



UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA
DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS



LETÍCIA DANGUI DA SILVA

**Avaliação de compostos com atividade antioxidante de extratos de
Açaí de Juçara (*Euterpe edulis* Mart.) e aplicação em sorvete *diet*.**

DISSERTAÇÃO

Pato Branco, 2018.

LETÍCIA DANGUI DA SILVA

**Avaliação de compostos com atividade antioxidante de extratos de
Açaí de Juçara (*Euterpe edulis* Mart.) e aplicação em sorvete *diet*.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de “Mestre em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos” - Área do conhecimento: Química de Alimentos.

Professora Orientadora: Prof.^a Dr.^a
Solange Teresinha Carpes.

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Celeide Pereira



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de
Processos Químicos e Bioquímicos



TERMO DE APROVAÇÃO Nº 75

Título da Dissertação

Avaliação de compostos som atividade antioxidante de extratos de Açaí de Juçara (*Euterpe edulis* Mart.) e aplicação em sorvete *diet*

Autora

Letícia Danguí da Silva

Esta dissertação foi apresentada às 9 horas do dia 27 de julho de 2018, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM TECNOLOGIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS – Linha de pesquisa em alimentos – no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. A autora foi arguida pela Banca Examinadora abaixo assinada, a qual, após deliberação, considerou o trabalho aprovado.

Profa. Dra. Solange Teresinha Carpes
UTFPR/Pato Branco
Orientadora

Profa. Dra. Ana Paula Bilck
UEL/Londrina
Examinadora

Prof. Dr. Edimir Andrade Pereira
UTFPR/Pato Branco
Examinador

Visto da Coordenação

Prof. Dr. Edimir Andrade Pereira
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de
Processos Químicos e Bioquímicos-PPGTP

O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do PPGTP

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as bênçãos, que em muitas vezes me concedeu saúde, força física e mental para a realização deste trabalho.

À minha base, meu espelho, meu anjo da guarda, minha mãe Mara Beatriz (*in memoriam*), por todas as orações, dedicação e incentivo, obrigada por todos os momentos dedicados a mim, pelas palavras, pelos conselhos, pelo amor, pelo afeto e pela amizade.

Ao meu pai Neoclécio, que nunca deixou de me apoiar, acreditando sempre em mim e na minha formação.

Aos meus padrinhos Indioara Bordin e Dair Bordin, por todo amparo, amor e carinho dedicado a mim principalmente nos momentos mais difíceis, obrigada por me acolherem como filha, minha eterna gratidão a vocês.

À minha prima Daiara Bordin, por todo incentivo durante a realização deste trabalho, pela cumplicidade, carinho, confiança, amor e pela sua existência em minha vida.

À minha inestimável orientadora Prof^a Dr^a Solange Teresinha Carpes, pela oportunidade oferecida onde me ensinou os primeiros passos para pesquisa na graduação. Obrigada pela confiança, dedicação e atenção durante todos esses anos de trabalho.

À minha co-orientadora Prof^a Dr^a Celeide Pereira, por toda dedicação, paciência, carinho e por toda a ajuda na elaboração dos sorvetes.

Ao Prof^o Dr. Vanderlei Aparecido de Lima, por toda ajuda, paciência e palavras de incentivo.

À Professora Dr^a Ana Paula Bilck e ao Prof^o Dr. Edimir Andrade Pereira por aceitarem fazer parte da banca e contribuírem com esse trabalho.

A minha amiga Aline Poyer que esteve todos os momentos ao meu lado, obrigada pelas palavras de incentivo e por sempre me fazer acreditar que eu seria capaz.

Ao grupo de pesquisa coordenado pela Prof^a Solange (Giulia Caroline, Rafael Sari e Camila Diedrich) por toda ajuda concedida.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Bioquímicos e do Departamento de Química, da UTFPR Câmpus Pato Branco, por todo ensinamento repassado.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desta pesquisa, meus sinceros agradecimentos.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha Mãe Mara Beatriz (*in memoriam*) que nunca permitiu que eu desistisse da minha formação e dos meus sonhos.

EPÍGRAFE

*Que todos os nossos esforços estejam sempre focados no desafio à impossibilidade.
Todas as grandes conquistas humanas vieram daquilo que parecia impossível.*

(Charles Chaplin).

RESUMO

SILVA, Letícia Dangui da. **Avaliação de compostos com atividade antioxidante de extratos de Açaí de Juçara (*Euterpe edulis* Mart.) e aplicação em sorvete diet.** 2018. 80f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR, 2018.

O Açaí Juçara (*Euterpe edulis* Mart.) é uma fruta tropical, encontrada na Região da Mata Atlântica brasileira. Ele é conhecido devido ao seu alto valor nutricional e por apresentar excelente atividade antioxidante (AA). O objetivo deste trabalho foi otimizar o processo de extração, avaliar perfil dos compostos fenólicos com AA e aplicar o extrato liofilizado de Açaí Juçara (ALE) em formulações de sorvetes diet adicionados de enzimas lactase (LE) e transglutaminase (TE). Seis formulações de sorvete diet foram elaborados para avaliar a capacidade do ALE na inibição da oxidação lipídica. Neste estudo, o teor de açúcar redutor, *overrun*, textura e calorimetria foram também avaliados nos sorvetes. O teor de compostos fenólicos totais e o perfil dos composto fenólicos foi determinado pelo método de Folin-Ciocateau e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), respectivamente. A oxidação lipídica dos sorvetes foi avaliada pela substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) mensalmente durante 90 dias. O teor de açúcar redutor foi determinado pelo método de Somogy-Nelson, a textura foi avaliada por Texture Profile Analysis (TPA), enquanto que o *overrun* foi avaliado pela porcentagem de incorporação de ar no sorvete. Alto teor de compostos fenólicos totais foi encontrado no extrato liofilizado de açaí (345,32 mg EAG.g⁻¹: Equivalente em ácido gálico), sendo o ácido salicílico o composto fenólico majoritário (166,89 µg/g). O extrato apresentou forte capacidade antioxidante e inibiu 24,57% de oxidação lipídica na F1 após 90 dias de armazenamento, em comparação ao controle F4. Na análise de *overrun* todas as formulações apresentaram rendimento acima de 40%. A diferença total de cor dos sorvetes após 15 dias de armazenamento revelou que todas as formulações apresentaram diferença de cor visível a olho nu. A adição do ALE e enzimas proporcionou um produto inovador com propriedades funcionais adequadas a um sorvete diet.

Palavras-chave: TBARS, PCA, antocianinas, compostos fenólicos.

ABSTRACT

SILVA, Letícia Dangui da. **Evaluation of compounds with antioxidant activity of extracts of Açai de Juçara (*Euterpe edulis* Mart.) and application in diet ice cream.** 2018. 80f. Dissertation (Master in Technology of Chemical and Biochemical Processes) - Federal Technological University of Paraná, Pato Branco, PR, 2018.

Açai Juçara (*Euterpe edulis* Mart.) is a tropical fruit, found in the Atlantic Forest Brazilian, known for its high nutritional value and excellent antioxidant (AA) activity. The objective of this work was to optimize the extraction process, to evaluate the profile of the phenolic compounds with AA and to apply the lyophilized extract of Açai Juçara (ALE) in diet ice cream formulations added with enzymes lactase (LE) and transglutaminase (TE). Six formulations of diet ice cream were prepared to assess the ability of ALE to inhibit lipid oxidation: F1 (ALE + LE + TE), F2 (ALE), F3 (ALE + LE), F4 (LE + TE), F5 (LE + TE + BHT) and F6 (ALE + TE). In this study, the reducing sugar content, overrun, texture and calorimetry were also evaluated in the ice cream. The content of total phenolic compounds and the profile of phenolic compounds were determined by the Folin-Ciocateau method and high performance liquid chromatography (HPLC), respectively. The lipid oxidation of the ice cream was evaluated by thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) monthly for 90 days. The reducing sugar content was determined by the Somogy-Nelson method, the texture was evaluated by Texture Profile Analysis (TPA), while the overrun was evaluated by the percentage of air incorporation in the ice cream. High content of total phenolic compounds was found in the ALE (345.32 mg EAG.g⁻¹: Equivalent in gallic acid), with salicylic acid being the major phenolic compound (166.89 µg/g). The extract presented strong antioxidant capacity and inhibited 24.57% of lipid oxidation in F1 after 90 days of storage, in comparison to the F4 control. In the analysis of overrun, all formulations presented yield above 40%. The total color difference of the ice creams after 15 days of storage revealed that all formulations had a visible color difference to the naked eye. The addition of ALE and enzymes provided an innovative product with technological and functional properties suitable for a diet ice cream.

Keywords: TBARS, PCA, anthocyanins, phenolic compounds.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura dos antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria.....	28
Figura 2- Estrutura química dos ácidos fenólicos.....	30
Figura 3- Estabilização do radical ABTS•+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.	31
Figura 4- Estrutura química do DPPH e reação de estabilização.....	31
Figura 5- Redução do complexo Fe ³⁺ a Fe ²⁺	32
Figura 6 - Fluxograma das atividades desenvolvidas.....	33
Figura 7 - Fluxograma do processo de elaboração do sorvete	39
Figura 8: Cromatograma da extração T1 (água).	50
Figura 9: Cromatograma da extração T2 (etanol 99,8%).	50
Figura 10: Cromatograma da extração T3 (etanol 70%).	51
Figura 11: Gráfico de análise de componentes principais. (a) escores dos compostos fenólicos identificados; (b) Projeção dos compostos fenólicos identificados e dos diferentes tipos de extração. EPI (epicatequina); ASA (ácido salicílico); CAT (catequina); ACU (ácido cumárico); ACA (ácido cafeíco).....	53
Figura 12 - Gráfico de porcentagem de incorporação de ar (overrun)	56
Figura 13: Gráfico do índice de derretimento realizado no tempo 0 dia de armazenamento das diferentes formulações de sorvete.....	58
Figura 14: Gráfico do índice de derretimento realizado no tempo 15 dias de armazenamento das diferentes formulações de sorvete.....	59
Figura 15: Gráfico do índice de derretimento realizado no tempo 30 dias de armazenamento das diferentes formulações de sorvete.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Condições e Variáveis utilizadas na otimização da extração de compostos com atividade antioxidante de <i>Euterpe edulis</i> Mart.	34
Tabela 2- Ingredientes utilizados nas formulação do sorvete.	39
Tabela 3: Teor de compostos fenólicos totais e atividades antioxidantes por diferentes métodos a partir dos diferentes tipos de extração.	46
Tabela 4: Perfil fenólico determinado por HPLC nos extratos de Açaí (<i>Euterpe edulis</i> Mart.).....	49
Tabela 5: Quantificação de Antocianinas totais expressas em cianidina-3-glicosídeo no extrato T3 (etanólico 70%) de Açaí de Juçara.....	54
Tabela 6: Composição físico química das seis diferentes formulações de sorvetes.	55
Tabela 7: Resultados da Análise de Perfil de Textura (TPA) das diferentes formulações de sorvete.	61
Tabela 8: Análise de cor das diferentes formulações de sorvetes.	63
Tabela 9: Concentrações de lactose e glicose nas diferentes formulações de sorvete.	66
Tabela 10: Valores médios referentes à análise TBARS nas diferentes formulações de sorvete durante 90 dias armazenamento do produto.	67

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3 REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1 CONSUMO DE FRUTAS	18
3.2 AÇAÍ DE JUÇARA (<i>Euterpe edulis</i> Mart.)	18
3.3 SORVETE	20
3.3.1 Concentrado Proteico de Soro (CPS).....	22
3.3.2 Edulcorantes	23
3.3.3 Enzimas.....	24
3.4 ANTIOXIDANTES	27
3.4.1 Antioxidantes sintéticos	28
3.4.2 Antioxidantes naturais	29
3.5 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	30
3.5.1 Método de Captura do ABTS ^{•+}	30
3.5.2 Método de Captura do Radical livre DPPH [•]	31
3.5.4 Determinação da atividade antioxidante total pelo método de Redução do Ferro (FRAP)	32
4 MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA PRIMA.....	33
4.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	33
4.3 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	34
4.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	35
4.4.1 Atividade de sequestro do cátion radical DPPH [•]	35
4.4.2 Atividade antioxidante pelo método ABTS ^{•+}	35
4.4.3 Atividade antioxidante pelo método de redução do ferro – FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>)	36
4.5 IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS UTILIZANDO CLAE	36
4.6 ANTOCIANINAS TOTAIS.....	37
4.7 FORMULAÇÃO DO SORVETE.....	38
4.7.1 Formulação do sorvete.....	38

4.7.2	Elaboração do sorvete.....	39
4.7.3	Análise físico-química do sorvete.....	40
4.7.4	Análise de <i>overrun</i>	40
4.7.5	Análise da taxa de derretimento.....	40
4.7.6	Análise de textura.....	41
4.7.7	Análise de colorimetria	41
4.7.8	Determinação de açúcares redutores pelo método Somogyi-Nelson.....	42
4.7.9	Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS).....	42
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
5	RESULTADOS.....	43
5.1	OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES	43
5.2	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA POR HLPC E ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)	48
5.3	TEOR DE ANTOCIANINAS TOTAIS.....	54
5.4	ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO SORVETE	55
5.5	ANÁLISE DE <i>OVERRUN</i>	56
5.6	ANÁLISE DE DERRETIMENTO.....	58
5.7	ANÁLISE DE TEXTURA.....	61
5.8	ANÁLISE DE COLORIMETRIA	62
5.9	DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES	65
5.10	SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO 2-TIOBARBITÚRICO (TBARS)	67
6	CONCLUSÃO	70
	REFERÊNCIAS.....	72

1 INTRODUÇÃO

A busca por uma alimentação saudável está se tornando cada vez mais comum, uma vez que estudos indicam que a toxicidade de alguns ingredientes sintéticos são nocivos à saúde. O alto consumo de frutas está diretamente ligado as mudança nos hábitos alimentares em função do conhecimento dos benefícios que as mesmas proporcionam ao organismo humano. Essas frutas são altamente difundidas por apresentarem micronutrientes, principalmente os compostos fenólicos com atividade antioxidante, pois além de nutrir apresentam funções específicas no organismo, ganhando assim a preferência do consumidor.

O Açaí Juçara é uma fruta tropical oriunda da Palmeira Juçara (*Euterpe edulis* Mart.), encontrada na Região da Mata Atlântica principalmente na região Sul e Sudeste do Brasil. Essa fruta é amplamente apreciada devido ao seu alto valor nutricional e estudos apontam a presença das vitaminas A e C, fibra dietética, cálcio e ferro. O açaí de Juçara possui compostos fenólicos como os ácidos fenólicos, flavonoides e antocianinas, responsáveis pela alta atividade antioxidante (PEIXOTO et al., 2016). O consumo de alimentos ricos em polifenóis possuem capacidade de minimizar o estresse oxidativo bem como o envelhecimento precoce, diminuindo os riscos de desenvolver doenças neurodegenerativas como Alzheimer e mal de Parkinson (WINK, 2015).

O grande aumento de pessoas obesas e/ou diabéticas em todo mundo está relacionado ao consumo excessivo de açúcares. Desta forma, a tecnologia de alimentos busca o desenvolvimento de produtos dietéticos inovadores com o propósito de melhorar a qualidade de vida e o bem estar das pessoas. O tratamento enzimático em matrizes alimentícias vem desempenhando um papel relevante, uma vez que as mesmas podem proporcionar um progresso significativo nos parâmetros de qualidade no produto final.

Nesse contexto, o presente trabalho visa extrair, analisar, identificar os compostos bioativos presentes na polpa de Juçara (*E. edulis* Mart.), e aplicar na preparação de sorvete diet.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Otimizar o processo de extração dos compostos bioativos presentes na polpa de Juçara (*E. edulis* Mart.), avaliar o potencial desse fruto para produção de antioxidantes naturais na estabilidade oxidativa do sorvete *diet* com o extrato adicionado de enzimas lactase e transglutaminase.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimizar a extração de compostos com atividade antioxidantes presentes na polpa de Açaí de Juçara (*E. edulis* Mart.) por meio de delineamento inteiramente casualizado;
- Avaliar as propriedades antioxidantes dos extratos pelos métodos sequestro do radical DPPH e ABTS e poder de redução do ferro (FRAP).
- Identificar e quantificar compostos fenólicos presentes nos extratos de Açaí de Juçara (*E. edulis* Mart.) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE);
- Determinar o teor de antocianinas monoméricas totais no extrato de Açaí de Juçara (*E. edulis* Mart.) no extrato oriundo da melhor condição de extração;
- Aplicar o extrato de açaí liofilizado em sorvete de Açaí diet contendo as enzimas lactase e transglutaminase;
- Realizar análise físico-química do produto;
- Verificar a hidrólise da lactose causada pela adição da enzima lactase por meio de determinação de açúcares redutores;
- Analisar a oxidação lipídica do sorvete por meio de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) durante 90 dias de armazenamento.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 CONSUMO DE FRUTAS

A diversidade de espécies de frutas bem como o interesse pelo seu consumo tem aumentado nos tempos atuais devido a constatação de seus valores nutricionais e suas propriedades terapêuticas (BATAGLION et al., 2015; RUFINO et al., 2010).

O Brasil dispõe de um vasto número de espécies frutíferas, muitas delas nativas e exóticas, as quais são exploradas devido ao grande interesse agroindustrial e também por servir como uma importante fonte de renda para a população local. As frutas nativas proporcionam a oportunidade dos produtores ingressarem em mercados especiais, uma vez que os consumidores atuais dão a preferência ao consumo de fruta que apresentam micronutrientes capazes de minimizar o desenvolvimento de doenças degenerativas (RUFINO et al., 2010).

O consumo de fruta deixou de ser apenas uma preferência pessoal e tornou-se alvo de consumidores que optam por uma alimentação saudável, rica em nutrientes e antioxidantes naturais. Nas frutas, os efeitos benéficos dos antioxidantes naturais estão associados com a presença de vitaminas, compostos fenólicos e carotenoides (THAIPONG et al., 2006). Esses compostos podem ser cardioprotetores e anticancerígenos através de mecanismos independentes ou em conjunto, possibilitando a atenuação de riscos no desenvolvimento de doenças (GOMES et al., 2016).

3.2 AÇAÍ DE JUÇARA (*Euterpe edulis* Mart.)

O consumo de frutas passou a ser amplamente recomendando, devido a vasta quantidade de nutrientes e fitoquímicos necessários para a saúde humana (SLAVIN; LLOYD, 2012). É nesse contexto que as frutas nativas da América do Sul ganharam uma atenção especial, visto que estudos comprovam suas propriedades funcionais (SILVA et al., 2014).

Euterpe edulis Mart., comumente conhecida como Juçara Palmiteiro é uma árvore oriunda da Mata Atlântica brasileira, facilmente encontrada nos estados da

região Sul e Sudeste do Brasil. Devido a sua lenta regeneração natural, essa espécie foi gravemente lesada pelo desmatamento e pela acentuada extração ilegal do palmito. No entanto, com o objetivo de conservar a espécie, agências governamentais como a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e o Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) dispuseram outras opções de extração, onde se passou então a explorar o fruto dessa espécie para consumo humano (SILVA et al., 2014; BORGES et al., 2013; TIBÉRIO et al., 2012;).

Devido a estudos consolidados do consumo dos frutos produzidos pelas espécies *Euterpe oleracea* e *Euterpe precatoria* Mart., as mesmas estão sendo utilizadas como guia para o consumo do açaí produzido pela espécie *Euterpe edulis* Mart., uma vez que estudos comprovam propriedades funcionais semelhantes, indicando então o vasto potencial do Açaí de Juçara e despertando grande interesse em pesquisadores (SCHULZ et al., 2016; TIBERIO et al., 2012).

