</u>	<u>Determinação do pH</u>	<u>20</u>
<u>4.4.1.2</u>	<u>Determinação de substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS)</u>	<u>21</u>
<u>4.4.1.3</u>	<u>Determinação de fenólicos totais e determinação do teor da atividade antioxidante pelo método DPPH, ABTS e FRAP</u>	<u>22</u>
4.5	Análises microbiológicas do iogurte	25
4.5.1	Avaliação da viabilidade celular da cultura láctea do produto desenvolvido	25
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	26
5.1	Determinação de antioxidantes e compostos fenólicos no mel	26
5.2	Determinação do pH	27
5.3	Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS)	27
5.4	Viabilidade das bactérias lácticas	28
6	CONCLUSÃO	31
	REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

O iogurte é um produto obtido por meio da fermentação láctica realizada pelos micro-organismos *Lactobacillus del bruecke subsp. bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* que exercem ação sobre a lactose do leite que é convertida em ácido láctico. Tem sido observado que a produção de iogurte e outros tipos de leites fermentados tem crescido significativamente no mercado brasileiro (OLIVEIRA *et al.*, 2019), podendo ser comercializado de forma natural, aromatizados e utilização de polpas e pedaços de frutas.

Os *Lactobacillus*, são utilizados para a conservação de alimentos por intermédio da fermentação durante milhares de anos. Eles exercem uma função dupla, visto que além de agir como agentes fermentadores de alimentos e também agregam benefícios à saúde. Contribuem com o sabor e aroma dos alimentos fermentados pela produção de compostos voláteis (KOMATSU *et al.*, 2008).

A formação de ácido láctico reduz o pH, selecionando o tipo de microrganismo capaz de se desenvolver, provocando a hidrólise enzimática bacteriana que melhora a biodisponibilidade das proteínas e gordura, aumentando a digestibilidade do produto (TAMIME; ROBINSON, 2000; OLIVEIRA, 2006). Além disso, a hidrólise enzimática amplifica a biodisponibilidade dos minerais como cálcio, zinco, cobre, fósforo, ferro e manganês. Com relação as vitaminas, há um aumento na concentração de ácido fólico, riboflavina e niacina, vitaminas do complexo B (GOMES; MALCATA, 1999; TAMIME; ROBINSON, 2007).

As bebidas lácteas quando adicionadas de mel em sua composição apresentam considerado potencial nutricional, em função de suas propriedades antioxidantes, devido ao alto teor de ácidos fenólicos e flavonoides (NAMIKI, 1990; SIMIC; JAVANOVIC, 1994). Namiki (1990) e Simic e Javanovic (1994) reportaram em seus estudos, agentes naturais antioxidantes presentes no mel. Todavia sabe-se que o mel apresenta atividade antibacteriana, sendo necessária a avaliação de sua utilização em um produto, pois deve ter 1×10^7 mínima de células viáveis por grama até o final de sua validade de acordo com a Legislação Brasileira.

Neste estudo o objetivo do trabalho é desenvolver e avaliar um produto com uma maior estimativa de tempo de vida de prateleira, devido ao acréscimo do mel de abelha-Jataí (*Tetragonisca angustula*) em sua formulação.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Elaborar um produto lácteo fermentado com um potencial redutor de oxidação lipídica, para obter um tempo de vida maior de prateleira e agregar a saúde do consumidor.

2.2 Objetivos Específicos

- Elaboração de formulações de iogurte acrescido de mel de abelha-Jataí (*Tetragonisca angustula*);
- Caracterização do mel, por meio de teor de compostos fenólicos e antioxidantes por três métodos (DPPH, ABTS e FRAP);
- Avaliação da viabilidade microbiológica do produto durante o armazenamento por meio de análise de determinação de bactérias lácticas;
- Avaliação da oxidação lipídica (TBARS) dos iogurtes elaborados.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Leite

De acordo com o Decreto nº 1.812 de 08/02/1952, o leite, sem outra especificação, é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outras espécies de animais deve conter o nome da espécie de que proceda (BRASIL, 1952).

O leite bovino é composto por água, gordura, proteínas, lactose, minerais e vitaminas, possui uma composição complexa. Sua composição e propriedades físicas variam de acordo com a espécie. Os componentes do leite, com exceção da água, constituem os sólidos totais e são responsáveis pelo seu valor nutricional. Na Tabela 1 pode-se observar a composição de leite bovino.

Além dos componentes principais do leite, também podem ser encontrados no leite, em menores quantidades, outras substâncias, como enzimas, vitaminas (A, D, E, K, E e do complexo B) e gases (LONGO, 2006; TAMIME e ROBINSON, 2000).

Tabela 1. Média e variação dos componentes do leite de bovinos.

Componentes	Média (%)
Água	87,3
Gordura	3,9
Sólidos não gordurosos	8,8
Proteína	3,25
Lactose	4,6

Fonte: Adaptado de Goff, (2023).

É fundamental que o leite seja de alta qualidade para que o iogurte apresente características desejáveis e maior vida útil. Necessário que haja uma manipulação higiênica para que contenha baixa carga microbiana, além disto, não pode haver alteração de sua composição físico-química e ser isento de antibióticos e conservantes, inibidores do desenvolvimento da cultura láctica inoculadas (RODAS et al., 2001; NEIROTTI E OLIVEIRA, 1988).

3.2 Iogurte

Os primeiros iogurtes comerciais foram produzidos na França e Espanha em 1920, em 1940 nos Estados Unidos, somente em 1960 houve um aumento deste

produto devido as melhorias nas técnicas de processamento e reconhecimento da qualidade nutritiva e terapêutica (LERAYER e SALVA, 1997). No Brasil o iogurte foi introduzido nos anos 30, com a imigração europeia, a partir de um pequeno grupo de consumidores, tendo um aumento considerável a partir de 1970 (KROLOW, 2008).

Entende-se por iogurte segundo a legislação brasileira, cuja fermentação se realiza com cultivos protosimbióticos de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, de forma complementar podem ser adicionadas outras bactérias lácticas, contribuem nas propriedades do produto final (BRASIL, 2007).

O iogurte apresenta valor nutricional superior ao leite, em razão da presença de cálcio, zinco, proteína e magnésio, sendo recomendado seu consumo devido ao seu agregado valor nutricional. Recomendado especialmente a gestantes, lactantes e pessoas idosas ou que necessitam de reposição de cálcio (MEDEIROS, 2011).

Existem vários tipos de iogurte no mercado que se diferenciam ao sabor, aroma, consistência, composição, valor calórico, processo de fabricação e pós incubação (RASIC e KURMANN, 1978). A elaboração do iogurte que vem crescendo cada vez mais entre a sociedade, desde um preparo simples à um processo mais aprimorado (BARBOSA *et al.*, 2013).

