

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS PATO BRANCO
CURSO DE QUÍMICA BACHARELADO

BRUNA PEGORARO

**DESENVOLVIMENTO DE UM IOGURTE ACRESCIDO DE GELÉIA DE
AMORA-PRETA (*Morus nigra* L.) e PÓLEN APÍCOLA**

Pato Branco – PR
2011

BRUNA PEGORARO

DESENVOLVIMENTO DE UM IOGURTE ACRESCIDO DE GELÉIA DE AMORA-PRETA (*Morus nigra* L.) e PÓLEN APÍCOLA

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à Comissão de Diplomação do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Mário Antônio Alves da Cunha

Co-orientadora: Profa. Dra. Solange Teresinha Carpes

TERMO DE APROVAÇÃO

O trabalho de diplomação **Desenvolvimento de um iogurte acrescido de geléia de amora-preta (*Morus nigra* L) e pólen apícola** foi considerado APROVADO de acordo com a ata da banca examinadora N° **015B2** de 2011.

Fizeram parte da banca os professores.

Prof Dr. Mário Antônio Alves da Cunha

Profa. Dra. Solange Teresinha Carpes

Prof Dr. Ricardo Branco

DEDICATÓRIA

A minha mãe e a minha irmã que não mediram esforços a me ajudar sempre que precisei. Toda a ajuda de vocês foi essencial para a conclusão desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida.

Agradeço especialmente minha família, pelo amor e carinho fornecido. Agradeço, também, pela ajuda financeira em todo o período da faculdade, o que possibilitou o término desse trabalho.

Agradeço e muito a minha mãezinha pela ajuda, conselhos, amor, carinho e a sua paciência.

Agradeço também a minha irmã, pelo auxílio, conselhos, pelas nossas conversas sem fundamento algum, mas que tornaram mais tranquilo o término desse trabalho.

Agradeço ao meu tio Adão, pela sua ajuda financeira que foi fundamental e por todos seus conselhos dados nas melhores horas. Obrigada.

Agradeço o meu orientador prof. Dr. Mário Antônio Alves da Cunha pela idéia inicial desse trabalho, e por toda ajuda fornecida de início e fim desse trabalho. Obrigada.

Agradeço também a minha co-orientadora profa. Dra. Solange Teresinha Carpes, por toda ajuda fornecida, principalmente a ajuda para a execução de algumas análises. Obrigada.

Agradeço e muito as estagiárias do Laboratório de Qualidade Agroindustrial e Água (LAQUA) da UTFPR - Pato Branco, pela ajuda nas análises físico-químicas apresentadas nesse trabalho, pelas metodologias e reagentes fornecidos.

Agradeço também as estagiárias dos Laboratórios do Curso de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Pato Branco por todo auxílio.

Agradeço ao Curso de Bacharelado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Pato Branco pela disponibilidade do laboratório para execução das análises desse trabalho. E por todos os materiais e reagentes fornecidos. Obrigada.

Agradeço meus amigos, pelas confraternizações de fim de semana que ajudaram a deixar esse trabalho mais leve. Aos momentos em que rimos e muito juntos. Obrigada.

Por fim, agradeço a todas as pessoas que direta ou indiretamente ajudaram na concretização desse trabalho. Obrigada.

RESUMO

PEGORARO, Bruna. Desenvolvimento de um iogurte com geléia de amora-preta (*Morus nigra* L.) e pólen apícola. 2011. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Bacharelado em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Pato Branco, 2011.

O presente trabalho teve como objetivo a formulação de iogurte acrescido de geléia de amora-preta (*Morus nigra* L.) e pólen apícola como proposta de um alimento nutricionalmente atrativo. As quantidades de compostos fenólicos presente tanto na fruta *in natura* (21,97 mg GAE/g da fruta), quanto do pólen apícola (14,37 mg GAE/g do pólen), são elevados. O elevado valor de atividade antioxidante encontrada na fruta de amora-preta (93, 27% AA) e no pólen apícola (93,33% AA) é devido ao alto teor de flavonóides presente em ambos os produtos. O flavonóide de destaque na fruta é a antocianina. A fruta apresentou 155,63 mg/L de antocianina. Foram desenvolvidas e estudadas três formulações produzidas com diferentes concentrações de pólen apícola (0,6%, 0,8% e 1,0%). Todas as formulações apresentaram qualidade microbiológica e propriedades físico-químicas atrativas. A amostra com 0,8% de pólen apícola foi considerada como a melhor formulação, uma vez que apresentou maior aceitabilidade pelos provadores, além de boas características nutricionais. O produto desenvolvido pode ser considerado um produto inovador, visto que, até o momento não foram observados no mercado consumidor, iogurte acrescido de geléia de amora-preta e pólen apícola, os quais podem enriquecer o produto pela presença de compostos com atividade antioxidante, como antocianinas e compostos fenólicos.

Palavras-chave: Leite. Antioxidantes. Fermentado lácteo. Apicultura.

ABSTRACTS

PEGORARO, Bruna. Development of a yogurt with blackberry jam (*Morus nigra* L.) and pollen. 2011. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Bacharelado em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Pato Branco, 2011.

This study aimed to formulate yogurt plus blackberry jam (*Morus nigra* L.) and bee pollen as a proposal for food nutritionally attractive. The amounts of phenolic compounds present in both the fresh fruit (21,97 mg GAE /g of fruit), and bee pollen(14,37 mg GAE/g of pollen) are high. The high value of antioxidant activity found in the fruit of blackberry (93, 27% AA) and bee pollen (93.33% AA) is due to the high content of flavonoids present in both products. The flavonoid fruit is prominent in the anthocyanin. The fruit had 155,63 mg/L of anthocyanins. Were developed and produced three formulations with different concentrations of pollen (0.6%, 0.8% and 1.0%). Both formulations showed physico-chemical and microbiological measures. The sample with 0.8% of pollen was considered the best formulation, since it showed greater acceptability by the panelists, as well as good nutritional characteristics. The developed product can be considered a breakthrough product because, so far not been observed the consumer marketplace, plus yogurt, blackberry jelly and bee pollen, which can enrich the product with functional properties such as anthocyanins, antioxidants and phenolics compounds.

Keywords: Milk, Antioxidants, Lacto-fermented, Apicultural.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Hidroxila ligada a anel aromático.....	20
Figura 2 – Estrutura básica dos flavonóides	21
Figura 3 – Estrutura química dos principais flavonóides	21
Figura 4 – Estrutura da antocianina cianidrina 3-glucosídeo.....	23
Figura 5 – Pólen Apícola Desidratado	24
Figura 6 - Amora-preta (<i>Morus nigra</i> L).....	25
Figura 7 - Fluxograma da produção do iogurte	26
Figura 8 - Ficha de teste de avaliação sensorial das amostra de iogurte	33
Figura 9 - Iogurte fermentado sem a adição dos demais ingredientes.	36
Figura 10 - Iogurte com os demais ingredientes	36

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Notas atribuídas pelos julgadores para o atributo sabor.....	40
Gráfico 2 – Notas atribuídas pelos julgadores para o atributo viscosidade	41
Gráfico 3 - Notas atribuídas pelos julgadores para o atributo aroma.....	42
Gráfico 4 - Notas atribuídas pelos julgadores para o atributo qualidade global	43
Gráfico 5 - Índice de aceitabilidade para os atributos avaliados	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulações do iogurte com geléia de amora-preta (<i>Morus nigra</i> L.) e pólen apícola.	25
Tabela 2 - Composição centesimal da fruta amora-preta (<i>Morus nigra</i> L.) e do pólen apícola	34
Tabela 3 - Composição centesimal das três formulações do iogurte.....	37
Tabela 4 - Parâmetros microbiológicos dos iogurtes obtidos	38
Tabela 5 - Média das notas atribuídas pelos julgadores aos parâmetros sensoriais avaliados	39

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 IOGURTE	16
3.2 AMORA-PRETA (<i>Morus nigra</i> L.)	17
3.3 PÓLEN APÍCOLA	19
3.4 COMPOSTOS FENÓLICOS	20
3.5 FLAVONÓIDES	21
3.6 ANTIOXIDANTES	22
3.7 ANTOCIANINAS	22
4 MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1 OBTENÇÃO DO PÓLEN APÍCOLA	24
4.2 AMORA-PRETA (<i>Morus nigra</i> L.)	24
4.2.1 Geléia de Amora-Preta	25
4.3 FORMULAÇÃO DO IOGURTE	25
4.4 DETERMINAÇÃO DE UMIDADE	27
4.5 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO MINERAL (CINZAS)	27
4.6 DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS NA AMORA-PRETA (<i>Morus nigra</i> L.) E NO PÓLEN APÍCOLA	27
4.7 DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS NO IOGURTE	27
4.8 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS NA AMORA-PRETA (<i>Morus nigra</i> L), NO PÓLEN APÍCOLA E NAS AMOSTRAS DE IOGURTE	28
4.9 DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ EM ÁCIDO LÁTICO NAS AMOSTRAS DE IOGURTE	28
4.10 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS NA AMORA-PRETA (<i>Morus nigra</i> L) E NO PÓLEN APÍCOLA	29
4.11 DETERMINAÇÃO DE FLAVONÓIDES NA AMORA-PRETA (<i>Morus nigra</i> L) E NO PÓLEN APÍCOLA	29

4.12 DETERMINAÇÃO DE ANTIOXIDANTES NA AMORA-PRETA (<i>Morus nigra</i> L) E NO PÓLEN APÍCOLA	30
4.13 DETERMINAÇÃO DE ANTOCIANINAS NA AMORA-PRETA (<i>Morus nigra</i> L) ..	30
4.14 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO IOGURTE	31
4.14.1 Bolores e leveduras.....	31
4.14.2 Coliformes	32
4.14.3 Pesquisa de <i>Salmonella spp</i>	32
4.15 ANÁLISE SENSORIAL DO IOGURTE	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	34
5.1 COMPOSIÇÃO DA AMORA-PRETA (<i>Morus nigra</i> L) E DO PÓLEN APÍCOLA ..	34
5.2 ASPECTO VISUAL DO IOGURTE	36
5.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS FORMULAÇÕES DE IOGURTE ..	37
5.4 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DOS IOGURTES	38
5.5 ANÁLISE SENSORIAL.....	39
5.5.1 Sabor.....	40
5.5.2 Viscosidade	41
5.5.3 Aroma.....	41
5.5.4 Qualidade Global.....	42
5.5.5 Índice de aceitabilidade	43
CONCLUSÕES	46
REFERÊNCIAS.....	47
ANEXOS	51

1 INTRODUÇÃO

A fabricação e o consumo do iogurte datam desde os tempos bíblicos. A partir do século II a.C. aparecia os primeiros relatos sobre o iogurte, sendo ressaltada sua digestibilidade, valor nutritivo e benefícios á saúde humana.

O iogurte é uma excelente fonte de proteínas, vitaminas e minerais, especialmente o cálcio. Possui em sua formulação bactérias vivas e ativas que tem a capacidade de exercer efeitos benéficos no organismo humano, podendo torná-lo um alimento probiótico e prebiótico. O principal benefício dessas bactérias é o equilíbrio da flora intestinal, favorecendo assim as bactérias benéficas e inibindo patógenos intestinais.

Com o intuito de alcançar uma dieta de melhor qualidade muitos consumidores estão em busca de alimentos mais saudáveis. A população está preocupada com as consequências que o estilo de vida e seus hábitos alimentares têm sobre a saúde, uma vez que a escolha e consumo inadequado dos alimentos podem ocasionar deficiências nutricionais, o que podem levar ao desenvolvimento de doenças. Como consequência, o mercado está repleto de alimentos, que além de boa qualidade e atrativos sensoriais apresentam elevado valor nutricional.

