

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

MAIARA CRISTINA GROLI

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE PRODUTO NATURAL
DO TIPO IOGURTE PREBIÓTICO ENRIQUECIDO COM EXTRATO DE
Baccharis dracunculifolia DC.

GUARAPUAVA

2020

MAIARA CRISTINA GROLI

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE PRODUTO NATURAL
DO TIPO IOGURTE PREBIÓTICO ENRIQUECIDO COM EXTRATO DE
Baccharis dracunculifolia DC.

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Centro-Oeste em associação ampla com a Universidade Estadual de Ponta Grossa, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Carlos Ricardo Maneck Malfatti

GUARAPUAVA

2020

Catálogo na Publicação
Rede de Bibliotecas da Unicentro

G875d Grolli, Maiara Cristina
Desenvolvimento e caracterização de produto natural do tipo iogurte prebiótico enriquecido com extrato de *Baccharis dracunculifolia* DC./ Maiara Cristina Grolli. – – Guarapuava, 2020.
x, 75 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste em Associação Ampla com a Universidade Estadual de Ponta Grossa, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2020.

Orientador: Carlos Ricardo Maneck Malfatti
Banca examinadora: Carlos Ricardo Maneck Malfatti, Daiana Novello, Lucélia Magalhães da Silva

Bibliografia

1. *Baccharis*. 2. Compostos fenólicos. 3. Atividade antioxidante. 4. Alimentos funcionais. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

CDD 615

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela vida, por estar presente nos meus dias e me permitir concluir essa etapa.

Aos meus amados pais, que não pouparam esforços para que eu trilhasse meu caminho. Aos meus irmãos e cunhadas que sempre me apoiaram e torceram por mim nessa jornada. Amo vocês!

Ao Maicon, que se manteve perto, mesmo estando longe, me ouvindo e me acalmando nos dias de desânimo. Obrigada por cuidar tão bem de mim.

A minha amiga Ana Karolina, parceira de laboratório e de vida, com quem compartilhei essa experiência dia a dia. Sou grata a você, por ter me incentivado e ajudado tanto, por ser amiga nos melhores e piores momentos. Obrigada por estar sempre presente.

Ao meu orientador, Dr. Malfatti, por me aceitar na equipe, pelo apoio, pela paciência, pela confiança e empenho dedicado à elaboração deste trabalho.

Agradeço ao Ricardo, grande amigo, por sempre acreditar em mim, por sempre estar disponível para me ajudar, pelos conselhos. Obrigada por todos os ensinamentos. Te admiro muito.

Aos colegas de laboratório, Henrique, minha querida amiga Juliane, Pablo, Nilane, por estarem presentes e fazerem com que os dias fossem mais descontraídos. Obrigada pela amizade, pelas risadas e pelo apoio. A Jéssica Wolk e Maira Casagrande, sempre prestativas e disponíveis para ajudar.

A todos os professores envolvidos, professora Katielle Córdova (*in memoriam*), que inspirou todo o projeto desse trabalho. Professora Karina Czaikoski pelo acolhimento e ajuda. Professor Vanderlei pela paciência e ajuda com os dados. A professora Cristina Zanette, que se dedicou tanto para execução do trabalho, por ter sido amiga, pela disponibilidade. Não tenho palavras para agradecer tudo que fez por mim. Sua ajuda foi fundamental.

Aos estagiários dos laboratórios de Farmácia e Engenharia de Alimentos, Vanessa, Edenilson, Ana, Larissa e Jeferson, sempre ajudando e facilitando a correria das análises.

A Unicentro, ao Programa de Pós Graduação, ao Laqua (UTFPR), SETI, CAPES, pela oportunidade.

A todos vocês, meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

Ao longo dos últimos anos, a população tem buscado por alimentos mais saudáveis. As perspectivas no campo de novos produtos são grandes, com isso, a indústria se sente motivada a desenvolver produtos que atendam a demanda do consumidor, na procura por alimentos com propriedades funcionais. *Baccharis dracunculifolia*, conhecida popularmente como vassourinha ou alecrim do campo, é reconhecida por possuir alegações de atividades biológicas devido seus compostos. Com isso, o presente trabalho objetivou desenvolver e caracterizar um iogurte adicionado de extrato de *B. dracunculifolia*. Foram desenvolvidas três formulações, sendo um iogurte controle (T1), iogurte com 2,5% de extrato de *B. dracunculifolia* (T2) e iogurte com 5,0% de extrato de *B. dracunculifolia* (T3). As amostras foram submetidas à análises microbiológicas, físico-químicas, teor de fenólicos totais, atividade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP nos tempos 0, 7 e 14 dias de armazenamento, análise sensorial e de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Os resultados foram avaliados por teste *t* - Student e por método de Equações de Estimações Generalizadas (GEE) com significância de 95%. Todos os iogurtes desenvolvidos apresentaram parâmetros microbiológicos em conformidade com a legislação brasileira durante o período de armazenamento. Os resultados de pH e acidez titulável variaram entre 4,74 a 4,78 e 0,95 a 0,98% de ácido láctico, entre os tratamentos. Verificou-se que houve efeito de tratamento para os parâmetros de composição centesimal ($p < 0,05$), exceto para gordura e proteína. Quanto ao teor de compostos fenólicos totais, os iogurtes apresentaram resultados variando entre 56,88 e 128,12 µgGAE/g entre os tratamentos, com aumento em função do tempo de armazenamento. Os iogurtes enriquecidos com extrato da planta apresentaram maiores resultados de atividade antioxidante em relação ao iogurte controle durante o período de armazenamento. A adição do extrato da *B. dracunculifolia* afetou positivamente no teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante do iogurte sem afetar suas características de identidade e qualidade. Na análise sensorial não foi verificada diferença estatística significativa entre os três tratamentos em nenhum dos parâmetros avaliados (aceitação global, cor, aroma, sabor, acidez, textura, aparência e intenção de compra). De maneira geral, todas as formulações apresentaram médias em torno de 7,0 em uma escala de 1,0 a 9,0. A análise de CLAE, revelou o ácido cumárico como componente majoritário no extrato da *B. dracunculifolia*, o perfil cromatográfico da amostra de iogurte também indicou a presença desse composto.

Palavras chave: *Baccharis*. Compostos fenólicos. Atividade antioxidante. Alimentos funcionais.

ABSTRACT

Over the past few years, the population has been looking for healthier foods. The perspectives in the field of new products are great, by the way, the industry feels motivated to develop products that meet the consumer demand, in the search for foods with functional properties. *Baccharis dracunculifolia*, popularly known as broom or field rosemary, is recognized for having claims of biological activities due to its compounds. Thus, the present work aimed to develop and characterize a yogurt added with *B. dracunculifolia* extract. Three formulations were developed, being a control yogurt (T1), yogurt with 2.5% *B. dracunculifolia* extract (T2) and yogurt with 5.0% *B. dracunculifolia* extract (T3). The samples were submitted to microbiological, physical-chemical analysis, total phenolic content, antioxidant activity by ABTS, DPPH and FRAP methods at 0, 7 and 14 days of storage, sensory analysis and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The results were obtained by t-Student test and using the Generalized Estimation Equations (GEE) method with a significance of 95%. All developed yogurts presented microbiological parameters in compliance with Brazilian legislation during the storage period. The results of pH and titratable acidity varied between 4.74 to 4.78 and 0.95 to 0.98% of lactic acid, between treatments. It was found that there was a treatment effect for the parameters of proximate composition ($p < 0.05$), except for fat and protein. As for the content of total phenolic compounds, yogurts showed results varying between 56.88 and 128.12 $\mu\text{gGAE} / \text{g}$ between treatments, with an increase as a function of storage time. Yogurts enriched with plant extract showed higher results of antioxidant activity compared to control yogurt during the storage period. The addition of *B. dracunculifolia* extract positively affected the content of phenolic compounds and antioxidant activity in yogurt without affecting its identity and quality characteristics. In the sensorial analysis there was no statistically significant difference between the three treatments in any of the evaluated parameters (global acceptance, color, aroma, flavor, acidity, texture, appearance and purchase intention). In general, all formulations showed averages around 7.0 on a scale of 1.0 to 9.0. The HPLC analysis revealed cumáric acid as a major component in the extract of *B. dracunculifolia*, the chromatographic profile of the yogurt sample, also indicated the presence of this compound.

Keywords: Baccharis. Phenolic compounds. Antioxidant activity. Functional foods.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da inulina.....	19
Figura 2. Estrutura química do fenol.....	20
Figura 3. <i>Baccharis dracunculifolia</i> DC.....	22
Figura 4. Processo de produção do extrato de <i>B. dracunculifolia</i>	25
Figura 5. Etapas do processamento do iogurte.....	27
Figura 6. Iogurte elaborado.....	35
Figura 7. Resultados das análises de bactérias lácticas (em A) e de bolores e leveduras (em B) expressas em log/UFC/g, em função do período de armazenamento (0, 7 e 14 dias) em amostras de iogurte.....	36
Figura 8. Valores médios de pH (A e B) e acidez titulável expressa em % de ácido láctico (C e D) em amostras de iogurte.....	38
Figura 9. Compostos fenólicos totais expressos em µgGAE/g.....	42
Figura 10. Atividade antioxidante por método DPPH (µM/Trolox/g), ABTS µM/Trolox/g e FRAP (µM/Sulfato ferroso/g).....	44
Figura 11. Projeções das variáveis respostas e tratamentos por ACP de amostras de iogurte.....	47
Figura 12. Dados de consumo de iogurte pelos avaliadores.....	50
Figura 13. Cromatograma dos compostos fenólicos da formulação de iogurte T3 (iogurte com 5,0% de extrato) e do extrato de <i>B. dracunculifolia</i>	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais componentes do iogurte em 100g.....	13
Tabela 2. Ingredientes utilizados na produção do iogurte controle.....	26
Tabela 3. Gradiente de solventes para análise de HPLC em amostra do extrato e do iogurte T3.....	34
Tabela 4. Parâmetros microbiológicos do iogurte elaborado com diferentes concentrações de extrato de <i>B. dracunculifolia</i>	37
Tabela 5. Teste de efeito de modelo para pH.....	38
Tabela 6. Teste de efeito de modelo para acidez titulável.....	38
Tabela 7. Composição centesimal do iogurte elaborado com diferentes concentrações de extrato de <i>B. dracunculifolia</i>	40
Tabela 8. Teste de efeito de modelo para CFT.....	42
Tabela 9. Teste de efeito de modelo para DPPH.....	45
Tabela 10. Teste de efeito de modelo para ABTS.....	45
Tabela 11. Teste de efeito de modelo para FRAP.....	45
Tabela 12. Dados da análise sensorial de iogurte elaborado com diferentes concentrações de extrato de <i>B. dracunculifolia</i>	49
Tabela 13. Cromatograma dos compostos fenólicos da formulação de iogurte T3 (iogurte com 5,0% de extrato) e do extrato de <i>B. dracunculifolia</i>	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%: Por cento