3.3 Mel de abelha Jataí (*Tetragonisca angustula*)

O mel é um produto da Apicultura, de origem animal (abelhas) produzido a partir do néctar de flores ou de outras secreções. É coletado por abelhas com e sem ferrão, que utilizam o néctar das flores para sua própria alimentação, e o restante é desidratado e armazenado nos favos em suas colmeias para servir de abastecimento para posterior período de escassez (ARAUJO *et al.*, 2006).

O mel é formado basicamente por açúcares essencialmente a frutose substância mais doce que a sacarose, sendo cerca 38% frutose, 31% de glicose e outros 31% de proteínas, fibras solúveis, vitaminas, minerais e ácido fólico (SILVA *et al.* 2006). A composição do mel depende de muitos fatores tais como: espécies de abelha, natureza, solo, estado fisiológico da colônia, estado de maturação do mel, condições meteorológicas etc. (VILHENA *et al.*, 1999).

Segundo Gheldof, Wang e Engeseth (2002) e Liviu *et al.* (2009), o mel também possui atividade antioxidante, isso devido a presença de alguns compostos,

sendo os principais: ácidos fenólicos e flavonoides, os quais são dependentes da origem floral, fatores ambientais, processamento, estes compostos podem desempenhar importante papel na nutrição humana (GHELDOLF *et al.*, 2002).

A *Tetragonisca angustula* é uma abelha de pequeno porte, popularmente conhecida como Jataí, possui ampla distribuição geográfica no Brasil. É possível obter de 0,5 a 1,5 L de mel/ano de colônias fortes (NOGUEIRA-NETO, 1997). Embora produza mel em menor quantidade do que as abelhas com ferrão (*Apis mellifera*), obtém-se um produto diferenciado do mel, pela sua doçura e aroma (CARVALHO *et al.*, 2005).

O mel de *A. melífera* apresenta diferença em alguns parâmetros físico-químicos ao mel das abelhas sem ferrão do Brasil. Um dos principais parâmetros a umidade bastante elevada, tornando-o menos denso que o mel das abelhas africanizadas, exigindo cuidados quanto à sua conservação (AZEREDO *et al.*, 2000).

3.4 Atividade antioxidante

Os antioxidantes atualmente utilizados nas indústrias de alimentos em sua maioria são sintéticos, os mais aplicados são hidroxianisol de butila (BHA) e o hidroxitolueno de butila (BHT), por apresentar estabilidade em vários alimentos, custos menores e manter a qualidade do sabor dos alimentos. No entanto, alguns estudos mostraram que o consumo desses antioxidantes sintéticos causa riscos à saúde humana (FERNANDES, 2019).

Compostos bioativos derivados das proteínas do leite, além da importância nutricional, estão vinculados a atividade biológicas, como a ação antioxidante. O leite, devido às proteínas β e κ -caseínas, é capaz de ser um substrato único para liberação de peptídeos bioativos por meio da fermentação de bactérias ácido lácticas (ELFAHRI *et al.*, 2016; NAMDARI; NEJATI, 2016).

A oxidação afeta a qualidade dos alimentos, provocando alterações nutricionais e sensoriais nos alimentos, além de reduzir a vida útil do produto (HERNÁNDEZ-LEDESMA; AMIGO, 2004). Várias reações de oxidação envolvem componentes alimentares como carboidratos, proteínas e lipídeos (SAH *et al.*, 2017). Os antioxidantes naturais têm se estendido para proteínas e peptídeos de origem animal e vegetal que dependendo podem possuir atividade antioxidante significativa (DAMASCENO *et al.*, 2016; NOVAES *et al.*, 2014).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Obtenção do leite e mel

O leite de vacas mestiças e o mel da abelha Jataí empregado neste trabalho foram adquiridos em uma propriedade rural localizada na cidade de Itapejara D'Oeste, na região sudoeste do Paraná. O mel coletado no mês de janeiro, o açúcar tipo cristal obtido no comércio local e o fermento (YO MIX 496 LYO 100 DCU) e o antioxidante comercial (BHT) cedidos pela professora orientadora Solange Teresinha Carpes.

4.2 Formulação do iogurte

Foram elaboradas quatro formulações (Tabela 2) codificadas como: IP, IM3, IM5, IBHT. Na formulação IP (iogurte padrão), usada como padrão sem adição de mel e antioxidante comercial (Hidroxitolueno de butila- BHT). Para as formulações IM3 e IM5 iogurte com adição de mel de 3 e 5% em relação ao volume de leite, respectivamente. A formulação IBHT iogurte com adição do antioxidante comercial (BHT) na concentração de 1% e sem adição do mel, usado para comparação nas formulações IM3 e IM5.

Tabela 2. Formulação do iogurte acrescido de mel de abelha Jataí.

Leite Fermentado	Leite pasteurizado (L)	Açúcar comercial (g)	Mel (g)	Fermento lácteo (g)	Antioxidante comercial (BHT) (g)
IP	1,0	100	-	0,015	-
IM3	1,0	70	30	0,015	-
IM5	1,0	50	50	0,015	-
IBHT	1,0	100	-	0,015	0,01

IP= Sem adição de mel e antioxidante comercial (BHT). IM3= Adição de 3% de mel. IM5= Adição de 5% de mel. IBHT= Adição do antioxidante comercial (BHT).

Fonte: Autoria própria, 2023.