O Açaí de Juçara é conhecido no meio científico, por ser uma fruta rica em compostos bioativos, principalmente os compostos fenólicos, onde se destacam as antocianinas e flavonoides, os quais são compostos que denotam a elevada capacidade antioxidante da fruta (CARDOSO et al., 2015; SCHULZ et al., 2016). Essa fruta se destaca também pelo elevado teor de lipídios, valores estes superiores quando comparado com os lipídios presentes em outras frutas da floresta tropical Brasileira (SILVA et al., 2014).

O perfil lipídico do Açaí de Juçara é de vasta importância nutricional, considerando que a predominância de ácidos graxos insaturados denota efeitos positivos na saúde humana, minimizando os riscos de desenvolver doenças cardiovasculares (CHENG; WANG; SHAO, 2016).

Dentre os vários compostos presentes no Açaí de Juçara, destacam-se também as vitaminas, principalmente a vitamina C, a qual facilita a absorção de ferro, mantendo o mesmo no seu estado mais solúvel. Enfatiza-se também a vitamina E, onde são atribuídas quantidades consideráveis de Tocoferóis, predominantemente o α -tocoferol, β -tocoferol e o γ -tocoferol (INADA et al., 2015; RUFINO et al., 2010). Nesse contexto, destaca-se a vasta quantidade de carotenoides que o Açaí de Juçara apresenta, considerando que os carotenoides desenvolvem um papel importantíssimo na saúde humana, uma vez que os mesmos são precursores da vitamina A (INADA et al., 2015; SCHULZ et al., 2016; SILVA et al., 2014).

Quanto a composição fenólica, é atribuída a esses compostos, a elevada capacidade antioxidante do açaí de Juçara (*Euterpe edulis* Mart.). São os compostos fenólicos que apresentam capacidade de capturar radicais livres. A diversidade de compostos fenólicos presente no Açaí de Juçara, está diretamente relacionada com o poder de inibição da oxidação lipídica. Quanto à caracterização dessa fruta, estudos comprovam a presença de ácidos fenólicos, entre eles, o ácido gálico e o ácido ferúlico (BORGES et al., 2013; GUERGOLETTTO et al., 2016; INADA et al., 2015; SCHULZ et al., 2016; SILVA et al., 2014).

O Açaí de Juçara apresenta como característica primordial sua coloração, uma vez que a coloração está diretamente relacionada com o estágio de maturação. A fruta varia de verde a uma coloração púrpura-preto, e é nesse processo fisiológico que se estuda a quantidade de antocianinas presentes na fruta (BORGES et al., 2011). Ressalta-se que a elevada quantidade de antocianinas é encontrada quando o fruto apresenta-se na sua forma madura, diminuindo no decorrer da senescência. Os diferentes resultados encontrados em relação ao teor de antocianinas, estão associados com as condições de crescimento e intensidade da luz, esses fatores afetam o metabolismo, ocorrendo a síntese dos flavonoides e intensificando a concentração de antocianinas (BORGES et al., 2013; SCHULZ et al., 2016).

As antocianinas são imprescindíveis para reduzir a ação dos radicais livres, apresentando uma correlação positiva com a capacidade antioxidante da fruta. A capacidade antioxidante das antocianinas está relacionada com a sua estrutura, que apresenta diversos grupos hidroxilas. E dentre várias antocianinas, no Açaí de Juçara predomina as antocianinas cianidina 3-rutinosideo e a cianidina 3-glicosideo (CARDOSO et al., 2015; GUERGOLETTTO et al., 2016; INADA et al., 2015; SILVA et al., 2014).

É nesse contexto que a aplicação do extrato de Açaí de Juçara faz-se importante, uma vez que o mesmo pode ser introduzido em alimentos em sua forma natural e/ou na forma de extratos, podendo então ser utilizado como corantes e e/ou antioxidantes naturais em substituição aos sintéticos.

3.3 SORVETE

A origem do sorvete até hoje não é bem definida, mas livros descrevem que o seu desenvolvimento originou-se a partir de bebidas e sucos de frutas congelados. Porém informações sobre o surgimento do sorvete paira ainda no folclore, onde, livros indicam que esse produto não foi inventado e nem criado, passou por todo um processo de desenvolvimento até chegar ao produto que atualmente está disponível no mercado alimentício (GOFF, 1997).

Segundo a resolução RDC n.266 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária o gelado comestível (sorvete) é definido como “um produto alimentício obtido a partir de uma emulsão de gordura e proteína, com ou sem adição de outros ingredientes e substâncias, ou de uma mistura de água, açúcares e outros ingredientes e substâncias que tenham sido submetidas ao congelamento, em condições tais que garantam a conservação do produto no estado congelado ou parcialmente congelado, durante a armazenagem, o transporte e a entrega para consumo” (BRASIL, 2005).

Os sorvetes são classificados como uma mistura complexa, sendo esta heterogênea e ao mesmo tempo considerada uma emulsão, suspensão, espuma, cuja aglutinação é mantida graças ao seu congelamento. Sua estrutura está basicamente relacionada com uma espuma, na qual, as bolhas de ar são cobertas por cristais de gelo, gordura e cristais de lactose. É a partir dessa estrutura que se dá a consistência do sorvete, sendo este um dos aspectos importantes para a palatabilidade (ORDONEZ, 2005).

Quanto à composição química do sorvete, é a partir dela que vários parâmetros são denotados, parâmetros esses estruturais e sensoriais importantes para que se tenha um produto de boa qualidade. Dentre vários preceitos, os principais parâmetros para a fabricação de sorvete estão diretamente relacionados com a firmeza, resistência ao derretimento e sua textura. A diferença encontrada entre os sorvetes está relacionada com o teor de lipídios, sendo considerados sorvetes *Premium* aqueles que apresentam elevado teor de lipídios, baixo *overrun* (incorporação de ar) e adicionados de ingredientes de origem natural (GRANGER et al., 2005).

Estudos apontam que os sorvetes são ricos em proteínas, gordura vegetal ou animal, açúcares, vitaminas e outros minerais em uma proporção equilibrada essencial para o organismo humano. Considerando que a saúde e bem estar estão se tornando prioridade de pesquisas para a indústria alimentícia, os quais procuram

por produtos que venham a contribuir com o bom funcionamento do organismo dos consumidores, o desenvolvimento de alimentos saudáveis se faz necessário, tendo em vista que uma alimentação equilibrada e saudável minimiza os riscos de desenvolvimento de doenças degenerativas (SANTOS; CANÇADO, 2009).

Contudo, a indústria alimentícia apresenta dificuldades em desenvolver produtos com características sensoriais que satisfaça o consumidor, mantendo estas ao longo da vida útil do produto.

3.3.1 Concentrado Proteico de Soro (CPS)

O soro de leite, amplamente conhecido como soro lácteo é um subproduto originário de indústrias de laticínios e representa em grande quantidade a parte aquosa do leite que é separada quando se trata da produção de queijos e caseína (PAGNO et al., 2009).

Há muito tempo esse subproduto não era aproveitado pelas indústrias alimentícias, tendo em vista que o mesmo passava por um tratamento e era diretamente descartado. Foi a partir da década de 70 que o soro de leite passou a ser estudado por pesquisadores, que comprovaram suas propriedades nutricionais (HARAGUCHI; DE ABREU; DE PAULA, 2006). Estudos indicam que a substância mais abundante do soro de leite, são as proteínas, contudo, sua aglutinação nesse líquido é apresentada em forma reduzida, fazendo-se necessário processo de concentração, para que suas propriedades funcionais, tais como a emulsificação e solubilidade sejam realçadas (PAGNO et al., 2009).

Devido as suas propriedades funcionais, as proteínas do soro (concentrado proteico) passaram a ser aplicadas na indústria alimentícia, como em confeitaria, como substituto da clara de ovo e na elaboração de embutidos cozidos, sendo substituto pelas proteínas da carne. No comércio lácteo podem ser empregadas em iogurtes para enriquecer seu conteúdo proteico, em sorvetes para melhorar a textura e também em queijos enriquecidos proteicamente (CAPITANI et al., 2005).

A concentração de proteínas presentes em concentrados proteicos de soro varia de 25% a 90%, essa variação está diretamente relacionada com o processo

utilizado para obter o CPS. Até o momento não há relatos que comprovem os riscos da aplicação de CPS em alimentos, não existindo padrões de restrição (PEREIRA, 2014).

As proteínas presentes no CPS apresentam estruturas com ligações de dissulfeto, que concede certo grau de estabilidade estrutural. Os principais grupos encontrados nos concentrados proteicos são: β -lactoglobulina e α -lactoalbumina variando suas concentrações em 70% a 80% das proteínas do soro (POPPI et al., 2010).

Na elaboração do sorvete, as proteínas do CPS, atuam como estabilizantes e emulsificantes, prevenindo acúmulo de gordura e fornecendo estabilidade da aeração durante o processo de congelamento. Estudos comprovam que a utilização de CPS parcial ou integralmente para elaboração de sorvete torna-se tecnicamente e economicamente mais viável (ROHLFES et al., 2014).

É nesse contexto, que a aplicação do CPS é relevante, considerando que suas propriedades são benéficas à saúde humana, ao mesmo tempo faz-se o aproveitamento de um subproduto com elevada propriedade nutricional.

3.3.2 Edulcorantes

O grande aumento de pessoas obesas e/ou diabéticas em todo mundo pode estar diretamente relacionado ao consumo excessivo de açúcares, no entanto verifica-se um grande interesse da indústria alimentícia em inovar, dispondo aos consumidores alimentos dietéticos com o objetivo de substituir o açúcar, visando acatar as prioridades de uma dieta altamente controlada, atendendo as necessidades físicas, metabólicas, patológicas e fisiológicas do consumidor (MOORADIAN; SMITH; TOKUDA, 2017; ROSSONI; GRAEBIN; MOURA, 2007).

Visando atender as necessidades dos consumidores, a indústria alimentícia desenvolveu adoçantes dietéticos, substâncias estas adoçantes que não são metabolizadas pelo organismo, conseqüentemente os riscos de desenvolver diabetes e outras doenças relacionadas com a obesidade são minimizados (ROSSONI; GRAEBIN; MOURA, 2007).

Os edulcorantes são utilizados para elaborar alimentos de baixas calorias, pois são considerados compostos com capacidade de interagir com os receptores gustativos, favorecendo a sensação de gosto doce (MOORADIAN; SMITH; TOKUDA, 2017).

Adoçantes dietéticos são classificados em naturais e sintéticos, os naturais são adoçantes oriundos de plantas ou de alimentos de origem animal, tendo como exemplo a frutose, o manitol, o sorbitol e a stévia que é um dos adoçantes naturais mais utilizados nos tempos atuais, sendo considerada uma substância adoçante não calórica, possuindo um potencial adoçante entre 200 a 400 vezes maior do que a sacarose (BARBET-MASSIN et al., 2015).

Dentre os adoçantes sintéticos liberados para o consumo e mais utilizados pela indústria alimentícia está a sucralose e o acessulfame-k.

A sucralose é considerada um adoçante não calórico, possui capacidade adoçante 600 vezes mais que a sacarose, ressalta-se que o poder adoçante desse sintético está diretamente relacionado com as condições em que a mesma se encontra, dependendo diretamente do pH, concentração e temperatura (PEREIRA, 2014).

No entanto o acessulfame-k é um sal de potássio, não calórico, com poder adoçante 200 vezes mais que a sacarose, estudos comprovam que este adoçante é um sintético seguro para consumo, onde o mesmo não é metabolizado pelo o organismo (MENDONÇA et al., 2005).

A aplicação de edulcorantes em alimentos é condicionada a aprovação de órgãos responsáveis, tal como o JECFA (*Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives*), que garante a quantidade de aditivos usada na elaboração de alimentos (UMBELINO, 2005).

Contudo é possível a aplicação de edulcorantes sintéticos em alimentos, além de ganhos na qualidade adoçante, os mesmos não interferem na estabilidade do produto final, fornecendo assim ao consumidor produtos de boa qualidade e baixas calorias.

3.3.3 Enzimas

A utilização de enzimas na indústria alimentícia está se tornando uma maneira de possibilitar a amplificação do campo de atuação das mesmas. As enzimas nos tempos atuais são utilizadas para acelerar e alterar processos de uma maneira que antes não era possível.

Enzimas são proteínas com capacidade catalítica, responsáveis pelas reações bioquímicas nos processos biológicos dos seres vivos. A atividade catalítica é dada pela estrutura dimensional da proteína que é constituída por grupos de aminoácidos e moléculas dos reagentes. Os benefícios de utilizar enzimas na elaboração de produtos alimentícios consistem na facilidade de acelerar determinadas reações sem causar reações adversas (COELHO et al., 2001, BLANCH;CLARK, 1997, ORDONEZ, 2005).

Os catalisadores biológicos estão sendo utilizados no processamento de alimentos com o propósito de melhorar a qualidade do produto final, facilitando todo processo tecnológico. Esses melhoramentos estão associados com a coagulação, ruptura celular, hidrólise e até mesmo modificações na estrutura molecular. Estudos comprovam que os efeitos tecnológicos das enzimas aplicadas em alimentos são benéficos tanto para a saúde do consumidor quanto para a qualidade do produto. A aplicação das enzimas em alimentos proporcionam produtos de melhor qualidade, prolongando a vida útil, afetando diretamente no seu frescor e agregando valor nutricional (KIRK; BORCHERT; FUGLSANG, 2002; SIMPSON; RUI; KLOMKLAO, 2012).

As enzimas comumente utilizadas em produtos alimentares são geralmente produzidas a partir da extração de tecidos vegetais e animais ou a partir da fermentação utilizando uma gama de microrganismos. Dentre essas duas técnicas, a fermentação é a mais utilizada, considerando que enzimas obtidas a partir desse método são mais favoráveis para aplicação em produtos alimentícios, desempenhando um papel importante na tecnologia de alimentos (AL-MAZEEDI; REGENSTEIN; RIAZ, 2013).

É diversificada a aplicação de enzimas na área alimentícia devido as funções e habilidade na produção de alimento. As mesmas são definidas com base no tipo de reação catalítica que desempenham. A atividade enzimática está diretamente relacionada com vários fatores, entre eles, a temperatura, pH, quantidade de substrato e tipo de substrato, são esses fatores que interferem na velocidade de reação das enzimas (FERNANDES, 2010; FRAATZ; RÜHL; ZORN, 2014).

A aplicação de enzimas no setor lácteo está se tornando tradicional, uma vez que além da utilização das enzimas para coagulação na produção de queijos, a indústria faz também uso de outras enzimas, dentre elas está a lactase e a transglutaminase. A utilização dessas enzimas estimula a hidrólise das proteínas modificando as propriedades funcionais do produto, tais como a solubilidade, viscosidade, sabor e emulsificação (PEREIRA, 2014).

A lactase também conhecida como β -galactosidase é uma enzima disponível em grande variedade de fontes naturais, variedade esta que inclui os animais, plantas e microrganismos. Essa enzima é capaz de catalisar a hidrólise de ligações β -glicosídicas em polissacarídeos, mas a sua função principal é atribuída a hidrólise da lactose em glicose e galactose (NUSSINOVITCH et al., 2012).

A deficiência de lactose no organismo faz com que indivíduos venham a desenvolver a intolerância a lactose, podendo acarretar vários problemas de saúde, sendo um deles o desconforto abdominal (LOMER; PARKES; SANDERSON, 2008). É nesse contexto que o consumo de alimentos sem lactose faz-se necessário, uma vez que os sintomas de pessoas intolerantes à lactose podem ser minimizado quando é priorizado o consumo de alimentos zero lactose, ou até mesmo da ingestão de suplementos de lactase que realiza hidrólise da lactose no sistema gastrointestinal. (HARJU; KALLIOINEN; TOSSAVAINEN, 2012).

A enzima transglutaminase é umas das enzimas mais conhecidas popularmente, utilizada para alterar proteínas em termo de solubilidade, emulsificação e até mesmo na formação de espumas. É a partir desses parâmetros modificados pela enzima transglutaminase que os alimentos são afetados quanto as suas propriedades funcionais. O mecanismo de reação da transglutaminase está baseado em catalisar reações de acil transferência entre o grupo γ -carboxilamida da glutamina ligada a peptídeos e aminas primárias, levando à produção de ligações isopeptídicas entre as proteínas (AL-HASSAN; NORZIAH, 2017; KELLERBY et al., 2006; KIELISZEK; MISIEWICZ, 2013).

A aplicação da enzima transglutaminase em produtos lácteos tem sido sugerida devido a sua ação promissora para melhoramento das propriedades tecnológicas do produto, propriedades estas ligadas diretamente com a solubilidade do produto, gelificação, capacidade de retenção de água e viscosidade (ROMEIH; WALKER, 2017). Na fabricação de sorvete a aplicação dessa enzima concede a

obtenção de um produto com baixas calorias e sem açúcar (KURASHI; YAMAZAKI; SUSA, 2001).

Estudos comprovam que a combinação das enzimas lactase e transglutaminase na elaboração de sorvete favorece a polimerização das proteínas, onde o processo de hidrólise da enzima lactase aumenta os sólidos totais, favorecendo a formação de uma rede proteica, dando características uniformes e estáveis ao produto, melhorando assim a palatabilidade, textura e cremosidade do produto final (PEREIRA, 2014).

3.4 ANTIOXIDANTES

Antioxidantes são considerados moléculas eficientes para retardar ou inibir a oxidação lipídica (BOROSKI et al., 2015). A ação antioxidante é capaz de estabelecer a capacidade de um composto bioativo em conservar a estrutura e a função celular, onde os radicais livres presentes no meio são impedidos de realizar a peroxidação lipídica, prevenindo processos oxidativos (BRAVO, 1998).

Os radicais livres podem desenvolver suas funções em alimentos e em sistemas biológicos. Considerando que quando atuam em sistemas biológicos os mesmos influenciam as lipoproteínas, lipídeos e carboidratos, acarretando o desenvolvimento de estresse oxidativo, provocando danos celulares, podendo desenvolver doenças degenerativas. Quando atuam em alimentos, os radicais livres influenciam na ação dos lipídeos e proteínas através de reações de auto-oxidação, diminuindo a qualidade nutricional e a segurança alimentar (BOROSKI et al., 2015).

Os antioxidantes podem atuar como defensores seja ela defesa não enzimática ou defesa enzimática. A defesa não enzimática está diretamente relacionada com a presença de antioxidantes presentes em frutas e vegetais, sendo eles o α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno, ácido úrico e ácido ascórbico e outros compostos fenólicos. No entanto a defesa enzimática é baseada na ação da superóxido dismutase catabolizando os radicais superóxidos, catalase e a glutathione peroxidase, convertendo os hidroperóxidos e o peróxido de hidrogênio em compostos menos tóxicos à saúde, como água e oxigênio (ZIECH et al., 2010).

É diversificada a quantidade de compostos que apresentam ação antioxidante, sendo estes classificados conforme sua origem, sintética ou natural. Na

indústria alimentícia é comum a adição desses conservantes, pois os mesmos retardam ou impedem a oxidação lipídica de alimentos processados, melhorando a qualidade sensorial do produto e aumentando a vida de prateleira (MESSIAS, 2009).

3.4.1 Antioxidantes sintéticos

Antioxidantes sintéticos estão sendo adicionados em matrizes alimentares com o objetivo de inibir a oxidação lipídica durante as etapas de produção, transporte e armazenamento (BOROSKI et al., 2015). São amplamente utilizados pela indústria por não apresentarem sabor e nem odor, deixando de desempenhar sua atividade somente em temperaturas acima de 180 °C (ZHANG; WU; WENG, 2004).