°C: Graus Célsius

ABTS: 2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico)

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

B. dracunculifolia: *Baccharis dracunculifolia*

CFT: Compostos Fenólicos Totais

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DPPH: 1,1-difenil-2-picrilidrazina

FeCl₃: Cloreto férrico

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

g: grama

GAE: Equivalente de ácido gálico

h: Hora

HCl: ácido clorídrico

IN: Instrução Normativa

INPI: Instituto Nacional da Propriedade Industrial

m/v: massa por volume

mg: miligrama

mL: Mililitro

nº: número

Na₂CO₃: Carbonato de sódio

NaOH: Hidróxido de sódio

nm: nanômetro

p/p: peso por peso

p/v: peso por volume

RLs: Radicais livres

rpm: rotações por minuto

TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity

TPTZ: 2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina

UFC: Unidade Formadora de Colônia

v/v: volume por volume

µl – Microlitro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1.1. Etapas do processo produtivo	15
2.1.2. Tendências de mercado	16
2.2. Alimentos funcionais	17
2.3. Inulina	18
2.4. Compostos fenólicos e atividade antioxidante	20
2.5. <i>Baccharis dracunculifolia</i>	21
3. OBJETIVOS	24
3.1. Objetivo geral	24
3.2. Objetivos específicos	24
4. MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1. Preparo do material vegetal	25
4.2. Processamento do iogurte	26
4.2.1. Ingredientes	26
4.2.2. Elaboração	26
4.3. Análises microbiológicas	27
4.3.1. Contagem de bactérias lácticas totais	27
4.3.2. Contagem Coliformes Totais e Termotolerantes	28
4.3.3. Contagem de Bolores e leveduras	28
4.3.4. Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva	28
4.3.5. Detecção de <i>Salmonella sp.</i>	28
4.4. Análises físico-químicas e composição centesimal	29
4.4.1. pH	29
4.4.2. Acidez titulável	29
4.4.3. Umidade	29
4.4.4. Cinzas	29
4.4.5. Gordura	29
4.4.6. Proteína	30
4.4.7. Fibra alimentar	30
4.4.8. Carboidrato	30
4.5. Determinação da atividade antioxidante e Quantificação de compostos fenólicos totais	30
4.5.1. Compostos Fenólicos Totais	31

4.5.2. Determinação da atividade antioxidante pelo método de DPPH	31
4.5.3. Determinação da atividade antioxidante pelo método de ABTS ⁺	32
4.5.4. Determinação da atividade antioxidante pelo método de FRAP	32
4.6. Análise sensorial	33
4.6.1. Questões éticas	33
4.7. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	33
4.8. Análise estatística	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	35
5.1. Produto obtido	35
5.2. Análises microbiológicas	35
5.3. pH e acidez titulável	37
5.4. Composição centesimal do iogurte	39
5.5. Compostos fenólicos totais (CFT)	41
5.6. Atividade antioxidante	44
5.7. Análise de Componentes Principais	47
5.8. Análise sensorial	48
5.9. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	51
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
7. REFERÊNCIAS	55

1. INTRODUÇÃO

A crescente prevalência de doenças crônicas não transmissíveis, evitáveis por escolhas alimentares saudáveis, tem aumentado a busca por alimentos diferenciados e pressionado a indústria e a comunidade científica a desenvolver novos produtos, ricos em compostos bioativos e com apelo funcional (DUNCAN *et al.*, 2012; CASTELO-BRANCO *et al.*, 2016). Estudos demonstram que alguns dos fatores de risco podem ser reduzidos por meio de intervenções não farmacológicas, por isso, a literatura tem destacado alimentos e bebidas funcionais eficientes no auxílio da prevenção e/ou do tratamento de estados patológicos (LIMA, 2015; SENGUPTA *et al.*, 2018).

O iogurte é um leite fermentado obtido por coagulação e diminuição do pH do leite pela ação fermentativa de micro-organismos específicos (BRASIL, 2007). Trata-se de um produto amplamente consumido, devido a sua qualidade nutricional, com elevados teores de proteína, vitaminas e cálcio (O'SULLIVAN *et al.*, 2016). Ingredientes como vegetais, antioxidantes, fibra dietética, minerais, probióticos e vitaminas têm sido incorporados em iogurtes visando aumentar seu valor nutricional e satisfazer as necessidades dos consumidores (SFAKIANAKIS; TZIA, 2014; CURTI *et al.*, 2017). Além disso, estudos têm investigado o iogurte como uma fonte para incorporação de diversas substâncias como frutas e plantas, com o objetivo de agregar compostos antioxidantes e aumentar os benefícios atribuídos a esse produto (GAO *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2019).

A utilização da natureza para fins terapêuticos é tão antiga quanto à civilização humana e, desde há muito tempo, as plantas medicinais são usadas pela população na medicina tradicional (PIRES *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2018). *Baccharis dracunculifolia* é conhecida popularmente como alecrim do campo ou vassourinha, e é um membro da família *Asteraceae* que compreende cerca de 500 espécies de ervas, arbustos e árvores que apresentam uma enorme diversidade de metabólitos secundários, principalmente polifenóis. Plantas dessa família são amplamente utilizadas na medicina popular para controle e tratamento de algumas doenças (SFORCIN *et al.*, 2012; BELINI *et al.*, 2016). O gênero é reconhecido como fonte de vários compostos, tais como sesquiterpenos, diterpenos, taninos e flavonoides (SFORCIN *et al.*, 2012; LIMA, 2018).

Amplamente distribuídos na natureza, os compostos fenólicos são constituídos por um anel aromático unido a um ou mais grupamentos de hidroxila (BARBI, 2016). Esses compostos estão ligados à função sequestrante de radicais livre (antioxidantes) e por isso são utilizados com intuito de auxiliar na redução do índice de doenças crônicas não transmissíveis (CAVARSAN, 2015; SILVA, 2015). Estudos envolvendo atividades biológicas desses compostos demonstraram ação anti-inflamatória, hipoglicemiante e antioxidante (MALDANER, 2015; SOARES, 2015; PEREIRA, 2014, GUIMARÃES *et al.*, 2012).

Com base nisso, o presente estudo teve como objetivo desenvolver e caracterizar um iogurte prebiótico enriquecido com extrato de *Baccharis dracunculifolia* com intuito de obter um produto com características sensoriais e bioativas inovadoras.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Entende-se por iogurte um “Produto fermentado mediante a ação de cultivos de micro-organismos protosimbóticos de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, aos quais se podem acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-láticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final” (BRASIL, 2007). O iogurte é reconhecido e recomendado para o consumo por ser uma importante fonte de nutrientes essenciais, pois trata-se de um produto rico em proteínas, cálcio, potássio, fósforo, zinco e magnésio, além de vitaminas do complexo B (MAGALHÃES, 2016; OLIVEIRA, 2017). Seus principais componentes estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Principais componentes do iogurte em 100g

Constituinte	Integral	Desnatado
Água (g)	81,9	84,9
Valor energético (Kcal)	79	56
Proteína (g)	5,7	5,1
Gordura (g)	3,0	0,8
Carboidrato (g)	7,8	7,5
Cálcio (mg)	200	190
Fósforo (mg)	170	160
Sódio (mg)	80	83
Potássio (mg)	280	250
Zinco (mg)	0,7	0,6

Fonte: (RIGO, CÓRDOVA e RAYMUND, 2013).

O iogurte possui a presença de bactérias lácticas benéficas, que podem alterar positivamente a microbiota intestinal, sendo eficaz para redução dos níveis de colesterol, digestão da lactose no caso de intolerância a lactose, síndromes intestinais, diarreia e câncer no cólon (MUNIANDY, SHORI e BABA, 2016; OLIVEIRA, 2017). Com isso, torna-se benéfico em algumas funções do organismo, podendo reduzir o risco de certas doenças e contribuir para o bom estado geral da saúde (RIGO, 2013).

Shi *et al.*, (2019) em um estudo envolvendo modelo animal de obesidade, relataram que a suplementação com iogurte reduziu o peso corporal, percentual de gordura e melhorou a tolerância a glicose intraperitoneal, mostrando-se eficaz no tratamento de comorbidades relacionadas à obesidade. Dados semelhantes foram

relatados por Fabersani *et al.*, (2018) em que a ingestão de iogurte de leite de cabra suplementado com farinha de yacon por ratos em dieta rica em gordura, resultou em menor peso corporal, índice de massa corporal, níveis de glicemia de jejum e índices aterogênicos.

O consumo de produtos fermentados tem aumentado muito nos últimos anos, devido ao seu valor nutricional, propriedades sensoriais diversificadas e custo moderado (SHIBY; MISHRA, 2013). Existem no mercado produtos que diferem entre si quanto a composição, sabor, consistência podem variar também de acordo com o método de produção, que resulta em produtos de diferentes texturas, como: iogurte sólido (firme), homogêneo (batido) ou homogêneo de baixa viscosidade (líquido) (RIGO, 2013).

Shi *et al.* (2019), em um estudo envolvendo modelo animal de obesidade, relatou que a suplementação com iogurte reduziu o peso corporal, percentual de gordura e melhorou a tolerância a glicose intraperitoneal, mostrando-se eficaz no tratamento de comorbidades relacionadas a obesidade. Dados semelhantes foram relatados por Fabersani *et al.*, (2018) em que a ingestão de iogurte de leite de cabra suplementado com farinha de yacon por ratos em dieta rica em gordura, resultou em menor peso corporal, índice de massa corporal, níveis de glicemia de jejum e índices aterogênicos.

O consumo de produtos fermentados, tem aumentado muito nos últimos anos, devido ao seu valor nutricional, propriedades sensoriais diversificadas e custo moderado (SHIBY; MISHRA, 2013). Existem no mercado produtos que diferem entre si quanto a composição, sabor, consistência podem variar também de acordo com o método de produção, que resulta em produtos de diferentes texturas, como: iogurte sólido (firme), homogêneo (batido) ou homogêneo de baixa viscosidade (líquido) (RIGO, 2013).

As perspectivas no campo de novos produtos são grandes, com isso, a indústria se sente motivada a desenvolver variedades de produtos que atendam a demanda do consumidor, na procura por alimentos com propriedades inovadoras (VÉNICA *et al.*, 2018; MAGALHÃES, 2016).

Na literatura encontramos uma diversidade de produtos diferenciados com adição dos mais variados ingredientes, como: geleia de goji berry (LIMA *et al.*, 2016), iogurte de leite de cabra adicionado de polpa de cupuaçu (SOUZA, *et al.*, 2016), iogurte suplementado com farinha de quinoa (CURTI *et al.*, 2017), enriquecido com

chá verde, branco ou preto (MUNIANDY, SHORI e BABA, 2016) e extratos de algas marinhas (O'SULLIVAN *et al.*, 2016).