Com o objetivo de elaborar produtos alimentícios com tais atributos, a indústria de alimentos tem empregado em suas formulações diferentes ingredientes alimentares. Dentre esses ingredientes têm sido explorado produtos naturais como o pólen apícola. O pólen apícola é um produto altamente protéico, nutritivo, possuindo atividade antioxidante e, portanto, com propriedades importantes para o bom funcionamento do organismo.

Em função da vasta biodiversidade ambiental é produzido no Brasil uma grande variedade de frutas, sendo muitas frutas consideradas exóticas e, portanto, não sendo exploradas comercialmente. Uma dessas frutas é a amora-preta (*Morus nigra* L.), uma fruta com elevado valor nutricional, rica em carboidratos, minerais e vitamina C. Além disso, é excelente fonte de compostos fenólicos, principalmente antocianinas e ácido elágico. Os frutos podem ser utilizados para o consumo *in natura* e para a produção de geléias, sorvetes, iogurtes e doces caseiros. Outro aspecto atrativo é que além de suas propriedades nutricionais a *Morus nigra* L. não necessita de insumos químicos, sendo uma ótima opção para o cultivo orgânico.

Desta forma, o presente trabalho buscou desenvolver um iogurte acrescido com a geléia de amora-preta (*Morus nigra* L.) e com pólen apícola como um produto alimentício com propriedades nutricionais relevantes e com potencial mercado consumidor.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolvimento de um iogurte acrescido com geléia de amora-preta (*Morus nigra* L.) e pólen apícola, como proposta de um alimento de alto valor nutricional e com boa aceitabilidade sensorial.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterização físico-química da amora-preta (*Morus nigra* L.) e do pólen apícola;
- Determinação dos teores de compostos fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante da fruta amora-preta (*Morus nigra* L.) e do pólen apícola;
- Determinação do teor de antocianina da fruta amora-preta (*Morus nigra* L.);
- Desenvolvimento de três formulações de iogurte contendo diferentes concentrações de pólen apícola;
- Avaliação da aceitabilidade sensorial das formulações desenvolvidas;
- Caracterização físico-química e microbiológica dos iogurtes obtidos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 IOGURTE

De acordo com a Instrução Normativa nº. 46 de 23 de outubro de 2007 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), entende-se por iogurte, yogur ou yoghurt o produto adicionado ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do pH do leite, ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de microrganismos específicos. A fermentação se realiza com cultivos protossimbóticos de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, aos quais podem acompanhar de forma complementar, outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final (BRASIL, 2006). Segundo Ferreira (2001), nada impede que outras bactérias possam ser adicionadas ao produto, durante a etapa de resfriamento após a sua elaboração, como é o caso do *Lactobacillus acidophilus*.

O iogurte é, portanto, um produto oriundo da fermentação do leite por dois microrganismos atuando em simbiose à temperatura entre 42 °C - 45 °C. O *S. thermophilus* necessita da temperatura de 37 – 45 °C e o *L. bulgaricus* necessita de 42 – 45 °C para ocorrer à fermentação (BRASIL, 2006).

O resultado do crescimento em conjunto dos dois microrganismos, é o aumento no metabolismo microbiano com consequente obtenção da mesma concentração de ácido láctico e de outros metabólitos em menos tempo, comparado ao crescimento isolado dos mesmos. Desse modo, o tempo de incubação necessário para se obter iogurte é cerca de 4 horas a 42 °C (ORDÓÑEZ, 2005).

Os dois microrganismos crescem juntos, embora o *S. thermophilus* cresça primeiro, diminuindo o pH, deixando o meio ácido, com isso o *L. bulgaricus* passa a crescer (BRASIL, 2006). O *L. bulgaricus* libera, a partir das proteínas lácteas, das caseínas, diversos aminoácidos (entre eles, valina, ácido glutâmico, triptofano e metionina) e alguns peptídeos que estimulam o crescimento de *S. thermophilus* (ORDÓÑEZ, 2005). Com o passar do tempo, cada vez mais ácido láctico acumula no meio. O pH atinge valores em torno de 5,0 - 5,5 quando passa a inibir o crescimento

do *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*. Sendo o *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* mais resistente à acidez aumenta o seu crescimento. Quando a produção de ácido láctico atinge um pH de 4,3 ambas as bactérias são inibidas (BRASIL, 2006).

O iogurte é um produto lácteo, ácido. Sua acidez confere uma proteção natural contra as infecções no trato intestinal. Tem como propriedade benéfica proporcionar ao organismo uma melhor assimilação de determinados componentes do leite, como a lactose e proteínas (MUNCK e RODRIGUES, 2004; FERREIRA, 2001).

O leite utilizado para a fabricação do iogurte deve ter uma acidez máxima de 18 °D, ser isento de substâncias inibidoras, possuir sabor e aroma normal, não ser proveniente de animais doentes (BRASIL, 2006). Segundo BEHMER (1984), o iogurte pode ser classificado em três tipos:

- Iogurte natural (com coalhada firme);
- Iogurte batido (com coalhada mexida);
- Iogurte líquido (com coalhada mexida), para beber;

Exceto no iogurte natural, nos outros dois tipos, com a finalidade de melhorar sua consistência, seu aspecto, para diferenciar sua composição, pode-se adicionar ingredientes como: leite em pó ou leite condensado, glicose, açúcar, gelatina, conservantes, aromatizantes. Pode-se também adicionar polpas de frutas, sucos de frutas, geléias, calda, mel, cereais entre outros (FERREIRA, 2001).

A padronização do iogurte irá depender do tipo de produto que se deseja produzir, mas a gordura pode ser padronizada para 3,4 – 3,5%. Pode-se acrescentar 10 a 12% de açúcar e de 2 a 4% de leite em pó desnatado, este para ajudar a melhorar o extrato seco total (BRASIL, 2006).

3.2 AMORA-PRETA (*Morus nigra* L.)

A *Morus nigra* L., Moraceae, é uma espécie vegetal que têm sua origem na Ásia, frutificando com maior intensidade e abundância, sobretudo na Ásia Menor e estando plenamente aclimatizada no Brasil (CRUZ, 1979 apud PADILHA et al., 2010).

O gênero *Morus* é constituído de aproximadamente 24 espécies, uma subespécie, sendo descrito pelos menos 100 variedades (MACHII et al., 2000). Os frutos de *Morus* contêm compostos fenólicos que apresentam amplo espectro de atividade bioquímica, tais como propriedades antioxidantes, antimutagênicas e anticarcinogênicas bem como a capacidade de modificar a expressão gênica (NAKAMURA et al., 2003).

A amoreira-preta é uma das espécies que têm apresentado sensível crescimento de área cultivada nos últimos anos no Rio Grande do Sul (principal produtor brasileiro) e tem elevado potencial para os demais estados de características climáticas semelhantes (ANTUNES, 2002). É uma espécie arbustiva de porte ereto ou rasteiro, com frutos agregados, de coloração negra e sabor ácido a doce-ácido. É uma planta rústica que apresenta baixo custo de produção, facilidade de manejo, requer pouca utilização de defensivos agrícolas, sendo por isso, uma alternativa interessante para cultivo na agricultura familiar (CHAGAS et al., 2007).

A amoreira-preta *in natura* é altamente nutritiva, contêm 85% de água, 10% de carboidratos, com elevado conteúdo de minerais, vitaminas A, B e cálcio. Pode ser, consumida de várias formas como geléias, suco, sorvete e iogurtes (POLING, 1996).

Uma série de funções e constituintes químicos relacionados às qualidades da amora-preta são relatados na literatura. Entre os constituintes químicos tem-se o ácido elágico, que é um constituinte fenólico de algumas espécies, sendo um produto de hidrólise de elagitaninas que ocorre naturalmente em frutas e nozes (ANTUNES, 2002).

Os fitoquímicos, encontrados naturalmente em frutas e hortaliças, apresentam efeitos benéficos sobre a saúde humana, sendo que muitos destes compostos são encontrados em amora-preta, como os ácidos fenólicos (gálico, hidroxibenzóico, cafeico, cumárico, ferúlico e elágico) e seus derivados, e, também, os flavonóides (catequina, epicatequina, miricetina, quercetina e kaempferol) (PADILHA et al., 2010).

3.3 PÓLEN APÍCOLA

Pólen (do grego "pales" = "farinha" ou "pó") é o conjunto dos minúsculos grãos produzidos pelas flores das plantas mais evoluídas do sistema biológico vegetal, que são os elementos reprodutores masculinos, onde se encontram os gametas que vão fecundar os óvulos, para transformá-los em frutos (WIESE, 1995).

Segundo Brasil (2001), define-se pólen apícola o resultado da aglutinação do pólen das flores, efetuadas pelas abelhas operárias, mediante néctar e suas substâncias salivares, o qual é recolhido no ingresso da colméia.

A abelha coleta os polens das flores, que aderem aos pelos do seu corpo quando em contato com os estames, escovando-se com os "pentes tibiais" e aglutinando os grãos em esferas, para obter uma massa compacta (WIESE, 1995).

O pólen coletado por abelhas, geralmente composto de pólen de várias espécies de plantas, pode ser considerado como uma fonte de energia e de nutrientes para o consumo humano. O pólen contém substâncias nutricionais como carboidratos, proteínas, aminoácidos, lipídeos, vitaminas, minerais e traços de micronutrientes (CARPES, 2008; CAMPOS, 1997).

O pólen apresenta atividade antioxidante, podendo ser aumentado as suas propriedades bioativas se utilizar um solvente adequado para sua extração. Desta forma, extratos adequados de pólen apícola podem ser utilizados como alimento funcional ou suplemento alimentar, devido à quantidade de compostos fenólicos e de sua capacidade de seqüestrar os radicais livres responsáveis pelo estresse oxidativo e a carcinogênese (KROYER e HEGEDUS, 2001; OLIVEIRA, 2006).

Os flavonóides e ácidos fenólicos são considerados como os principais ingredientes do pólen apícola, podendo ser usados para padronizá-lo em relação às suas propriedades nutricionais fisiológicas e para controlar a qualidade das preparações de pólen apícola distribuídas no comércio (KROYER e HEGEDUS, 2001).

De acordo com a Instrução Normativa nº 3 de 19 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) a composição química do pólen varia com a origem floral, condições ambientais, climáticas, geográficas, idade e estado nutricional da planta e estações do ano. O limite de umidade estabelecido, para a comercialização do pólen, pela legislação brasileira é de no máximo 30% para o pólen apícola e 4% para o pólen apícola desidratado. O limite de resíduo mineral fixo em pólen apícola é de no

máximo 4% (m/m) na base seca. A composição química do pólen apícola para ser comercializado deve possuir 1,8% (m/m) na base seca de no mínimo de lipídeos, 8% (m/m) na base seca de no mínimo de proteínas, 14,5 a 55,0% (m/m) na base seca de açúcares totais, 2% (m/m) na base seca de fibra bruta.

Os produtos apícolas tais como o mel, geléia real, própolis e pólen têm sido utilizados há muitos anos na medicina tradicional, assim como nas dietas e nutrição suplementar, devido as suas propriedades nutricionais e fisiológicas benéficas à saúde humana (CARPES, 2008).

O pólen vem ganhando destaque como um alimento diferenciado que possui efeitos benéficos a saúde humana (BOGDANOV, 2004). Destaca-se também pela suas propriedades terapêuticas como atividade antioxidante, quanto pela sua possibilidade de aplicação na indústria alimentícia, na forma de alimentos funcionais (MARCHINI et al., 2006).

3.4 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos são substâncias que se caracterizam pela presença de pelo menos um grupo hidroxila ligada diretamente a um anel aromático. O composto mais simples é o fenol (Figura 1) e está amplamente distribuído no reino vegetal e em microrganismos, fazendo parte também do metabolismo animal (BRAVO, 1998).