Atualmente os antioxidantes sintéticos (Figura 1) autorizados pelo comitê científico internacional de especialista em aditivos alimentares *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)*, são: BHT (Butil-hidroxitolueno), BHA (Butil-hidroxianisol), TBHQ (Terc-butilhidroquinona) e PG (propil galato) (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

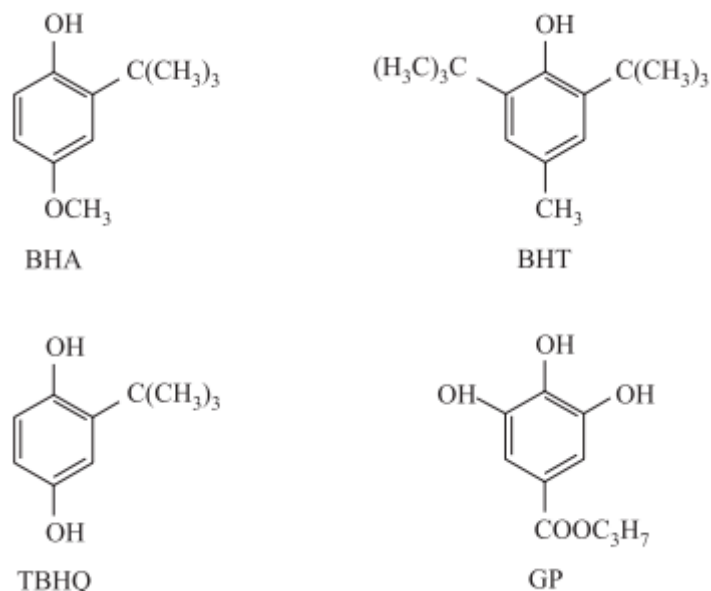


Figura 1- Estrutura dos antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria.
 Fonte: Silva, Jorge (2011)

Estudos comprovam que em determinadas concentrações o uso dos antioxidantes sintéticos causam efeitos danosos à saúde (COIMBRA; DEL RÉ; JORGE, 2009; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015). É nesse contexto que se torna motivador a busca por antioxidantes naturais, sendo está uma alternativa para a substituição dos antioxidantes sintéticos (MERCADANTE et al., 2010; WANG; CAMP; EHLENFELDT, 2012).

3.4.2 Antioxidantes naturais

É crescente a busca da substituição de antioxidantes sintéticos por antioxidantes naturais, pois além de manterem as propriedades químicas do alimento, os mesmos possuem ações benéficas para a saúde, minimizando os riscos de desenvolvimento de doenças degenerativas.

Os antioxidantes naturais são provenientes de alimentos (frutas, verduras e especiarias), geralmente encontrado em pequenas concentrações, apresentam capacidade de impedir ou minimizar a ação dos radicais livres. Dentre os mais conhecidos, cita-se os ácidos fenólicos e tocoferóis (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os compostos fenólicos são os antioxidantes mais abundantes na natureza, é característica dos ácidos fenólicos (Figura 2) a presença de um anel benzênico, com um grupamento carboxílico e, um ou mais radicais hidroxílicos (BOROSKI et al., 2015). Sua capacidade antioxidante é dada pela sua estrutura química e suas características redutoras, capacidade esta que atua na captura de radicais livres, na etapa de iniciação de um processo oxidativo, devido a ressonância que pode transcorrer no anel aromático, existe o desenvolvimento de produtos estáveis pela ação do antioxidante (RAMALHO; JORGE, 2006).

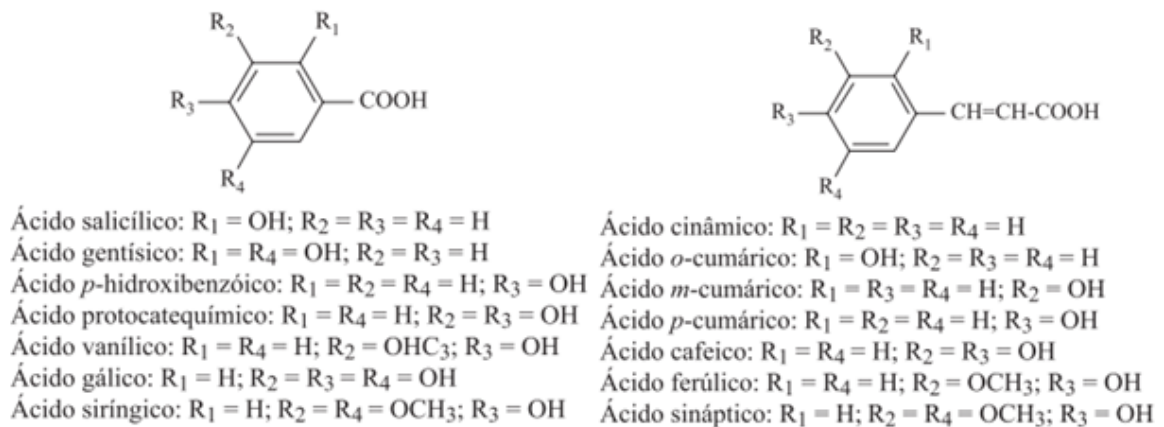


Figura 2- Estrutura química dos ácidos fenólicos.

Fonte: Silva, Jorge (2011)

A atividade antioxidante dos tocoferóis é dada pela capacidade de doar átomos de hidrogênio fenólicos aos radicais livres presentes nos lipídios, impedindo a proliferação em cadeia (BOROSKI et al., 2015). A aplicação de tocoferóis em óleos e gorduras comestíveis é comum, pois os mesmos possuem capacidade de impedir a oxidação de ácidos graxos insaturados (MESSIAS, 2009).

3.5 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

3.5.1 Método de Captura do ABTS^{•+}

O método de capturar o ABTS^{•+} (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), é aplicado para avaliar a atividade antioxidante de várias substâncias devido a capacidade de interagir com amostras hidrofílicas e lipofílicas. Esse método é baseado na capacidade do antioxidante em capturar o ABTS^{•+} (SUCUPIRA et al., 2012) (Figura 3).

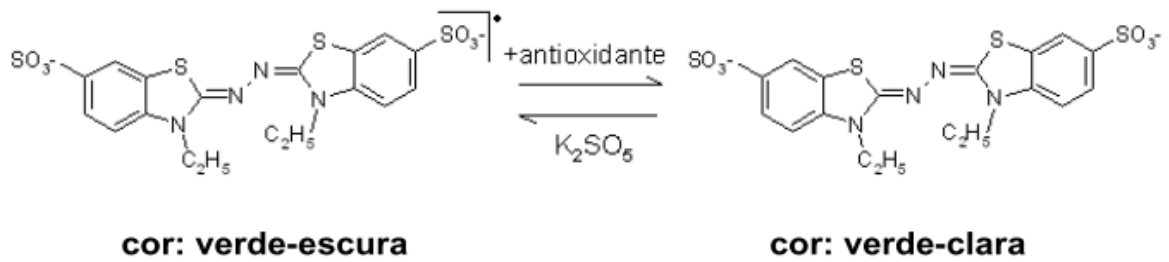


Figura 3- Estabilização do radical ABTS•+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.

Fonte: RUFINO et al., (2007)

A atividade antioxidante da amostra é avaliada pela capacidade de estabilização do cátion radicalar ABTS, voltando à forma do seu composto neutro. Essa reação é observada pela descoloração da solução e pelo decréscimo da absorvância em 734 nm (BOROSKI et al., 2015).

3.5.2 Método de Captura do Radical livre DPPH[•]

O método de DPPH[•] tem sido muito utilizado devido a sua alta sensibilidade, é geralmente aplicado em diferentes tipos de amostras, entre elas as frutas, vegetais, cereais e algas (SUCUPIRA et al., 2012).

Essa técnica consiste na capacidade do radical DPPH[•] (1,1-difenil-2-picril-hidrazil), em gerar radicais livres estáveis em solução etanólica. O agente antioxidante atua como doador de hidrogênio, quando adicionado a solução de DPPH, ocorre uma reação de redução (Figura 4) (ALVES et al., 2010).

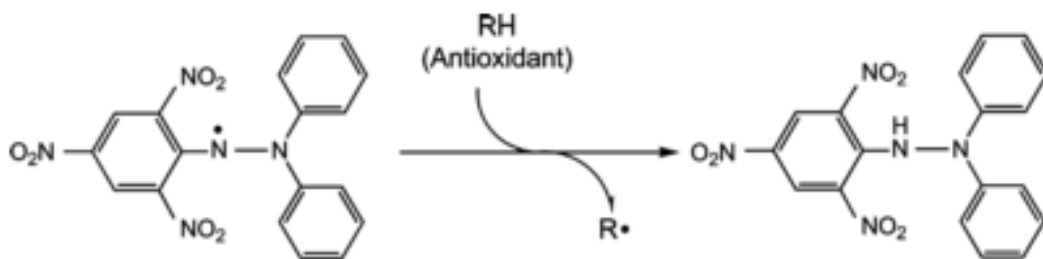


Figura 4- Estrutura química do DPPH e reação de estabilização.

Fonte: MOON; SHIBAMOTO (2009)

É característica da técnica a coloração púrpura, na presença de um agente antioxidante a coloração e sua intensidade de absorção é minimizada de acordo com o número de elétrons capturados (SUCUPIRA et al., 2012).

3.5.4 Determinação da atividade antioxidante total pelo método de Redução do Ferro (FRAP)

O método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) é baseado na capacidade do agente antioxidante em reduzir o Fe^{3+} em Fe^{2+} . Essa capacidade é monitorada pela formação do complexo Fe^{2+} TPTZ (2,4,6-tril (2-piridil)-1,3,5-triazina). A redução é observada pela constituição de uma solução de coloração azul intenso (Figura 5).

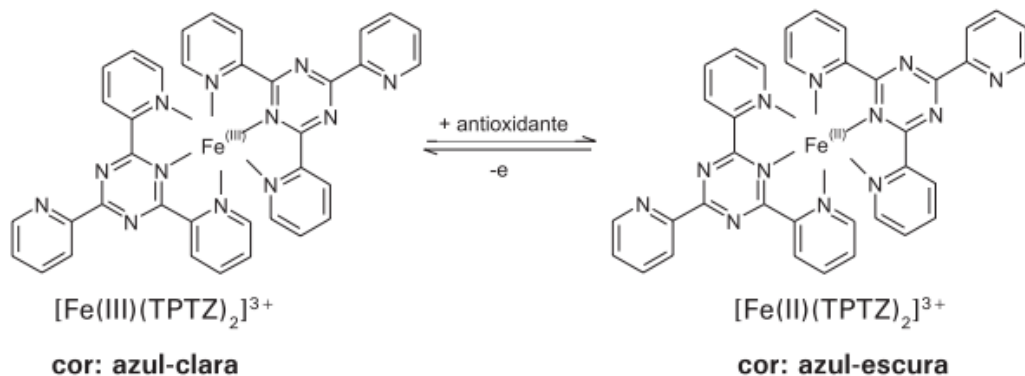


Figura 5- Redução do complexo Fe^{3+} a Fe^{2+} .
Fonte: RUFINO et al., (2006).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

As etapas referentes ao desenvolvimento dessa pesquisa estão resumidas no fluxograma a seguir (Figura 6).

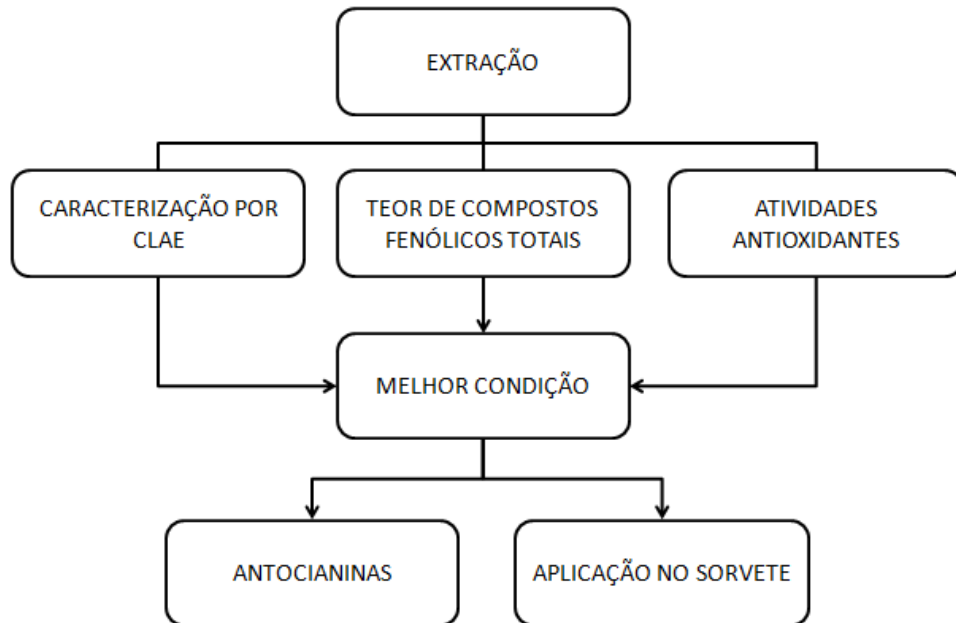


Figura 6 - Fluxograma das atividades desenvolvidas

4.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

A polpa de Açaí de Juçara (*Euterpe edulis* Mart.) foi gentilmente doada pelo Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) da cidade de Morretes/PR. A polpa foi liofilizada (Liotop - L1019, São Paulo, Brasil) e armazenada em refrigerador ao abrigo de luz.

4.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com um fator e três níveis, totalizando 3 corridas em quadruplicata, para verificar o efeito da variável solvente (água, etanol 99,8%, etanol 70%), com tempo de 30 minutos, a temperatura de 60°C (Tabela 1), sobre o teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante. As variáveis dependentes utilizadas foram a quantificação de compostos fenólicos pelo

método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu e as atividades antioxidante através dos métodos DPPH, ABTS e FRAP.

Tabela 1- Condições e Variáveis utilizadas na otimização da extração de compostos com atividade antioxidante de *Euterpe edulis* Mart.

PLANTA	EXTRATOS	Solvente	Tempo (minutos)	Temperatura (°C)
<i>Euterpe edulis</i> Mart.	T1	Água	30	60
	T1	Água	30	60
	T1	Água	30	60
	T1	Água	30	60
	T2	Etanol 99,8%	30	60
	T2	Etanol 99,8%	30	60
	T2	Etanol 99,8%	30	60
	T2	Etanol 99,8%	30	60
	T3	Etanol 70%	30	60
	T3	Etanol 70%	30	60
	T3	Etanol 70%	30	60
	T3	Etanol 70%	30	60

T1 a T3: tratamento para diferentes combinações de solventes.

Os solventes utilizados para extração foram água, etanol 99,8% e etanol 70%, todos acidificado com HCl 0,1% até pH 4 para melhor estabilização das antocianinas. A polpa liofilizada de Açaí de Juçara (3 g), foi adicionada a 30 mL de solvente e submetida a agitação em Shaker, à 120 rpm, segundo o delineamento (Tabela 1). Em seguida, os extratos foram transferidos para tubo Falcon e centrifugados a 500 rpm (Hermle Z 200 A), durante 15 minutos, filtrados e armazenados em frascos hermeticamente fechados, sob abrigo de luz e em freezer para posteriores análises.

A melhor condição de extração foi determinada pela quantificação de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelo métodos de DPPH, ABTS⁺⁺ e FRAP.

4.3 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A determinação de compostos fenólicos totais foi realizada de acordo com o método espectrofotométrico de Folin-Ciocateau, descrito por Singleton et al., (1999). Uma alíquota de 0,5 mL de cada amostra foi transferida para tubos de ensaio e adicionados 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocateau (10%). Após 5 minutos de repouso da mistura, adicionou-se 2,0 mL de uma solução de Na_2CO_3 (4%). As soluções foram conservadas ao abrigo de luz, à temperatura ambiente e após 2 horas realizadas a leitura da absorbância a 740nm. Foi utilizado como padrão de referência o ácido gálico, e os resultados expressos em mg equivalente em ácido gálico.g⁻¹ de amostra (mg GAE.g⁻¹) e calculados por meio de uma curva construída com concentrações que variam de 5 a 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$

4.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A avaliação da atividade antioxidante foi realizada por quatro métodos distintos descritos a seguir.

4.4.1 Atividade de sequestro do cátion radical DPPH[•]

A medida da atividade sequestrante do cátion radical DPPH[•] foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams et al., (1995). Para avaliação da atividade antioxidante, as amostras reagem com o radical estável DPPH em uma solução de etanol. A mistura de reação é constituída da adição de 0,5 mL das amostras, 3 mL de etanol absoluto e 0,3 mL da solução do radical DPPH (0,3 mmol L⁻¹) em etanol. Mede-se a redução do DPPH[•] por meio de um monitoramento contínuo do declínio da absorbância, em espectrofotômetro à 517 nm, em tempo inicial e a cada 20 minutos até valores estáveis de absorção. A curva padrão de Trolox foi construída nas seguintes concentrações 0,0075, 0,0125, 0,025, 0,05, 0,0625 μmol de trolox, o procedimento para análise seguiu o mesmo citado para as amostras. Os resultados foram expressos em μmol de Trolox.g⁻¹ de amostra.

4.4.2 Atividade antioxidante pelo método ABTS^{•+}

A capacidade de sequestrar o radical 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-acido sulfônico (ABTS^{•+}) será determinada segundo o método descrito por Re et al., (1999). O cátion radical ABTS^{•+} será gerado a partir da reação da solução aquosa de ABTS^{•+} (7 mM) com 88 µL de persulfato de potássio (140mM) e esta solução será mantida ao abrigo da luz, em temperatura ambiente por 16 horas. Após esse período, a solução será diluída em etanol até obter um comprimento de onda de 700 a 734 nm. As amostras serão adicionadas a solução do ABTS^{•+} e as leituras realizadas em espectrofotômetro a 734 nm, após 6 minutos de reação. Como referência irá se utilizar Trolox (6- hidroxil-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), um antioxidante sintético equivalente à vitamina E, nas concentrações de 0,045 à 0,0015 µmol para a curva padrão. Os resultados da atividade antioxidante serão expressos em µmol TEAC.g⁻¹ de amostra (TEAC – capacidade antioxidante equivalente ao Trolox).

4.4.3 Atividade antioxidante pelo método de redução do ferro – FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Para a determinação da atividade antioxidante por meio da redução do ferro (FRAP) será utilizada a metodologia descrita por Kukic et al., (2008). O reagente FRAP foi preparado no momento da análise, através da mistura de 25 mL de tampão acetato (300 mM, pH 3,6), 2,5 mL de solução TPTZ (10 mM TPTZ em 40 mM HCl) e 2,5mL de FeCl₃ (20 mM) em solução aquosa. Uma alíquota de 100 µL das amostras serão adicionadas a 3 mL do reagente FRAP e incubado a 37°C em banho-maria por 30 minutos. As absorbâncias serão medidas após esse tempo e o espectrofotômetro zerado com a solução FRAP. A curva de calibração será desenvolvida com sulfato ferroso (200 a 2000 µM), e os resultados expressos em µmol Fe²⁺.g⁻¹ de amostra.