2.1.1. Etapas do processo produtivo

Segundo Ordóñez (2005), Venturini Filho (2010) e Rigo (2013) a produção de iogurte envolve as seguintes etapas:

- Padronização de sólidos lácteos: ocorre o aumento da concentração de sólidos pela adição de leite em pó, melhorando as propriedades de consistência e viscosidade;
- Homogeneização: etapa que permite a redução do tamanho dos glóbulos de gordura, melhorando a estabilidade das proteínas e aumentando a capacidade de retenção de água provocando melhor firmeza do coágulo e redução de sinérese.
- Tratamento térmico: Além de ser uma importante etapa para eliminação de micro-organismos patogênicos, o aquecimento do leite permite o aumento da viscosidade do iogurte pela união de β -lactoglobulinas e κ -caseína por ligações dissulfeto (que favorece a formação de uma rede de gel com estrutura firme e menor susceptibilidade de separação de soro) e contribui também na quantidade de oxigênio dissolvido, criando condições de microaerofilia favoráveis para o crescimento do cultivo iniciador.
- Adição do starter: - o inóculo é constituído por quantidades suficientes de micro-organismos viáveis, sendo *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, que são os responsáveis pela próxima etapa, a fermentação.
- Fermentação: Processo bioquímico que resulta na acidificação do leite pela incubação das culturas termofílicas a temperaturas entre 42 a 45°C que permite uma relação simbiótica entre as espécies. Nessas condições, *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* convertem parte da lactose em ácido láctico provocando uma redução gradual do pH no meio (pH próximo a 4,6) até um ponto em que as cargas na superfície das moléculas de caseína tornam-se nulas (ponto isoelétrico). Nesse momento, a caseína se torna insolúvel, ou seja, as moléculas perdem sua capacidade de manter-se dispersas no meio e começam a unir-se formando aglomerados que torna o leite mais viscoso, obtendo-se, portanto, o coágulo (MARTINS, 2014; ROBERT, 2008). Além da produção do ácido láctico, que é o responsável pelo sabor ácido e refrescante da bebida, a fermentação resulta na produção de outros ácidos orgânicos e compostos aromáticos que contribuem para o sabor e textura, como o

acetaldeído, componente responsável pelo aroma típico e agradável do iogurte (TAMINE; ROBINSON, 2007; RIGO *et al.*, 2013).

- Resfriamento: Consiste em diminuir gradativamente a temperatura do coágulo até atingir temperatura inferior a 10°C para interromper a fermentação e controlar a acidez final do produto (TAMINE; ROBINSON, 1991). O resfriamento não deve ser rápido, para não afetar a estrutura do coágulo, levando a separação do soro.

2.1.2. Tendências de mercado

Com faturamento de R\$ 68,7 bilhões em 2018, a indústria de laticínios é o segundo segmento mais importante da indústria de alimentos brasileira. Além de ser consumido na sua forma original, o leite também pode ser transformado em diversos tipos de produtos, dentre os mais consumidos destacam-se: leite fluido, iogurte, manteiga, queijos e leite em pó (SIQUEIRA, 2019). No setor de iogurtes, houve um crescimento de R\$7,7 bilhões para R\$ 14,5 bilhões entre 2010 a 2015 nas vendas dos produtos disponíveis no mercado brasileiro (CRUZ *et al.*, 2017). No entanto, as exigências do consumidor estão revolucionando o mercado lácteo, com isso, a indústria de laticínios está tendo que se reinventar para agradar os consumidores (SIQUEIRA, 2019).

Considerando o setor de inovações e tendências, o processo de fabricação do iogurte pode variar, conforme a indústria busca elaborar produtos diferenciados, como é o caso do iogurte grego que trata-se de um iogurte com maior cremosidade e textura firme, resultante do processo de dessoragem (remoção parcial do soro), que o torna um produto com maior concentração de proteína e gordura (SILVEIRA *et al.*, 2016; CRUZ *et al.*, 2017). Outra tendência é o iogurte “tipo sundae” que possui o mesmo processo de produção de iogurtes com consistência firme, se diferenciando apenas pela adição inicialmente da polpa da fruta à embalagem e sobre ela o iogurte base e a fermentação ocorre dentro da própria embalagem (BATISTA, 2015; CRUZ *et al.*, 2017). No âmbito de produtos saudáveis, podemos encontrar ainda, leites fermentados probióticos (com suplemento alimentar à base de microrganismos vivos) e prebióticos (com componentes alimentares não digeríveis) que afetam benéficamente a saúde do indivíduo e produtos com baixa ou zero lactose para atender consumidores intolerantes (MATTA; KUNIGK, 2009; CRUZ *et al.*, 2017).

2.2. Alimentos funcionais

Ao longo dos últimos anos, a busca por mudanças nos hábitos alimentares da população tem gerado uma crescente demanda na busca por alimentos mais saudáveis, reconhecidos como promotores de saúde e de bem-estar pessoal (PEREIRA *et al.*, 2018). Isso ocorre, porque dentre outros fatores, a alimentação inadequada está listada como um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (DUNCAN *et al.*, 2012). As DCNT constituem uma das principais causas de morte nos países desenvolvidos e nas grandes cidades brasileiras, entre essas, quatro grupos de doenças: cardiovasculares, câncer, doença respiratória crônica e diabetes, respondem pela grande maioria dos óbitos (DUNCAN *et al.*, 2012).

Esse cenário gera uma grande oportunidade e um desafio para a indústria farmacêutica e de alimentos, sobre a qual cabe a responsabilidade de responder às crescentes demandas por alimentos funcionais (ILLANES, 2015). Esse termo é utilizado para caracterizar alimentos e/ou ingredientes alimentares que, além das suas funções nutricionais normais (fonte de energia e substrato para a formação de células e tecidos), possuem, na sua composição, uma ou mais substâncias capazes de atuar como moduladores dos processos metabólicos, melhorando as condições de saúde, promovendo o bem-estar e prevenindo o surgimento precoce de doenças degenerativas (COELHO; WOSIACK, 2010; DAHMER; SIEBENEICHLER, 2011; ELVAS, 2016).

O conceito de alimentos funcionais foi proposto no Japão em meados da década de 1980 e 90 onde recebeu a denominação em inglês de FOSHU (*Food for Specified Health Use*, alimentos para uso específico em saúde), referindo-se aos alimentos usados na dieta, que além de apresentarem funções nutricionais, demonstram auxiliar na redução de doenças crônicas e ter benefícios fisiológicos (COSTA, 2010; CHEUCZUK; ROCHA, 2014). No Brasil, o mercado de alimentos funcionais está regulamentado pela Resolução nº 18/1999 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 1999), que define produto com alegação de propriedade funcional como “refere-se ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente desempenha no crescimento, desenvolvimento, na manutenção e em outras funções normais do organismo” (BRASIL, 1999).

Alimentos funcionais podem ser naturais, alimentos aos quais algum componente foi adicionado, removido ou modificado ou cuja biodisponibilidade de

qualquer um deles foi modificada (ILLANES, 2015). Inicialmente, esses produtos referiam-se principalmente à fortificação com vitaminas e minerais, hoje em dia, à incorporação de nutrientes como fibras solúveis, fitoesteróis e ácidos graxos ômega-3 ganharam mais espaço no mercado (SIRÓ *et al.*, 2008). Uma parte significativa dos alimentos funcionais visam promover a saúde intestinal, que é um determinante muito importante da saúde geral, portanto, dentro dos alimentos funcionais, probióticos e prebióticos adquirem relevância especial (ILLANES, 2015).

Uma revisão sistemática desenvolvida por Silva e colaboradores (2016) demonstrou que a fibra alimentar e os probióticos estão dentre os ingredientes mais utilizados para a elaboração de produtos com alegação funcional e com o propósito de melhorar a qualidade nutricional do alimento. Os trabalhos selecionados salientam ainda a redução do valor calórico e melhora no aporte de nutrientes dos produtos desenvolvidos com esses ingredientes.

2.3. Inulina

Prebióticos são fibras não degradáveis pelas enzimas salivares e intestinais que atuam como substrato para as bactérias benéficas do intestino, estimulando sua proliferação e desenvolvimento, promovendo dessa forma, o equilíbrio da microbiota intestinal, causando efeito benéfico ao hospedeiro (SANTOS; CANÇADO, 2009; WENDLING; WESCHENFELDER, 2013; SANTOS; BARBOSA; BARBOSA, 2011). Dentre os prebióticos, destacam-se a oligofrutose, os frutooligossacarídeos (FOS) e a inulina, que pertencem a uma classe de carboidratos denominados frutanos, que são sintetizados por uma grande variedade de plantas (SAAD, 2006; REIS *et al.*, 2015; ROSA; CRUZ, 2017).

Comumente extraída da raiz da chicória, a inulina é um FOS cuja estrutura química é formada por uma mistura heterogênea de polímeros de frutose unidos por ligações glicosídicas β 2-1 (Figura 1) com uma molécula de glicose ligada na porção inicial da cadeia linear de frutose por uma ligação tipo (α 1 - β 2) e possui grau de polimerização de 2 a 60 unidades (ROBERFROID, 2005; SILVA, 2010). Devido à configuração β do anómero C2 nos seus monômeros de frutose, os frutanos do tipo inulina resistem à hidrólise por enzimas digestivas intestinais, por isso, classificam-se como carboidratos "não digeríveis" (ROBERFROID; SLAVIN, 2000; ROBERFROID, 2005). Ao chegar ao cólon, a inulina é fermentada pelas bifidobactérias que resulta

em produtos de fermentação, entre os quais os ácidos graxos de cadeia curta que exercem efeitos sistêmicos sobre o metabolismo lipídico (ROBERFROID, 1993).

Dentre suas principais propriedades funcionais, destaca-se sua contribuição para o equilíbrio da flora intestinal (YURRITA *et al.*, 2014, BRASIL 2019) e estudos demonstraram também que sua ingestão melhora o perfil lipídico (REIS *et al.*, 2015). Um estudo de ALVARADO-LOZA *et al.*, (2017) demonstrou que o consumo de inulina extraída da planta *Tequilana agave*, afetou positivamente a digestibilidade e a microflora intestinal em modelo animal. Contudo, segundo ANVISA, o consumo de prebióticos deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis (BRASIL, 2019).

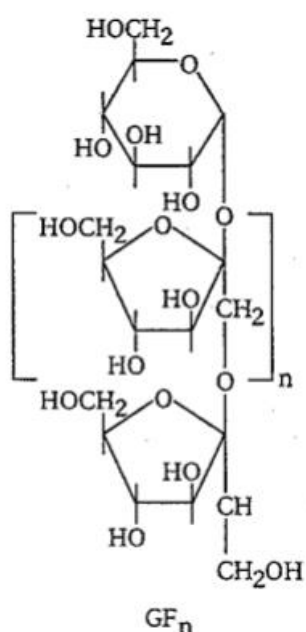


Figura 1. Estrutura química da inulina.
Fonte: (ROBERFROID, 1993).