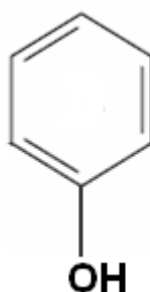


Figura 1 – Hidroxila ligada a anel aromático
FONTE: MARÇO et al. (2008)

Segundo Harborne (1989), os compostos fenólicos podem ser formados por meio de duas rotas biogénicas: a via do ácido chiquímico a partir de carboidratos

ou a via do acetato-polimalato que se inicia com acetil-coenzima A e malonil-coenzima A.

3.5 FLAVONÓIDES

Os flavonóides são pigmentos naturais amplamente distribuídos no reino vegetal (DREOSTI, 2000). Possuem estrutura marcada pela presença de um esqueleto com 15 átomos de carbono na forma C6-C3-C6, sendo que as duas partes da molécula com seis carbonos são anéis aromáticos (MARÇO et al., 2008; VOLP et al., 2008).

As estruturas básica e química dos flavonóides podem ser observadas nas figuras 2 e 3, respectivamente:

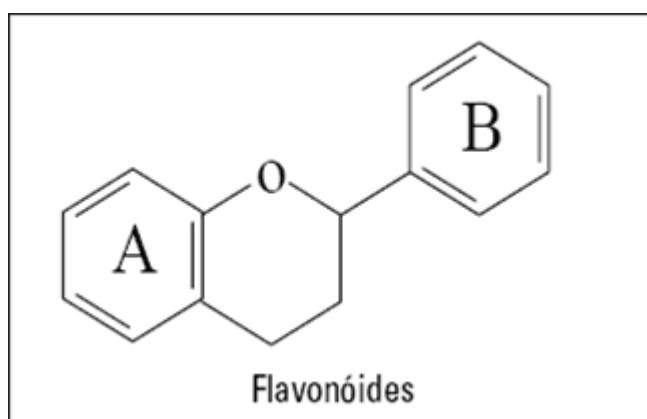


Figura 2 – Estrutura básica dos flavonóides
Fonte: Março et al. (2008)

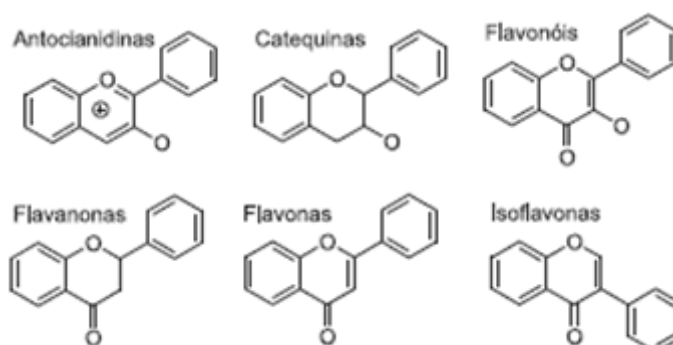


Figura 3 – Estrutura química dos principais flavonóides
Fonte: Março et al (2008)

Os flavonóides são os responsáveis pelo aspecto colorido das folhas e flores, podendo estar presentes em outras partes das plantas. Absorvem radiação eletromagnética na faixa do ultravioleta (UV) visível e dessa maneira apresentam um papel de defesa das plantas frente à radiação UV da luz solar (BOBBIO, 2001).

3.6 ANTIOXIDANTES

Segundo Becker et al., (2004), define-se antioxidantes em alimentos, como uma substância que em pequena quantidade é capaz de prevenir ou retardar grandemente a oxidação de materiais facilmente oxidáveis, como as gorduras. Para alimentos e bebidas, antioxidantes podem ser relacionados à proteção da oxidação de substratos específicos ou a formação de produtos de oxidação específicos.

Os efeitos benéficos do consumo de vegetais a saúde tem sido atribuído, em parte, a presença de compostos fenólicos, os quais estão associados com a neutralização dos riscos de doenças cardiovasculares, câncer, catarata e outras doenças degenerativas. Nas últimas décadas, os antioxidantes têm sido de grande interesse pelos profissionais da saúde, porque eles ajudam o corpo humano a se proteger contra os danos causados pelas espécies reativas ao oxigênio e ao nitrogênio, associadas com doenças degenerativas (SÁNCHEZ-MORENO, 2002).

3.7 ANTOCIANINAS

As antocianinas são flavonóides amplamente distribuídos na natureza e são responsáveis pela maioria das cores azul, violeta e todas as tonalidades de vermelho, presentes em flores e frutos (ABE et al., 2007).

As antocianinas possuem uma estrutura química adequada para a ação antioxidante, sendo capaz de doar elétrons ou átomos de hidrogênio para radicais livres, devido a isso representam um significativo papel na prevenção ou retardam o aparecimento de várias doenças (VOLP et al., 2008). São estruturalmente caracterizadas pela presença do esqueleto contendo 15 átomos de carbono na forma C6-C3-C6, porém, ao contrário dos outros flavonóides, as antocianinas absorvem fortemente na região visível do espectro, conferindo uma infinidade de

cores, dependendo do meio de ocorrência (MARÇO et al., 2008). Pode-se observar tal estrutura na figura 4.

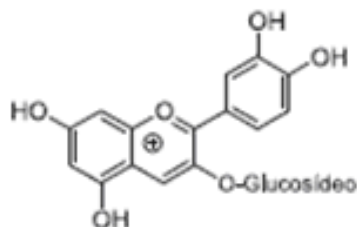


Figura 4 – Estrutura da antocianina cianidrina 3-glicosídeo
Fonte: Março et al. (2008)

A aplicação de pigmentos naturais e sua correlação com a atividade antioxidante em alimentos é objeto de interesse tanto para a indústria como para os consumidores. Estudos recentes relacionam a ingestão de frutas e vegetais com propriedades antioxidantes e a diminuição do risco e desenvolvimento de algumas doenças crônico-degenerativas. O uso desses pigmentos em produtos alimentícios é um fator essencial para as funcionalidades, bem como para a agregação de valor à imagem final do produto (VOLP et al., 2008).

Apesar de largamente disseminadas na natureza, são poucas as fontes comercialmente utilizáveis de antocianinas. O aquecimento acelera a degradação das antocianinas. A presença de açúcares e de ácido ascórbico causa perda de cor pelas antocianinas e causa problemas na coloração de frutas enlatadas com xarope. Além do pH a luz é o segundo fator em importância na alteração da cor das antocianinas (BOBBIO, 2001).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DO PÓLEN APÍCOLA

O pólen apícola desidratado (Figura 5) foi obtido em comércio especializado na cidade de Pato Branco - PR. Este se apresentava em forma de grãos, para acrescentar o pólen apícola no iogurte foi preciso triturar os grãos com um moinho triturador de grãos (moinho Marconi MA 630), até obter-se uma farinha de pólen.



Figura 5 – Pólen Apícola Desidratado
FONTE – Breyer Produtos Naturais, 2011

4.2 AMORA-PRETA (*Morus nigra* L)

As frutas de amora-preta (*Morus nigra* L.) (Figura 6) utilizadas foram colhidas no Campus Pato Branco da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. E mantidas sobre refrigeração a 4 °C até as análises de caracterização físico-química e congeladas a -18 °C até a sua utilização.



Figura 6 - Amora-preta (*Morus nigra* L)

4.2.1 Geléia de Amora-Preta

Para a adição da amora-preta no iogurte fez-se uma geléia do suco da fruta. Para isso, adicionou-se 900 g do suco da fruta de amora-preta (*Morus nigra* L.) e 900 g de açúcar comercial sobre cocção até geleificação a 65 ° Brix.

4.3 FORMULAÇÃO DO IOGURTE

Foram elaboradas três diferentes formulações de iogurte contendo diferentes concentrações de pólen apícola e de leite em pó, conforme descrito na Tabela 1:

Tabela 1 - Formulações do iogurte com geléia de amora-preta (*Morus nigra* L.) e pólen apícola.

INGREDIENTES	AMOSTRA 316	AMOSTRA 852	AMOSTRA 457
Leite (padronizado)**	68	68	68
Leite em pó desnatado*	4,08	3,88	3,68
Açúcar comercial*	7	7	7
Geléia de amora-preta*	20	20	20
Pólen Apícola*	0,6	0,8	1
Sorbato de potássio*	0,03	0,03	0,03
Fermento lácteo*	0,04	0,04	0,04
Pectina*	0,25	0,25	0,25
Corante/Aromatizante**	qsp [#]	qsp [#]	qsp [#]

*g/100mL

**mL/100mL

[#]quantidade suficiente para atingir efeito desejado

O iogurte foi obtido através da fermentação láctica do leite, pela ação dos microrganismos *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* oriundos do fermento lácteo BIO RICH[®] para preparo de leite fermentado tipo iogurte natural.

O leite foi inicialmente pasteurizado a 95 °C por 30 min. em panela de aço inox, e logo após resfriado a 45 °C. Após o resfriamento foi procedida à inoculação da cultura “starter”, sendo utilizada 400 mg de cultura para cada 1 litro de leite, conforme recomendação do fabricante.

O leite inoculado com a cultura foi acondicionado em potes de 250 mL previamente higienizados. Os potes foram acondicionados em bolsa térmica de modo a permanecer a 45 °C por 4 horas. Após a fermentação láctea, foi adicionado ao iogurte a geléia de amora, o pólen apícola, o corante, a pectina e o conservante conforme formulação descrita na Tabela 1.

Na Figura 7 é descrito o fluxograma de produção do iogurte.

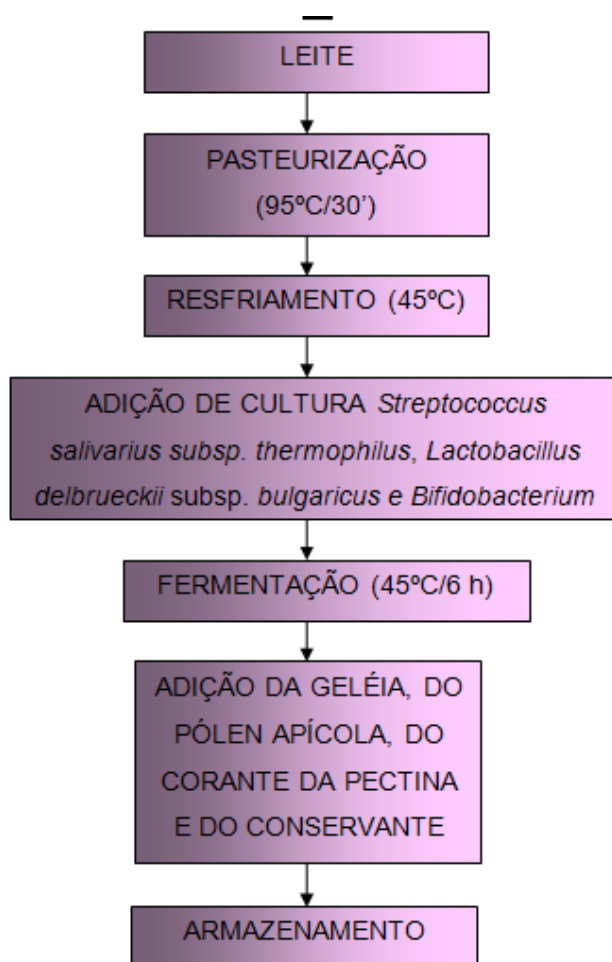


Figura 7 - Fluxograma da produção do iogurte

4.4 DETERMINAÇÃO DE UMIDADE

A umidade da fruta da amora-preta (*Morus nigra* L.) e do pólen apícola foi determinada através de método gravimétrico, o qual se fundamenta na diferença de peso da amostra após desidratação a 130 °C até peso constante (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.5 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO MINERAL (CINZAS)

Para a determinação de cinzas das amostras da fruta, do pólen apícola e das formulações de iogurte, foi utilizado o método gravimétrico através de carbonização previa da amostra, seguido de incineração completa em mufla a 550 °C durante 1 hora (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.6 DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS NA AMORA-PRETA (*Morus nigra* L.) E NO PÓLEN APÍCOLA

Para a determinação das frações lipídicas foi utilizado o método de extração por Soxhlet. Este método consiste na solubilização da fração lipídica utilizando-se de um solvente orgânico (éter de petróleo ou éter etílico) e mantendo em refluxo durante 4 horas. Após é retirado o éter e determinada a fração etérea através de gravimetria (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.7 DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS NO IOGURTE

Para a determinação das frações lipídicas do iogurte, foi utilizado o método de Gerber que baseia-se na propriedade que o ácido sulfúrico possui para dissolver a caseína do leite, sem atacar a matéria gorda, quando em concentração determinada (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.8 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS NA AMORA-PRETA (*Morus nigra* L), NO PÓLEN APÍCOLA E NAS AMOSTRAS DE IOGURTE

O conteúdo protéico das amostras foi determinado pelo método de Kjeldahl. Este método fundamenta-se na determinação de nitrogênio orgânico total considerando que as proteínas alimentares apresentam em média 16 % de nitrogênio. O método consiste em digestões ácidas e básicas onde o nitrogênio é transformado em sal de amônia. Em seguida, a amostra é destilada, e com indicador adequado as quantidades de nitrogênio presentes são quantificadas por titulometria.