4.5 IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS UTILIZANDO CLAE

Alíquotas 10 µL a 0,1 g/mL de extrato foram injetada em um cromatógrafo acoplado a um detector de matriz de fotodiodo (PDA) (Varian, 920-LC, Walnut

Creek, EUA) usando uma coluna C18 RP (250 x 4,6 mm, 5 µm). Para o fracionamento, utilizou-se um sistema de gradiente binário no qual a fase móvel “A” consistia de água ultrapura e a fase “B” consistia de acetonitrila, ambos contendo 0,2 mL/L de ácido acético. O gradiente iniciou com 5% de B até 95% de B em 36 min e retornou à condição inicial. O tempo total de análise foi de 45 min a uma taxa de fluxo de 1 mL/min e a temperatura durante a análise foi mantida a 30 °C. Curvas de calibração e regressão linear baseada nas áreas de pico foram utilizadas para identificar e quantificar os picos correspondentes aos compostos fenólicos. A identificação foi realizada por comparação de tempos de retenção e absorção em ultravioleta em comprimentos de onda de 280 nm e 320 nm. Estas curvas de calibração foram obtidas utilizando padrões externos de Ácido gálico (AGA), catequina (CAT), ácido vanílico (AVA), ácido cafeíco (ACAF), ácido siríngico (AS), epicatequina (EPI), ácido cumárico (ACU), ácido ferúlico (AFE), ácido salicílico (ASA), ácido trans-cinâmico (ATC). Todos os padrões foram dissolvidos na fase “B” nas seguintes concentrações: 2 µg/mL; 4 µg/mL; 8 µg/mL; 16 µg/mL; 30 µg/mL. Essas concentrações foram utilizadas posteriormente para obtenção do limite de quantificação (LQ) de 0,35 µg/mL e o limite de detecção (LD) do equipamento de 0,12 µg/mL de acordo com Oldoni et al 10. (2015). O teor de compostos fenólicos é expresso para cada composto em µg/g de amostra. A determinação dos compostos fenólicos por CLAE foi realizada em triplicata.

4.6 ANTOCIANINAS TOTAIS

As antocianinas foram determinadas no extrato de Açai Juçara mais bioativo pelo método de diferença de pH descrito pela AOAC (2005). Onde essa metodologia consiste em elevar o pH a 4,5 estabelecendo condição para que as antocianinas não apresentem coloração, conseqüentemente apresentando menor absorção de energia. Por outro lado, abaixa-se o pH a 1,0 onde os pigmentos apresentam coloração intensa, contudo a diferença de absorbância é observada espectrofotometricamente.

Foi transferida uma alíquota de 0,5 mL do extrato, 2,0 mL de solução tampão cloreto de potássio de pH 1,0 para um tubo de ensaio. Em outro tubo, serão adicionados 0,5 mL do extrato e 2,0 mL da solução tampão acetato de sódio (pH

4,5). A leitura em espectrofotômetro será realizada a 520 e 700 nm após 20 minutos de reação. Os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados estão expressos como miligrama por 100 gramas de amostra (mg/100g) são calculados pela Equação 2:

$$Antocianinas = \frac{A.MW.DF.10^3}{\epsilon.1} \quad Eq. (1)$$

Onde A representa a diferença de absorbância entre pH 1,0 e pH 4,5; MW é o peso molecular da cianidina-3-glicosídeo, que representa 449,2 g/mol; DF é a diluição da amostra; ϵ representa a absorvidade molar da cianidina-3-glicosídeo, igual a 26900 L.mol⁻¹.cm⁻¹; 10³ é o fator de conversão de g para mg.

4.7 FORMULAÇÃO DO SORVETE

O sorvete foi elaborado no laboratório de Laticínios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Medianeira. A produção do sorvete adicionado de extrato de Açaí Juçara e tratado com as das enzimas lactase e transglutaminase foram realizados por processo descontínuo conforme (BRASIL, 2003).

4.7.1 Formulação do sorvete

Os ingredientes utilizados na formulação base do sorvete foram: leite pasteurizado, creme de leite pasteurizado, concentrado proteico de soro (CPS), estabilizante, emulsificante, edulcorante sucralose/acessulfame-k, enzima lactase, enzima transglutaminase e extrato liofilizado de Açaí Juçara, a quantidade de ingredientes utilizados em cada formulação encontra-se na Tabela 2. (PEREIRA, 2014). Ressalta-se que as enzimas lactase e transglutaminase foram gentilmente doadas pela empresa Prozyn®.

Tabela 2- Ingredientes utilizados nas formulação do sorvete.

INGREDIENTES	FORMULAÇÕES					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Sucralose/Acessulfame-k (mL)	26	26	26	26	26	26
Concentrado proteico de soro (CPS) (g)	400	400	400	400	400	400
Estabilizante (liga neutra) (g)	12	12	12	12	12	12
Emulsificante (g)	8	8	8	8	8	8
Lactase (LE) (mL)	1,6	-	1,6	1,6	1,6	-
Transglutaminase (TE) (g)	0,624	-	-	0,624	0,624	0,624
Leite padronizado 8% gordura (L)	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Extrato de Açai Juçara liofilizado (ALE) (g)	2	2	2	-	-	2
BHT (g)	-	-	-	-	0,010	-

F1 ao F6 diferentes formulações de sorvete.

4.7.2 Elaboração do sorvete

O processo de elaboração do sorvete está resumido no fluxograma abaixo (Figura 7).

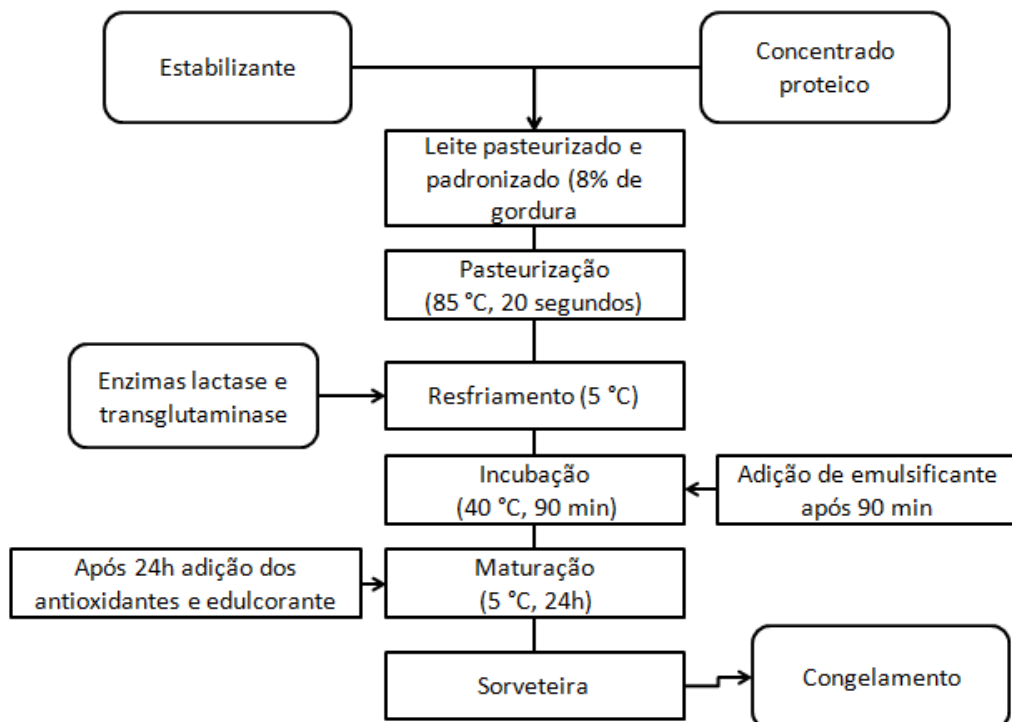


Figura 7 - Fluxograma do processo de elaboração do sorvete

4.7.3 Análise físico-química do sorvete

As análises físico-químicas de pH, umidade, EST (extrato seco total), cinzas, lipídeos e proteína foram realizadas nas amostras de sorvete segundo a metodologia descrita na Instrução normativa nº 68 (BRASIL, 2006).

4.7.4 Análise de *overrun*

O cálculo do *overrun* (ar) no sorvete foi avaliado pelo método descrito por Whelan et al. (2008). Foi medido volumes iguais da mistura base e do sorvete (50 mL); o *overrun* foi calculado pela equação 2:

$$\text{Overrun (\%)} = \text{peso da mistura base} - \left(\frac{\text{peso do sorvete} \times 100}{\text{peso do sorvete}} \right) \quad \text{Eq. (2)}$$

4.7.5 Análise da taxa de derretimento

A taxa de derretimento das amostras foi avaliada segundo o método descrito por Lee e White (1991), à temperatura de 25 °C. As amostras foram preparadas em potes plásticos com capacidade de 100 a 200 mL (peso das amostras variando de 100 a 160 g) será acoplado em suporte para buretas um funil de vidro; sobre o funil será colocada uma peneira metálica (medindo 100 mm de diâmetro) e apoiadas por provetas de (100 mL). O teste ocorreu paralelamente em triplicatas, utilizando conjunto de três suportes. A massa foi medida ao longo de 90 minutos, sendo analisadas até o derretimento total, procedimento acompanhado com cronômetro. O sorvete derretido foi recolhido em erlemeyer e pesado a intervalos de 10 minutos.

4.7.6 Análise de textura

Nas análises para averiguar o perfil de textura e ruptura do sorvete foi utilizado o texturômetro universal modelo TA. HD Plus, (Texture Analyser – Stable Micro Systems Co Ltd. Surrey – United Kingdom), interligado a um microcomputador tipo PC com sistema operacional windows 7, com uma sonda de cilindro com 50mm de diâmetro (compressão). As amostras foram mantidas a - 28 °C até serem cortadas em cubos de 2 x 2 x 2 cm e comprimidas a uma velocidade de 5mm/s (Penetração), que equivale a 50 %, isto é, 1 cm de compressão, segundo metodologia de (HWANG; SHYU; HSU, 2009). A coleta de dados foi realizada com auxílio do software “Exponent”, que executa sua análise com pacote de 32 bits, conforme descrito no seu manual (EXTRALAB – BRASIL, 2010).

4.7.7 Análise de colorimetria

A cor das amostras de sorvete foi analisada usando colorímetro (Model Minolta Meter CR-400, Osaka, Japão), previamente calibrado e ajustado para ser operado com iluminante C , D65 e ângulo de 10° . Será utilizado o método proposto pela CIELab definido em 1976, que se baseia na representação tridimensional, onde cada cor pode ser representada por um único ponto, sendo definida pelas coordenadas L^* , a^* e b^* , onde o parâmetro L^* representa a luminosidade na escala de 0 - 100 (do preto ao branco); a^* representa a variação de tonalidade de vermelho (+) ou verde (-) e b^* representa a variação da tonalidade do amarelo (+) ou azul (-) (BILLMEYER; SALTZMANN, 1981; YAM; PAPADAKIS, 2004).

Pelas coordenadas L^* , a^* e b^* podem ser calculadas as coordenadas do chroma C^* que indica a saturação ou a intensidade da cor (GIL-MUNOZ et al.,1997: KONICA MINOLTA, 2003), portanto a luminosidade na escala (L^*) e o chorma (C^*) são variáveis representativas das diferenças entre as amostras.

$$\Delta E^*_{ab} = ((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)^{\frac{1}{2}} \quad \text{Eq. (3)}$$

O ΔE^* representa o desvio total de cor em relação a um único padrão estabelecido.

A equação 3, será utilizada para calcular o desvio da cor, segundo CIE 1976: (BILLMEYER; SALTZMANN, 1981; YAM; PAPADAKIS, 2004).

4.7.8 Determinação de açúcares redutores pelo método Somogyi-Nelson

Esse método é baseado nas propriedades redutoras dos açúcares pela reação da hidroxila hemiacetálica dos monossacarídeos. É conhecida por ser uma metodologia de alta sensibilidade, cuja faixa de determinação situa-se entre 25 a 500 mg/L.

O princípio do método baseia-se na redução de Cu^{2+} a Cu^+ pelo açúcar redutor com formação de Cu_2O , que reduz o arsenomolibdato e produz protudo de coloração azul (NELSON, 1944).

Foram construídas duas curvas padrões, sendo uma de glicose e outra de lactose, variando a concentração das mesmas de 50 a 500 mg/L. Para a determinação dos açúcares nas amostras, 1,0 mL da amostra foi adicionada a 2,0 mL do reagente Somogyi-Nelson I (SN-I), agitado e aquecido em banho maria a 100 °C durante 6 minutos, posteriormente foi resfriado a banho de gelo por 5 min. Em seguida foi adicionado 2,0 mL da solução de Somogyi-Nelson II (SN-II) agitado e deixado em repouso a temperatura ambiente durante 5 minutos. Por fim adicionou-se 25 mL de água destilada e foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 540 nm.

4.7.9 Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS)

O teste de oxidação lipídica foi realizado através da quantificação das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), que está entre as principais metodologias utilizadas para acompanhar o processo de oxidação lipídica em alimentos. O malonaldeído, produto secundário da oxidação de ácido graxos polinsaturados, reage com o ácido 2-tiobarbitúrico formando um complexo

cromogênio que apresenta absorção máxima entre 520-532 nm (DAHLE et al., 1962). Este teste foi realizado mensalmente durante 90 dias..

Em um tubo Falcon, 5 g do sorvete e 25 mL de solução de ácido tricloroacético (TCA) foram homogeneizados durante 1 min. Após esse tempo foi realizada a filtração e uma alíquota de 4 mL do filtrado é transferido para um tubo de ensaio com rosca, com 5 mL de TBA e 1 mL de TCA e incubada em banho-maria por 45 minutos a 100 °C, desenvolvendo a cor característica da reação, resfriado logo em seguida em banho de gelo e realizada a leitura em espectrofotômetro à 538 nm (MIGUEL, 2009).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as determinações foram realizadas em triplicata, os dados foram avaliados por meio de análise de variância (ANOVA). As médias serão comparadas pelo teste de Tukey, considerando o nível de significância de 95% ($p < 0,05$), utilizando o programa STATISTICA versão 8.0 (StatSoft, USA).

5 RESULTADOS

5.1 OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES

Com objetivo de minimizar custos e tempo, a busca por otimização de processos está crescente, onde é possível maximizar rendimento e produtividade. É nesse contexto que pesquisadores tem despertado interesse (RODRIGUES; IEMMA, 2014).

Neste estudo foi utilizado delineamento inteiramente casualizado (DIC) com o objetivo de otimizar o processo de extração de compostos com atividade antioxidante presentes na polpa de Açaí de Juçara.

As variáveis dependentes adotadas foram quantificação do teor de compostos fenólicos totais, e a atividade antioxidante por meio dos métodos DPPH, ABTS e FRAP.

O teor de compostos fenólicos e atividades antioxidantes dos extratos de Açaí Juçara foram submetidos aos tratamentos (T1 ao T3), de acordo com o delineamento (Item 4.2), estão sumarizados na Tabela 3.

Após a polpa de Açaí Juçara liofilizada ter sido submetida a extração com diferentes solventes, os tratamentos T1 (água) e T3 (etanol 70%) conforme são apresentados na Tabela 3, não possuem diferença significativa entre si quando comparado o teor de compostos fenólicos totais (CFT). A média total do teor de CFT variou de 345,32 a 93,99 mg GAE/g. O menor teor de CFT foi encontrado no T2 (etanol 99,8%), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Diferença essa sendo justificada pela polaridade dos solventes, onde este estudo mostra que solventes polares e com polaridade média apresentam maior capacidade de extrair CFT. Os resultados dos CFT deste estudo foram maiores quando comparado com os resultados apresentados por Kang et al. (2012), onde os mesmos avaliaram o CTF de diferentes espécies de açaí do estado do Pará, Brasil, e os valores variaram de 31,2 a 73,0 mg GAE/g.

Paz et al. (2015) estudaram diferentes frutas tropicais do Brasil, onde para o extrato etanólico (50%) de açaí com temperatura de extração a 25 °C, encontraram CFT igual a 1,808 mg GAE/g, resultado este cerca de 190 vezes menor do que encontrado no presente estudo, demonstrando assim a eficiência da extração de CFT.

Quanto a atividade antioxidante, para a análise de DPPH, a média dos valores variaram de 99,65 a 214,49 $\mu\text{mol Trolox/g}$, onde o menor valor foi encontrado em T1. Contudo, os tratamentos T1 e T3 não diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$) (Tabela 3), onde apenas o tratamento T2 diferiu estatisticamente dos demais, tendo o maior valor de DPPH. Castro et al. (2016), submeteu frutos de açaí a diferentes tratamentos térmicos e posteriormente avaliou sua capacidade antioxidante pelo método DPPH, quando submetido ao tratamento térmico a temperatura de 100 °C, os mesmos obtiveram valores inferiores (5,28 $\mu\text{mol Trolox/g}$), quando comparado a este estudo. Essa diferença na capacidade dos compostos de Açaí em capturar o radical DPPH, pode ser atribuída ao tratamento

térmico, uma vez que os compostos bioativos podem ter degradado devido a temperatura elevada.

Tabela 3: Teor de compostos fenólicos totais e atividades antioxidantes por diferentes métodos a partir dos diferentes tipos de extração.

PLANTA	TRATAMENTOS	Solvente	Fenólicos (mg EAG ⁺ /g)	DPPH (μ mol Trolox/g)	ABTS (μ mol Trolox/g)	FRAP (μ mol de Fe ²⁺ /g)
<i>Euterpe edulis Mart.</i>	T1	Água	311,37 ^a \pm 38,94	99,65 ^b \pm 11,66	16,53 ^b \pm 0,20	755,08 ^b \pm 5,10
	T2	Etanol 99,8%	93,99 ^b \pm 13,27	214,49 ^a \pm 11,36	15,96 ^c \pm 0,07	241,36 ^c \pm 12,02
	T3	Etanol 70%	345,32 ^a \pm 21,78	111,90 ^b \pm 3,54	17,52 ^a \pm 0,01	1659,91 ^a \pm 15,30

T1 a T3: tratamento para diferentes combinações de solventes com tempo de 30 minutos e temperatura de 60 °C. *EAG: Equivalente em ácido gálico.

Valores das médias das triplicatas \pm desvio padrão. Médias seguidas de letra diferente na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p<0,05).

Borges et al. (2013), trabalharam com extrato hexânico da polpa de Açaí de Juçara (*E. edulis* Mart.), obtendo resultados para DPPH inferiores quando comparados com este estudo, essa baixa capacidade antioxidante pode estar relacionada com a polaridade dos solventes utilizados. Concluindo assim que solventes mais polares, apresentam maior capacidade de extrair compostos capazes de capturar radicais DPPH.

Os valores de ABTS encontrados para os diferentes tratamentos variaram de 15,96 a 17,52 $\mu\text{mol Trolox/g}$, onde todos os tratamentos apresentaram diferença significativa entre si ($p < 0,05$). O menor valor foi encontrado para o T2, extração esta realizada com o solvente menos polar quando comparado com os demais. Borges et al. (2011) trabalharam com otimização de extração de compostos bioativos da polpa de açaí juçara e obtiveram resultados inferiores que variaram de 4,83 a 11,58 $\mu\text{mol Trolox/g}$, demonstrando assim que o método de extração desse estudo torna-se mais eficiente em extrair compostos com capacidade de capturar radical ABTS.

Rufino et al. (2010) trabalhou com 18 espécies de frutas tropicais, dentre elas analisou *Euterpe oleracea*, onde para a ABTS encontrou resultados superiores (64,5 $\mu\text{mol Trolox/g}$) a este estudo, essa diferença de 3,68 vezes maior que o do estudo pode estar associada com a espécie de açaí trabalhada, bem como o modo de extração desses compostos.

No teste de capacidade de redução do Fe^{3+} para Fe^{2+} este estudo apresentou resultados consideravelmente elevados, onde as médias variaram de 241,36 a 1659,91 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$, todos os tratamentos diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$). O maior valor apresentado foi encontrado quando a extração foi realizada com solvente etanol 70% (T3), resultados superior quando comparado com os resultados encontrados por Rufino et al. (2010), que para o extrato de açaí, obtiveram 220 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$. Esta diferença pode ser justificada pelo fato de que o açaí não ser da mesma espécie bem como pela diferença na extração.

O TCF e atividades antioxidantes DPPH, ABTS e FRAP de T3 foram superiores quando comparado com os demais tratamentos, demonstrando eficiência na extração de compostos bioativos quando trabalhado com solventes de média polaridade, podendo assim ser utilizado para retardar ou estabilizar a oxidação lipídica. Essa diferença pode ser justificada pelo fato de que alguns compostos bioativos apresentam peso molecular elevado, sendo altamente insolúveis em água.