Na indústria alimentícia, a inulina é empregada como substituto de gordura, pois quando misturada a líquidos, forma microcristais que resultam em um produto de textura cremosa com características palatáveis semelhantes a da gordura, com a vantagem de não resultar em incremento calórico (SILVA, 2010; DEBON, 2009). Além disso, é utilizada para enriquecer o teor de fibras das formulações, sem incremento de sabores adicionais (GALANTE, 2008).

2.4. Compostos fenólicos e atividade antioxidante

Os compostos fenólicos, ou polifenóis, correspondem a um grupo de metabólitos secundários de plantas, que se caracterizam quimicamente pela presença de um anel aromático unido a um ou mais grupos hidroxílicos, podendo variar de uma simples molécula fenólica, como mostra a Figura 2, a um polímero complexo de alto peso molecular (BARBI, 2016; SANTOS, SAGGIOMO e SILVA, 2017; NEVES, 2015).



Figura 2. Estrutura química do fenol
Fonte: (BARBI, 2016).

Os compostos fenólicos são amplamente encontrados na natureza, sendo que mais de 8000 substâncias fenólicas já foram identificadas em espécies vegetais (SILVA *et al.*, 2010; SCHAFRANSKI, 2019). Os que mais prevalecem são os flavonoides (antocianinas, flavonóis e seus derivados), ácidos fenólicos (ácido benzoico, cinâmico e seus derivados), cumarinas, fenóis simples, taninos, ligninas e tocoferóis (JIMÉNEZ, 2010; BARBI, 2016; SANTOS, SAGGIOMO e SILVA, 2017). Reconhecidos pela sua capacidade de inibir radicais livres (RLs) e prevenir oxidação, esses compostos são comumente utilizados com a finalidade de atuar como antioxidantes naturais (SILVA *et al.*, 2010; SCHAFRANSKI, 2019).

Os RLs são oriundos do processo fisiológico normal do organismo. O sistema antioxidante desempenha a função de controlar os danos indesejáveis que esses radicais podem causar caso ocorra o chamado estresse oxidativo, ou seja, quando existe mais RLs sendo produzidos, do que eliminados (CAVARSAN, 2015). Embora esses radicais livres desempenhem importantes funções no metabolismo, seu acúmulo está relacionado ao desenvolvimento de diversas patologias e doenças crônicas não transmissíveis, devido ao dano celular (SILVA, 2015; CAVARSAN, 2015; MACÊDO *et al.*, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2018).

Os compostos fenólicos atuam como doadores de elétrons ou íons de hidrogênio, dessa forma, cooperam com a redução dos danos oxidativos originados pelos RLs, o resultado disso, é que também contribuem para a prevenção das

patologias relacionadas (CAVARSAN, 2015; SILVA, 2015; RODRIGUES *et al.*, 2018). Diante disso, tem-se aumentando o interesse pelos antioxidantes naturais, principalmente aqueles extraídos de espécies vegetais (CAVARSAN, 2015; SILVA *et al.*, 2018) devido a sua importância na prevenção do desencadeamento das reações oxidativas (BROINIZI, 2007).

A comunidade científica tem demonstrado grande interesse na avaliação da possível atividade antioxidante, atribuída a compostos fenólicos nas mais diversas classes de plantas e frutas, como frutos do cerrado brasileiro (carnaúba, murici e oiti) (MOREIRA ARAÚJO *et al.*, 2019), extratos da folha de cherimoya (*Annona cherimola*) (SANCHEZ-GONZALES *et al.*, 2019), amoreira preta (*Morus nigra* L.) (SCHAFRANSKI, 2019) e extrato de erva-mate (TONET, ZARA; TIUMAN, 2019).

Entre as várias espécies que são reconhecidas por apresentarem atividade antioxidante, estão as do gênero *Baccharis* que pertence à família *Asteraceae* que possui cerca de 500 espécies distribuídas principalmente no Brasil, Argentina Paraguai e Uruguai. Devido a sua importância medicinal, várias espécies desse gênero têm sido alvo de pesquisas, como é o caso da *Baccharis dracunculifolia* (SFORCIN *et al.*, 2012).

2.5. *Baccharis dracunculifolia*

A espécie *Baccharis dracunculifolia* De Candolle, conhecida popularmente como “alecrim do campo, alecrim vassoura, erva-de-são-joão-maria, vassoureira ou vassourinha”, é uma planta arbustiva, com característica lenhosa, perene, dióica, possui folhas lanceoladas e pode chegar até 4 metros de altura (COSTA, 2009; BELINI, 2015; SEUGLING, 2018) como mostra a Figura 3. Na medicina tradicional, é comumente consumida na forma de chás para o tratamento de distúrbios gástricos, cansaço físico, inflamações, anemia, diabetes e desintoxicação do organismo (TREVISAN, 2007; COSTA, 2009; BELINI 2015).



Figura 3. *Baccharis dracunculifolia* DC.
Fonte: O autor, 2019

Entre os metabólitos secundários já identificados na planta, podemos citar: terpenóides, fenilpropanóides, flavonoides e compostos fenólicos (SFORCIN *et al.*, 2012; LIMA, 2018). Além disso, a *B. dracunculifolia* tem sido objeto de estudo de diversos trabalhos por representar uma importante fonte de própolis verde, uma substância resinosa, produzida por abelhas da espécie *Apis mellífera* (COSTA, 2009; RODRIGUES *et al.*, 2020). Dentre os compostos encontrados na propólis, destaca-se o artepilin C (3,5-diprenil-Ácido 1,4-hidroxicinâmico) e outros derivados do ácido cinâmico, que são reconhecidos por apresentarem atividades biológicas (ALVES, 2016; ROBERTO *et al.*, 2016; SEUGLING, 2018).

Alencar *et al.* (2005), compararam o perfil fitoquímico da *B. dracunculifolia* com amostras de própolis produzida nos estados de São Paulo e Minas Gerais e os resultados obtidos pela cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa, demonstrou 18 substâncias químicas idênticas em ambas as amostras, sendo o artepilin C o composto majoritário.

Funari *et al.* (2007), detectaram a presença de ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, ácido trans-cinâmico e entre outros, o Artepillin C em extrato de própolis e de *B. dracunculifolia* por CLAE. Compostos

semelhantes foram detectados também por Resende *et al.*, (2007) no extrato da planta. Pasqualli (2016) identificou ainda a presença de ácido gálico, catequina, rutina, quercetina e luteolina no extrato aquoso das folhas de *B. dracunculifolia* por CLAE.

Na literatura, são atribuídos a *B. dracunculifolia* dados de atividade antimicrobiana (SALAZAR *et al.*, 2018; BONIN *et al.*, 2020), anti-mutagênica (ROBERTO *et al.*, 2016), anti-inflamatória (BACHIEGA *et al.*, 2013), antidiabética (PEREIRA, 2014; HOCAYEN *et al.*, 2016) e antioxidante (GUIMARÃES *et al.*, 2012; VEIGA *et al.*, 2017; CASAGRANDE *et al.*, 2018).

Hocayen *et al.* (2016), além de compostos fenólicos e atividade antioxidante, observaram que o extrato de *B. dracunculifolia* promoveu um efeito protetor na perda de área sobre as ilhotas pancreáticas, preveniu o dano celular e aumentou a secreção de insulina sérica estimulada por glicose em modelo animal de obesidade e diabetes. Oliveira *et al.*, (2014) também observaram que a ingestão de *B. dracunculifolia* reduziu os níveis de glicose no sangue de indivíduos saudáveis.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Desenvolver e caracterizar um iogurte prebiótico com inulina adicionado com diferentes concentrações de extrato de *Baccharis dracunculifolia*.

3.2. Objetivos específicos

- Elaborar iogurte prebiótico adicionado de diferentes concentrações de extrato de *B. dracunculifolia*;
- Caracterizar os produtos quanto a seus parâmetros físico-químicos, microbiológicos e composição centesimal;
- Quantificar o teor de compostos fenólicos e realizar testes de atividade antioxidante durante o armazenamento dos produtos;
- Analisar sensorialmente os produtos;
- Determinar os principais compostos bioativos no iogurte e no extrato de *B. dracunculifolia* por cromatografia líquida de alta eficiência;

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Preparo do material vegetal

Partes aéreas de *B. dracunculifolia* foram colhidas nas dependências da Universidade Estadual do Centro Oeste (UNICENTRO), campus Cedeteg, localizado na Rua Camargo Varela de Sá, 03 – Vila Bela, Guarapuava – Paraná, nas seguintes coordenadas geográficas: 25°22'56" S 51°29'28" W.

O material vegetal foi submetido à secagem em temperatura ambiente ($\pm 23^{\circ}\text{C}$) sem exposição a raios solares por 15 dias. Uma exsiccata foi depositada no Herbário MBM do Museu Botânico Municipal de Curitiba e registrada com o número 52860 (anexo 1).

O processo de desidratação foi concluído em estufa (BIOPAR, S80BA) por 4 horas a 30°C . Em seguida, foi moída e peneirada em malha de 16 Mesh (1,19 mm) e então adicionou-se a esse material preparado a proporção 1:4 (p/v) de álcool etílico 70% e procedeu-se maceração em agitador mecânico (Gostirrer, OS2O-Pro) por 24 horas. O conteúdo obtido foi filtrado, rotaevaporado (25 rpm a 65°C) e mantido em banho maria a 65°C por 10 horas para evaporação completa do solvente (etanol). Posteriormente, o conteúdo foi ressuscendido em água destilada na proporção 1:8 (v/v). As etapas estão demonstradas na Figura 4. O extrato foi mantido em refrigeração em temperatura de 4°C durante o tempo de uso.



Figura 4. Processo de produção do extrato de *B. dracunculifolia*. A: Folhas secas; B: folhas moídas; C: Rotaevaporação; D: extrato pronto.

O processamento do extrato de *B. dracunculifolia* já possui patente depositada e publicada no INPI, sob registro nº BR102012020540-8 A2 (anexo 2). A pesquisa envolvendo a *B. dracunculifolia* também possui cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético (SisGen) sob cadastro nº A2968AB (anexo 3), em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos (BRASIL, 2016).

4.2. Processamento do iogurte

4.2.1. Ingredientes

Os ingredientes utilizados na elaboração do produto, estão descritos na Tabela 2. Todos os ingredientes foram adquiridos no comércio local de Guarapuava-PR. Como cultura láctica foi utilizado iogurte natural comercial.

Tabela 2. Ingredientes utilizados na produção do iogurte controle.