O conteúdo de nitrogênio obtido é convertido em proteína empregando um fator de conversão 6,38 para o leite e 6,25 para as demais amostras (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

4.9 DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ EM ÁCIDO LÁCTICO NAS AMOSTRAS DE IOGURTE

A determinação de acidez em ácido láctico foi realizada por meio de titulação potenciométrica com hidróxido de sódio 0,1 M até verificação de pH 8,3, conforme recomendação do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008). Posteriormente, foram realizados os cálculos para obtenção dos valores de acidez nas formulações de leite fermentado:

$$(V \times f \times 0,9) / P = \text{g de ácido láctico por cento m/v}$$

Onde:

V = nº de mL de solução de hidróxido de sódio 0,1 M gasto na titulação

P = nº g ou mL da amostra

0,9 = fator de conversão para o ácido láctico

f = fator da solução de hidróxido de sódio 0,1 M

4.10 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS NA AMORA-PRETA (*Morus nigra* L) E NO PÓLEN APÍCOLA

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton et al. (1999), utilizando ácido gálico como padrão de referência. O reagente de Folin-Ciocalteu é uma solução de íons complexos. Esse reagente oxida os fenolatos, reduzindo-os a um complexo azul.

Uma curva analítica foi construída contendo 10, 25, 40, 70, 85 e 100 ppm de ácido gálico, 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu diluído em água destilada 1:10 (v/v) e 2 mL de carbonato de sódio. Após duas horas de repouso foram realizadas leituras em espectrofotômetro a 740 nm.

O mesmo procedimento foi realizado com os extratos do pólen apícola e da fruta de amora-preta, somente substituindo o ácido gálico pela amostra: uma alíquota de 0,5 mL de amostra foi adicionado a 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu diluído em água destilada 1:10 (v/v). A esses reagentes foram adicionados 2 mL de carbonato de sódio a 4% (v/v). Após duas horas de repouso foram realizadas leituras em espectrofotômetro a 740 nm.

Os resultados foram obtidos por regressão linear da curva analítica e expressos em mg GAE/g de amostra. (GAE: equivalente em ácido gálico).

4.11 DETERMINAÇÃO DE FLAVONÓIDES NA AMORA-PRETA (*Morus nigra* L) E NO PÓLEN APÍCOLA

A concentração de flavonóides totais foi determinada conforme o método descrito por Park et al. (1995). Foi construída uma curva analítica contendo 10, 25, 40, 70, 85 e 100 ppm de quercetina. A curva foi obtida a partir de duas séries de tubos de ensaio. Uma das séries continha os padrões de quercetina, 4,3 mL de etanol 70%, 0,1 mL de acetato de potássio e 0,1 mL de nitrato de alumínio; e outra com os mesmos reagentes, porém com a substituição de 0,1 mL de nitrato de alumínio por 0,1 mL de etanol 70%. Após quarenta minutos de repouso foram realizadas leituras em espectrofotômetro a 415 nm.

As amostras receberam o mesmo procedimento, porém sem a adição dos padrões de quercetina. Tubos em branco foram conduzidos nas mesmas condições, sem adição de nitrato de alumínio. Os resultados são obtidos por regressão linear da curva analítica e os resultados expressos em mg quercetina/g de amostra.

4.12 DETERMINAÇÃO DE ANTIOXIDANTES NA AMORA-PRETA (*Morus nigra* L) E NO PÓLEN APÍCOLA

A medida da atividade sequestrante do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazina) foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams et al. (1995).

Para avaliação de atividade antioxidante os extratos foram reagidos com o radical estável DPPH em uma solução de etanol. Na forma de radical, o DPPH possui uma absorção característica a 517 nm, a qual desaparece após a redução pelo hidrogênio arrancado de um composto antioxidante.

A mistura da reação foi constituída da adição de 0,5 mL das amostras, 3 mL de etanol P.A. e 0,3 mL da solução do radical DPPH 0,3 mM em etanol. O branco específico da amostra foi determinado usando 3 mL de etanol e 0,5 mL da amostra em cada concentração e as absorbâncias lidas a 517 nm após o tempo de 1 hora para a estabilidade da reação. Um tubo contendo 3 mL de etanol P.A. e 0,3 mL de DPPH 0,3 mM serviu como controle negativo.

Os valores de atividade antioxidante foram calculados via porcentagem média da atividade antioxidante das triplicatas segundo a fórmula de Mensor et al. (2001).

$$\%AA = 100 - \{[(\text{Abs. amostra} - \text{Abs. branco}) \times 100] / \text{Abs. controle}\}$$

4.13 DETERMINAÇÃO DE ANTOCIANINAS NA AMORA-PRETA (*Morus nigra* L)

Determinou-se o teor de antocianinas na amora-preta (*Morus nigra* L.) pelo método de pH diferencial. Primeiramente determinou-se o fator da diluição apropriada para a amostra, diluindo-a no tampão pH 1,0. Dividiu-se o volume final da amostra pelo volume inicial para obter-se o fator de diluição (DF).

O espectrofotômetro foi zerado com água destilada nos comprimentos de ondas usados (λ (520 nm) e 700 nm).

Preparou-se duas diluições da amostra, uma com o tampão pH 1,0 e outra com tampão pH 4,5. As diluições foram deixadas em repouso por 15 min. Mediu-se a absorbância de cada diluição λ 520 nm e em λ 700 nm, contra o branco de água destilada.

Calculou-se a absorbância da amostra, com a seguinte fórmula:

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

Calculou-se a concentração do pigmento antocianina na amostra usando a seguinte fórmula:

$$\text{Antocianina Monomérica (mg/Litro)} = (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (e \times 1)$$

Na qual: MW é o peso molecular da antocianina predominante na amostra, e é a absorvidade molar da antocianina predominante na amostra e DF é o fator de diluição mg / L de equivalente cianidina 3-glicosídeo (cianidina 3-glicosídeo = 449,2 g/mol).

4.14 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO IOGURTE

4.14.1 Bolores e leveduras

A contagem de bolores e leveduras baseia-se na verificação da capacidade desses microrganismos se desenvolverem em meios de cultura com pH próximo a 3,5 e temperatura de incubação de 25 ± 1 °C. A utilização de meios acidificados promove seletivamente o crescimento de fungos. A análise foi realizada através de semeadura por superfície e o resultado é expresso por Unidade Formadora de Colônia (UFC) por grama de alimento (UFC/g) (SILVA et al., 2007).

4.14.2 Coliformes

Para determinação de coliformes a 35 °C, as amostras foram devidamente diluídas em água peptonada 0,1% e inoculadas em Caldo Verde Bile Brilhante (VB) de 24 a 48 horas, 35 °C, para coliformes a 45 °C foram inoculadas em Caldo *E.coli* (EC) por 24 horas a 45 °C (SILVA et al, 2007).

4.14.3 Pesquisa de *Salmonella spp*

A técnica de análise de salmonela é desenvolvida com a finalidade de garantir a sua detecção mesmo em situações extremamente desfavoráveis para a cepa. As quatro etapas fundamentais para essa análise são: pré-enriquecimento em caldo não seletivo, enriquecimento em caldo seletivo, plaqueamento seletivo diferencial e confirmação sorológica. O resultado é expresso por presença ou ausência em 25 g de alimento (SILVA et al., 2007).

4.15 ANÁLISE SENSORIAL DO IOGURTE

A metodologia utilizada para a avaliação sensorial das formulações desenvolvidas foi o teste de aceitação por Escala Hedônica. Foi empregada escala estruturada de nove pontos, variando de desgostei muitíssimo a gostei muitíssimo, conforme ficha de avaliação sensorial demonstrada na Figura 8. As amostras foram codificadas com três dígitos (316, 852, 457). Foram recrutados aleatoriamente 50 provadores, não treinados, com idade entre 17 a 50 anos, os quais consumiam iogurte pelo menos uma vez por semana.

Os atributos de qualidade avaliados foram sabor, viscosidade, aroma e qualidade global.

As amostras codificadas foram oferecidas aos julgadores (40 mL) em copos descartáveis de café de 50 mL. Os provadores receberam também um copo com água, bolacha água e sal, caneta e ficha para avaliação. A avaliação sensorial foi realizada na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Pato Branco.

O Índice de Aceitabilidade (I.A) para cada atributo foi calculado conforme equação abaixo:

$$I.A (\%) = (NMA \times 100)/NA$$

Onde:

I.A = índice de aceitabilidade

NMA = nota média do atributo

NA = nota mais alta observada no atributo avaliado

TESTE DE ACEITABILIDADE SENSORIAL				
Data: ___/___/___				
Idade: _____ Sexo: <input type="checkbox"/> Masculino <input type="checkbox"/> Feminino				
Por favor, você está recebendo três amostras codificadas de um iogurte. Avalie cada uma das amostras utilizando a escala de valores abaixo, demonstrando o quanto você gostou ou desgostou:				
(9) gostei muitíssimo				
(8) gostei muito				
(7) gostei regularmente				
(6) gostei ligeiramente				
(5) nem gostei e nem desgostei				
(4) desgostei ligeiramente				
(3) desgostei regularmente				
(2) desgostei muito				
(1) desgostei muitíssimo				
Descreva o quanto você gostou e/ou desgostou, com relação aos atributos:				
AMOSTRA	SABOR	VISCOSIDADE	AROMA	QUALIDADE GLOBAL
316				
852				
457				
Comentários: _____				
Obrigada pela colaboração!				