Portanto solventes que apresentam uma pequena porcentagem de água são mais eficientes na extração de compostos bioativos (Moure et al, 2001).

Foi possível observar que os extratos que apresentam maior teor de compostos fenólicos, apresentam maior atividade antioxidante. Essa correlação positiva também foi observada por Reis (2017), quanto trabalhou com a otimização de extração de compostos bioativos da *Quassia amara*. E por Vizzotto; Pereira (2011), quando otimizou a extração de compostos fenólicos da amora-preta.

De acordo com os resultados obtidos, percebe-se que os compostos presente no Açaí de Juçara oriundo da Mata Atlântica são facilmente extraídos quando utilizado solvente de média polaridade, como no caso o etanol 70%.

5.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA POR HLPC E ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

Os extratos obtidos a partir dos diferentes tipos de extração T1, T2 e T3 foram analisados quanto ao perfil de compostos fenólicos por HPLC e posteriormente foi realizada a análise de componentes principais (PCA).

A quantificação de CFT por cromatografia líquida de alta eficiência foi realizada com diferentes comprimentos de onda que variaram de 277 a 371 nm. Os dados da equação de regressão, comprimento de onda e tempo de retenção estão apresentados na Tabela 4 e os Cromatogramas desses extratos (T1, T2 e T3) estão mostrados nas Figuras 8 a 10.

Dentre os compostos fenólicos analisados, foi possível identificar em todos os extratos concentrações que variaram de 19,31 a 42,63 µg/g para ácido cumárico e 72,83 a 166,89 µg/g para ácido salicílico conforme mostra as Figuras 8, 9 e 10, onde todos os tratamentos diferiram estatisticamente entre si quando comparado as concentrações de ácido cumárico, no entanto para a concentração de ácido salicílico os extratos T1 e T2 não apresentaram diferença significativa, conforme mostra a Tabela 4. O ácido cafeíco foi encontrado em concentração de 12,18 µg/g em T1. Catequina e epicatequina foram encontradas em T3 nas concentrações de 13,82 µg/g e 13,44 µg/g respectivamente, conforme mostra a Tabela 4.

Tabela 4: Perfil fenólico determinado por HPLC nos extratos de Açaí (*Euterpe edulis* Mart.)

Composto	TR (min)	λ (nm)	R ² (Coeficiente de correlação)	T1 ($\mu\text{g/g}$)	T2 ($\mu\text{g/g}$)	T3 ($\mu\text{g/g}$)
Catequina	10,00	276	$y=0,1794x - 0,156$ ($R^2=0,9311$)	nd	nd	$13,82 \pm 2,70$
Ácido Cafeíco	12,50	320	$y=1,0138x - 1,229$ ($R^2= 0,9679$)	$12,18 \pm 0,40$	nd	nd
Ácido Cumárico	18,90	309	$y=1,7284x - 3,223$ ($R^2= 0,9094$)	$37,07^b \pm 2,63$	$19,31^c \pm 1,34$	$42,63^a \pm 2,12$
Ácido Salicílico	22,70	303	$y=0,616x - 0,525$ ($R^2= 0,9453$)	$91,67^b \pm 7,08$	$72,83^b \pm 9,94$	$166,89^a \pm 10,71$
Epicatequina	15,00	276	$y=0,2588x - 0,278$ ($R^2= 0,9381$)	nd	nd	$13,44 \pm 1,19$

T1 a T3: tratamento para diferentes combinações de solventes com tempo de 30 minutos e temperatura de 60 °C. nd: não identificado. Valores das médias das triplicatas \pm desvio padrão. Médias seguidas de letra diferente na mesma linha diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

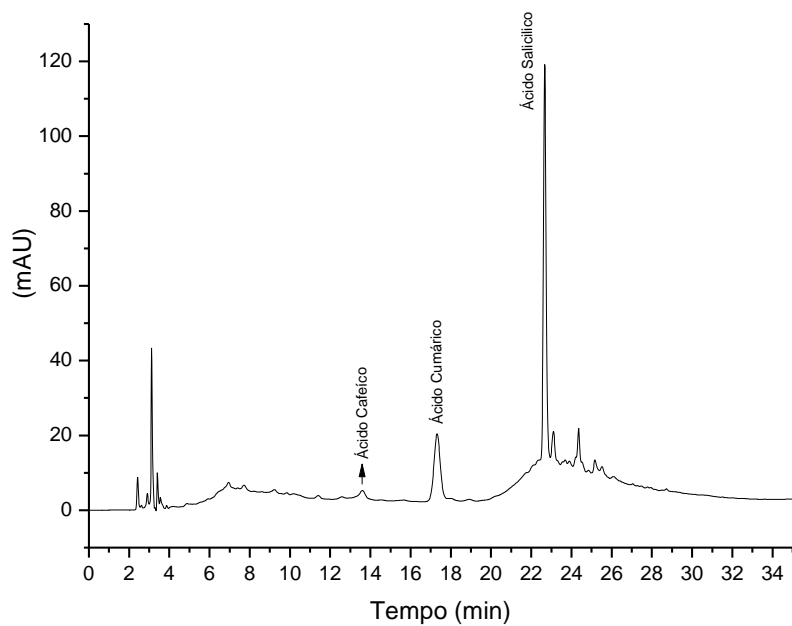


Figura 8: Cromatograma da extração T1 (água).

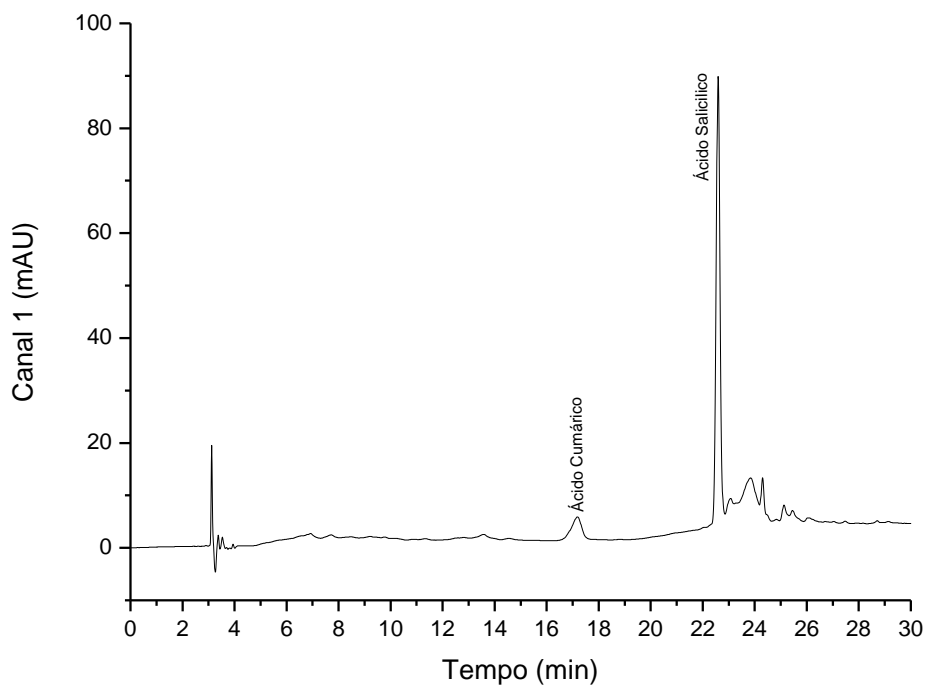


Figura 9: Cromatograma da extração T2 (etanol 99,8%).

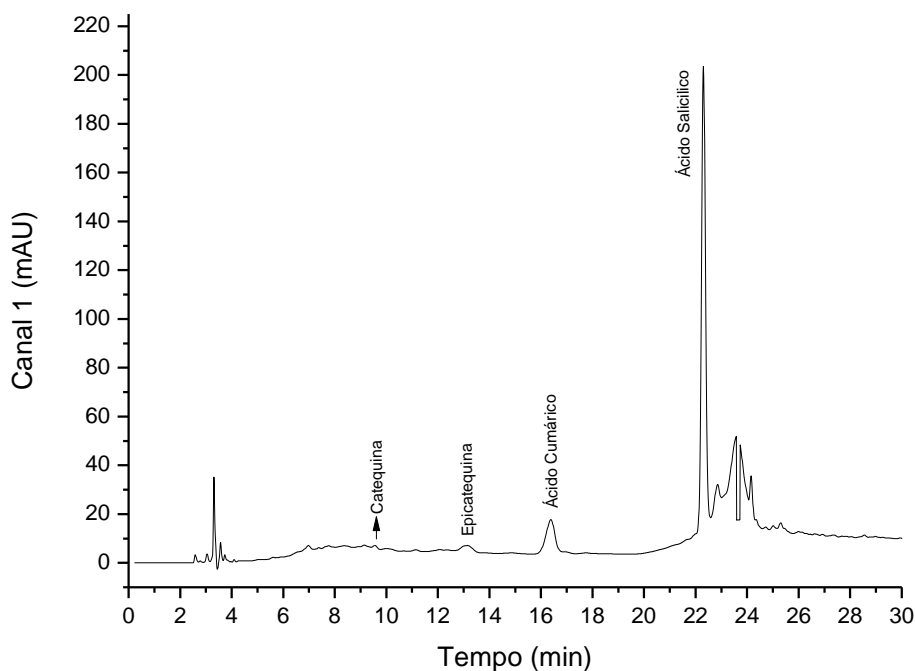


Figura 10: Cromatograma da extração T3 (etanol 70%).

Ressalta-se que a identificação bem como a quantificação de compostos fenólicos por HPLC é encontrado em diferentes estudos na literatura, contudo, vale lembrar que as condições de análise são diferentes. Gordon et al.(2012) analisaram açaí e identificaram no seu extrato ácido vanílico, ácido cafeíco e ácido gálico. Moura et al. (2018), trabalharam nas mesmas condições que este presente estudo e para o extrato de açaí, foram identificados catequina, epicatequina, rutina e miricetina em concentrações inferiores quando comparadas com o presente estudo. As divergências encontradas entre os trabalhos, bem como a concentrações dos compostos identificados ou a sua ausência, está diretamente relacionada com a diferença nas condições de extração, sensibilidade do equipamento, metodologias utilizadas entre outros, podendo assim ser considerados aspectos para a diferença de resultados.

Para PCA foi utilizado conjunto de dados compostos fenólicos identificados por HPLC e diferentes tratamentos, onde duas componentes principais foram identificadas tendo uma variância explicada de 94,23%. Componente 1 (PC1) com 61,43% de variação e componente 2 (PC2) com 32,80%, conforme mostra a Figura

11. Houve a formação de três grupos representados pelas diferentes formas de extração e pelos compostos fenólicos identificados por HPLC. O primeiro grupo (primeiro quadrante) é representado por T2 (Figura 9), o segundo grupo (terceiro quadrante) é representado por T3 (Figura 10) e os compostos fenólicos: catequina (CAT), epicatequina (EPI), ácido salicílico (ASA) e ácido cumárico (ACU) e por fim o terceiro grupo (quarto quadrante) representado por T1 (Figura 8) e ácido cafeíco (ACA).

A partir da análise de PCA, é possível a conclusão que o tratamento T3 se mostrou mais eficiente na extração de compostos fenólicos, uma vez que foi o extrato que apresentou 4 diferentes compostos identificados. Essa diferença é denotada a polaridade do solvente, onde compostos de polaridade média como a catequina e epicatequina são facilmente extraídos.

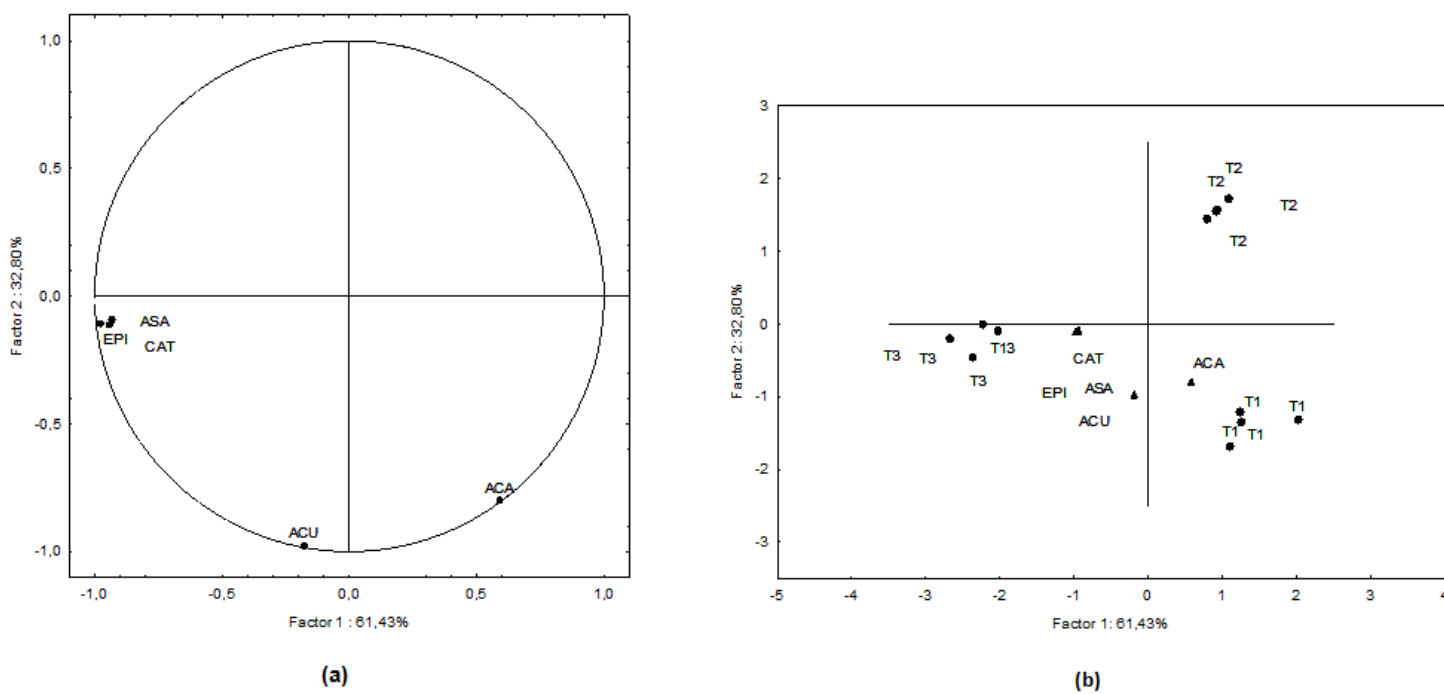


Figura 11: Gráfico de análise de componentes principais. (a) escores dos compostos fenólicos identificados; (b) Projeção dos compostos fenólicos identificados e dos diferentes tipos de extração. EPI (epicatequina); ASA (ácido salicílico); CAT (catequina); ACU (ácido cumárico); ACA (ácido cafeíco).

5.3 TEOR DE ANTOCIANINAS TOTAIS

A partir do delineamento realizado onde foi possível observar que o extrato etanólico 70% apresentou maior quantidade de compostos fenólicos totais e consequentemente maiores valores para as atividades antioxidantes DPPH, ABTS e FRAP, contudo, o mesmo extrato se sobressaiu na caracterização química por HPLC, onde o mesmo apresentou concentrações maiores nos compostos identificados, diferenciando também pela identificação da catequina e epicatequina, foi possível observar também pela análise de PCA que o solvente etanol 70% é considerado o melhor solvente para extração de compostos fenólicos. Define-se como melhor solvente para extração o etanol 70%. Para análise de antocianinas totais foi utilizado somente o extrato etanólico 70% (T3).

Tabela 5: Quantificação de Antocianinas totais expressas em cianidina-3-glicosídeo no extrato T3 (etanólico 70%) de Açaí de Juçara.

Amostra	Antocianinas (g/100g de amostra)
T3	5,34 ± 0,01

T3: extração com etanol 70%.

Valores das médias das triplicatas ± desvio padrão.

Barros et al (2015), avaliaram a influência da pasteurização na quantificação de antocianinas totais da Açaí de Juçara (*Euterpe edulis* Mart.), onde quando trabalharam com uma temperatura de 70 °C, obtiveram antocianinas igual a 153,12 mg/100g, resultado este inferior quando comparado com este estudo, esta diferença pode ser atribuída a temperatura, onde a 70 °C parte das antocianinas podem ter sido degradadas, bem como o modo de extração, uma vez que o trabalho apresentado por Barros et al (2015) trabalharam com o açaí *in natura*. Moura et al (2018) obtiveram 410,24 mg/100g para a análise de antocianina, resultado este inferior quando comparado com o presente estudo, ressalta-se que os açaí comparados não pertencem a mesma espécie e nem a forma de extração é a mesma, podendo assim, influenciar diretamente na quantificação de antocianinas.

O resultado desse presente estudo mostra-se superior quando comparado com a literatura, essa diferença pode ser atribuída à preparação do extrato, uma vez que estudos comprovam que diversos fatores influenciam na estabilidade das antocianinas, entre eles o pH, onde estudos indicam que as antocianinas são mais estáveis em soluções acidificadas do que seus análogos não acidificados (SAITO, 1995)

5.4 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO SORVETE

A composição centesimal das diferentes formulações de sorvete elaborados com as enzimas lactase e transglutaminase juntamente com a adição do extrato de açaí juçara estão apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6: Composição físico química das seis diferentes formulações de sorvetes.

	Umidade (%)	Cinzas (%)	Sólidos Totais (%)	Proteínas (%)	Lipídeos (%)	pH
F1	72,64 ^a ± 0,08	0,97 ^a ± 0,01	27,36 ^a ± 0,03	10,08 ^a ± 0,93	9,33 ^a ± 0,07	6,26 ^a ± 0,01
F2	74,39 ^a ± 0,06	0,93 ^a ± 0,02	27,61 ^a ± 0,02	10,89 ^a ± 0,96	9,56 ^a ± 0,05	6,02 ^a ± 0,01
F3	71,27 ^a ± 0,07	0,96 ^a ± 0,01	28,73 ^a ± 0,01	10,84 ^a ± 0,93	9,04 ^a ± 0,07	6,29 ^a ± 0,00
F4	71,25 ^a ± 0,09	0,95 ^a ± 0,03	28,75 ^a ± 0,05	10,45 ^a ± 0,89	9,76 ^a ± 0,04	6,47 ^a ± 0,01
F5	72,63 ^a ± 0,07	0,97 ^a ± 0,02	27,37 ^a ± 0,02	10,58 ^a ± 0,82	9,88 ^a ± 0,01	6,43 ^a ± 0,01
F6	71,65 ^a ± 0,06	0,98 ^a ± 0,01	28,75 ^a ± 0,04	10,76 ^a ± 0,97	9,54 ^a ± 0,04	6,09 ^a ± 0,00

Valores das médias das triplicatas ± desvio padrão. Médias seguidas de letra diferente na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). F1 (ALE + LE + TE), F2 (ALE), F3 (ALE + LE), F4 (LE + TE), F5 (LE + TE + BHT) e F6 (ALE + TE)

Os resultados da composição centesimal das diferentes formulações de sorvete não apresentam diferença significativa entre si em todos os tratamentos e em todas as análises apresentadas na tabela à cima. Esses resultados podem ser explicados pelo fato de ter sido elaborado sempre a mesma calda base, diferindo apenas a adição ou não das enzimas lactase e transglutaminase e a adição ou não do extrato de açaí de Juçara.

De acordo com o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Gelados Comestíveis alguns parâmetros são preconizados para que seja possível considerar o produto final como sorvete. Os parâmetros preconizados são: sólidos totais, lipídeos e proteínas, onde a percentagem mínima estabelecida fica de 26%, 3% e 2,5% respectivamente.