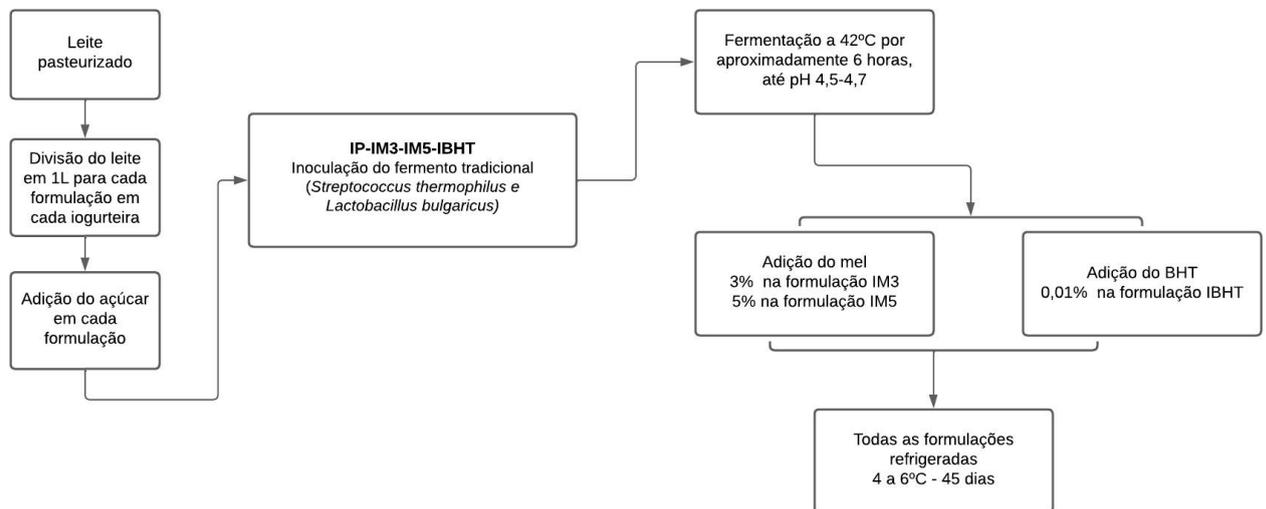
Para o processamento do iogurte com e sem mel (Figura 1), o leite foi pasteurizado a 95 °C por 5 minutos em uma panela e resfriado a 45 °C. Após o resfriamento a inoculação da cultura “starter” foi procedida com YO MIX 496 LYO 100 DCU (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*). O leite foi transferido para uma iogurteira elétrica que mantém a temperatura a 42 °C (Izumi®) por aproximadamente 6 horas até o pH chegar a 4,5-4,7. Após a fermentação láctea, ocorreu a adição do mel e do antioxidante comercial (BHT).

Figura 1. Fluxograma do processo de fabricação das formulações de iogurtes.

Fonte: Autoria própria, 2023

4.3 Preparo do extrato de mel

Para o preparo do extrato metanólico foram pesados 3,0g de mel de abelhas Jataí em um tubo Falcon e adicionado posteriormente após a pesagem 15mL de metanol P.A, homogeneizado em vortex e colocado em banho-maria a 70°C, por 30 minutos. Em seguida a filtração do extrato em papel filtro e os sobrenadantes transferidos em outro tubo Falcon. Após houve a realização das análises de antioxidantes (DPPH, ABTS, FRAP) e compostos fenólicos totais do extrato metanólico de mel.



4.4 Análises físico-químicas do iogurte

4.4.1 Avaliação da estabilidade físico-química

A estabilidade físico-química avaliou-se através das determinações de pH, e oxidação lipídica com a determinação de substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS). As análises foram realizadas durante 45 dias, nos dias 0, 15, 30 e 45. Sendo todas as análises realizadas em triplicata.

4.4.1.1 Determinação do pH

Após os iogurtes prontos foram aferidos o pH a cada 7 dias, durante 42 dias, utilizando pHmetro de bancada, modelo Simpla PH140, previamente calibrado.

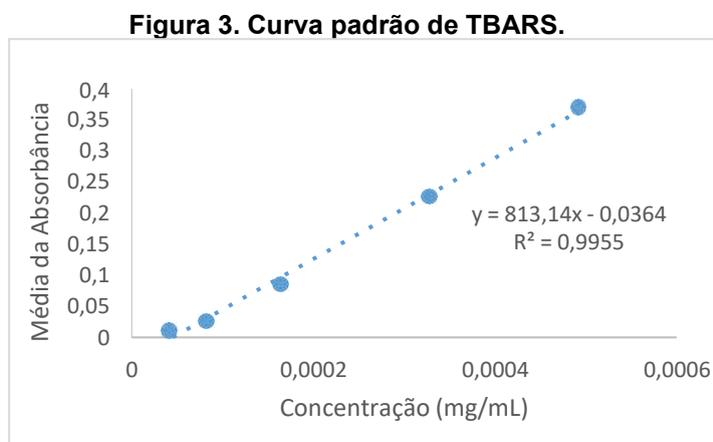
4.4.1.2 Determinação de substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A oxidação lipídica avaliou-se por meio da determinação de substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS). Os leites fermentados armazenados durante 45 dias em refrigeração, nos dias 0, 15, 30 e 45 que se realizaram as análises pelo método adaptado de Miyagusku *et al.* (2007).

A curva padrão realizou-se através dos preparos das soluções de Ácido tiobarbitúrico (TBA 0,02 M), ácido tricloro acético (TCA 7,5%) e tetrametoxipropano (TMP) (figura 3). Adicionado as soluções em tubo de ensaio com rosca de acordo com as concentrações de $1,64 \times 10^{-4}$ a $6,56 \times 10^{-4}$. Após, os tubos mantidos em banho-maria (95°C) por 40 minutos e posteriormente realizada a leitura em espectrofotômetro em 538 nm.

Para analisar a amostra foram pesados 5g do iogurte em triplicata em tubos Falcon, adicionado 25mL de TCA 7,5% e homogeneizado em ultraturrax por 1 minuto. Em seguida filtrado a vácuo, posteriormente, 4 mL do filtrado adicionados em tubo Falcon com tampa, adicionado 1 mL de TCA 7,5% e 5 mL de TBA 0,02 M. Com os tubos tampados homogeneizou-se em vórtex e colocados em banho-maria (95°C) durante 40 minutos.

Após os 40 minutos estabelecidos, as amostras são retiradas do banho-maria e transferida em um banho de gelo até temperatura ambiente e levadas para a realização das leituras em espectrofotômetro UV-visível Kasvi k37. Para a leitura da absorbância em 538 nm o aparelho será zerado com uma solução branco de 5 mL de TBA mais 5 mL de TCA 7,5%.

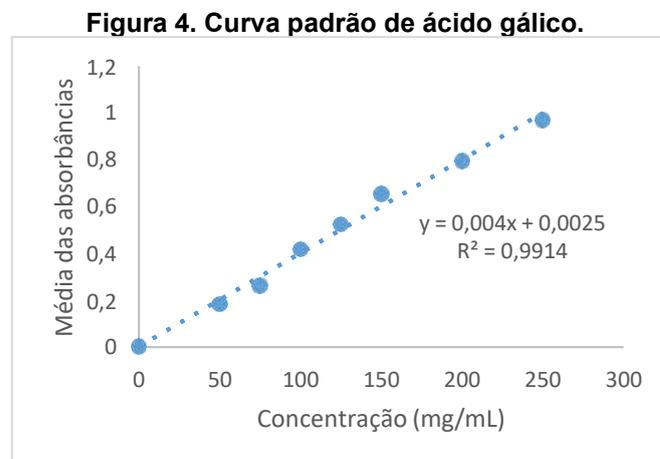


Fonte: autoria própria, 2023.