Figura 8 - Ficha de teste de avaliação sensorial das amostra de iogurte

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 COMPOSIÇÃO DA AMORA-PRETA (*Morus nigra* L) E DO PÓLEN APÍCOLA

A fruta de amora-preta (*Morus nigra* L) e o pólen apícola foram caracterizados quanto os parâmetros físico-químicos, os quais estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição centesimal da fruta amora-preta (*Morus nigra* L.) e do pólen apícola

Parâmetros físico-químicos	Fruta amora-preta (<i>Morus nigra</i> L)	Pólen apícola
Umidade (%)	85,30 ± 0,03	4,01 ± 0,02
Cinzas (%)	0,81 ± 0,03	2,25 ± 0,22
Lipídeos (%)	0,071 ± 0,02	4,08 ± 0,007
Proteína (%)	1,46 ± 0,20	19,18 ± 0,10
pH	3,48 ± 0,007	-
Acidez (%)	21,56 ± 0,04	-
Sólidos Solúveis Totais (° Brix)	10,5 ± 0,07	-
Flavonóides (mg quercetina/g de amostra)	5,81 ± 0,50	3,99 ± 0,50
Compostos Fenólicos (mg GAE*/g de amostra)	21,97 ± 0,11	14,37 ± 0,60
Atividade Antioxidante (%)**	93,27 ± 0,90	93,33 ± 0,20
Antocianina (mg/L)***	155,63 ± 0,05	-

* GAE: equivalente em ácido gálico

** Concentração do extrato da fruta de 0,1 g/mL e concentração do extrato de pólen de 0,133 g/mL

*** mg/L: equivalente cianidina 3-glicosídeo = 449,2 g/mol

Pode-se observar que a fruta de amora-preta (*Morus nigra* L.) apresentou o teor de umidade de 85%, sendo este valor característico de frutas ricas em água. O elevado teor de umidade da fruta associada a sua composição em açúcares e outros nutrientes tornam a amora uma fruta de elevada perecibilidade pós-colheita. O teor de umidade verificado no pólen apícola foi de 4%, valor que está de acordo com os limites que a Instrução Normativa nº 3 de 19 de janeiro de 2001, preconiza para a comercialização de pólen apícola desidratado.

Percebe-se também que a quantidade de minerais presentes no pólen apícola é elevada, a fruta também apresentou quantidades relativamente significativas de conteúdo mineral.

Foram observados conteúdos de lipídeos (0,071%) e proteínas (1,46%), relativamente baixos na amora, o que já era esperado uma vez que, frutas de maneira geral apresentam baixas quantidades de lipídeos e proteínas.

O teor de sólidos solúveis foi de 10,5 °Brix e o pH observado foi de 3,48, indicando o caráter ácido-doce da fruta.

As quantidades de compostos fenólicos presente tanto na fruta *in natura* (21,97 mg GAE/g da fruta), quanto no pólen apícola (14,37 mg GAE/g do pólen), são elevados. Dentre os compostos fenólicos tem-se os flavonóides, sendo verificado um teor de 5,81 mg de quercetina/g da fruta e de 3,99 mg de quercetina/g do pólen apícola.

O elevado valor de atividade antioxidante encontrada na fruta de amora-preta e no pólen apícola é devido aos teores de flavonóides e de ácidos fenólicos presente em ambos os produtos. O valor de atividade antioxidante verificada na fruta indica que mesmo sob refrigeração há preservação de conteúdos apreciáveis de compostos antioxidantes ativos no fruto pós-colheita.

O composto fenólico de destaque na fruta de amora-preta é a antocianina. A fruta apresentou 155,63 mg/L de antocianina. Esse alto valor é responsável pela coloração azul-roxa intensa da fruta, pois as antocianinas estão presentes em frutas e flores roxas e vermelhas.

Através dos parâmetros de caracterização físico-química das amostras, pode-se observar que tanto a fruta como o pólen são produtos nutritivos e com propriedades benéficas à saúde humana, e possuem ótima atividade antioxidante, o que é um fator bastante importante para o retardamento do envelhecimento e prevenção do estresse.

5.2 ASPECTO VISUAL DO IOGURTE

Conforme pode ser visto na figura 9, após o período de fermentação (4 horas a 45° C) foi obtido um produto fermentado o qual apresentou coloração branca, odor e acidez característico de iogurte e consistência firme, com pouca sinérese, mesmo após a quebra da coalhada e estocagem sobre refrigeração.



**Figura 9 - Iogurte fermentado sem a adição dos demais ingredientes.
FONTE: Autoria própria.**

Após a fermentação completa do iogurte adicionou-se os demais ingredientes (Figura 10), obtendo-se assim um iogurte batido.



**Figura 10 - Iogurte com os demais ingredientes
FONTE: Autoria própria.**

De acordo com BRASIL (2006), o iogurte batido, é definido o iogurte com a correção de sólidos solúveis, com a adição de frutas, polpas, entre outros ingredientes.

Adiciona-se leite em pó desnatado para aumentar o teor de sólidos do leite e com isso aumentar a capacidade de retenção de água das proteínas do leite, prevenindo o problema da sinérese, e além de aumentar a consistência do produto final (RITTER, 2011).

5.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS FORMULAÇÕES DE IOGURTE

Na Tabela 3 estão descritos os parâmetros físico-químicos das três formulações dos iogurtes obtidos.

Tabela 3 - Composição centesimal das três formulações do iogurte.

Parâmetros físico-químicos	Amostra 316	Amostra 852	Amostra 457
Cinzas (%)	0,69 ± 0,01	0,69 ± 0,01	0,70 ± 0,01
Lipídeos (%)	3,00 ± 0,0	3,00 ± 0,0	4,00 ± 0,0
Proteínas (%)	5,36 ± 0,0	4,91 ± 0,0	4,91 ± 0,0
pH	4,44 ± 0,0	4,31 ± 0,1	4,17 ± 0,1
Acidez (g de ácido láctico/100 g)	0,99 ± 0,1	1,08 ± 0,1	0,90 ± 0,0

Segundo a Instrução Normativa nº. 46 de 23 de outubro de 2007 do MAPA, considera-se um iogurte integral aquele que possuir na base láctea, um conteúdo de matéria gorda de 3,0 a 5,9 g/100g. Portanto a quantidade de lipídeos encontrado nas três formulações ficou dentro desse limite de matéria gorda para iogurte integral.

A amostra 457 apresentou a maior quantidade de lipídeos, isso pode ser devido à maior quantidade de pólen apícola presente nessa amostra.

As amostras apresentaram quantidades atrativas de proteína, sendo verificados valores semelhantes de conteúdo protéico entre as amostras.

O pH das formulações variou de 4,17 (amostra 457) a 4,44 (amostra 316), o que indica um produto com uma acidez mediana, o que contribui para um sabor

mais agradável do produto. Segundo a legislação a acidez de iogurte, ela deve estar na faixa de 0,6 a 2,0 g de ácido láctico/100g, com isso pode-se afirmar que os três iogurtes produzidos estão de acordo com legislação vigente.

5.4 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DOS IOGURTES

De acordo com a resolução RDC nº 12 de 02 de Janeiro de 2001 os produto leite fermentado e iogurte devem apresentar os seguintes padrões microbiológicos: para coliformes totais e termotolerantes a tolerância para amostra indicativa é de 10 NMP/g; para *salmonella* a tolerância é de ausência em 25 g da amostra.

De acordo com os dados demonstrados na Tabela 4, pode-se constatar que o produto formulado apresentou adequados parâmetros de qualidade microbiológica indicando que o produto foi formulado seguindo condições de higiene e segurança alimentar adequados.

Tabela 4 - Parâmetros microbiológicos dos iogurtes obtidos

Parâmetro	Resultado	Legislação
Bolores e Leveduras	Ausência	*
Coliformes totais	Ausência	*
Coliformes fecais	Ausência	10 NMP/g (máximo)**
<i>Salmonella spp</i>	Ausência	Ausência em 25 g**

*não especificado;

**Segundo ANVISA;

5.5 ANÁLISE SENSORIAL

Na Tabela 5, estão descritas as médias dadas a cada atributo avaliado.

Tabela 5 - Média das notas atribuídas pelos julgadores aos parâmetros sensoriais avaliados

Formulação	Atributos Sensoriais			
	Sabor	Viscosidade	Aroma	Qualidade Global
BMS-1*	6,58 ^a	5,78 ^a	6,86 ^a	6,8 ^a
BMS-2*	7,32 ^a	6,14 ^a	7,0 ^a	7,4 ^b
BMS-3*	5,4 ^b	5,44 ^a	5,48 ^b	6,06 ^c

* BMS -1 (316), BMS -2 (852), BMS -3 (451)

Conforme pode ser observado na tabela 5, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras 316 e 852 com relação ao atributo sabor, mas estas diferiram da amostra 457, a qual teve a menor aceitação entre os provadores.

Similarmente ao observado no atributo sabor, não foi detectada diferença significativa para o atributo aroma entre as amostras 316 e 852, mas estas diferiram da amostra 457 que teve a menor aceitabilidade entre as amostras avaliadas.

Não houve diferença significativa entre as amostras para o atributo viscosidade, indicando que o aumento da concentração de pólen na amostra não interferiu de forma perceptível na viscosidade do produto.

Para o atributo qualidade global as amostras diferiram entre si, sendo que a amostra 852 foi a mais aceita entre os julgadores. A amostra 852 foi a que continha a quantidade intermediária de pólen apícola avaliada.

Para melhor visualização dos resultados da avaliação sensorial das formulações de iogurte desenvolvidas foram construídos histogramas de distribuição de frequência das notas de aceitação atribuídas pelos provadores aos parâmetros: sabor, viscosidade, aroma e qualidade global.

5.5.1 Sabor

O gráfico 1, apresenta os resultados do teste de aceitação sensorial das formulações 316, 852 e 457 para o item sabor, onde as notas variaram de “gostei muitíssimo” a “desgostei muito”.

Foi observado elevado percentual de provadores que atribuíram às notas 8, 7 e 6, que correspondem às atribuições gostei muito, gostei regularmente e gostei ligeiramente, respectivamente. Observou-se percentuais de 19% para a formulação 316, 16% para a formulação 852 e 11% para a formulação 457, de provadores que atribuíram à nota 7, que corresponde à atribuição gostei regularmente.

Foram verificados percentuais de 3% para a formulação 316, 1% para a formulação 852 e 8% para a formulação 457, de provadores que atribuíram à nota 3 que corresponde a desgostei ligeiramente. E 5% dos provadores atribuíram a nota 2 para a formulação 457, que corresponde à atribuição desgostei muito. Tais valores foram os mais baixos obtidos para o atributo sabor. A amostra 457, a que continha maior quantidade de pólen na formulação, foi a que teve a maior frequência de provadores afirmando ter desgostado do produto. Tal resultado indica que a adição de pólen afetou negativamente o sabor do produto.

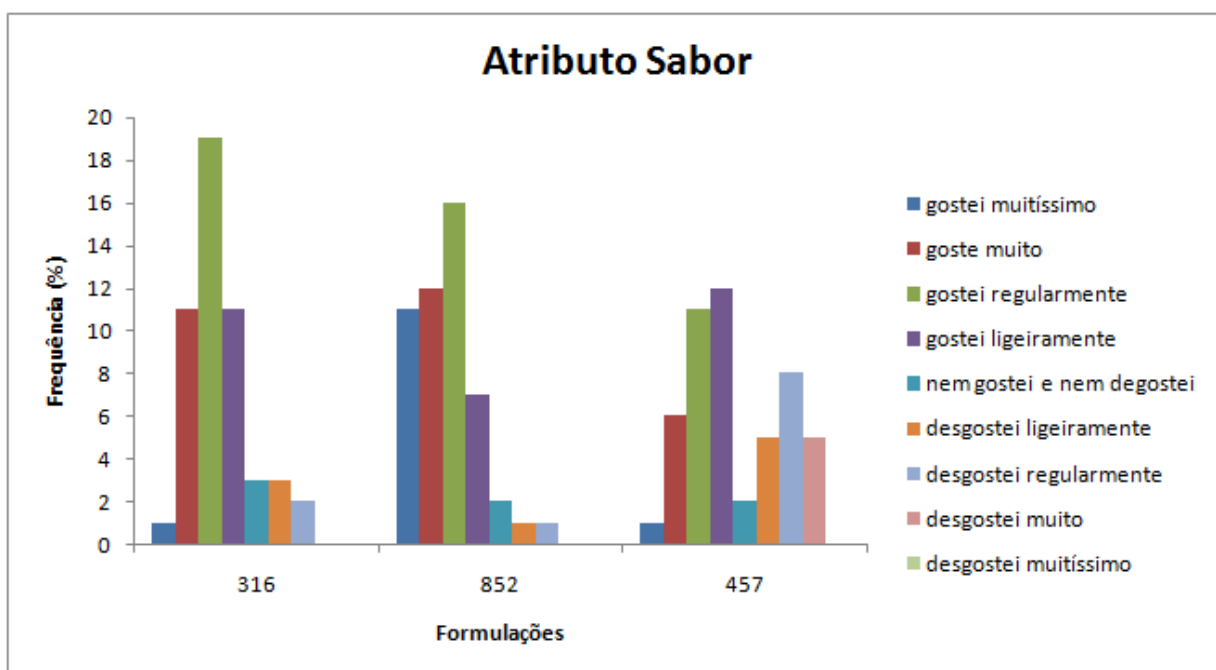


Gráfico 1 - Notas atribuídas pelos julgadores para o atributo sabor

5.5.2 Viscosidade

Foram observados percentuais de 8% para a formulação 316, 12% para a formulação 852 e 6% para a formulação 457, de provadores que indicaram ter gostado muitíssimo ou muito da viscosidade das amostras.