Ressalta-se que para as demais análises não possui padrões estabelecidos pelo regulamento, apesar de serem relevantes para as propriedades nutricionais do produto. Todos os sorvetes elaborados encontram-se dentro do padrão estabelecido.

5.5 ANÁLISE DE *OVERRUN*

A análise de overrun foi realizada a partir do teste que avalia a incorporação de ar no sorvete durante o processo de batimento. Foi medido o volume da calda base (inicial) para a produção de sorvete e o volume do produto final (sorvete), posteriormente calculou-se overrun a partir da Equação 2 (Item 4.7.4). Observa-se que todas as formulações apresentaram uma percentagem de overrun maior que 40%, como mostra a Figura 12.

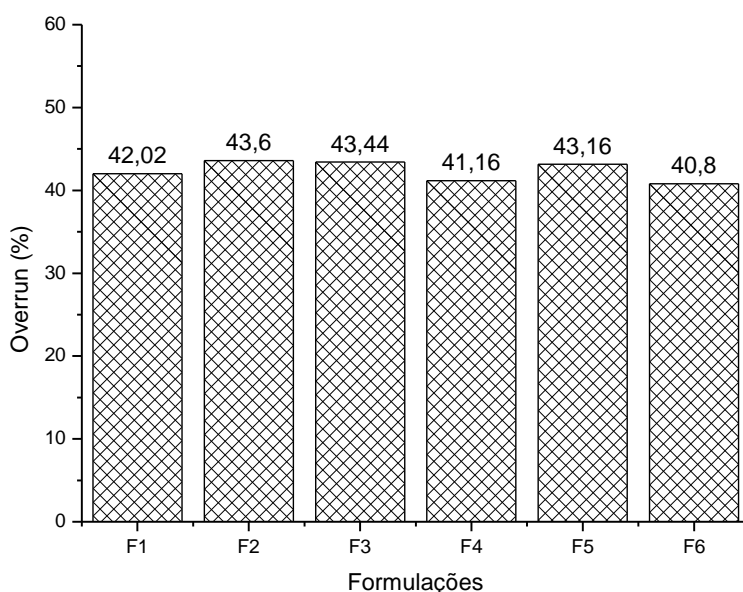


Figura 12 - Gráfico de porcentagem de incorporação de ar (overrun) nas diferentes formulações de sorvetes.

O overrun é considerado um parâmetro de grande importância para a caracterização do sorvete. O mesmo em porcentagem elevada favorece a cremosidade, promovendo assim maior rendimento do produto. O aumento no volume do produto é composto principalmente pelo ar incorporado. Em processo de elaboração descontínuo como o do presente trabalho, o ar é incorporado pelo processo de agitação da calda base a pressão atmosférica, o que é possível uma incorporação de ar entre 50 a 100% (SOUZA et al., 2010).

Contudo o valor da incorporação de ar do presente estudo mostrou-se inferior a 50%, essa diferença pode estar diretamente relacionada com os ingredientes utilizados para produção do produto bem como o tempo de batimento da calda, considerando que quanto maior o tempo de batimento, maior será a incorporação de ar. Quando comparada as diferentes formulações, não se observa uma diferença demasiada de porcentagem.

No entanto, verifica-se que a formulação adicionada apenas da enzima transglutaminase (F6) apresentou menor overrun (40,8%), essa diferença pode estar associada à polimerização das proteínas do leite causadas pela transglutaminase, constituindo um meio efetivo com propriedades físicas diferentes, uma vez que a transglutaminase tem a capacidade de alterar a conformação do gel, retendo água na estrutura proteica, formando ligações cruzadas com as proteínas, afetando diretamente na microestrutura do sorvete (GAUCHE; TOMAZI; BORDIGNON-LUIZ, 2008).

Campidelli et al. (2015), avaliou as propriedades do sorvete de mirtilo enriquecido com semente de chia, e para propriedade overrun obteve uma porcentagem de 71,91, resultado este superior ao encontrado no presente estudo. Ressalta-se que alguns fatores podem ter interferido na incorporação de ar, tais como: batimento inadequado do sorvete e absorção de água através de ingredientes que diminuem a água livre disponível.

Lamounier et al. (2015) elaborou diferentes formulações de sorvete com variações na quantidade de farinha de jabuticaba utilizada, e obteve valor de overrun igual a 77%, resultado este superior quando comparado com o presente estudo. Esta diferença pode estar relacionada com os ingredientes utilizados, uma vez que quanto maior o teor de gordura, menor será a incorporação de ar, o emulsificante,

estabilizante bem como o equipamento utilizado para congelamentos, esses fatores interferem diretamente na porcentagem de overrun (PEREIRA et al., 2011).

Portanto, a partir desse estudo, pode-se concluir que formulações de sorvetes tratados com enzimas lactase e transglutaminase apresentam melhor rendimento do que formulações tratadas apenas com a transglutaminase, devido à polimerização causada pela mesma.

5.6 ANÁLISE DE DERRETIMENTO

A análise do índice de derretimento das diferentes formulações de sorvete foi realizada em diferentes tempos de armazenamento (0, 15 e 30 dias) conforme mostram as figuras 13, 14 e 15 respectivamente.

Na Figura 13 onde é ilustrado o índice de derretimento no tempo 0, observa-se que o maior índice de derretimento ocorreu na formulação adicionado apenas da enzima transglutaminase (F6) com uma média de 0,43 g/min, e o menor índice de derretimento foi verificado na formulação tratada com as enzimas lactase e transglutaminase (F1) com uma média de 0,28 g/min.

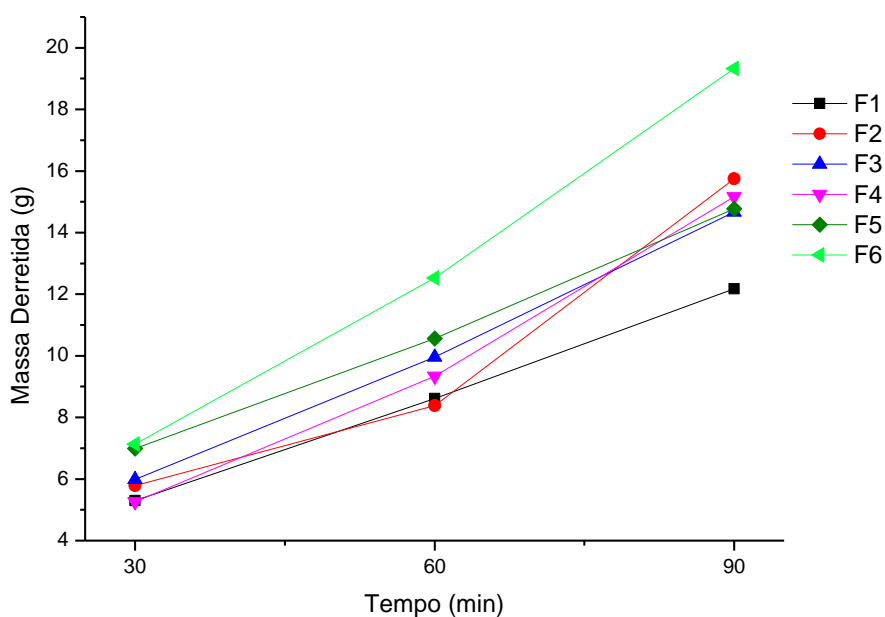


Figura 13: Gráfico do índice de derretimento realizado no tempo 0 dia de armazenamento das diferentes formulações de sorvete.

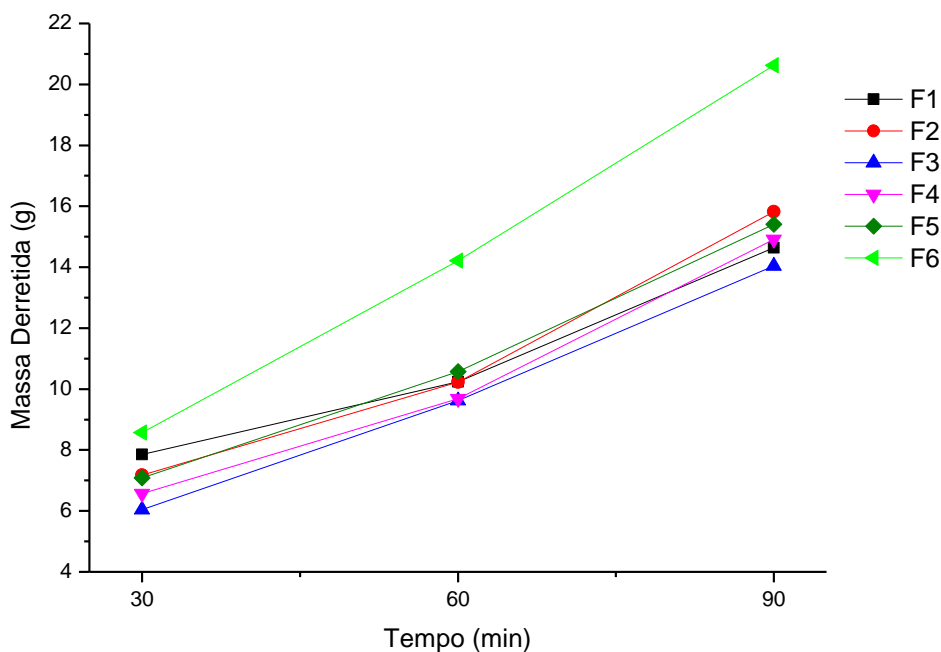


Figura 14: Gráfico do índice de derretimento realizado no tempo 15 dias de armazenamento das diferentes formulações de sorvete.

Após 15 dias de armazenamento (Figura 14), o maior índice de derretimento foi observado na formulação F6 com valor de 0,48 g/min e o menor valor é encontrado na formulação tratada apenas com a enzima lactase (F3) com valor de 0,33 g/min. E por fim após 30 dias de armazenamento (Figura 15) observa-se que novamente a formulação F6 apresentou maior índice de derretimento com valor igual a 0,52 g/min e o menor valor é encontrado na formulação tratada com as enzimas lactase e transglutaminase adicionado do antioxidante sintético BHT (F5) com valor igual a 0,36 g/min.

A partir desses resultados pode-se concluir que independente do tempo de armazenamento a formulação F6 foi a que apresentou menor resistência ao parâmetro derretimento. Esse resultado pode ser justificado pela presença de lactose na formulação, uma vez que a menor concentração de lactose na formulação contribui para uma melhor polimerização das proteínas causada pela enzima transglutaminase, devido ao aumento do teor de sólidos totais presentes no leite,

induzindo a uma maior atuação da enzima transglutaminase, aumentando à resistência ao derretimento (LONGO, 2006).

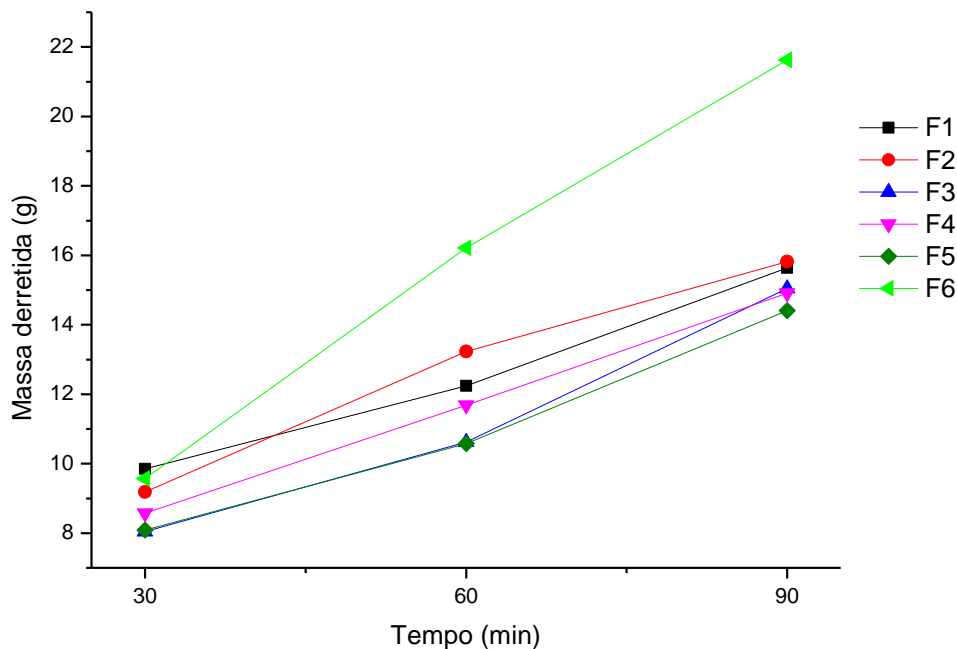


Figura 15: Gráfico do índice de derretimento realizado no tempo 30 dias de armazenamento das diferentes formulações de sorvete.

As formulações F1, F4 e F5 apresentam taxa de derretimento menor, quando comparado com a formulação F6, evidenciando formação de ligação cruzada menos firme causada pela enzima transglutaminase, interferindo diretamente na distribuição das bolhas de ar e na coalescência dos glóbulos de gordura que podem ter sido afetados durante o processo de batimento do sorvete (PEREIRA, 2014)

A atuação da enzima lactase juntamente com transglutaminase pode ter provocado menor aglomeração de sólidos totais (diminuindo a viscosidade do meio) possibilitando a formação de bolhas de ar, cuja movimentação de água do meio pode formar pequenos cristais de gelo auxiliando na estrutura do sorvete, formando uma rede proteica mais firme, diminuindo a taxa de derretimento (PEREIRA, 2014).

5.7 ANÁLISE DE TEXTURA

A textura nos sorvetes está diretamente relacionada com sua estrutura e composição. A partir da Tabela 7 é possível verificar que para o parâmetro dureza as formulações F1 e F4 não apresentam diferença significativa entre si. No entanto a formulação F6 diferiu estatisticamente das demais formulações. Para o parâmetro gomosidade observa-se que as formulações que foram tratadas com as enzimas lactase e transglutaminase (F1, F4 e F5) não diferiram estatisticamente entre si.

Essa diferença pode estar diretamente relacionada com a polimerização causada somente pela enzima transglutaminase, uma vez que esse processo ocorra, os parâmetros dureza e gomosidade tornam-se maiores, no entanto quando combinado com a enzima lactase, esse processo pode ser retardado diminuindo assim os parâmetros acima citados.

Tabela 7: Resultados da Análise de Perfil de Textura (TPA) das diferentes formulações de sorvete.

TRATAMENTOS	DUREZA (N)	GOMOSIDADE (N)
F1	29,88 ^d ± 0,40	0,76 ^d ± 0,01
F2	17,30 ^e ± 1,24	1,67 ^a ± 0,08
F3	40,44 ^c ± 2,98	1,33 ^c ± 0,30
F4	29,97 ^d ± 2,45	0,68 ^d ± 0,05
F5	44,81 ^b ± 1,50	0,55 ^d ± 0,09
F6	58,73 ^a ± 0,86	1,53 ^b ± 0,12

Valores das médias das triplicatas ± desvio padrão. Médias seguidas de letra diferente na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey (p<0,05). F1 (ALE + LE + TE), F2 (ALE), F3 (ALE + LE), F4 (LE + TE), F5 (LE + TE + BHT) e F6 (ALE + TE)

Ressalta-se que o parâmetro dureza é definido como a força necessária para apertar o sorvete entre os dentes molares ou entre a língua e o pato. Enquanto a gomosidade é definida como a energia necessária para desintegrar uma porção de sorvete (Silva et al., 2013)

Resultados superiores foram encontrados por Silva et al. (2013) onde avaliaram a dureza e a gomosidade de formulações de sorvete com diferentes tipos de leite.

É nesse contexto que a utilização das enzimas agrega valor, pois além de se obter produtos com baixo teor de lactose é possível obter produtos com textura melhor. Vale lembrar que as diferenças apresentadas neste trabalho também podem estar diretamente relacionadas com o perfil lipídico, uma vez que a presença de ácidos graxos aumenta a dureza de produtos lácteos gordurosos (Maia et al., 2006).

5.8 ANÁLISE DE COLORIMETRIA

Nos alimentos a coloração é um fator essencial para a aceitabilidade do produto. Quando a cor apresenta aspectos agradáveis aos consumidores, dificilmente o alimento não será provado. Porém, a cor de um produto não deve ser o único aspecto a ser analisado, devido ao fato de que muitos consumidores apresentam perspectivas de cores completamente diferentes.

Contudo, ressalta-se que a cor dos alimentos pode ser proveniente de pigmentos sintéticos ou até mesmo de produtos naturais, porém, as formações de substâncias coloridas alteram durante o tempo de armazenamento do produto (ROCHA; REED, 2014).

Na análise de cor do presente estudo os parâmetros a^* e b^* indicam as coordenadas cromáticas, onde a^* varia de $+a^*$ (vermelho) ao $-a^*$ (verde), o parâmetro b^* varia de $+b^*$ (amarelo) ao $-b^*$ (azul). O parâmetro L^* indica a luminosidade, podendo esta variar de zero (preto) a 100 (branco), o Chroma (C^*) (saturação, intensidade) e o ângulo de tonalidade (h) também são avaliados (KONICA MINOLTA, 1998)

Os valores referentes aos parâmetros L^* , a^* , b^* , C^* , h e ΔE (variação total de cor), estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8: Análise de cor das diferentes formulações de sorvetes.