Ingrediente	Proporção
Leite integral padronizado	72,97%
Leite em pó desnatado	4%
Cultura láctica	20%
Inulina Raftiline®	3%
Sorbato de potássio	0,03%
Adoçante a base de sucralose 5%	50µL/100g
Essência sabor mel	100µL/100g

Foram elaboradas três formulações do iogurte que diferiam entre si pela presença ou não de diferentes concentrações do extrato de *B. dracunculifolia*, sendo:

- Tratamento 1 (T1): iogurte controle: leite, leite em pó, cultura láctica, inulina, sorbato de potássio, adoçante e essência.
- Tratamento 2 (T2): iogurte controle adicionado de 2,5% (p/p) de extrato de *B. dracunculifolia*
- Tratamento 3 (T3): iogurte controle adicionado de 5,0%(p/p) de extrato de *B. dracunculifolia*.

4.2.2. Elaboração

O processamento do iogurte ocorreu conforme os parâmetros de qualidade e identidade definidos pela IN nº 46 de 23 de outubro de 2007 (BRASIL, 2007) sendo desenvolvido um iogurte controle do tipo batido. A produção ocorreu conforme método descrito por Órdonez (2005), com adaptações para a adição do extrato de *B. dracunculifolia* e da inulina, conforme demonstra a Figura 5.

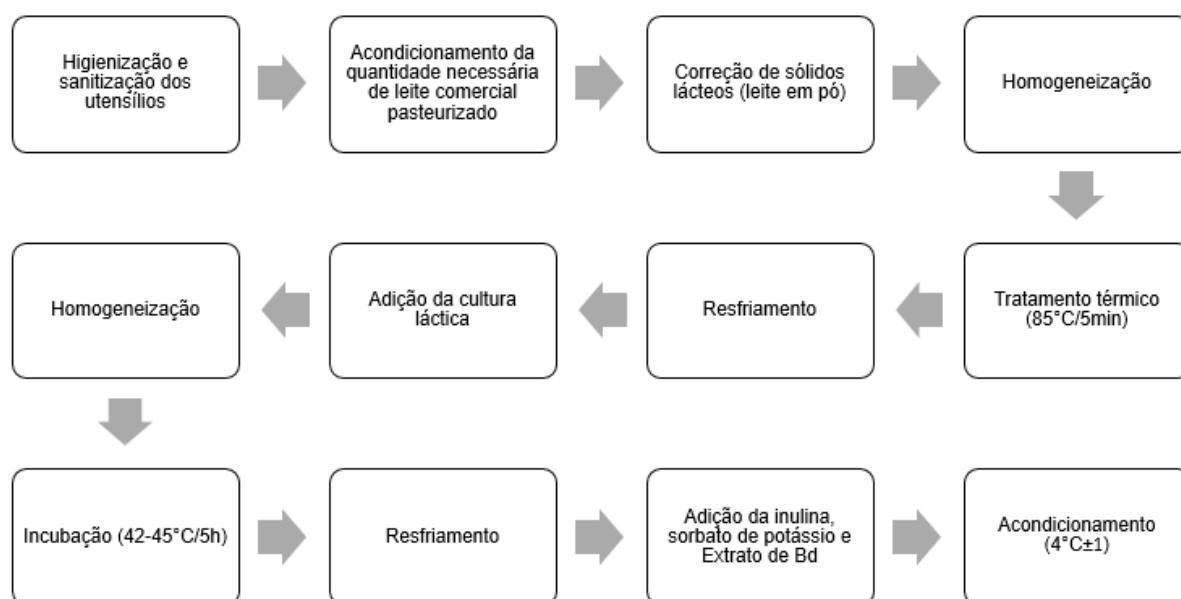


Figura 5. Etapas do processamento do iogurte.

4.3. Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual do Centro-Oeste. Foram realizadas as seguintes análises: Contagem de bactérias lácticas totais; Coliformes a 30° C; Bolores e leveduras; Enumeração de *Estafilococos* coagulase positiva e Detecção de *Salmonella sp.* As análises microbiológicas de contagem de bactérias lácticas e bolores e leveduras foram realizadas em todos os tratamentos, no tempo 0 (logo após o preparo dos produtos), após 7 e 14 dias, sendo mantidos sob refrigeração (4°C). As demais análises foram realizadas após 14 dias de armazenamento. Todas as análises foram realizadas em duplicata. As amostras foram homogeneizadas e retiradas 10 g assepticamente para o preparo das diluições decimais.

4.3.1. Contagem de bactérias lácticas totais

A contagem de bactérias lácticas foi realizada em ágar de Man, Rogosa e Sharpe (MRS, Himedia) pela técnica de profundidade e sobrecamada. As placas foram incubadas à 32°C por 48h (SILVA *et al.*, 2017). Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias por grama do produto (UFC/g).

4.3.2. Contagem Coliformes Totais e Termotolerantes

O teste presuntivo de coliformes totais foi realizado utilizando o ágar Vermelho Violeta Bile pela técnica de plaqueamento de profundidade por sobrecamada. As placas foram incubadas à 35°C por 18-24h. O teste confirmativo de coliformes totais foi realizado em caldo Verde Brilhante Bile Lactose com tubo de Durhan e incubado à 35°C por 24h. A confirmação de coliformes termotolerantes foi realizada em caldo EC, incubado a 45°C por 24h (BRASIL, 2003).

4.3.3. Contagem de Bolores e leveduras

A contagem de bolores e leveduras foi realizada em ágar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol (DRBC, Himedia). Foi espalhado 100µL de cada diluição na superfície em duplicata, em seguida, as placas foram incubadas à 25°C por 5 a 7 dias (SILVA *et al.*, 2017). Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias por grama do produto (UFC/g).

4.3.4. Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva

A contagem de estafilococos coagulase positiva foi realizada pela técnica de semeadura em superfície utilizando o ágar Baird-Parker (BP). As placas foram incubadas à 35°C por 48h. Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias por grama do produto (UFC/g) (SILVA *et al.*, 2017).

4.3.5. Detecção de *Salmonella* sp.

Foram utilizadas 25g de amostra e diluídas em 225mL de caldo lactosado (pré-enriquecimento) e incubado à 35°C por 24h. A etapa de enriquecimento seletivo foi realizada utilizando os caldos Tetrationato (35°C/24h) e Rapaport-Vassiliadis (42°C/24h). A partir dos tubos de enriquecimento seletivo foi realizado o plaqueamento diferencial utilizando a técnica de estriamento nos seguintes meios de cultura: Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), Ágar *Salmonella-Shigella* (SS) e Ágar Entérico de Hectoen (HE). As placas foram incubadas à 35°C por 24h e observado o crescimento de colônias típicas de *Salmonella* (SILVA *et al.*, 2017).

4.4. Análises físico-químicas e composição centesimal

As análises físico químicas e de composição centesimal (pH, acidez titulável, umidade, cinzas, gordura, proteína, fibras e carboidrato) foram realizadas seguindo as metodologias descritas no Instituto Adolfo Lutz (2008), em triplicata.

As análises de pH e acidez total, foram realizadas em todos os tratamentos, no tempo 0, 7 e 14 dias após o preparo. As demais análises, somente nos tratamentos T1 e T3, no tempo zero.

4.4.1. pH

O pH foi determinado de maneira direta por método eletrométrico utilizando pHmêtro de bancada (Medbio, PHS-3C) previamente calibrado com tampão 4,00 e 7,00.

4.4.2. Acidez titulável

Realizada baseada na reação de neutralização dos ácidos com solução padronizada de NaOH 0,1 mol/L via titulação com indicador fenolftaleína. O resultado foi expresso em grama de ácido láctico % (m/v), conforme a equação:

$$g \text{ de ácido láctico por cento} = \frac{V \times f \times 0,9}{P}$$

Em que:

V = volume de NaOH gasto na titulação

f = fator de correção da solução de NaOH

0,9 = fator de conversão para ácido láctico

P = peso da amostra (g)

4.4.3. Umidade

Realizada por secagem da amostra (3g) em estufa (103°C) até peso constante.

4.4.4. Cinzas

Realizada por incineração de 5g de amostra em forno tipo mufla a 550°C.

4.4.5. Gordura

Determinada a partir do método de Gerber, que se baseia na quebra da emulsão do leite pela adição de ácido sulfúrico e álcool isoamílico.

4.4.6. Proteína

Análise realizada de acordo com método Kjeldahl, que se fundamenta na determinação de nitrogênio orgânico total. O método consiste em digestões ácidas e básicas em que o nitrogênio é transformado em sal e amônia. Em seguida, a amostra é destilada e com indicador adequado às quantidades de nitrogênio presentes são quantificadas por titulação. O conteúdo de nitrogênio é convertido em proteína empregando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ proteína bruta} = \frac{0,014 \times N \times V \times F \times 100}{P}$$

Em que:

N = normalidade da solução de HCl

V = volume gasto na titulação

F = fator de conversão, sendo 6,38 para o leite e derivados

P = peso da amostra

4.4.7. Fibra alimentar

Determinação realizada por método enzimático, que consiste em tratar o alimento com diversas enzimas fisiológicas, simulando as condições do intestino humano, permitindo separar e quantificar gravimetricamente o conteúdo total da fração fibra.

4.4.8. Carboidrato

O conteúdo de carboidrato total foi obtido por diferença, isto é, a percentagem de água, proteína, gordura, cinza e fibra subtraída de 100. Ou seja, $100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ cinzas} + \% \text{ proteínas} + \% \text{ gorduras} + \% \text{ fibras})$.

4.5. Determinação da atividade antioxidante e Quantificação de compostos fenólicos totais

As análises de quantificação de compostos fenólicos totais e a determinação da atividade antioxidante foram realizadas nos três tratamentos de iogurte desenvolvido neste estudo, todos em triplicata. As análises foram realizadas nos três tempos definidos como tempo de armazenamento (0, 7 e 14 dias) mantidos sob refrigeração ($4 \pm 1^\circ\text{C}$).

Para o preparo das amostras foi utilizada acetona acidificada como solvente (ROCKENBACH, *et al.*, 2008; VIZZOTTO; PEREIRA, 2011). Em 1g de amostra, foram adicionados 9mL do solvente, homogeneizado e deixado em repouso durante 15 minutos. Em seguida, a amostra foi centrifugada (CENTRIBIO, 80-2B) a 3000 rpm por 20 minutos. O sobrenadante foi utilizado para as análises.

4.5.1. Compostos Fenólicos Totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton, Orthofer e Lamuela (1999), utilizando ácido gálico como padrão de referência. Em um tubo de ensaio, foi transferida uma alíquota de 500 µL de amostra e 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (10%v/v) e após 5 minutos, foram adicionados 2 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 4% (m/v). Os tubos foram então agitados e deixados em repouso em local escuro à temperatura ambiente por 2 horas. Realizaram-se as leituras das absorbâncias, em espectrofotômetro (Pró-análise modelo V-1100D a 740 nm. Como branco foi utilizada uma amostra contendo água destilada submetida as mesmas condições de análise.

A curva analítica foi construída com diferentes concentrações de ácido gálico (entre 2,4 a 63,0 µg ácido gálico/mL). Os resultados foram plotados e linearizados, obtendo-se a equação de reta: $y = 0,0199x - 0,0369$ com $R^2 = 0,9971$ (anexo 4).