Apenas 3% dos provadores afirmaram ter desgostado muito da amostra 316. Para as amostras 852 e 457, também foram observados um percentual bastante pequeno de provadores que desgostaram da viscosidade do produto.

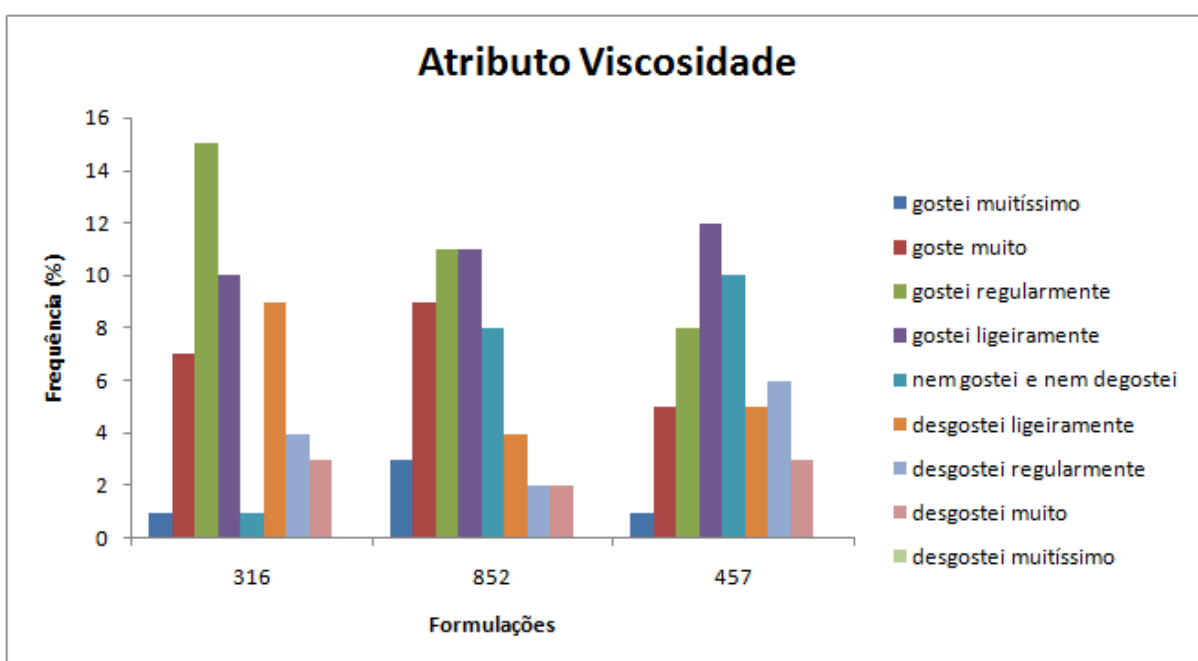


Gráfico 2 – Notas atribuídas pelos julgadores para o atributo viscosidade

5.5.3 Aroma

O gráfico 3 apresenta os resultados do teste de aceitação sensorial das formulações 316, 852 e 457 para o item aroma, onde as notas variaram de “gostei muitíssimo” a “desgostei muitíssimo”. Observou-se elevado percentual de provadores que atribuíram a todas as formulações do iogurte as notas 8 e 7 que correspondem às atribuições gostei muito e gostei regularmente, respectivamente.

Foi observado os percentuais de 20% para a formulação 316, 12% para a formulação 852 e 11% para a formulação 457, de provadores que concederam a nota 7 que corresponde a gostei regularmente.

A amostra 852 foi a que teve maior frequência de provadores afirmando que gostaram muito (nota 8) ou muitíssimo (nota 9) do produto, correspondendo a um percentual de 24% das respostas.

Os percentuais mais baixos obtido para o atributo aroma foram de 4% para a amostra 852, que concederam a nota 3 que confere a desgostei regularmente. Para amostra 457, 4% dos julgadores atribuíram à nota 2, que corresponde a desgostei muito.

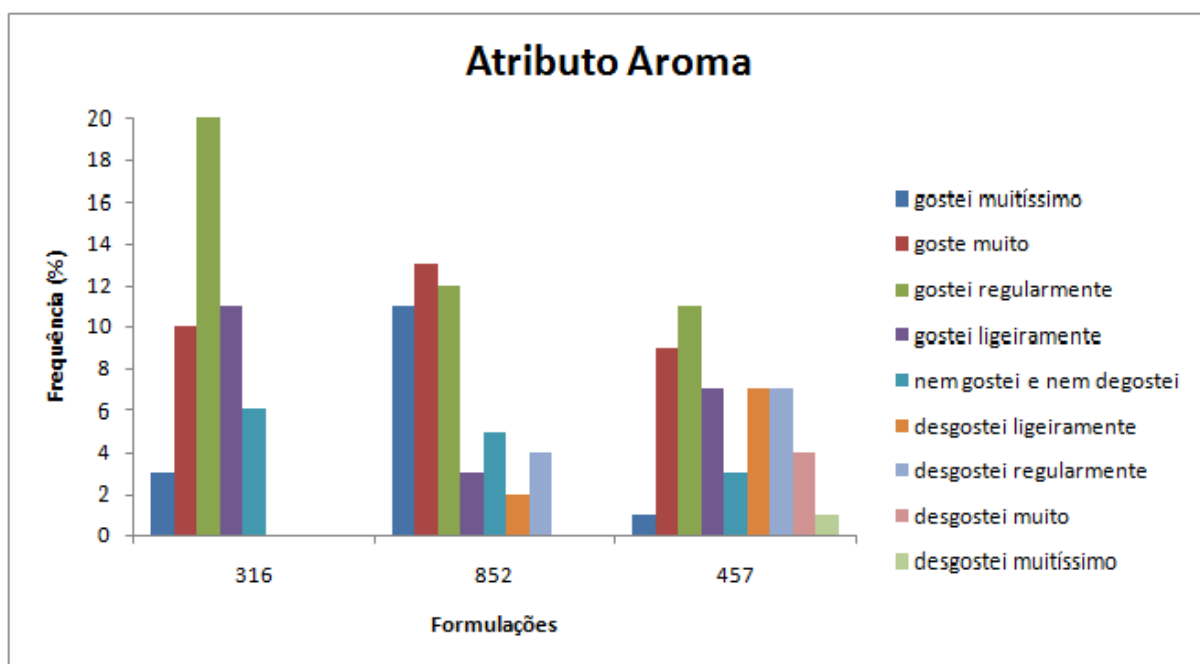


Gráfico 3 - Notas atribuídas pelos julgadores para o atributo aroma

5.5.4 Qualidade Global

Para o atributo qualidade global verifica-se que um percentual de 33% dos provadores indicaram ter gostado da amostra 316 com algum grau de intensidade. Em relação às amostras 852 e 457 foram verificados um percentual de 38% e 23%, respectivamente de provadores que afirmaram ter gostado do produto com algum grau de intensidade.

Apenas 2% de julgadores indicaram ter desgostado ligeiramente (nota 4) da amostra 316. Para amostra 852 foi verificado uma frequência de apenas 1% das respostas indicando ter desgostado regularmente e uma frequência 2% das respostas indicando ter desgostado muito da amostra 457.

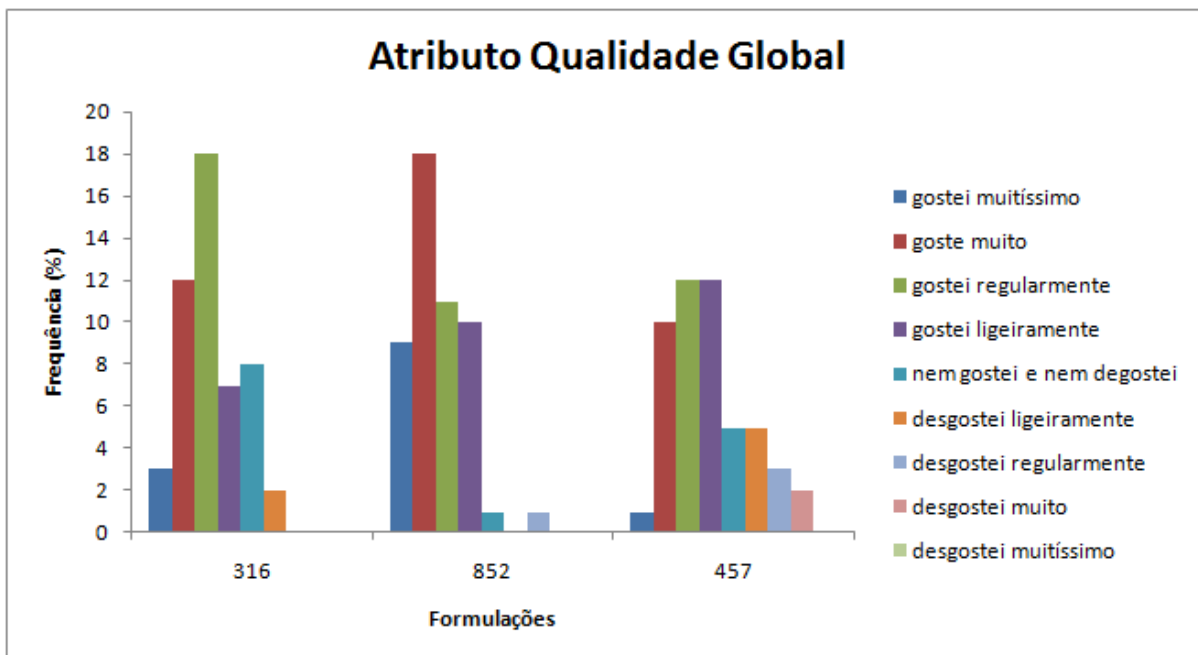


Gráfico 4 - Notas atribuídas pelos julgadores para o atributo qualidade global

5.5.5 Índice de aceitabilidade

A partir dos resultados obtidos nas avaliações dos atributos sabor, viscosidade, aroma e qualidade global foi possível calcular o Índice e Aceitabilidade (I.A) para cada atributo nas formulações estudadas (Gráfico 5).

Através do gráfico do Índice de Aceitabilidade (I.A) pode-se perceber a diferença de aceitabilidade entre as amostras em relação ao atributo sabor. A amostra 852 foi a que apresentou o maior índice de aceitabilidade (81,33%), a amostra 316 obteve um índice de 73,11 % e a amostra 457 um índice de aceitabilidade de 60,00%.