4.4.1.3 Determinação de fenólicos totais e determinação do teor da atividade antioxidante pelo método DPPH, ABTS e FRAP.

O método aplicado para determinar o teor dos compostos fenólicos totais com a curva padrão de ácido gálico (Figura 4), utilizando a metodologia espectrofotométrica de Folin Ciocalteu. Nesta reação, o reagente é oxidado e ocorrerá a formação da coloração azul que se forma na reação em meio alcalino. Para essa tal condição ocorrer necessita-se da utilização da adição de uma solução de bicarbonato de sódio. Essa formação, pode ser detectado espectrofotometricamente.

Para o preparo da determinação de fenólicos totais nas amostras foram transferidos 500 µL do extrato de mel em tubos Falcon e adicionados 2,5 mL da solução de Folin Ciocalteu 10%. Após o repouso de 5 minutos, foram adicionados 2,0 mL da solução de bicarbonato de sódio 4%, as soluções foram homogeneizadas em vórtex e colocadas em repouso ao abrigo da luz em temperatura durante 2 horas. Posteriormente, após o repouso, foram realizadas as leituras da absorbância a 740nm (NACZK *et al.*, 2004). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

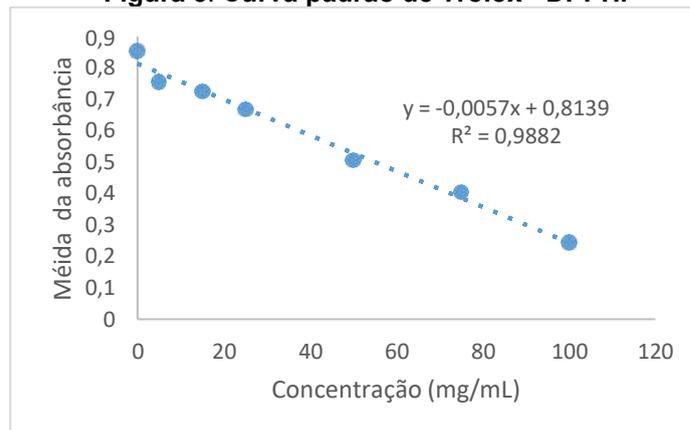


Fonte: autoria própria, 2023.

A capacidade antioxidante é determinada pela redução do radical estável DPPH* (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) pelos antioxidantes presentes na amostra, com a curva padrão de uma solução de Trolox (Figura 5). O Trolox é uma substância proveniente da vitamina E (α -tocoferol), solúvel em água e etanol. Seu potencial antioxidante é capaz de reagir com o DPPH* (FORREST *et al.*, 1994).

Foram elaboradas soluções de DPPH[•] 0,5mM e de Trolox 1000 µM de concentrações. A curva padrão de Trolox foi adquirida empregando o tempo de reação de 30 minutos (SCHUBERT *et al.*, 2007). As leituras com absorbância realizadas a 517nm, com a realização da amostra branco com 500 µL de etanol P.A, as análises foram feitas em triplicata. Do mesmo modo houve a realização da determinação do teor da atividade antioxidante na amostra, foram transferidos 500 µL do extrato de mel em tubos de Falcon, com a adição de 2,8 mL de etanol P.A e 500 µL da solução de DPPH[•], após homogeneizadas em vórtex. Os valores da determinação do teor da atividade antioxidante das amostras são expressos em gráfico, sendo as concentrações das amostras no eixo (X) e respectivamente as absorbâncias no eixo (Y).

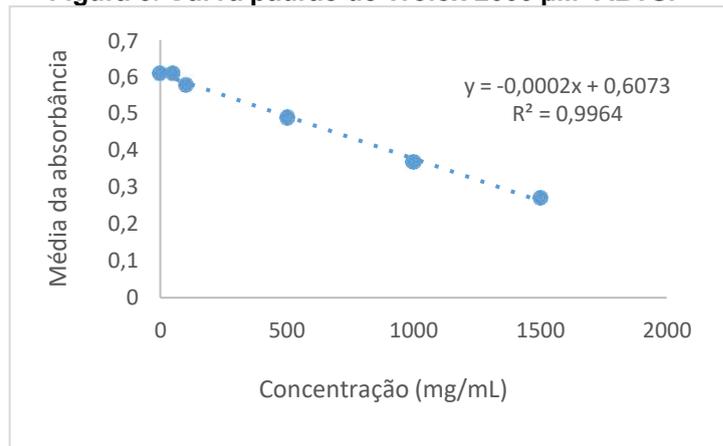
Figura 5. Curva padrão de Trolox - DPPH.



Fonte: autoria própria, 2023.

A capacidade da atividade de captura de radical livre ABTS foi medida pelo método de (ARNAO, *et al.*, 2001) com a curva padrão de Trolox 2000µM (Figura 6).

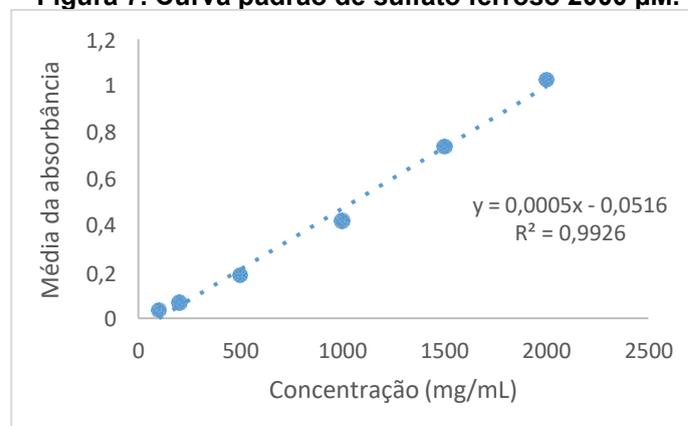
O radical ABTS foi gerado por 5,0 mL de solução-estoque de ABTS 7mM com 88,0 µL de solução de persulfato de potássio 140 mM. A solução foi deixada em repouso, no escuro, durante 16 h, à temperatura ambiente. A solução de ABTS foi diluída em etanol até obter-se uma absorbância de 734 nm. Para a atividade antioxidante foram transferidos 30 µL do extrato de mel, adicionados 3 mL da solução de ABTS corrigida e homogeneizada em vórtex. Após 6 min de repouso em local com abrigo da luz, as leituras a 743nm foram registradas. Com os dados das leituras e a equação da reta da curva padrão pode-se obter o teor de antioxidantes do extrato de mel. Análises realizadas em triplicata.

Figura 6. Curva padrão de Trolox 2000 µM- ABTS.