Os dados obtidos das amostras foram comparados à curva de ácido gálico e os resultados expressos em miligramas de GAE/por grama de amostra (mg GAE/g).

4.5.2. Determinação da atividade antioxidante pelo método de DPPH

A atividade sequestrante do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazina) foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995). Para a realização da análise foram adicionados em um tubo de ensaio, 500 µL de amostra nas diluições cabíveis, 3 mL de etanol PA e 300 µL do radical DPPH (0,6 Mm preparado em etanol). As leituras das absorbâncias foram realizadas após 30 minutos de reação em ambiente escuro, em espectrofotômetro (Pró-análise modelo V-1100D) em comprimento de onda de 517 nm zerado com etanol PA. Os dados de absorbância x concentração da curva (0,005 a 0,05 µmol de Trolox) foram plotados e linearizados. Os resultados expressos em µmol de Trolox/g de amostra, de acordo com a curva analítica: $y = -5,1834x + 0,3168$ com $R^2 = 0,9874$ (anexo 5).

4.5.3. Determinação da atividade antioxidante pelo método de ABTS⁺

A atividade antioxidante pelo método ABTS⁺ (2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) foi realizada conforme metodologia descrita por Re *et al.*, (1999) e Rufino *et al.*, (2007). Primeiramente, o cátion radical ABTS foi preparado através reação da solução ABTS 7 mM com persulfato de potássio 140 mM, incubados à temperatura ambiente ao abrigo da luz, durante 16h. Posteriormente, a solução obtida foi diluída em etanol absoluto até a obtenção do valor de absorbância de 0,700 em 734 nm. Para a realização da análise, uma alíquota de 30 µL de amostra foi adicionada em um tubo de ensaio seguido de 3 mL da solução ABTS. As leituras das absorbâncias foram realizadas após 6 minutos de reação em espectrofotômetro (Pró-análise modelo V-1100D) a 734 nm. O espectrofotômetro foi zerado com etanol PA. A curva analítica foi construída nas concentrações de 2000, 1500, 1000, 500 e 100 µMol de trolox e os resultados expressos em µmol de trolox por grama de amostra (µmol TEAC/g) calculados a partir da equação da reta da curva analítica de trolox ($y = -0,0003x + 0,6267$ com $R^2 = 0,9924$ (anexo 6)).

4.5.4. Determinação da atividade antioxidante pelo método de FRAP

Para a determinação da atividade antioxidante, por meio da redução do ferro (FRAP - *Ferric Reducing Antioxidant Power*), foi utilizada a metodologia descrita por Rufino *et al.*, (2006). O reagente FRAP foi preparado no momento da análise, através da mistura de 83,3% de tampão acetato (300 mM, pH 3,6), 8,35% de solução TPTZ (10 mM TPTZ em 40 mM HCl) e 8,35% de FeCl₃ (20 mM) em solução aquosa. Para a realização da análise uma alíquota de 90 µL da amostra foi adicionada ao tubo de ensaio, em seguida acrescentados 270 µL de água destilada e por fim, 3 mL do reagente FRAP. A curva de calibração foi realizada através da utilização de uma solução padrão de sulfato ferroso a 2000 µM. Os pontos da curva consistiram em: 200, 500, 1000, 1500 e 2000 µM. Os resultados foram expressos em µmol sulfato ferroso/g de amostra, através da equação da reta ($y = 0,0005x - 0,0463$ com $R^2 = 0,9985$) (anexo 7).

Os tubos de ensaio foram incubados a 37 °C em banho-maria por 30 minutos e em seguida, realizou-se a leitura das absorbâncias em espectrofotômetro marca Pró-análise modelo V-1100D a 595 nm zerado com a solução FRAP.

4.6. Análise sensorial

A análise sensorial consistiu em um teste afetivo de aceitabilidade dos iogurtes sendo realizado nas dependências da Unicentro. O teste foi conduzido em, cabines individuais com ambiente controlado. Participaram da pesquisa 64 avaliadores voluntários não treinados, membros da comunidade acadêmica. Os participantes receberam aproximadamente 20 g de cada uma das três formulações de iogurte, sendo servidas em recipientes transparentes descartáveis (50 mL) previamente codificados com números de 3 dígitos de forma casualizada, acompanhados por um copo de água mineral para limpeza do palato.

Foi realizado o teste de aceitação, em que cada avaliador analisou os produtos por meio de uma escala hedônica de nove pontos (DUTCOSKY, 2011), tendo como limites: um (desgostei muitíssimo) e nove (gostei muitíssimo) na qual os avaliadores atribuíram valores às características de: cor, aroma, sabor, acidez, textura e aparência dos iogurtes.

O teste de intenção de compra também foi aplicado, sendo estruturado em sete pontos (DUTCOSKY, 2011), em que os avaliadores atribuíram nota entre um (nunca compraria) e nota sete (compraria sempre), visando avaliar a intenção de compra desses produtos. Como informação complementar, havia um campo para que o avaliador descrevesse sobre o seu hábito de consumo referente ao iogurte natural comercial (anexo 8).

4.6.1. Questões éticas

Para a realização da pesquisa, os participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Sendo respeitadas as questões éticas, no qual o pesquisador responsável se responsabiliza por assegurar a integridade física e moral aos sujeitos que participaram do estudo (COMEP/UNICENTRO). A análise sensorial foi aprovada pelo Comitê de ética em Pesquisa (COMEP-UNICENTRO) sob o número de parecer: **3.527.728** de 2019.

4.7. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A identificação dos compostos fenólicos por CLAE foi realizada no extrato da *Baccharis dracunculifolia* e no iogurte T3 (com 5,0% do extrato da planta). Os perfis cromatográficos foram realizados por equipamento Cromatógrafo líquido modelo

920LC system (VARIAN Inc., Walnut Creek, CA, USA) utilizando uma coluna C18 RP (250 x 4,6 mm x 5 µm) (Microsorb MV, Agilent Technologies, Wilmington, DE, USA).

A fase móvel foi constituída de solvente A (água acidificada com ácido fosfórico) e solvente B (metanol) com taxa de fluxo de 1,0 mL/min. O gradiente de solventes utilizados está descrito na tabela 3.

Tabela 3. Gradiente de solventes para análise de HPLC em amostra do extrato e do iogurte T3.

Tempo (min)	%A	%B
0.1	70	30
15.1	36	64
26.1	25	75
28.1	5	95
31.1	5	95
32.1	70	30
40.1	70	30

Os compostos foram identificados por comparação do seu tempo de retenção com seu padrão puro. As áreas dos picos foram determinadas em 280 nm para ácido gálico, ácido vanílico, catequina e epicatequina; 300 nm para o ácido p-cumárico, ácido salicílico e resveratrol; 320 nm para ácido cafeico e ferúlico; e 360 nm para os flavonoides rutina, quercetina, miricetina e pinocembrina.

4.8. Análise estatística

O conjunto de dados das análises de composição centesimal e análise sensorial foram analisados pelo teste t-student. O conteúdo de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, pH e acidez titulável foi analisado pelo método de Estimação de Equações de Generalizadas (GEE) considerando nível de significância de 5%, utilizando o programa STATISTICA 8.0. Os dados dos teores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante foram submetidos a Análise de Componentes Principais (ACP). Os gráficos mostrando as médias de cada resposta analisada e os perfis cromatográficos foram gerados no programa Origin 8.5.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Produto obtido

A formulação do iogurte controle ocorreu envolvendo as etapas básicas de produção (tratamentos prévios do leite, incubação, resfriamento e acondicionamento (ORDOÑEZ, 2005). Sendo desenvolvido um iogurte do tipo batido, ou seja, quando há quebra do coágulo após o resfriamento (RIGO, 2013).

Foram realizados testes de formulação, envolvendo diferentes tipos de leite, marca de iogurte natural comercial (usado como cultura lática), etapa de adição da inulina e tempo de fermentação até chegar à formulação base de escolha.

A partir dos ingredientes e da metodologia de produção escolhida e empregada, obteve-se um iogurte com características de aroma e sabor característicos, de cor branca, com coágulo firme e pouca sinérese, como mostra a figura abaixo.

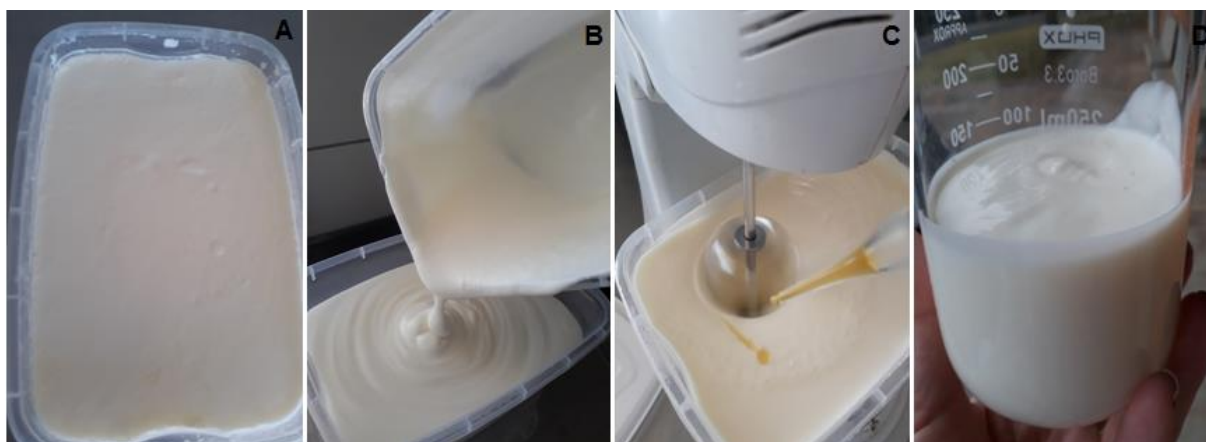


Figura 6. Iogurte elaborado. A: iogurte pós fermentação; B: iogurte após quebra do coágulo; C: Adição do extrato de *B. dracunculifolia* e D: iogurte pronto.

5.2. Análises microbiológicas

Os resultados das análises de contagem de bactérias lácticas e bolores e leveduras estão representados na Figura 7.