Tratamentos		0 Dias			15 Dias			30 Dias		
L*	F1	68,48 ^{bc}	± 0,72	76,00 ^{ab}	± 0,95	80,62 ^{ba}	± 0,47			
	F2	81,18 ^{aa}	± 1,14	76,13 ^{ab}	± 1,04	76,76 ^{cb}	± 0,66			
	F3	67,68 ^{ba}	± 1,97	66,09 ^{ba}	± 1,38	63,48 ^{db}	± 0,41			
	F4	80,21 ^{aa}	± 1,01	76,10 ^{ab}	± 1,51	79,13 ^{ba}	± 1,26			
	F5	78,02 ^{ab}	± 0,81	73,54 ^{ac}	± 1,35	82,86 ^{aa}	± 0,80			
	F6	77,49 ^{aa}	± 2,81	67,90 ^{bb}	± 0,47	69,92 ^{eb}	± 0,67			
a*	F1	2,30 ^{aa}	± 0,03	1,55 ^{ba}	± 0,02	1,42 ^{ca}	± 0,02			
	F2	1,53 ^{da}	± 0,15	1,37 ^{ca}	± 0,01	1,17 ^{ca}	± 0,18			
	F3	1,94 ^{ba}	± 0,95	1,63 ^{ba}	± 0,01	2,42 ^{aa}	± 0,03			
	F4	-1,26 ^{ea}	± 0,16	-1,04 ^{ea}	± 0,09	-1,02 ^{da}	± 0,10			
	F5	-1,75 ^{ca}	± 0,13	-1,63 ^{da}	± 0,02	-1,53 ^{ea}	± 0,07			
	F6	1,93 ^{ba}	± 0,15	2,29 ^{aa}	± 0,17	2,06 ^{ba}	± 0,04			
b*	F1	12,53 ^{ca}	± 0,46	10,2 ^{ca}	± 0,31	10,30 ^{ca}	± 0,21			
	F2	13,45 ^{cdA}	± 0,41	11,24 ^{cdA}	± 0,24	10,21 ^{cb}	± 0,68			
	F3	11,04 ^{dca}	± 0,29	9,61 ^{ceA}	± 0,61	10,19 ^{ca}	± 0,86			
	F4	18,07 ^{aa}	± 1,66	14,61 ^{ab}	± 0,58	12,55 ^{bdB}	± 0,54			
	F5	15,69 ^{ba}	± 0,23	12,85 ^{bb}	± 0,21	13,01 ^{adB}	± 0,32			
	F6	12,36 ^{ca}	± 0,05	11,03 ^{cfA}	± 0,50	10,11 ^{ca}	± 0,37			
C*	F1	12,74 ^{ca}	± 0,45	10,32 ^{ca}	± 0,30	10,40 ^{ca}	± 0,21			
	F2	13,53 ^{cdA}	± 0,82	11,32 ^{cdA}	± 0,24	10,28 ^{ca}	± 0,69			
	F3	11,21 ^{ceA}	± 0,29	9,75 ^{ceA}	± 0,60	10,47 ^{ca}	± 0,83			
	F4	18,11 ^{aa}	± 1,66	14,65 ^{ab}	± 0,58	12,59 ^{bdB}	± 0,54			
	F5	15,78 ^{ba}	± 0,24	12,95 ^{bb}	± 0,21	13,10 ^{adB}	± 0,33			
	F6	12,51 ^{ca}	± 0,06	11,27 ^{cfA}	± 0,53	10,31 ^{ca}	± 0,37			
H	F1	79,56 ^{eb}	± 0,38	82,15 ^{da}	± 0,52	82,84 ^{da}	± 0,21			
	F2	83,49 ^{ca}	± 0,27	84,21 ^{ca}	± 0,87	84,09 ^{ca}	± 0,67			
	F3	80,01 ^{ea}	± 0,32	80,37 ^{ea}	± 0,62	79,50 ^{ea}	± 0,39			
	F4	93,97 ^{ba}	± 0,19	93,57 ^{ba}	± 0,16	94,18 ^{ba}	± 0,34			
	F5	96,68 ^{aa}	± 0,21	96,43 ^{aa}	± 0,13	96,05 ^{aa}	± 0,21			
	F6	81,10 ^{da}	± 0,69	79,63 ^{ea}	± 0,19	79,65 ^{ea}	± 0,21			
ΔE	F1	-		7,90 ^{ab}	± 0,27	12,35 ^{aa}	± 1,2			
	F2	-		5,59 ^{aa}	± 0,82	5,73 ^{ceA}	± 1,73			
	F3	-		3,19 ^{acA}	± 1,74	4,40 ^{cdA}	± 1,79			
	F4	-		5,52 ^{aa}	± 1,99	5,01 ^{cfA}	± 0,96			
	F5	-		5,37 ^{aa}	± 1,16	5,58 ^{ca}	± 0,17			
	F6	-		11,71 ^{abA}	± 1,50	7,95 ^{bb}	± 2,77			

Médias das triplicatas ± Desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si. Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si. F1 (ALE + LE + TE), F2 (ALE), F3 (ALE + LE), F4 (LE + TE), F5 (LE + TE + BHT) e F6 (ALE + TE)

As formulações controle negativo e controle positivo, F4 e F5 respectivamente apresentam valores de a^* negativo, esse valor indica que as formulações de sorvete apresentam leve tendência à coloração esverdeada. Porém, as formulações F1, F2, F3 e F6 apresentam valores de a^* positivo, indicando que essas formulações possuem leve tendência a coloração avermelhada. Essa diferença de coloração está atribuída à adição do extrato de açaí, onde, as formulações F4 e F5 não são acrescidas do mesmo. Todas as amostras apresentam diferença significativa entre si para o parâmetro a^* , contudo, não apresentam diferença significativa quando comparado o tempo de armazenamento, indicando não possuir degradação na coloração para a coordenada cromática a^* .

A coordenada cromática b^* indica a variação de cor de amarelo ao azul, todas as formulações de sorvete apresentaram valores positivos, indicando que todas apresentam leve tendência à coloração amarela. As formulações F1, F3 e F6 não apresentam diferença significativa em relação ao tempo de armazenamento, indicando que para a coordenada cromática b^* não houve degradação de coloração. Já para as formulações F2, F4 e F5, houve diferença significativa a partir de 15 dias de armazenamento, demonstrando que essa coloração amarela, degradou com o passar do tempo.

As formulações F4 e F5 no geral apresentam maiores valores para luminosidade, essa diferença pode ser atribuída ao fato de não possuírem extrato de açaí, o que mantém sua coloração levemente amarelada.

Em relação ao parâmetro C^* que indica a saturação da amostras, as formulações F1, F2, F3 e F6 não apresentam diferença significativa em relação ao tempo de armazenamento, porém, as amostras F4 e F5 apresentam diferença significativa em relação ao tempo de armazenamento a partir de 15 dias. Ressalta que as amostras que apresentam coloração mais escura, apresentam valores de saturação (C^*) menor, onde o presente estudo indica, que amostras adicionadas de extrato de açaí (F1, F2, F3, F6) apresentam valores de C^* menor do que amostras sem adição do mesmo (F4 e F5).

Para o parâmetro h (tonalidade), todas as amostras diferiram estatisticamente entre si, porém em relação ao tempo de armazenamento, as formulações F2, F3, F4, F5, F6 não apresentam diferença significativa, apenas a formulação F1 diferiu estatisticamente a partir de 15 dias de armazenamento.

Para a avaliação da influência do tempo de armazenamento em relação à coloração das amostras, o parâmetro ΔE (variação total de cor) foi calculado utilizando as variáveis ΔL^* , Δa^* e Δb^* . Martínez et al. (2001) afirma que para a diferença de cor seja visível a olho nu ΔE deve apresentar valores maiores que 2,7. No presente estudos os valores da variação total de cor foram calculados em relação ao tempo inicial (0 dias) e todas as formulações apresentam valores maiores que 2,7 indicando que a diferença de cor após 15 dias de armazenamento é visível a olho nu.

5.9 DETERMINAÇÃO DE AÇÚCARES REDUTORES

A lactose é digerida pelos mamíferos logo após a sua hidrólise causada pela enzima lactase, é no intestino delgado que essa hidrólise da ligação ocorre, desdobrando a lactose em glicose e galactose, fazendo com que a digestão seja possível. Pessoas com deficiência de lactase não possuem essa capacidade e quando ingerem produtos lácteos apresentam transtornos gastrointestinais (FAEDO et al., 2013).

É nesse contexto que a hidrólise da lactose é um processo favorável para a indústria alimentícia, uma vez que possibilita o desenvolvimento de novos produtos sem lactose em sua composição.

O teor lactose e glicose no presente estudo foram quantificados pela metodologia Somogyi-Nelson. Esse método é baseado nas propriedades redutoras dos açúcares pela reação da hidroxila hemiacetálica dos monossacarídeos. O teor de lactose e glicose foram avaliados com o objetivo de verificar a hidrólise da lactose causada pela adição da enzima lactase nas formulações de sorvete.

As concentrações de lactose e glicose presentes nas formulações de sorvete são mostradas na Tabela 9.

Tabela 9: Concentrações de lactose e glicose nas diferentes formulações de sorvete.

Formulações	Lactose (mg/100mL)	Glicose (mg/100mL)
F1	26,65 ^c ± 0,62	10,38 ^b ± 0,23
F2	134,77 ^a ± 0,10	4,26 ^d ± 0,03
F3	29,61 ^b ± 1,10	11,14 ^a ± 0,29
F4	22,77 ^d ± 0,26	11,60 ^a ± 0,09
F5	29,61 ^b ± 0,34	11,55 ^a ± 0,13
F6	134,57 ^a ± 0,26	4,92 ^c ± 0,09

Valores das médias das triplicatas ± desvio padrão. Médias seguidas de letra diferente na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). F1 (ALE + LE + TE), F2 (ALE), F3 (ALE + LE), F4 (LE + TE), F5 (LE + TE + BHT) e F6 (ALE + TE).

É possível verificar na tabela a cima (Tabela 9) que a média do teor de lactose presente nas diferentes formulações variou de 22,77 a 134,77 mg/100mL de amostra, onde o menor valor foi encontrado na formulação F4 (lactase + transglutaminase), contudo o maior valor foi encontrado na formulação F2 (sem adição de enzima). Verifica-se que as formulações F2 e F6 não apresentam diferença significativa entre si, porém, diferem estatisticamente das demais formulações. É possível observar também que as formulações F3 e F5 não apresentam diferença significativa entre si, diferindo estatisticamente das demais formulações de sorvete.

Quanto ao teor de glicose a média variou de 4,26 a 11,60 mg/100mL onde o a menor concentração de glicose foi encontrada na formulação de sorvete F2 (sem adição da enzima lactase), porém a mesma não apresentou diferença significativa quando comparada com a formulação F6 (transglutaminase + extrato de açaí). As formulações F3, F4 e F5 não difeririam estatisticamente entre si para a concentração de glicose encontrada, contudo, a formulação F1 apresentou diferença significativa quando comparada com as demais formulações.

A partir desses resultados é possível verificar a ação da enzima lactase adicionada nas diferentes formulações de sorvete. Verifica-se que nas formulações F2 e F6 onde não houve adição da enzima lactase, conseqüentemente o teor de lactose presente é maior do que nas demais formulações, contudo, o teor de glicose é menor, devido ao fato de não ter ocorrido a hidrólise da lactose presente no leite.

Segundo a Resolução DC/ANVISA Nº 135 DE 08/02/2017, para que alimentos sejam classificados como isentos de lactose os mesmo devem apresentar concentração de lactose igual ou menor a 100mg/100mL do alimento pronto para

consumo. A partir disso é possível verificar que as formulações tratadas com a enzima lactase (F1, F3, F4 e F5) apresentam concentração de lactose menor que 100mg/100mL podendo assim serem classificadas segundo a ANVISA como produtos isentos de lactose.

5.10 SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO 2-TIOBARBITÚRICO (TBARS)

A análise de TBARS baseia-se na reação entre o ácido com os produtos de decomposição, sendo o principal composto formado após uma oxidação o malonaldeído. A molécula de malonaldeído reage com duas moléculas de ácido 2-tiobarbitúrico, formando um complexo de coloração avermelhada, observada no comprimento de onda de 538 nm.

Nesse presente estudo, a análise de TBARS foi realizada para as 6 formulações de sorvete, mensalmente durante 90 dias, conforme mostra a Tabela 10.

Tabela 10: Valores médios referentes à análise TBARS nas diferentes formulações de sorvete durante 90 dias armazenamento do produto.

Formulação	TBARS (mg de malonaldeído/kg de amostra)			
	0 DIAS	30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS
F1	5,51 ^{aA} ± 0,01	4,31 ^{aA} ± 0,03	2,83 ^{dA} ± 0,09	3,10 ^{dA} ± 0,01
F2	4,43 ^{bA} ± 0,18	3,39 ^{dA} ± 0,10	2,47 ^{eA} ± 0,08	2,55 ^{fA} ± 0,04
F3	5,77 ^{aAB} ± 0,13	4,17 ^{aA} ± 0,06	3,66 ^{bA} ± 0,13	3,88 ^{bA} ± 0,02
F4	5,71 ^{aA} ± 0,12	3,73 ^{cA} ± 0,14	4,51 ^{aA} ± 0,04	4,11 ^{aA} ± 0,06
F5	4,14 ^{bA} ± 0,04	3,96 ^{bA} ± 0,05	3,68 ^{bA} ± 0,01	3,67 ^{cA} ± 0,06
F6	4,19 ^{bA} ± 0,07	3,36 ^{dA} ± 0,05	2,41 ^{eA} ± 0,20	2,82 ^{eA} ± 0,01
Média	4,95 ± 0,78	3,82 ± 0,39	3,26 ± 0,82	3,35 ± 0,62

Média das triplicatas ± Desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente entre si. Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si. F1 (ALE + LE + TE), F2 (ALE), F3 (ALE + LE), F4 (LE + TE), F5 (LE + TE + BHT) e F6 (ALE + TE)

Em relação ao tempo 0 (primeiro dia após a elaboração do sorvete), verifica-se na Tabela 10 que a formulação F3 (extrato de açaí + lactase) foi a que

apresentou maior concentração de malonaldeído por kg de amostra, diferindo estatisticamente das formulações F2 (somente extrato de açaí), F5 (lactase + transglutaminase + extrato de açaí) e F6 (extrato de açaí + transglutaminase), não diferindo estatisticamente das formulações F1 (extrato de açaí + lactase + transglutaminase) e F4 (lactase + transglutaminase), apesar de possuírem concentrações de malonaldeído menores.

Após 30 dias de armazenamento o perfil de concentração de malonaldeído foi alterado, onde se observam que a formulação F1 apresenta maior concentração de malonaldeído por kg de amostra, diferindo estatisticamente das formulações F2, F4, F5 e F6. Com 60 dias de armazenamento, observa-se que a concentração de malonaldeído aumentou na formulação controle F4 (sem adição de antioxidante) diferindo estatisticamente das demais formulações.

Por fim, após 90 dias de armazenamento observa-se que a formulação controle F4 foi a que apresentou maior oxidação lipídica, dada pela maior concentração de malonaldeído por kg de amostra, diferindo estatisticamente das demais formulações. Resultado este esperado, uma vez que a formulação não apresenta nenhum agente antioxidante.

A oxidação da gordura presente no leite ou seus derivados ocorre por fotoxidação ou é catalisada por íons metálicos. No leite é possível encontrar Fe e Cu compostos estes altamente potentes catalisadores da oxidação lipídica. No entanto é possível um balanceamento pela presença do ácido ascórbico, tocoferol e principalmente pela interação da caseína com os metais de transição citados acima. Vale ressaltar também que a estabilidade oxidativa do leite se deve a presença da lactose, uma vez que a mesma forma uma camada sobre os glóbulos de gordura evitando o contato com o oxigênio (CURI, 1995).

Considerando que a lactose protege a oxidação lipídica em derivados lácteos, é possível observar a partir da análise de TBARS, Tabela 8, que as formulações (F2 e F6) que não apresentam a enzima lactase, ou seja, não ocorreu hidrólise da lactose são as que apresentam menor concentração de malonaldeído a partir de 30 dias de armazenamento, comprovando assim, que a lactose pode ter atuado juntamente com o extrato de açaí inibindo parte da oxidação lipídica.

Foi possível verificar a porcentagem de inibição da oxidação lipídica causada pelos agentes antioxidantes adicionados. No tempo 0 é possível verificar que o antioxidante BHT adicionado na formulação F5 inibiu a oxidação lipídica cerca de

27,49%, porém, observa-se que F3 apresentou uma porcentagem negativa, onde pode-se dizer que a antioxidante utilizado atuou como pró-oxidante (induziu a oxidação lipídica) no tempo 0.

Contudo, após 90 dias de armazenamento, verifica-se que F2 apresentou uma porcentagem consideravelmente elevada quando comparado com as demais formulações, verificando a ação do extrato de açaí, onde o mesmo foi capaz de inibir a oxidação lipídica em 37,95%, valor este três vezes maior quando comparado com o antioxidante sintético BHT (F5). Porém, ressalta-se que essa inibição se deve também a lactose presente no leite, uma vez que a mesma protege os glóbulos de gordura do contato com o oxigênio.

Quando comparado uma formulação (F1) onde ocorreu a hidrólise da lactose, verifica-se uma porcentagem igual a 24,57%, valor esse relevante, uma vez que a ação do extrato é verificada, sendo ele atuado como antioxidante natural, obtendo valor 2 vezes maior que o antioxidante sintético BHT. A partir disso, é possível verificar a eficácia da adição de compostos bioativos provenientes do extrato de açaí juçara, obtendo produto com baixo teor de lactose, sem adição de açúcar com excelente qualidade nutricional e funcional sem possuir adição de antioxidante sintético.

6 CONCLUSÃO

A partir do delineamento inteiramente casualizado (DIC) utilizado para a extração de compostos com atividade antioxidante do Açaí de Juçara (*Euterpe edulis* Mart.), foi possível conhecer o melhor solvente para extração nas condições de tempo de 30 minutos e temperatura de 60 °C, bem como agregar conhecimento a respeito da amostra analisada.

Quanto à atividade antioxidante dos extratos, destaca-se a extração realizada com etanol 70%, onde a mesma apresentou melhores resultados quanto ao teor de compostos fenólicos, capacidade de capturar o radical ABTS, capacidade de reduzir o Fe^{3+} para Fe^{2+} e melhor capacidade em capturar o radical DPPH.

A análise de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), a partir da curva de calibração utilizando diferentes padrões de compostos fenólicos, viabilizou a identificação e quantificação dos compostos, catequina, ácido cumárico, ácido salicílico e epicatequina no extrato que apresentou melhores resultados quanto a sua atividade antioxidante, destacando-se principalmente por ser a única extração capaz de extrair compostos do tipo catequina e epicatequina.

O teor de antocianinas totais quantificado neste estudo foi relativamente elevado quando comparado com a literatura, demonstrando total eficiência da extração bem como a abundância desses compostos nos frutos de açaí de Juçara, oriundos da Mata Atlântica.

As análises físico-químicas demonstraram que as seis formulações de sorvete foram elaboradas dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira quanto ao teor de sólidos totais, lipídeos e proteínas. Na análise de cor realizada para verificar a estabilidade do produto, em 30 dias de armazenamento foi possível verificar uma diferença de cor visível a olho nu após 15 dias de armazenamento para todas as formulações. Quanto às análises específicas do sorvete, *overrun*, taxa de derretimento e textura, a formulação tratada com as enzimas lactase e transglutaminase juntamente com o extrato de açaí de Juçara foi a que apresentou melhores resultados.

A enzima lactase gentilmente fornecida pela empresa *Prozyn*®, se mostrou eficiente na hidrólise da lactose na concentração utilizada nesse trabalho, obtendo ao final, um produto com baixo teor de lactose. Mais estudos fazem-se necessário

para verificar a concentração a ser aplicada da enzima para que seja possível a obtenção de um produto zero lactose.

Na análise de TBARS, o sorvete elaborado com as enzimas lactase e transglutaminase juntamente com o extrato de açaí apresentou menor concentração de malonaldeído/kg de amostra, corroborando com os valores de atividade antioxidante encontrada para esse extrato. Aos 90 dias de armazenamento essa mesma formulação apresentou uma diminuição percentual de TBARS em relação à formulação controle de 24,57%, contudo valor este, duas vezes maior quando comparado com a formulação adicionada do antioxidante sintético BHT.

Por fim, os resultados apresentados nesse estudo podem ser úteis para a obtenção de extratos ricos em compostos bioativos. No entanto, faz-se necessários novos estudos empregando diferentes concentrações de extrato para estabelecer a concentração que melhor apresente capacidade de inibir a oxidação lipídica em formulações de sorvete, assim como em outras matrizes alimentares.

REFERÊNCIAS

AHN, M.R.; KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; BANG, K.S.; NAKAYAMA, T. Antioxidant Activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 7286-7292, 2004.

AL-HASSAN, A. A.; NORZIAH, M. H. Effect of transglutaminase induced crosslinking on the properties of starch/ gelatin films. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 13, n. October 2016, p. 15–19, 2017.

AL-MAZEEDI, Hani. M.; REGENSTEIN, Joe. M.; RIAZ, Mian. N. The issue of undeclared ingredients in halal and kosher food production: A focus on processing aids. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 2, p. 228–233, 2013.

ALVES, Clayton. Q.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P.; BAHIA, Marcus V.; AGUIAR, Rosane M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Quim. Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010.

AOAC. Association Official Analytical Chemist International. Total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines. pH differential method. **Official Method**. 2005.

BARBET-MASSIN, Claire.; GIULIANO, Simon.; ALLETTO, Lionel.; DAYDÉ, Jean.; BERGER, Monique. Nitrogen limitation alters biomass production but enhances steviol glycoside concentration in stevia rebaudiana bertonii. **PLoS ONE**, v. 10, n. 7, p. 1–16, 2015.

BATAGLION, G. A.; SILVA, F. M.A.; EBERLIN, M. N.; KOOLEN, H.H. F. Determination of the phenolic composition from Brazilian tropical fruits by UHPLC-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 180, p. 280–287, 2015.