Fonte: autoria própria, 2023.

A atividade antioxidante para a redução do ferro foi procedida pelo método de (FIRUZI *et al.*, 2005), com a curva padrão de sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 2000µM (figura 7).

A solução do reagente FRAP foi preparada por adição de 50 mL de tampão acetato 0,3 M a 5 mL de cloreto férrico hexa-hidratado 20,0 mM e 5 mL de TPTZ 10,0 mM. Em um tubo de ensaio, 90 µL da amostra do extrato foram transferidas e adicionadas a 270 µL de água destilada e 2,70 ml de reagente FRAP. Homogeneizadas em vórtex, após 30 min de banho-maria a 37° C, as leituras de absorbância foram realizadas a 595 nm. O potencial antioxidante dos extratos do mel, foi determinado com base em uma curva padrão com a equação de reta realizado os cálculos posteriormente. Análises todas realizadas em triplicata.

Figura 7. Curva padrão de sulfato ferroso 2000 µM.

Fonte: autoria própria, 2023.

4.5 Análises microbiológicas do iogurte

4.5.1 Avaliação da viabilidade celular da cultura láctea do produto desenvolvido

A análise de viabilidade celular da cultura láctea do iogurte seguiu o Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos (SILVA *et al.*, 2007).

A viabilidade celular das bactérias lácticas determinou-se pela contagem total de células viáveis em placas. Diluições de 10^{-1} a 10^{-5} da amostra foram realizadas em água peptonada 0,1% (m/v), para que seja possível a contagem das colônias. Assim, 1 mL de amostra, nas diluições estabelecidas, inoculou-se pela técnica de Pour Plate em placa de Petri com meio ágar para a contagem de bactérias lácticas, Man, Rogosa e Sharpe (MRS). As placas foram invertidas e incubadas em jarras de anaerobiose, contendo gerador de atmosfera CO_2 , dentro de uma estufa a $38\text{ }^\circ\text{C}$ por 72 horas (KEMPKA *et al.* 2008).

Para a viabilidade microbiológica de *Streptococcus thermophilus*, utilizou-se como meio o ágar M17, utilizando as mesmas diluições de 10^{-1} a 10^{-5} da amostra foram realizadas em água peptonada 0,1% (m/v), inoculou-se 0,1 ml/placa de cada diluição pelo método de plaqueamento em superfície. As placas foram invertidas e colocadas em estufa microbiológica a 40°C por 48 horas. A confirmação do crescimento das colônias realizou-se através da contagem das bactérias lácticas encontradas nas placas de Petri após o tempo estipulado pelo manual e expressa em unidade formadora de colônia por grama (UFC/g).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Determinação de antioxidantes e compostos fenólicos no mel

O extrato do mel foi analisado buscando quantificar a atividade antioxidante e compostos fenólicos. Os resultados obtidos nas análises realizadas podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados das análises de antioxidantes e compostos fenólicos do extrato de mel.

Amostra	Fenólicos (mg EAG*.g ⁻¹)	DPPH (mmol de Trolox. g ⁻¹)	ABTS (mmol de Trolox. g ⁻¹)	FRAP (μmol Fe ²⁺ . g ⁻¹)
Mel	3,21x10 ⁻⁶ ±1,18x10 ⁻⁷	0,37±0,02	88,86±7,47	44,62±3,75

*EAG- Equivalente em ácido gálico. IP= Sem adição de mel e antioxidante comercial (BHT). IM3= Adição de 3% de mel. IM5= Adição de 5% de mel. IBHT= Adição do antioxidante comercial (BHT).

Fonte: Autoria própria, 2023.

A quantidade de compostos fenólicos totais por grama da amostra de extrato metanólico do mel analisado foi de 3,21x10⁻⁶ mg EAG (equivalente em ácido gálico) /g. Resultado calculado a partir da equação da reta da curva padrão de ácido gálico $y = 0,004x + 0,0025$, $R^2 = 0,9914$ e pela leitura das absorvâncias no espectrofotômetro.

Na análise do teor da atividade antioxidante pelo método DPPH que consistiu em resultado de 0,37 mmol TE (equivalente em Trolox)/g de mel. Valor foi calculado com base na curva padrão de Trolox com a equação da reta $y = -0,0057x + 0,8139$, $R^2 = 0,9882$ e absorvâncias lidas no espectrofotômetro a 517 nm. Na análise de atividade antioxidante pelo método DPPH do extrato metanólico, foi possível observar um valor consideravelmente baixo para o extrato de mel.

A quantia de ABTS por grama da amostra de extrato metanólico de mel foi de 88,86 mmol TE (equivalente em Trolox) /g de mel. Resultado calculado a partir da equação da reta da curva padrão de Trolox 2000μM $y = -0,0002x + 0,6073$, $R^2 = 0,9964$ e pelas leituras das absorvâncias no espectrofotômetro.

O método FRAP é realizado para observar o potencial de redução das amostras, por reações de transferências de elétrons. A quantidade de FRAP por grama da amostra de extrato metanólico do mel analisado foi de 44,62 μmol Fe²⁺.g⁻¹. Resultados calculados a partir da equação da reta da curva padrão de sulfato ferroso $y = 0,0005x - 0,0516$, $R^2 = 0,9926$ e pelas leituras das absorvâncias no espectrofotômetro.

Os valores encontrados para as análises de teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP, foram consideravelmente baixos para o mel, obtendo a conclusão que o mel analisado e adicionado no iogurte não possuindo uma significativa atividade antioxidante. A capacidade de atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos presentes no mel variam em função das procedências florais utilizadas pelas abelhas durante a coleta e como também de outros aspectos os fatores climáticos predominantes no local (MENEZES *et al.*, 2010; SHUEL, 2010).

5.2 Determinação do pH

O pH, desempenha um papel na segurança alimentar, principalmente nos alimentos que apresentam alto teor de água livre, proteínas e lipídeos em sua composição, devido aos seus valores altos que podem induzir o crescimento e desenvolvimento de microrganismos patogênicos (LOPER *et al.*, 2022).

Tabela 3. Aferição do pH durante 42 do iogurte elaborado com e sem adição de mel e adição de antioxidante comercial (BHT) em sua formulação.

Amostra	Armazenamento						
	(0 dias)	(7 dias)	(14 dias)	(21 dias)	(28 dias)	(35 dias)	(42 dias)
IP	4,6	4,55	4,45	4,50	4,45	4,43	4,42
IM3	4,6	4,48	4,39	4,48	4,43	4,37	4,35
IM5	4,5	4,48	4,41	4,46	4,42	4,35	4,32
IBHT	4,6	4,57	4,45	4,51	4,42	4,42	4,40

IP= Sem adição de mel e antioxidante comercial (BHT). IM3= Adição de 3% de mel. IM5= Adição de 5% de mel. IBHT= Adição do antioxidante comercial (BHT).