No atributo viscosidade as três amostras apresentaram um índice de aceitabilidade relativamente equilibrado, sendo verificados índices de aceitabilidade de 64,22%, 68,22% e 60,44% respectivamente nas formulações 316, 852 e 457.

Para o parâmetro aroma, as amostras 316 e 852 obtiveram índices de aceitabilidade similares, ou seja, um I.A de 76,22% para amostra 316 e 77,78% para amostra 852. Porém a amostra 457 apresentou um índice de apenas 60,89%, provavelmente em função da quantidade de pólen empregado na formulação.

Finalmente, em relação à qualidade global foi possível observar que a formulação (amostra 852) que continham a quantidade intermediária de pólen apícola, obteve o maior índice de aceitabilidade (82, 22%).

Segundo Teixeira et al. (1987), é necessário um índice de aceitabilidade mínimo de 70% para que o produto seja considerado aceito quanto as suas propriedades sensoriais, para ser empregado em nível industrial.

Portanto as amostras 316 e 852 teriam maior potencial de aceitação comercial quanto aos atributos sabor, aroma e qualidade global. Porém no atributo viscosidade as três formulações de iogurte desenvolvidas precisam ser melhoradas para terem maior aceitabilidade sensorial. Talvez o uso de um espessante mais adequado na formulação, o qual proporciona-se uma melhor viscosidade seria suficiente para contribuir para maior aceitação do produto.

A amostra 457 foi a que apresentou os menores índices de aceitabilidade em todos os atributos sensoriais avaliados, sendo observados valores inferiores a 70%. Tais resultados indicam que o pólen interfere negativamente na apreciação sensorial do produto e que somente pode ser usado pequenas quantidades deste como ingrediente de formulação.

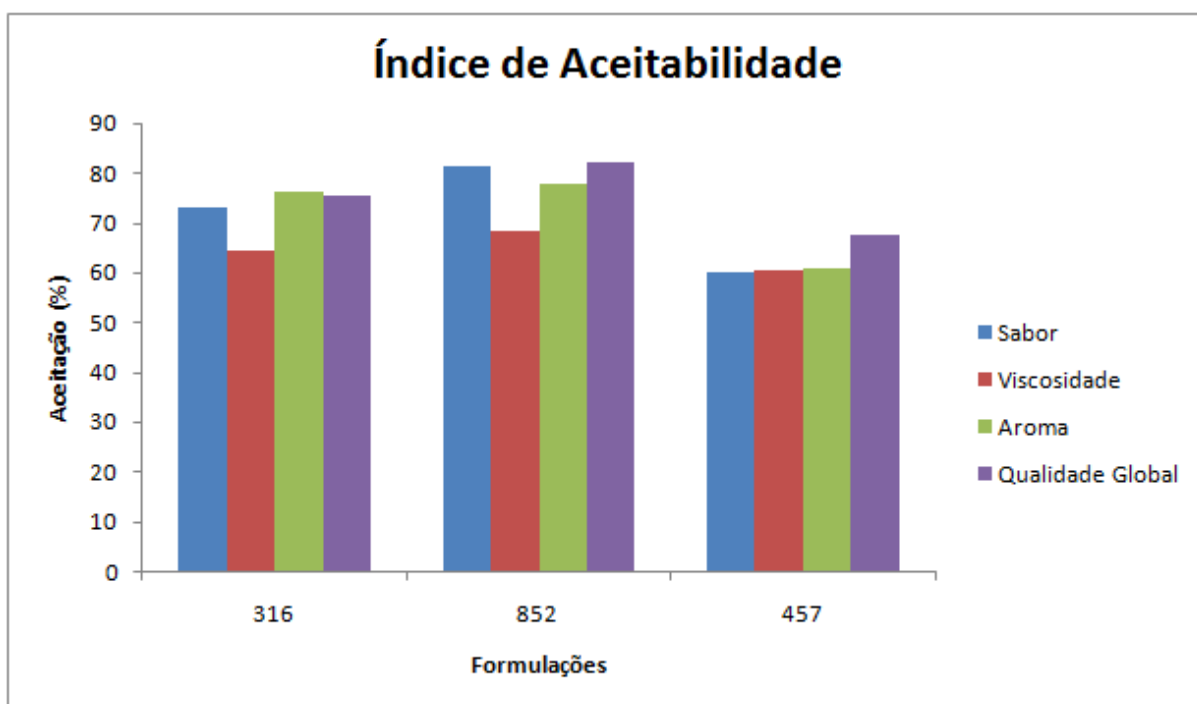


Gráfico 5 - Índice de aceitabilidade para os atributos avaliados

Segundo Silva et al. (2010), em seu trabalho de desenvolvimento de uma bebida láctea com sabor de bacuri e enriquecida com pólen apícola, apresentou maior aceitabilidade se comparada com a aceitabilidade deste trabalho. A bebida láctea contendo 2% de pólen apícola obteve uma aceitabilidade de 80,36%, e a bebida láctea contendo 4% de pólen apícola obteve uma aceitabilidade de 77,96%. Percebe-se que a aceitabilidade desse produto foi superior a aceitabilidade do iogurte apresentado nesse trabalho. E sendo que, as quantidades de pólen apícola usada para o desenvolvimento do iogurte (0,6, 0,8 e 1%) foram inferiores as usadas na bebida láctea (2 e 4%).

O índice de menor aceitabilidade do iogurte pode ser devido os julgadores não serem consumidores de produtos apícolas. Esse produto desenvolvido nesse trabalho poderia ter apresentado maior aceitabilidade se fosse selecionado para um consumidor alvo, ou seja, consumidores de produtos apícolas, tais como, pólen apícola, própolis, geléia real. Consumidores que estão em busca de alimentos saudáveis, nutritivos e que possuam em suas formulações produtos naturais.

CONCLUSÕES

A produção de iogurte pode ser uma boa estratégia para o aproveitamento do leite produzido no Brasil, visto que trata-se de um produto alimentício com propriedades nutricionais relevantes e com potencial mercado consumidor. O uso de pólen apícola como ingrediente de formulação de iogurte é possível, mas é necessário usar somente pequena quantidade de pólen, visto que esse interfere negativamente na aceitação sensorial do produto. A produção de iogurte acrescido de pólen foi tecnicamente possível e a formulação contendo 0,8% de pólen foi selecionada como a melhor formulação em função de sua aceitabilidade sensorial.

Os resultados deste trabalho contribuem com informações inovadoras para o desenvolvimento de novos produtos com propriedades nutricionais e funcionais atrativas.

REFERÊNCIAS

ABE, L. T.; DA MOTA, R. V.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. **Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2007.

ANTUNES, L. E. C.; **Amora-preta: Nova opção de Cultivo no Brasil.** Santa Maria: Ciência Rural, v. 32, n.1 p. 151-158, 2002.

BECKER, E. M.; NISSEN, L. R.; SKIBSTED, L. H. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 219, p. 561–571, 2004.

BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite; queijo, manteiga, caseína, iogurte, sorvetes e instalações: produção, industrialização, análise.** São Paulo: Nobel, 1984.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O.; **Química do Processamento de Alimentos.** São Paulo: Varela, 2001.

BOGDANOV, S. Quality and Standards of Pollen and Beeswax. **Apiacta**, v. 38, p. 334 – 341, 2004.

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.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Defesa Animal. Legislações. Legislação por Assunto. Legislação de Produtos Apícolas e Derivados. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de apitoxina, cera de abelha, geléia real, geléia real liofilizada, pólen apícola, própolis e extrato de própolis. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do>. Acesso em 04 de abril de 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Obtenção de leite com qualidade e elaboração de derivados.** Versão – online. Documento 154. ISSN 1806 – 9193, Junho, 2006.

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

CAMPOS, M.; MARKHAM, K.R.; MITCHELL, K. A.; CUNHA, A.P.D; An approach to the characterisation of bee pollens via their flavonoid/phenolic profiles. **Phytochemical Analysis**, v. 8, n. 3, p. 181-185, 1997.

CARPES, Solange T. **Estudo das características físico-químicas e biológicas do pólen apícola de *Apis Mellifera* da Região Sul do Brasil**. 2008. 244 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

CHAGAS, Edvan A.; PIO, Rafael; BARBOSA, Wilson; DALL`ORTO, Fernando A. C.; MENDONÇA, Vander; **Amora-preta: a pequena fruta com elevado potencial de cultivo**. 2007. Artigo em Hypertexto Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2007_2/amora/index.htm>. Acessado em 11 de agosto de 2010.

DREOSTI, I.E. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. **Nutrition**. n. 692, p. 7-8, 2000.

FERREIRA, C. L. L. F. **Produtos lácteos fermentados: aspecto bioquímicos e tecnológicos**. Viçosa, UFV, 2001.

_____. **Produção de iogurte, Bebida Láctea, Doce de Leite e Requeijão Cremoso**. CPT: Viçosa, 2006.

HARBORNE , J.B. **Procedures and measurement of total phenolics**. In: Methods in Plant of Biochemistry. Harbone J.B. Ed. Academic Press, London, UK., p.1-28, 1989.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos**. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

KROYER, G.; HEGEDUS, N. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.2, p.171-174, 2001.

MACHII H, KOYAMA A, YAMANOUCHI H, 2000. FAO Eletronic Conference: **Mulberry for animal production**. Disponível em <<http://www.fao.org/livestock/agap/frg/mulberry>>. Acessado em 02 de maio de 2011.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. **Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais**. Química Nova. v. 31, nº. 5, 1218-1223, 2008.

MARCHINI, L. C.; REIS, V.D.A.; MORETI, A.C.C.C. **Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas africanizadas *Apis mellífera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, estado de São Paulo**. Ciência Rural, v. 36, n. 3, p. 949-953, 2006.

MENSOR, L.L.; MENEZES, F.S.; LEITÃO, G.G.; REIS, A.S.; SANTOS, T.C.; COUBE, C.S.; LEITÃO, S.G. Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 127–130, 2001.

MUNCK, A. V., RODRIGUES, F. C. **Produção de manteiga, ricota, doce de leite, sorvete, iogurte e bebida láctea**. Viçosa, CPT, 2004.

NAKAMURA Y, WATANABE S, MIYAKE N, KOHNO H, OSAWA T, 2003. **Dihydrochalcones: evaluation as novel radical scavenging antioxidants**. J Agr Food Chem 51: 3309-3312.

RITTER, 2011 **Manual para fabricação de leites fermentados: logurtes e Bebidas Lácteas**. Disponível em: <http://ritter.com.br/foodservice/dir_arquivos/manual.pdf>. Acessado em 04 de abril de 2011.

OLIVEIRA, Vinicius M. de; **Formulação de Bebida Láctea Fermentada com Diferentes Concentrações de Soro de Queijo, Enriquecida com Ferro: Caracterização Físico-Química, Análises Bacteriológicas e Sensoriais**. 2006 78p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2006.

ORDOÑEZ, Juan, A. et al., **Tecnologia de Alimentos – Origem Animal**. Porto Alegre: Artemed, v. 2, 2005

PADILHA, Marina M.; MOREIRA, Lucimara Q.; MORAIS, Fernanda F.; ARAÚJO, Tomáz, H.; ALVEZ-DA-SILVA, Geraldo. **Estudo Farmacobotânicos das Folhas de**

Amoreira-Preta, *Morus nigra* L., Moraceae. Revista Brasileira de Farmacognosia, 20 (4): 621-626, 2010.

PARK, Y. K.; KOO, M. H.; SATO, H. H.; CONTADO, J. L.; Estudo de alguns componentes da própolis coletada por *Apis mellifera* no Brasil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 38, n.4, p. 1235-1259, 1995.

POLING, E.B. Blackberries. **Journal of Small Fruit and Viticulture**, v.14, n.1-2, p.38-69. 1996.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Compuestos polifenólicos: efectos fisiológicos. Actividad antioxidante. **Alimentaria**, v. 329, p. 29-40, 2002.