BORGES, Graciele Da Silva Campelo.; VIEIRA, Francilene Gracieli Kunradi.; COPETTI, Cristiane.; GONZAGA, Luciano Valdemiro.; ZAMBIAZI, Rui Carlos.; FILHO, Jorge Mancini.; FETT, Roseane. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2128–2133, 2011.

BORGES, Graciele Da Silva Campelo.; GONZAGA, Luciano Valdemiro.; JARDINI, Fernanda Archilla.; FILHO, Jorge Mancini.; HELLER, Melina.; MICKE, Gustavo.; COSTA, Ana Carolina Oliveira.; FETT, Roseane. Protective effect of *Euterpe edulis* M. on Vero cell culture and antioxidant evaluation based on phenolic composition using HPLC-ESI-MS/MS. **Food Research International**, v. 51, n. 1, p. 363–369, 2013.

BOROSKI, Marcela.; VISENTAINER, Jesuí Vergílio.; COTTICA, Solange Maria.; MORAIS, Damila Rodrigues. *Antioxidantes: princípios e métodos*. 1.ed. Appris, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 22. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. Diário Oficial da União, Brasília, 14 abr. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura Agência de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 266, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento de gelatos comestíveis e preparados para gelados comestíveis. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 de set. 2005.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Abastecimento. Secretaria de Defesa agropecuária Instrução Normativa n. 68, de 12 de dezembro de 2006 Métodos Analíticos Oficiais Físicos-Químico Para Controle de Leite e Derivados Lácteos. Diário Oficial da União – DOU 14 de dezembro de 2006

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft Und-technologie**, v.28, p.25-30, 1995.

BRAVO, L. Polyphenols : Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317–333, 1998.

CAPITANI, Caroline Dário.; PACHECO, Maria Teresa Bertoldo.; GUMERATO, Homero Ferracini.; VITALI, Alfredo.; SCHMIDT, Flávio Luis. Recuperação de proteínas do soro de leite por meio de coacervação com polissacarídeo. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 40, n. 11, p. 1123–1128, 2005.

CARDOSO, Alyne Lizane.; PIETRO, Patricia Faria Di.; VIEIRA, Francilene Graciele Kunradi.; BOAVENTURA, Brunna Cristina Bremer.; LIZ, Sheyla.; BORGES, Graciele da Silva Campelo.; FETT, Roseane.; ANDRADE, Dalton Francisco de.; SILVA, Edson Luiz da. Acute consumption of juçara juice (*Euterpe edulis*) and antioxidant activity in healthy individuals. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 152–162, 2015.

CHENG, Pengfei.; WANG, Jingxia.; SHAO, Weihua. Monounsaturated fatty acid intake and stroke risk: A meta-analysis of prospective cohort studies. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**, v. 25, n. 6, p. 1326–1334, 2016.

COELHO, Maria Alice Zarur.; LEITE, Selma Gomes Ferreira.; ROSA, Morsyleide De Freitas.; FURTADO, Angela Aparecida Lemos. APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS: PRODUÇÃO DE ENZIMAS A PARTIR DA CASCA DE COCO VERDE. **B.CEPPA**, v. 19, p. 33–42, 2001..

COIMBRA, Michelle Cardoso.; DEL RÉ, Patrícia Vieira.; JORGE, Neuza. Influência do extrato de alho na estabilidade oxidativa do óleo de soja refinado. **Revista Ceres**, v. 56, n. 5, p. 547–550, 2009.

DAHLE, L. K.; HILL, E. G.; HOLMAN, R. T. The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters. **Arch. Biochem. Biophys.**, v.98, p.253-261, 1962.

FAEDO, R. et al. Obtenção De Leite Com Baixo Teor De Lactose Por Processos De Separação Por Membranas Associados À Hidrólise Enzimática. **Revista CIATEC-UPF**, v. 5, n. 1, p. 44–54, 2013.

FERNANDES, Pedro. Enzymes in Food Processing: A Condensed Overview on Strategies for Better Biocatalysts. **Enzyme Research**, v. 2010, p. 1–19, 2010.

FRAATZ, Marco Alexander.; RÜHL, Martin.; ZORN, Holger. Induced pluripotent stem cell technology in regenerative medicine and biology. **Advances in biochemical engineering/biotechnology**, v. 143, p. 229–256, 2014.

GAUCHE, C.; TOMAZI, T.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Polimerização Das Proteínas Do Leite Por Transglutaminase: Modificação Das Propriedades Funcionais E. **Boletim Centro de**

Pesquisa de Processamento de Alimentos, v. 26, n. 1, p. 111–122, 2008.

GOFF, H. Douglas. Review Colloidal Aspects of Ice Cream-A Review. **International Dairy Journal**, v. 7, p. 363–373, 1997.

GOMES, Sara M.C.; GHICA, Mariana-Emilia.; RODRIGUES, Isaide Araujo.; GIL, Eric de Souza.; OLIVEIRA-BRETT, Ana Maria. Flavonoids electrochemical detection in fruit extracts and total antioxidant capacity evaluation. **Talanta**, v. 154, p. 284–291, 2016.

GORDON, A.; CRUZ, A. P. G.; CABRAL, L. M. C.; FREITAS, S. C.; TAXI, C. M. A. D.; DONANGELO, C. M.; MATTIETTO, R. A.; FRIEDRICH, M.; MATTA, V. M.; MARX, F. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of Açaí fruits (*Euterpe oleraceae* Mart.) during ripening. **Food chemistry**, v. 133, n. 2, p. 256–63, 15 jul. 2012.

GRANGER, C.; LEGER, A.; BAREY, P.; LANGENDORFF, V.; CANSELL, M. Influence of formulation on the structural networks in ice cream. **International Dairy Journal**, v. 15, n. 3, p. 255–262, 2005.

GUERGOLETTTO, Karla Bigetti.; COSTABILE, Adele.; FLORES, Gema.; GARCIA, Sandra.; GIBSON, Glenn R. In vitro fermentation of juçara pulp (*Euterpe edulis*) by human colonic microbiota. **Food Chemistry**, v. 196, p. 251–258, 2016.

HARAGUCHI, Fabiano Kenji.; DE ABREU, Wilson César de.; DE PAULA, Heberth. Proteínas do soro do leite: Composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista de Nutricao**, v. 19, n. 4, p. 479–488, 2006.

HARJU, M.; KALLIOINEN, H.; TOSSAVAINEN, O. Lactose hydrolysis and other conversions in dairy products: Technological aspects. **International Dairy Journal**, v. 22, n. 2, p. 104–109, 2012.

INADA, Kim Ohanna Pimenta.; OLIVEIRA, Andressa Alves.; REVORÊDO, Tamirys Barcellos.; MARTINS, Ana Beatriz Neves.; LACERDA, Ellen Cristina Quirino.; FREIRE Aline Soares.; BRAZ, Bernardo Ferreira.; SANTELLI, Ricardo Erthal.; TORRES, Alexandre Guedes.; PERRONE, Daniel.; MONTEIRO, Mariana C. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 422–433, 2015.

KANG, J.; THAKALI, K. M.; XIE, C.; KONDO, M.; TONG, Y.; OU, B.; JENSEN, G.; MEDINA, M. B.; SCHAUSS, A. G.; WU, X. Bioactivities of açai (*Euterpe precatoria* Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. **Food Chemistry**, v. 133, n. 3, p. 671–677, ago. 2012.

KELLERBY, Sarah S.; GU, Yeun Suk.; MCCLEMENTS, D.Julian.; DECKER, Eric A. Lipid oxidation in a menhaden oil-in-water emulsion stabilized by sodium caseinate cross-linked with transglutaminase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 26, p. 10222–10227, 2006.

KIELISZEK, Marek.; MISIEWICZ, Anna. Microbial transglutaminase and its application in the food industry. A review. **Folia microbiologica**, v. 59, n. 3, p. 241–250, 2013.

KIRK, Ole.; BORCHERT, Torben Vedel.; FUGLSANG, Claus Crone. Industrial enzyme applications. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, n. 4, p. 345–351, 2002.

KUKIC, J.; POPOVIC, V.; PETROVIC, S.; MUCAJI, P.; CIRIC, A.; STOJKOVIC, D.; SOKOVIC, M. Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts. **Food Chemistry**, v. 107, n. 2, p. 861-868, 2008.

KURAIISHI, C.; YAMAZAKI, K.; SUSU, Y. Transglutaminase: Its Utilization in the Food Industry. **Food Reviews International**, v. 17, n. 2, p. 221–246, 2001.

KONICA MINOLTA S. Inc. **Comunicação precisa da cor**. 1998. 57 p.

LEE, F.Y.; WHITE, C. H. Effect of ultrafiltration retentates and whey protein concentrates on ice cream quality during storage. **Journal Dairy Science.**, v.74, n.4, p.1171-1180, 1991.

LOMER, M. C. E.; PARKES, G. C.; SANDERSON, J. D. Review article: Lactose intolerance in clinical practice - Myths and realities. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, n. 2, p. 93–103, 2008.

MARTÍNEZ, J.A.; MELGOSA, M.; PÉREZ, M. M.; HITA, E.; NEGUERUELA A.I. Visual and instrumental color evaluation in red wines. **Food Science and Technology International**, v. 7, p. 439–444, 2001.

MIGUEL, D. P. **Desenvolvimento de sorvete de “iogurte” simbiótico à base de extrato aquoso de soja e de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014.** (Doutor em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araquara – SP, 2009.

MENDONÇA, Carla R. B.; ZAMBIAZI, Rui C.; GULARTE, Márcia A.; GRANADA, Grazielle G. Características sensoriais de compotas de pêssego light elaboradas com sucralose e acesulfame-K. **Ciência e Tecnologia**, v. 25, n. 3, p. 401–407, 2005.

MERCADANTE, A. Z.; CAPITANI, C.D.; DECKER, E.A.; CASTRO, I.A. Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration. **Meat Science**, v. 84, n. 4, p. 718–726, 2010.

MESSIAS, Karina Luiza Da Silva. Dossiê Antioxidantes. **Food Ingredients Brasil**, v. 6, p. 16–31, 2009.

MOORADIAN, Arshag D.; SMITH, Meridith.; TOKUDA, Masaaki. The role of artificial and natural sweeteners in reducing the consumption of table sugar: A narrative review. **Clinical Nutrition ESPEN**, v. 18, p. 1–8, 2017.

MOURE, AndreÂ.; CRUZ, Jose M.; FRANCO, Daniel .; J. DOMÕÂNGUEZ, Manuel.; SINEIRO, Jorge.; DOMÕÂNGUEZ, Herminia.; NUNEZ, MarõÂa Jose.; PARAJO, J. Carlos. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v.72, p145-171, 2001

NELSON, N. METHOD NELSON for Medical. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 3, n. 2, p. 375–380, 1944.

NUSSINOVITCH, Amos.; CHAPNIK, Nava.; GAL, Jenny.; FROY, Oren. Delivery of lactase using chocolate-coated agarose carriers. **Food Research International**, v. 46, n. 1, p. 41–45, 2012.

OLDONI, T. L. C.; OLIVEIRA, S. C.; ANDOLFATTO, S.; KARLING, M.; CALEGARI, M. A.; SADO, R. Y., MAIA, F. M. C.; ALENCAR, S. M.; LIMA V. A. Chemical Characterization and Optimization of the Extraction Process of Bioactive Compounds

from Propolis Produced by Selected Bees. **J. Braz. Chem. Soc**, v. 26, n. 10, p. 2054–2062, 2015.

ORDÓÑEZ, et al. **Tecnologia de Alimentos - Alimentos de Origem Animal**, Porto Alegre, Artmed, , v. 2, 279p. 2005

PAGNO, Carlos Henrique.; BALDASSO, Camila.; TESSARO, Isabel Cristina.; FLORES, Simone Hickmann.; JONG, Erna Vogt de. Obtenção de concentrados protéicos de soro de leite e caracterização de suas propriedades funcionais tecnológicas. **Alimentação nutricional**, v. 20, p. 231–239, 2009.

PAZ, M.; GÚLLON, P.; BARROSO, M. F.; CARVALHO, A. P.; DOMINGUES, V. F.; GOMES, A. M.; BECKER, H.; LONGHINOTTI, E.; DELERUE-MATOS, C. Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds. **Food chemistry**, v. 172, p. 462–8, 1 abr. 2015.

PEIXOTO, H.; ROXO, M.; KRSTIN, S.; WANG, X.; WINK, M. Anthocyanin-rich extract of Acai (Euterpe precatoria Mart.) mediates neuroprotective activities in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Functional Foods**, v. 26, p. 385–393, 2016.

PEREIRA, Celeide. PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE SORVETE DE MORANGO DIET COM ADIÇÃO DA ENZIMA LACTASE E TRANSGLUTAMINASE OTIMIZADA ATRAVÉS DA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA. Florianópolis - SC. **Tese de Doutorado**, p.321, 2014

PEREIRA, G. DAS G. et al. Influence of the partial substitution of skim milk powder for soy extract on ice cream structure and quality. **European Food Research and Technology**, v. 232, n. 6, p. 1093–1102, 2011.

POPPI, Fernando Augusto.; COSTA, Marcela de Rezende.; RENSIS, Christiane Maciel Vasconcellos Barros De.; SIVIERI, Kátia. Soro de Leite e Suas Proteínas : Composição e Atividade Funcional Whey and its Proteins : Composition and Functional Activity. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 12, n. 2, p. 31–37, 2010.

RAMALHO, Valéria Cristina.; JORGE, Neuza. ANTIOXIDANTES UTILIZADOS EM ÓLEOS, GORDURAS E ALIMENTOS GORDUROSOS. **Quim. Nova**, v. 29, n. 4, p. 755–760, 2006.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICEEVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radicals Biology and Medicinal**, v.26, p.1231-1237, 1999.

ROCHA, D. S.; REED, E. Pigmentos naturais em alimentos e sua importância para a saúde. **Estudos**, v. 41, n. 1, p. 76–85, 2014.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos**. 3ª edição revisada. Ed. Carita. Campinas, SP, 2014.

ROHLFES, Ana Lúcia Becker.; BACCAR, Nádia de Monte.; OLIVEIRA, Mari Silvia Rodrigues de.; MARQUARDT, Liliâne.; WEIS, Letícia.; LOPES, Letícia.; BLEY, Diego Emílio.; HOCHSCHEID, Sérgio Luiz. Aproveitamento De Subproduto De Agroindústrias Do Setor Queijeiro Para Desenvolvimento De Produtos Alimentícios E Redução De Impacto Ambiental. **TECNO-LÓGICA**, v. 18, p. 13–18, 2014.

ROMEIH, Ehab.; WALKER, Gavin. Recent advances on microbial transglutaminase and dairy application. **Trends in Food Science and Technology**, v. 62, p. 133–140, 2017.

ROSSONI, Eloá; GRAEBIN, Lires Beatriz.; MOURA, Rafael Paolo de. Adoçantes presentes na formulação de refrigerantes, sucos e chás diet e light\rSweeteners present in the formula of diet and light soft drinks, juices and teas. **Rev Fac Odontol P Alegre**, v. 48, n. 1/3, p. 5–11, 2007.

RUFINO, Maria do Socorro Moura.; LVES, Ricardo Elesbão.; BRITO, Edy Sousa.; MORAIS, Selene Maia de.; SAMPAIO, Caroline de Goes.; JIMÉNEZ , Jara Pérez.; CALIXTO, Fulgencio Diego Saura. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). **Comunicado Técnico on line** p. 3–6 , 2006.

RUFINO, M. DO S. M.; ALVES, R E.; BRITO, E S. de.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010.

SANTOS, Lana Claudinez dos.; ; CANÇADO, Isabella A. Campolina. Probióticos e prebióticos: Vale a pena incluí-los em nossa alimentação. **Synthesis Revista Digital**

FAPAM, p. 1–10, 2009.

SCHULZ, Mayara.; BORGES, Graciele da Silva Campelo.; GONZAGA, Luciano Valdemiro.; COSTA, Ana Carolina Oliveira.; FETT, Roseane. Juçara fruit (*Euterpe edulis* Mart.): Sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 89, p. 14–26, 2016.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152–178, 1999.

SHAHIDI, Fereidoon.; AMBIGAIPALAN, Priyatharini. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820–897, 2015.

SILVA, Ana Carolina Da; JORGE, Neuza. Cogumelos : compostos bioativos e propriedades antioxidantes Mushrooms : Bioactive Compounds and Antioxidant Properties. **Cient Ciênc Biol Saúde** **20** p. 375–384 , 2011.

SILVA, Nathalia Azevedo da.; RODRIGUES, Eliseu.; MERCADANTE, Adriana Zerlotti.; ROSSO, Veridiana Vera de. Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 22, p. 5072–5084, 2014.

SIMPSON, Benjamin K.; RUI, Xin.; KLOMKLAO, Sappasith. Enzymes in Food Processing. **Food Biochemistry and Food Processing**, p. 1–26, 2012.

SLAVIN, Joanne L.; LLOYD, Beate. Health Benefits of Fruits and Vegetables 1. **American Society for Nutrition**, v. 3, p. 506–516, 2012.

SOUZA, J. C. B. DE et al. Sorvete: composição, processamento e viabilidade da adição de probióticos. **Alim. Nutr.** **v.21, n1**, p. 155–165, 2010.

SUCUPIRA, Natália Rocha.; SILVA, Aline Braga da.; PEREIRA, Gerlândia.; COSTA, Juliana Nascimento da. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263–269, 2012.

THAIPONG, Kriengsak.; BOONPRAKOB, Unaroj.; CROSBY, Kevin.; CISNEROS-ZEVALLOS, Luis.; BYRNE, David Hawkins. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6–7, p. 669–675, 2006.

TIBERIO, F. C. S.; SAMPAIO-E-SILVA, TA.; DODONOV, P.; GARCIA, VA.; SILVA MATOS, DM. Germination and allometry of the native palm tree *Euterpe edulis* compared to the introduced *E. oleracea* and their hybrids in Atlantic rainforest. **Brazilian journal of biology Revista brasleira de biologia**, v. 72, n. 4, p. 955–62, 2012.

UMBELINO, D. C. Caracterização por Análise Descritiva Quantitativa e Análise Tempo-Intensidade de Suco e de Polpa de Manga (*Mangifera indica* L.) Adoçados com Diferentes Edulcorantes. 2005, 190p. **Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição)** – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. AMORA-PRETA (*Rubus* sp.): Otimização do Processo de Extração para Determinação de Compostos Fenólicos Antioxidantes. **Rev. Bras. Frutic.** V.3, p. 1209-1204, 2011.

WANG, Shioh Y.; CAMP, Mary J.; EHLENFELDT, Mark K. Antioxidant capacity and ??-glucosidase inhibitory activity in peel and flesh of blueberry (*Vaccinium* spp.) cultivars. **Food Chemistry**, v. 132, n. 4, p. 1759–1768, 2012.

WHELAN, A. P.; VEGA, C.; KERRY, J. P.; GOFF, H. D. Physicochemical and sensory optimisation of a low glycemic index ice cream formulation. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, n.9, p.1520-1527, 2008.

WINK, M. Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary Metabolites. **Medicines**, v. 2, n. 3, p. 251–286, 2015.

ZHANG, C. X.; WU, H.; WENG, X. C. Two novel synthetic antioxidants for deep frying oils. **Food Chemistry**, v. 84, n. 2, p. 219–222, 2004.

ZIECH, Dominique.; FRANCO, Rodrigo.; GEORGAKILAS, Alexandros G.; GEORGAKILA, Stavroula.; MALAMOU-MITSI, Vasiliki.; SCHONEVELD, Onard.; PAPPA, Aglaia.; PANAYIOTIDIS, Mihalis I. The role of reactive oxygen species and oxidative stress in environmental carcinogenesis and biomarker development. **Chemico-Biological Interactions**, v. 188, n. 2, p. 334–339, 2010.