Fonte: Autoria própria, 2023.

Analisando os valores médios de pH dos iogurtes, Carvalho *et al.* (2019); Fagnani e Boniattic (2020) e Silva *et al.*, 2021: onde mencionam valores de pH, variando de 3,8 a 4,7, que comparados aos aferidos correspondem entre os valores dos iogurtes elaborados e analisados. Portanto, todas as formulações enquadraram-se na faixa entre 3,6 e 4,5, recomendada para iogurtes (BRASIL, 2007).

5.3 Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS)

As análises de TBARS foram realizadas nos tempos 0, 15, 30 e 45 dias, de armazenamento sob refrigeração, nas quatro formulações do iogurte, os resultados expressos na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados referentes às análises de TBARS (mg de malonaldeído. g⁻¹) nos diferentes períodos de armazenamento e nas diferentes formulações do iogurte.

Amostra	Armazenamento			
	(0 dias)	(15 dias)	(30 dias)	(45 dias)
IP	233,81±40,94	277,56±11,94	226,31±11,36	461,28±21,03
IM3	323,81±3,13	195,06±1,92	148,81±3,63	265,06±24,40
IM5	337,56±16,28	267,50±26,45	137,56±15,89	303,81±15,85
IBHT	310,06±18,28	272,56±16,09	276,28±27,41	411,31±5,08

± desvio padrão. IP= Sem adição de mel e antioxidante comercial (BHT). IM3= Adição de 3% de mel. IM5= Adição de 5% de mel. IBHT= Adição do antioxidante comercial (BHT).

Fonte: A autoria própria, 2023.

Nos tempos 0 e 15 não houve uma grande diferença entre as formulações IM5 e IBHT, já nos tempos 15, 30 e 45 as formulações IP e IBHT mais próximas em seus valores. Para a formulação IP não houve diferença considerável entre os tempos 0, 15 e 30 dias, no entanto no tempo 45 dias percebeu-se uma diferença expressiva em seu valor. Para a formulação IM3 houve diferença em todos os tempos. Na formulação IM5 observou-se diferença nos tempos 15 e 30 dias, já nos tempos 0 e 45 dias não houve diferença entre seus valores. Para a formulação IBHT não houve variação significativa nos tempos 15 e 30 dias, porém nos tempos 0 e 15 dias constatou discrepância nos valores.

Em relação ao temp 45 dias nota-se que a formulação IM3 apresentou no apresenta um menor valor em comparação as outras formulações. Considerando o tempo de armazenamento de 45 dias as amostras IP sem adição de mel e antioxidante comercial e a amostra IBHT com adição de antioxidante comercial se demonstraram com maior quantidade de malonaldeído, no entanto as formulações IM3 composta por 3% de mel e IM5 apresentaram os menores resultados da análise (quanto menor quantidade de malonaldeído, menor quantidade de oxidação lipídica), o que pode indicar que o mel e seus componentes bioativos inibiram a formação de malonaldeído e oxidação do produto, demonstrando-se eficiente de forma natural contra a oxidação lipídica.

5.4 Viabilidade das bactérias lácticas

Os valores médios unidade formadora de colônia por grama (UFC/g) das contagens de bactérias lácticas está apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Contagem de bactérias lácticas (*Streptococcus salivarius subsp. Thermophilus*) nos diferentes períodos de armazenamento e nas diferentes formulações do iogurte.

Amostra	Armazenamento			
	(0 dias) UFC/g*	(15 dias) UFC/g*	(30 dias) UFC/g*	(45 dias) UFC/g*
IP	4,83x10 ⁶	4,19x10 ⁶	4,42x10 ⁶	-
IM3	5,27x10 ⁶	4,31x10 ⁶	7,95x10 ⁶	-
IM5	2,87x10 ⁷	1,35x10 ⁷	2,24x10 ⁶	-
IBHT	1,95x10 ⁶	2,63x10 ⁶	3,93x10 ⁶	-

*UFC/g- unidade formadora de colônia por grama. IP= Sem adição de mel e antioxidante comercial (BHT). IM3= Adição de 3% de mel. IM5= Adição de 5% de mel. IBHT= Adição do antioxidante comercial (BHT). - = Sem presença de bactérias lácticas.

Fonte: Autoria própria, 2023.

Tabela 6 – Contagem de bactérias lácticas (*Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*) nos diferentes períodos de armazenamento e nas diferentes formulações do iogurte.

Amostra	Armazenamento			
	(0 dias) UFC/g*	(15 dias) UFC/g*	(30 dias) UFC/g*	(45 dias) UFC/g*
IP	2,04x10 ⁷	1,04x10 ⁷	2,08x10 ⁶	-
IM3	1,75x10 ⁷	4,25x10 ⁵	4,2x10 ⁵	-
IM5	1,73x10 ⁷	2,44x10 ⁶	4,94x10 ⁶	-
IBHT	1,35x10 ⁶	7,45x10 ⁶	9,9x10 ⁵	-

*UFC/g- unidade formadora de colônia por grama. IP= Sem adição de mel e antioxidante comercial (BHT). IM3= Adição de 3% de mel. IM5= Adição de 5% de mel. IBHT= Adição do antioxidante comercial (BHT). - = Sem presença de bactérias lácticas.

Fonte: Autoria própria, 2023.

A contagem da viabilidade de bactérias lácticas é importante para que seja possível a verificação da estabilidade da cultura microbiana frente a condições de estocagem sob refrigeração, bem como a manutenção de adequado número de células, necessário para que o produto tenha atividade probiótica, considerando que os microrganismos que constituem o fermento empregado no iogurte são considerados probióticos (PERIN *et.al.*, 2013)

A legislação (Brasil, 2007) determina que as bactérias lácticas (*Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*) devem estar viáveis, ativas e abundantes no produto final durante seu prazo de validade,

especificando contagem mínima equivalente a 10^7 UFC/g de produto. De acordo com a tabela 6, verifica-se que amostras se encontram dentro dos padrões estabelecidos, para *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* no tempo 0, exceto para a amostra IBHT, a amostra IP se mantém dentro da legislação até o tempo 15 dias. Porém Caldeira *et al.* (2018) em seu estudo com iogurtes observou que o mel de Jataí e de abelha africana nas concentrações de 5 e 10% favoreceram na viabilidade de *L. acidophilus* LA-5 avaliados após 35 dias de armazenamento.