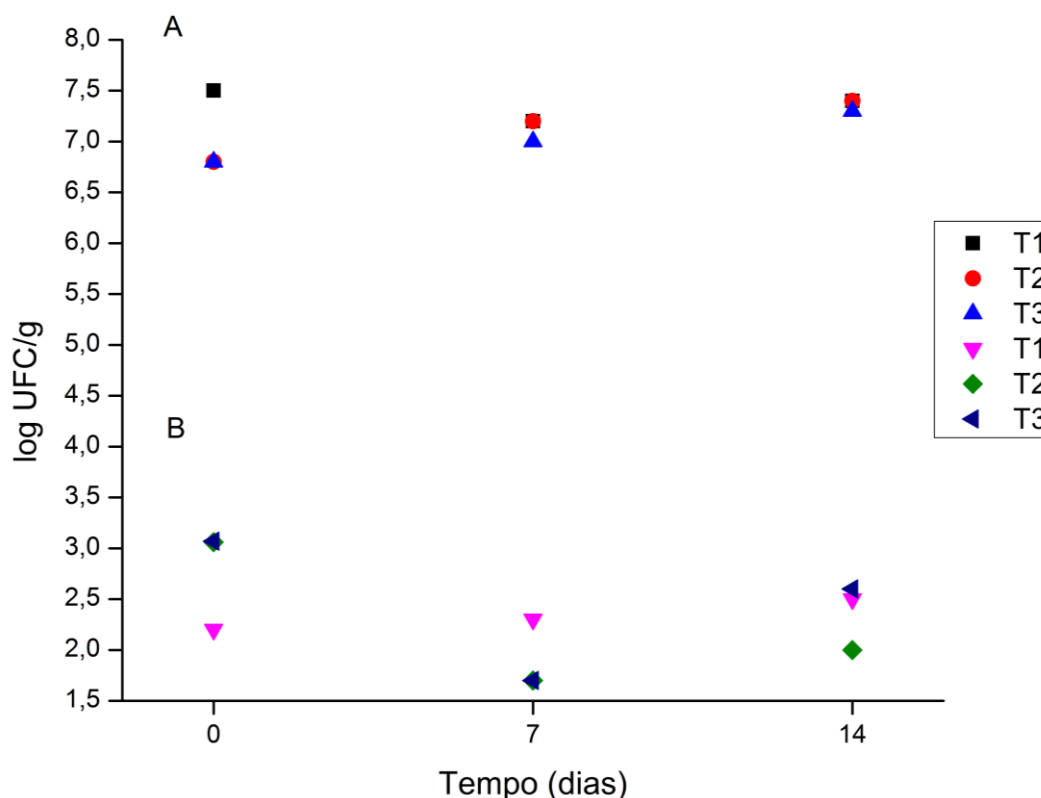


Figura 7. Resultados das médias das análises de bactérias lácticas (em A) e de bolores e leveduras (em B) expressas em log/UFC/g, em função do período de armazenamento (0, 7 e 14 dias) em amostras de iogurte. T1 (iogurte controle), T2 (iogurte com 2,5% de extrato de *B. dracunculifolia*) e T3 (iogurte com 5,0% de extrato de *B. dracunculifolia*). n=2.

A viabilidade das bactérias lácticas foi observada durante todo período de armazenamento (Figura 6, A), sendo que após 14 dias, verificou-se contagem de células viáveis de $2,44 \times 10^7$, $2,5 \times 10^7$ e $1,89 \times 10^7$ UFC/g para os tratamentos 1, 2 e 3 respectivamente, estando em conformidade com a IN n° 46 de 2007 que estabelece padrões mínimos de 10^7 UFC/g para iogurte (BRASIL, 2007). Resultados semelhantes foram encontrados por Magalhães (2016) em iogurte de *blueberry* enriquecido com fitoesteróis, que apresentaram contagem de bactérias lácticas entre $1,2 \times 10^7$ à $2,5 \times 10^7$ UFC/g.

Apesar da atividade antimicrobiana atribuída a *B. dracunculifolia* (SALAZAR et al. 2018), a incorporação do extrato da planta não afetou a viabilidade das bactérias lácticas no iogurte durante o tempo de armazenamento (14 dias).

Em relação à análise de bolores e leveduras (Figura 7, B), verificou-se uma variação na contagem durante o tempo de armazenamento do produto. Após 7 dias de armazenamento as amostras apresentaram contagens entre 5×10^1 e 2×10^2 UFC/g

e após 14 dias nota-se um aumento desses valores, passando a variar entre 1×10^2 a 4×10^2 . Os resultados encontram-se dentro dos limites estabelecidos pela IN n° 60 de 2019, que regulamenta os padrões microbiológicos para alimentos e estabelece valores de bolores e leveduras de até 2×10^3 UFC/g para leites fermentados (BRASIL, 2019).

Os resultados das análises de coliformes totais (30°C), coliformes termotolerantes (45°C), estafilococos coagulase positiva (ECP) e *Salmonella sp.* estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros microbiológicos do iogurte elaborado com diferentes concentrações de extrato de *B. dracunculifolia*.

Análise	T1	T2	T3	Legislação
Coliformes 30°C	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	10^2 UFC/g*
Coliformes 45°C	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	< 10 UFC/g	10 UFC/g*
ECP	< 100 UFC/g	< 100 UFC/g	< 100 UFC/g	-
<i>Salmonella sp</i>	ausente	ausente	ausente	ausente**

*Segundo BRASIL, 2007; **Segundo BRASIL, 2001. T1 (iogurte controle), T2 (iogurte com 2,5% de extrato de *B. dracunculifolia*) e T3 (iogurte com 5,0% de extrato de *B. dracunculifolia*).

Após 14 dias de armazenamento, as amostras apresentaram resultados microbiológicos satisfatórios, não apresentando contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes nem colônias típicas de estafilococos coagulase positiva e *Salmonella sp* estando em conformidade com a legislação vigente (BRASIL, 2007; BRASIL, 2001). Os trabalhos de Pegoraro (2011) Lucatto *et al.*, (2013) e Gonçalves *et al.*, (2018) também apresentaram padrões microbiológicos em conformidade com a legislação na análise de iogurtes.

5.3. pH e acidez titulável

Os resultados das análises de pH e acidez titulável estão representados na Figura 8. A análise estatística por meio de estimação de equação generalizada (GEE) indicou que houve diferença estatística significativa entre tratamentos e no decorrer do tempo de armazenamento ao intervalo de 95% (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5. Teste de efeito de modelo para pH.

Fonte de variação	Qui-quadrado de Wald	gl	p-valor
Intercepto	100106563,8	1	0,000
Tratamentos	16,67	2	0,000
Tempo (dias)	278,13	2	0,000
Tratamento * Tempo (dias)	27,54	3	0,000

Tabela 6. Teste de efeito de modelo para acidez titulável.

Fonte de variação	Qui-quadrado de Wald	gl	p-valor
Intercepto	84,79	1	0,000
Tratamentos	22,40	2	0,000
Tempo (dias)	28,86	2	0,000
Tratamento * Tempo (dias)	388,79	4	0,000

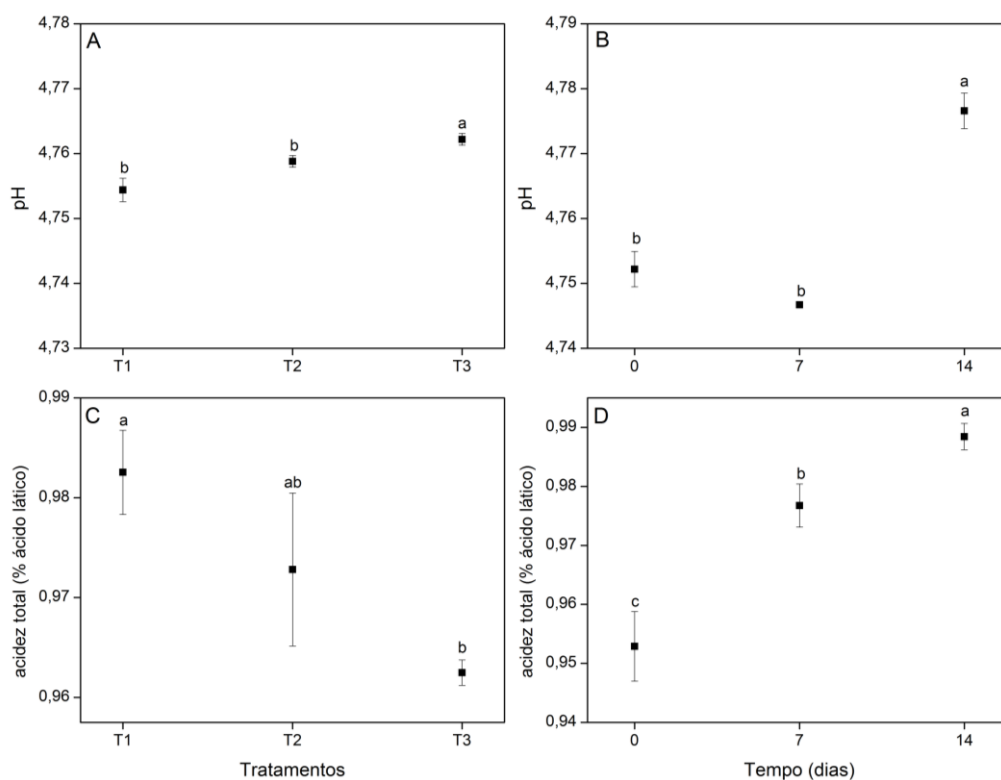


Figura 8. Valores médios de pH (A e B) e acidez titulável expressa em % de ácido láctico (C e D) em amostras de iogurte. Em A e C está representado a média de cada tratamento no decorrer de 14 dias, e em B e D a médias de todos os tratamentos, em cada tempo. T1 (iogurte controle), T2 (iogurte com 2,5% de extrato de *B. dracunculifolia*) e T3 (iogurte com 5,0% de extrato de *B. dracunculifolia*). Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão (n=3). Letras diferentes acima dos pontos, indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

Para análise de pH, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, sendo que o tratamento T3 com pH = 4,76 diferiu de T1 (4,75) e T2 (4,75), estando superior aos demais. Em relação ao tempo (Figura 8, B), observa-se num

primeiro momento, uma diminuição do pH, que é comumente chamada de pós acidificação devido à ação das bactérias ácido-láticas (BEAL, 1999; SILVA, 2010) e a partir do 7º dia de armazenamento, nota-se o aumento desse parâmetro alcançando pH = 4,78 no 14º dia. Padua *et al.*, (2017) obteve comportamento semelhante na análise do pH de iogurte sabor banana enriquecido com farinha de jabuticaba, sendo que observaram um decréscimo e em seguida um aumento do pH após 29 dias de armazenamento.

Os valores de pH são importantes para as características sensoriais do produto lácteo, pois suas variações podem levar a separação do soro e a rejeição do consumidor (BRANDÃO, 1995; VINDEROLA, *et al.*, 2000).

Os resultados desse estudo estão acima dos encontrados na literatura. Mendes *et al.*, (2018) analisando amostras de iogurte suplementado com xarope de yacon e extrato de caju obteve valores de pH entre 3,75 e 4,06 e Silva e colaboradores (2014) obtiveram pH de 4,43 em iogurte com *Bifidobacterium lactis* e fibra solúvel após 14 dias de armazenamento.