SILVA, Neusely. da, et. al.; **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos.** São Paulo: Varela, 3ª edição, 2007.

SILVA, Elen V. C. da; MEDEIROS, Leanny de F. P. S.; MONTEIRO, Danielle B.; SILVA, Gisele F. da; **Elaboração de Bebida Láctea Pasteurizada Sabor Bacuri Enriquecida com Pólen.** Revista Brasileira de Tecnologia e Agroindustrial, v. 04, n. 01 p 01-09, 2010.

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

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P. S. Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 23, n. 2, p. 141-149, 2008.

WIESE, H. **Novo manual de apicultura.** Livraria e Editora Agropecuária, Guaíba, RS, 292 p, 1995.

ANEXOS

ANEXO A – Teste ANOVA para o atributo sabor

ANOVA: fator duplo sem repetição

RESUMO	Contagem	Soma	Média	Variância	RESUMO	Contagem	Soma	Média	Variância
Linha 1	3	22	7,333333	2,333333	Linha 28	3	21	7	1
Linha 2	3	14	4,666667	2,333333	Linha 29	3	21	7	3
Linha 3	3	15	5	7	Linha 30	3	16	5,333333	4,333333
Linha 4	3	21	7	0	Linha 31	3	21	7	1
Linha 5	3	16	5,333333	4,333333	Linha 32	3	20	6,666667	6,333333
Linha 6	3	19	6,333333	4,333333	Linha 33	3	18	6	1
Linha 7	3	21	7	1	Linha 34	3	23	7,666667	1,333333
Linha 8	3	21	7	1	Linha 35	3	15	5	3
Linha 9	3	13	4,333333	2,333333	Linha 36	3	18	6	1
Linha 10	3	16	5,333333	6,333333	Linha 37	3	21	7	7
Linha 11	3	16	5,333333	8,333333	Linha 38	3	23	7,666667	2,333333
Linha 12	3	22	7,333333	0,333333	Linha 39	3	21	7	3
Linha 13	3	16	5,333333	4,333333	Linha 40	3	23	7,666667	2,333333
Linha 14	3	22	7,333333	0,333333	Linha 41	3	21	7	1
Linha 15	3	21	7	12	Linha 42	3	21	7	1
Linha 16	3	22	7,333333	0,333333	Linha 43	3	20	6,666667	5,333333
Linha 17	3	19	6,333333	1,333333	Linha 44	3	18	6	9
Linha 18	3	24	8	0	Linha 45	3	16	5,333333	1,333333
Linha 19	3	23	7,666667	0,333333	Linha 46	3	22	7,333333	0,333333
Linha 20	3	22	7,333333	0,333333	Linha 47	3	16	5,333333	4,333333
Linha 21	3	21	7	0	Linha 48	3	13	4,333333	6,333333
Linha 22	3	18	6	4	Linha 49	3	9	3	1
Linha 23	3	14	4,666667	6,333333	Linha 50	3	22	7,333333	2,333333
Linha 24	3	18	6	1					
Linha 25	3	24	8	1	Coluna 1	50	329	6,58	1,799592
Linha 26	3	23	7,666667	0,333333	Coluna 2	50	366	7,32	1,854694
Linha 27	3	23	7,666667	0,333333	Coluna 3	50	270	5,4	4,081633

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Linhas	192,1667	49	3,921769	2,056431	0,001263	1,482944
Colunas	93,77333	2	46,88667	24,58565	2,22E-09	3,089203
Erro	186,8933	98	1,907075			
Total	472,8333	149				

ANEXO B – Teste ANOVA para o atributo viscosidade

ANOVA: fator duplo sem repetição

RESUMO	Contagem	Soma	Média	Variância	RESUMO	Contagem	Soma	Média	Variância
Linha 1	3	16	5,333333	0,333333	Linha 28	3	15	5	1
Linha 2	3	17	5,666667	0,333333	Linha 29	3	14	4,666667	1,333333
Linha 3	3	13	4,333333	4,333333	Linha 30	3	15	5	4
Linha 4	3	22	7,333333	2,333333	Linha 31	3	20	6,666667	0,333333
Linha 5	3	11	3,666667	0,333333	Linha 32	3	19	6,333333	0,333333
Linha 6	3	19	6,333333	4,333333	Linha 33	3	19	6,333333	0,333333
Linha 7	3	21	7	1	Linha 34	3	20	6,666667	1,333333
Linha 8	3	21	7	1	Linha 35	3	17	5,666667	2,333333
Linha 9	3	14	4,666667	4,333333	Linha 36	3	21	7	0
Linha 10	3	18	6	3	Linha 37	3	18	6	0
Linha 11	3	12	4	3	Linha 38	3	17	5,666667	1,333333
Linha 12	3	18	6	3	Linha 39	3	17	5,666667	2,333333
Linha 13	3	22	7,333333	0,333333	Linha 40	3	22	7,333333	4,333333
Linha 14	3	19	6,333333	2,333333	Linha 41	3	20	6,666667	5,333333
Linha 15	3	21	7	7	Linha 42	3	19	6,333333	0,333333
Linha 16	3	16	5,333333	1,333333	Linha 43	3	19	6,333333	2,333333
Linha 17	3	10	3,333333	5,333333	Linha 44	3	20	6,666667	10,333333
Linha 18	3	10	3,333333	0,333333	Linha 45	3	23	7,666667	0,333333
Linha 19	3	21	7	1	Linha 46	3	11	3,666667	0,333333
Linha 20	3	21	7	1	Linha 47	3	14	4,666667	6,333333
Linha 21	3	12	4	1	Linha 48	3	13	4,333333	4,333333
Linha 22	3	21	7	0	Linha 49	3	10	3,333333	2,333333
Linha 23	3	11	3,666667	8,333333	Linha 50	3	16	5,333333	0,333333
Linha 24	3	13	4,333333	1,333333					
Linha 25	3	22	7,333333	0,333333	Coluna 1	50	289	5,78	3,481224
Linha 26	3	23	7,666667	0,333333	Coluna 2	50	307	6,14	3,020816
Linha 27	3	25	8,333333	0,333333	Coluna 3	50	272	5,44	3,108571

Fonte da variação	SQ	Gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Linhas	265,1733	49	5,411701	2,577668	3,47E-05	1,482944
Colunas	12,25333	2	6,126667	2,918217	0,058741	3,089203
Erro	205,7467	98	2,099456			
Total	483,1733	149				

ANEXO C – Teste ANOVA para o atributo aroma

ANOVA: fator duplo sem repetição

RESUMO	Contagem	Soma	Média	Variância	RESUMO	Contagem	Soma	Média	Variância
Linha 1	3	17	5,666667	12,333333	Linha 28	3	19	6,333333	9,333333
Linha 2	3	12	4	1	Linha 29	3	18	6	13
Linha 3	3	18	6	3	Linha 30	3	16	5,333333	4,333333
Linha 4	3	23	7,666667	1,333333	Linha 31	3	21	7	1
Linha 5	3	20	6,666667	0,333333	Linha 32	3	20	6,666667	6,333333
Linha 6	3	19	6,333333	4,333333	Linha 33	3	23	7,666667	0,333333
Linha 7	3	21	7	1	Linha 34	3	24	8	1
Linha 8	3	21	7	1	Linha 35	3	24	8	0
Linha 9	3	15	5	4	Linha 36	3	20	6,666667	6,333333
Linha 10	3	19	6,333333	4,333333	Linha 37	3	22	7,333333	8,333333
Linha 11	3	9	3	4	Linha 38	3	22	7,333333	4,333333
Linha 12	3	18	6	9	Linha 39	3	23	7,666667	2,333333
Linha 13	3	21	7	1	Linha 40	3	21	7	7
Linha 14	3	17	5,666667	0,333333	Linha 41	3	13	4,333333	1,333333
Linha 15	3	23	7,666667	0,333333	Linha 42	3	14	4,666667	0,333333
Linha 16	3	22	7,333333	0,333333	Linha 43	3	19	6,333333	0,333333
Linha 17	3	21	7	0	Linha 44	3	18	6	3
Linha 18	3	21	7	0	Linha 45	3	21	7	1
Linha 19	3	26	8,666667	0,333333	Linha 46	3	16	5,333333	0,333333
Linha 20	3	21	7	0	Linha 47	3	17	5,666667	10,333333
Linha 21	3	19	6,333333	0,333333	Linha 48	3	15	5	4
Linha 22	3	21	7	1	Linha 49	3	11	3,666667	4,333333
Linha 23	3	17	5,666667	5,333333	Linha 50	3	18	6	9
Linha 24	3	20	6,666667	0,333333					
Linha 25	3	24	8	0	Coluna 1	50	343	6,86	1,143265
Linha 26	3	24	8	0	Coluna 2	50	350	7	3,306122
Linha 27	3	23	7,666667	0,333333	Coluna 3	50	274	5,48	4,703673

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Linhas	213,0733	49	4,348435	1,810104	0,006548	1,482944
Colunas	70,57333	2	35,28667	14,68862	2,63E-06	3,089203
Erro	235,4267	98	2,402313			
Total	519,0733	149				

ANEXO D – Teste ANOVA para o atributo qualidade global

ANOVA: fator duplo sem repetição

<i>RESUMO</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>	<i>RESUMO</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
Linha 1	3	22	7,333333	2,333333	Linha 28	3	22	7,333333	0,333333
Linha 2	3	17	5,666667	0,333333	Linha 29	3	18	6	4
Linha 3	3	14	4,666667	2,333333	Linha 30	3	17	5,666667	2,333333
Linha 4	3	22	7,333333	0,333333	Linha 31	3	21	7	1
Linha 5	3	15	5	1	Linha 32	3	19	6,333333	4,333333
Linha 6	3	19	6,333333	4,333333	Linha 33	3	18	6	1
Linha 7	3	21	7	1	Linha 34	3	23	7,666667	1,333333
Linha 8	3	21	7	1	Linha 35	3	20	6,666667	0,333333
Linha 9	3	15	5	4	Linha 36	3	21	7	1
Linha 10	3	17	5,666667	4,333333	Linha 37	3	22	7,333333	1,333333
Linha 11	3	13	4,333333	4,333333	Linha 38	3	24	8	1
Linha 12	3	22	7,333333	1,333333	Linha 39	3	24	8	1
Linha 13	3	19	6,333333	2,333333	Linha 40	3	23	7,666667	2,333333
Linha 14	3	21	7	1	Linha 41	3	21	7	1
Linha 15	3	21	7	3	Linha 42	3	21	7	1
Linha 16	3	21	7	1	Linha 43	3	21	7	4
Linha 17	3	22	7,333333	0,333333	Linha 44	3	18	6	7
Linha 18	3	24	8	0	Linha 45	3	20	6,666667	0,333333
Linha 19	3	25	8,333333	0,333333	Linha 46	3	20	6,666667	0,333333
Linha 20	3	22	7,333333	0,333333	Linha 47	3	16	5,333333	2,333333
Linha 21	3	18	6	1	Linha 48	3	14	4,666667	2,333333
Linha 22	3	21	7	1	Linha 49	3	26	8,666667	0,333333
Linha 23	3	15	5	7	Linha 50	3	24	8	1
Linha 24	3	18	6	1					
Linha 25	3	23	7,666667	0,333333	Coluna 1	50	340	6,8	1,673469
Linha 26	3	25	8,333333	0,333333	Coluna 2	50	370	7,4	1,55102
Linha 27	3	27	9	0	Coluna 3	50	303	6,06	2,95551

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Linhas	174,54	49	3,562041	2,721235	1,29E-05	1,482944
Colunas	45,05333	2	22,52667	17,20933	3,93E-07	3,089203
Erro	128,28	98	1,30898			
Total	347,8733	149				