Nota-se de acordo com a Tabela 5 para a contagem mínima de *Streptococcus salivarius subsp. Thermophilus*, as amostras se encontram fora dos padrões estabelecidos, exceto a amostra IM5 que se manteve dentro dos padrões até 15 dias.

Alguns fatores podem ter influenciado para que a partir de 15 dias os iogurtes não se enquadrassem mais aos parâmetros segundo a legislação. A partir de 45 dias houve contaminação por fungos e leveduras na maioria das amostras, contaminação que pode estar relacionada ao ambiente de análise de viabilidade das bactérias lácticas. De acordo com Macedo *et al.*, 2008 e Gallina *et al.*, 2015 os motivos que podem interferir na qualidade do produto fermentado são por exemplo, condições de estocagem, ácidos que são produzidos durante o armazenamento, passagem do oxigênio por meio da embalagem, compostos antimicrobianos e perda de nutrientes do leite são razões que influenciam na sobrevivência da microbiota probiótica em produtos lácteos fermentados.

6 CONCLUSÃO

Atualmente há um grande interesse na incorporação de aditivos naturais ao iogurte com a finalidade de agregar sabor, aumentar a atividade antioxidante e aumentar o tempo de vida útil de prateleira, formulando um produto com características organolépticas que beneficiam a saúde do consumidor.

Apesar do extrato de mel ter apresentado uma atividade antioxidante relativamente baixa pelos métodos, sabe-se que o mel possui alta atividade antioxidante. Porém alguns fatores de composição físico-química podem ter influenciado nos resultados do presente trabalho. No entanto, ainda são necessários outros estudos para analisar melhor a composição do mel e avaliar outras metodologias para atividade antioxidante.

O iogurte desenvolvido no presente trabalho apresentou pH dentro dos parâmetros da legislação brasileira, no entanto a estabilidade do produto durante o tempo de estocagem em relação a viabilidade celular da cultura láctea não se enquadrou dentro dos parâmetros da legislação brasileira a partir de 15 dias. Contudo, foi verificado que os iogurtes adicionados com mel agiram de forma eficaz frente ao controle da oxidação lipídica durante os 45 dias de armazenamento.

Os resultados deste trabalho representam contribuição, uma vez que há poucos estudos sobre a elaboração de iogurte com mel de abelhas Jataí. Além disso, os resultados do presente estudo podem contribuir para a elaboração de novas formulações e pesquisas futuras.

REFERÊNCIAS

ARAUJO, Dyalla R. D.; SILVA, Roberto H. D. D.; SOUSA, Jonas D. S. Avaliação da Qualidade físico-química do mel comercializado na cidade de Crato, CE. *Revista de Biologia e Ciências da terra*, v.6, n.1, 2006.

ARNAO, M. B.; CANO, A.; ACOSTA, M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*, London, v. 73, n. 2, p. 239-244, 2001.

AZEREDO, L. C.; AZEREDO, M. A. A.; BESER, L. B. de O. Características físico-químicas de amostras de méis de melíponas coletadas no Estado de Tocantins. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 13, 2000. Anais... Florianópolis: Confederação Brasileira de Apicultura, 2000. 1 CD-ROM.
BARBOSA, A. F.; LOPES, F. J.; SILVA, V. R. O.; SILVA, M. H. L.; MINIM, V. P. R.; SILVA, R. C. S.N. Aceitação sensorial de iogurte sabor pêssego acrescido de

BRASIL. Resolução RDC nº 30.691, de 29 de março de 1952. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. *Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 29 mar. 1952.

CALDEIRA et al.. Probiotic bacteria in bioyogurt with honey from Jataí and Africanized bees *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.53, n.2, p.206-211, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2018000200009>.

CARVALHO, G. N.; MORATO, P. N.; BENEDETTI, S. Elaboração de iogurte com adição de aveia e linhaça dourada. *Brazilian Journal of Food Research*, Campo Mourão, v. 10, n. 4, p. 105-117, out./dez. 2019.

CARVALHO, C. A. L. de et al. Mel de abelha sem ferrão: contribuição para a caracterização físico-química. *Cruz das Almas: Universidade Federal da Bahia/SEAGRI-BA*, 2005.

DAMASCENO, Carolina S. B. et al. Peptídeos Bioativos de Soja Glycine Max (L.) Merrill: uma Breve Revisão. *Revista Processos Químicos*, [s. l.], v. 10, n. 19, p. 89–98, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.19142/rpq.v10i19.350>.
diferentes concentrações de aroma e polpa por meio da técnica de mapa de

ELFAHRI, K R et al. Anti-colon cancer and antioxidant activities of bovine skim milk fermented by selected *Lactobacillus helveticus* strains. *Journal of Dairy Science*, [s. l.], v.99, n.1, p.31–40, 2016.

FAGNANI, R.; BONIATTIC, P. M. S. Formulação de Iogurte Concentrado Enriquecido com Farinha de Semente de Uva: Atividade Antioxidante e Cinética de Fermentação. *Ensaio*, v. 24, n. 2, p. 189-193, 2020.

FERNANDES, L. A. Antioxidantes naturais para aplicação em alimentos. 2019. 54f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal de Uberlândia. Patos de Minas, 2019.

FIRUZI, O.; LACANNA, A.; PETRUCCI, R.; MARROSU, G.; SASO, L. Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids by “ferric reducing antioxidant power” assay and cyclic voltammetry. *Biochimica et Biophysica Acta*, Amsterdam, v.1721, n. 1-3, p. 174-184, 2005.

FORREST, V. J.; KANG, Y.; MCCLAIN, D. E.; ROBINSON, D. H.; RAMAKRISHNAN, N. Oxidative stress-induced apoptosis prevented by trolox. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 16, n. 6, p. 675-684, 1994. DOI: 10.1016/0891-5849(94)90182-1.5.

GALLINA, D. A.; SILVA, A. T., de SOUZA TRENTO, F. K. H.; CARUSI, J. Caracterização de leites fermentados com e sem adição de probióticos e pré-bióticos e avaliação da viabilidade de bactérias lácticas e probióticas durante a vida-deprateleira. *Journal of Health Sciences*, Londrina, v. 13, n. 4, p.239-44, 2015.

GHELDOLF, Nele; WANG, Xiao-Hong; ENGESETH, Nicki J. Identification and quantification of antioxidants components of honeys from various floral sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, n. 10, p. 5870-5877, 2002.

GOMES, A. M. O.; MALCATA, F. X. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas. *Boletim de Tecnologia*, Portugal, n. 64, p. 12-22, 1999.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, B; AMIGO, L. La leche como fuente de antioxidantes naturales B. *ALIMENTACION, NUTRICION Y SALUD*, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 61–65, 2004.

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglia -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020.

KEMPKA, A. P.; KRÜGER, R.L.; VALDUGA, E.; LUCCIO, M. D.; TREICHEL, H.; CANSIAN, R.; OLIVEIRA, D. Formulação de bebida láctea fermentada sabor pêssego utilizando substratos alternativos e cultura probiótica - Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada – URI, RS, 2007.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. *Rev. Br. Ciênc. Farm.*, v.44, n.3, p.330-332, 2008.

KROLOW, A. C. R. Iogurte integral sabor café. Comunicado técnico. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, n. 193, 4p, 2008.

LONGO, G. Influência da adição de lactase na produção de iogurte. Dissertação de Mestrado, UFP, 2006.

LOPER, C., SOUZA, H., SILVA, R., PINTO, W., FURTADO, M. & IMADA, K. View of iogurte artesanal enriquecido com polpa de cupuaçu e semente de linhaça dourada /

Artisanal yoghurt enriched with cupuaçu pulp and golden flaxseed. *Brazilian Journal of Development*, v. 8, n. 4, p. 23496-23512, 2022.

MACEDO, L. N.; LUCHESE, R. H.; GUERRA, A. F.; BARBOSA, C. G. Efeito prébiótico do mel sobre o crescimento e viabilidade de *Bifidobactérias* spp. e *Lactobacillus* spp. em leite. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 28, n. 4, p.935- 942, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000400027>.

MEDEIROS, T. C; et al. Elaboração de iogurte de jaca: Avaliação físico-química, microbiológica e sensorial. *Scientia Plena* 7, 091502, 2011.

MENEZES, J. D. S.; MACIEL, L. F.; MIRANDA, M. S.; DRUZIAN, J. I. Compostos bioativos e potencial antioxidante do pólen apícola produzido por abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.). *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 69, n.2, p.233-42, 2010.

MIYAGUSKU, L.; THOMAZINI, M.; KUAYE, A. Y; CASTILLO, C. J. C. Avaliação do valor de TBARS em coxas de frangos irradiadas. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, n 66(1), p. 45-49, 2007.

NACZK M, SHAHIDI F. Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogr A* 2004;1054 (1/2): 95-111.

NAMDARI, Aazam; NEJATI, Fatemeh. Development of antioxidant activity during milk fermentation by wild isolates of *Lactobacillus helveticus*. *Applied Food Biotechnology*, [s. l.], v. 3, n. 3, p. 178–186, 2016.

NAMIKI, M. (1990). Antioxidants/antimutagens in food. *Journal of Nutrition*, 29 (4): 273-300.

NEIROTTI, E.; OLIVEIRA, A. J. Produção de iogurte pelo emprego de culturas lácticas mistas. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 22, nº1/2, p. 1-16, 1988.

NOGUEIRA-NETO, P. Vida e criação de abelhas indígenas sem ferrão. São Paulo: Editora Nogueirapis, 1997.

NOVAES, G M et al. Compostos antioxidantes e sua importância nos organismos. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações*, v. 11, n. 2, p. 535– 539, 2014.

OLIVEIRA, C. D.; PAULO, F. J.; OLIVEIRA, J. C. C.; FERREIRA, B. A.; RIBEIRO, B. P.; FAGUNDES, K. R. M.; CLAUDINO, T. O. Caracterização físico-química do iogurte tipo sundae sabor jabuticaba. *Brazilian Journal of Development*, v. 5, n. 6, p. 5091–5097, 2019.

OLIVEIRA, V. M. Formulação de bebida láctea fermentada com diferentes concentrações de soro de queijo, enriquecida com ferro: caracterização físico-química, análises bacteriológicas e sensoriais. 2006. 78f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2006.

PERIN, Mauricio; SACHS, Aline. Desenvolvimento e caracterização de leite fermentado acrescido de mel de abelhas melíponas (*Tetragonisca angustula*). 2013. 40f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

preferência. Rev. Inst. Latic., Cândido Tostes, nº 390, 68: 52-58, fev. 2013.

RASIC, J.; KURMANN, J. A. Yoghurt: Scientific grounds technology, manufacture & preparation. Copenhagen: Denmark; Technical Dairy Publishing House 1978. 427p.

RODAS, M. A. B.; RODRIGUES, R. M. M. S.; SAKUMA, H.; TAVARES, L. Z.; SGARBI, C. R.; LOPES, W. C. C. Physico chemical, histological and viability of lactic bacteria in yogurts containing fruit. Ciênc. Tecnol. Aliment., v. 21, n. 3, p. 304-309. 2001.

SAH, B. N. P. et al. Effect of probiotics on antioxidant and antimutagenic activities of crude peptide extract from yogurt. Food Chemistry, [s. l.], v. 156, p. 264–270, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.105>.

SCHUBERT, A.; PEREIRA, D. F.; ZANIN, F. F.; ALVES, S. H.; BECK, R. C. R.; ATHAYDE, M. R. Comparison of antioxidant activities and total polyphenolic and methylxanthine contents between the unripe fruit and leaves of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. Pharmazie, v. 62, n. 11, p. 876-880, 2007.

SHUEL, R. W. The production of néctar and pollen. In: GRAHAM, J.M. The hive and the honey bee Langstroth on the hive and the honeybee. Hamilton: Dadant e Sons, p. 401-436, 2010.

SILVA, B. M.; TROMBETE, F. M.; CARLOS, L. A.; KOBORI, C. N.; VILELA, J. E. T.; SILVA, W. A. da.; UBALDO, J. C. S. R. Elaboração e caracterização de iogurte desnatado saborizado com geleia de figo da Índia *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck. Holos, v.37, n. 1, p.1-14, 2021.

SILVA, Neusely da; et all. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 3º Edição. São Paulo - SP. Editora: Varela, 2007.

SILVA, Robson A. D. et al. Composição e propriedades terapêuticas do mel de abelha. Alimentos e Nutrição, Araraquara, v. 17, n. 1, p. 113-120, jan./mar. 2006.

SIMIC, M. G., JAVANOVIC S. V. (1994). Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis. In: Ho, C. T., Osawa, T., Huang, T. M. Rosen, R. T. (Ed.). Food phytochemicals for cancer prevention. Washington: American Chemical Society, 20-33. (ACS Symposium Series, n.546).

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. Yoghurt: Science and Technology. New York: CRC. Press. 2007. 791p.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. Yoghurt: Science and Technology. Woodhead Published Limited. Abington Hall. Cambridge, 2000. 606p.

VILHENA, E; ALMEIDA-MURADIAN, L.B. Manual de análise físico-químicas do mel. São Paulo: Apacame. 1999. 16p.