Quanto aos resultados de acidez titulável (Figura 8, C e D), houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos T1 (0,98%) e T3 (0,96%), que condiz com os resultados de pH. Ao longo do tempo, houve um aumento de 3,15% desse parâmetro no 14º dia em relação ao tempo zero, passando de 0,95 para 0,98%. Os resultados obtidos nesse trabalho, encontram-se em conformidade com a legislação vigente, cujos os limites estabelecidos de acidez é de 0,6 a 2,0 g de ácido láctico/100g) (BRASIL, 2007).

Valores semelhantes de acidez titulável foram encontrados por Magalhães (2016) em iogurtes de *blueberry* enriquecido com fitoesteróis que apresentaram resultados entre 0,94 e 0,95% de ácido láctico. Vieira (2017) obteve acidez entre 0,79 e 0,88% de ácido láctico em iogurtes elaborados com extrato hidrossolúvel de amêndoas de baru.

5.4. Composição centesimal do iogurte

Os resultados das análises de composição centesimal dos Tratamentos 1 e 3 estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Composição centesimal do iogurte elaborado com diferentes concentrações de extrato de *B. dracunculifolia*.

Porcentagem (%)	T1	T3	<i>p</i> - value
Umidade	83,39 ^b ± 0,1079	83,86 ^a ± 0,0608	0,0028
Cinzas	1,09 ^a ± 0,0058	1,08 ^b ± 0,0000	0,0161
Proteína	4,61 ^a ± 0,3700	4,35 ^a ± 0,3360	0,4185
Gordura	2,96 ^a ± 0,0577	3,00 ^a ± 0,0000	0,3739
Carboidrato	5,12 ^a ± 0,2701	4,05 ^b ± 0,4093	0,0192
Fibra alimentar	2,81 ^b ± 0,2346	3,66 ^a ± 0,1480	0,0061

Resultados expressos em média ± desvio padrão. T1 (iogurte controle); T3 (iogurte adicionado de 5,0% de extrato de *B. dracunculifolia*). Os resultados estão expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes acima dos resultados da média na mesma linha indicam diferença estatística ($p < 0,05$) pelo teste de *t* ($n=3$).

Dentre as análises, podemos observar (Tabela 7) que somente para gordura e proteínas não houve diferença estatística significativa. O que demonstra, que para as demais, houve influência do extrato de *B. dracunculifolia* em comparação ao iogurte controle.

O conteúdo de umidade foi superior em T3, devido provavelmente a adição do extrato que é aquoso. Gao *et al.*, (2018) obteve uma média de 87,87% de umidade em iogurte funcional com extrato de *Gnaphalium affine* e Macedo *et al.*, (2019) teor de umidade de 78,33% em iogurte com farinha de banana verde e cenoura.

O iogurte com extrato de *B. dracunculifolia* apresentou uma quantidade inferior de cinzas (1,08%) em relação ao iogurte sem extrato (1,09%), os dados obtidos nesse estudo encontram-se superiores aos resultados encontrados na literatura que estão em torno de 0,65% (GAO, *et al.*, 2018), 0,90% (MUNDIM, 2008), 0,40 % (MACEDO *et al.*, 2019) de cinzas em iogurtes. Magalhães (2016) obteve resultado semelhante de cinzas (1,04%) na análise de iogurte de *blueberry* atribuiu um valor mais alto devido a adição da polpa, e ainda relaciona esse aumento, ao leite e a adição de sorbato de potássio e leite em pó. Segundo IAL (2008), as cinzas do leite são constituídas principalmente por óxidos de potássio, sódio, cálcio, magnésio, fósforo e por cloretos.

Os resultados de proteína obtidos, encontram-se dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente que determina que o iogurte apresente no mínimo 2,9 g de proteínas/100g de produto (BRASIL, 2007).

Considerando uma média de 2,98% de gordura, o iogurte desenvolvido nesse trabalho pode ser classificado como integral segundo a IN n° 46 de 2007 que

estabelece valores entre 3,0 e 5,9 g/100g de matéria gorda para essa classificação (BRASIL, 2007).

Silva *et al.*, (2010) na análise de iogurte de leite de cabra adicionado de extrato de soja e cultura probiótica obteve valores de gordura entre 2,35 e 3,86% e na análise de proteínas, obteve resultados variando entre 2,00 e 2,57% após 29 dias de armazenamento. Enquanto Curti *et al.*, (2017) na análise de iogurtes suplementados com farinha de quinoa obteve gordura de 4,1% e 6,7% de proteínas.

A análise de carboidrato demonstra uma diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, sendo que o iogurte com extrato de *B. dracunculifolia* apresenta uma redução de 20,8% em relação ao iogurte controle. Com média de 4,58% de carboidratos, os dados desse trabalho são inferiores aos encontrados por Gallina *et al.*, (2018) em iogurte probiótico de frutas vermelhas (12,90%) e Capitani *et al.*, (2014) em iogurte elaborados com probióticos e fibra solúvel (16,0 a 23,0%). Isso, porque com o intuito de obter um produto voltado para dietas de ingestão controlada de açúcares (BRASIL 1998), não foi adicionado açúcar nas formulações de iogurte, como nos trabalhos citados acima.

O teor de fibras obtido nesse estudo (média 3,23%) é superior aos dados obtidos por Fabersani *et al.*, (2018) em iogurte suplementado com farinha de yacon, que apresentou 0,5% de fibras e ao estudo de Elvas (2016) que reportou teor de fibras de 0,2% em iogurte com extrato de bagaço de maçã. A adição da inulina, contribuiu significativamente para esse resultado, pois trata-se de um frutano que resiste a digestão no trato gastrointestinal superior, que atua aumentando a biomassa fecal e o teor de água das fezes, melhorando a motilidade intestinal. Dessa forma, é considerado parte do complexo de fibras alimentares (ROBERFROID, 1993; BRASIL, 1999).

O estudo desenvolvido por Santos *et al.*, (2014) demonstrou o aumento de 1.344,4% do teor de fibras de um iogurte adicionado de 2,5% de inulina em comparação a formulação sem adição da inulina.

5.5. Compostos fenólicos totais (CFT)

Na Figura 9 estão apresentados os resultados da análise dos teores de compostos fenólicos totais conforme modelo de equações de estimativas generalizadas (GEE). Todos os fatores isolados (tratamentos, tempo) e sua interação

(tratamento x tempo) foram significativos ao intervalo de confiança de 95% como demonstra a Tabela 8.

Tabela 8. Teste de efeito de modelo para CFT.

Fonte de variação	Qui-quadrado de Wald	gl	p-valor
Intercepto	336200,75	1	0,000
Tratamentos	2696,86	2	0,000
Tempo (dias)	8,39	2	0,015
Tratamento * Tempo (dias)	74,45	4	0,000

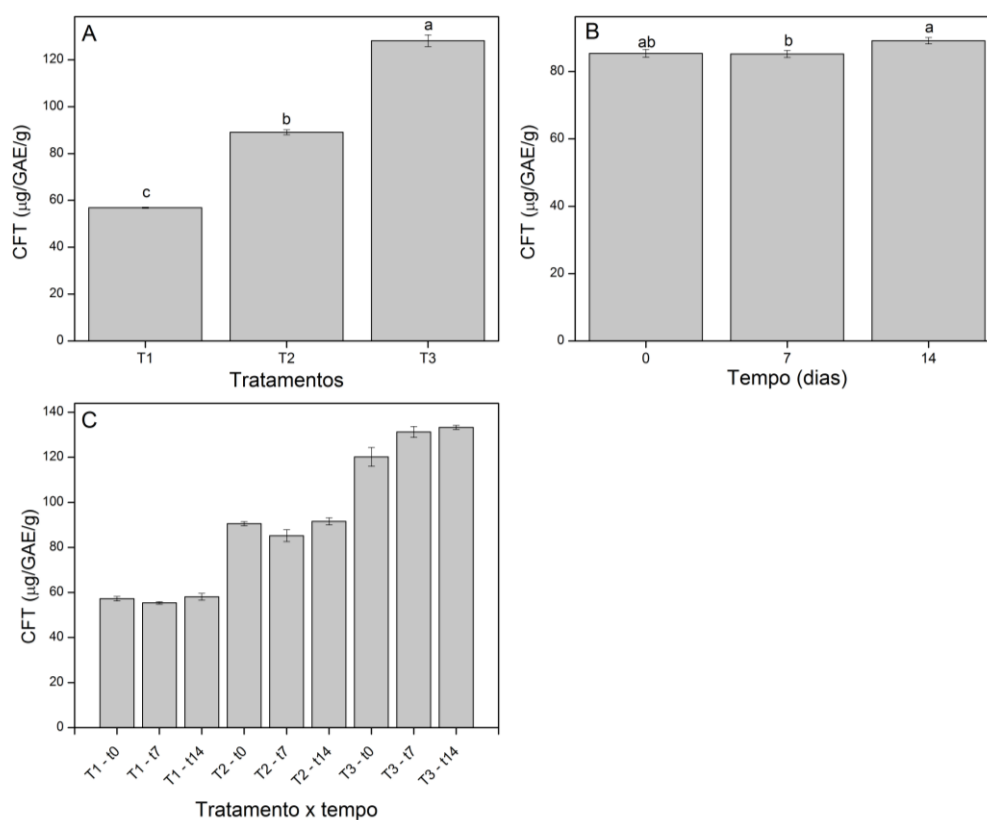


Figura 9. Compostos fenólicos totais expressos em µgGAE/g. Resultados de tratamentos (A) (média no decorrer de 14 dias), tempo (B) (média de todos os tratamentos) e interação (C). Letras diferentes acima das colunas indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$). T1 (iogurte controle), T2 (iogurte com 2,5% de extrato de *B. dracunculifolia*), T3 (iogurte com 5,0 % de extrato de *B. dracunculifolia*) t0 (tempo zero) t7 (tempo sete dias) t14 (tempo quatorze dias), $n=3$.

Conforme pode ser observado (Figura 9, A), a concentração representa um fator importante na determinação de CFT, pois nota-se que, nas condições estudadas quanto maior a adição de extrato de *B. dracunculifolia*, maior é a concentração de compostos fenólicos totais na amostra, apresentando resultados de 56,88 ; 89,07 e 128,12 µgGAE/g para T1, T2 e T3 respectivamente.

Entre níveis do fator tempo, também se apresentou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) para CFT, sendo que houve um aumento na dosagem desses compostos entre o tempo 7 (85,25 µgGAE/g) e 14 dias (89,16 µgGAE/g) (Figura 9, B).

Helal e Tagliazucchi (2018) relatam que os polifenóis se ligam as proteínas do leite e precipitam, esse fato pode justificar a baixa recuperação de compostos fenólicos no decorrer do tempo de armazenamento. Helal *et al.*, (2014) também demonstrou em seu estudo que a adição de leite em uma bebida de canela, levou a diminuição de aproximadamente 28% do conteúdo de polifenóis devido a formação de complexos insolúveis entre taninos e proteínas do leite.

O modelo por meio de GEE demonstra que houve interação significativa entre as concentrações no decorrer do tempo. Ou seja, durante o período de armazenamento houve comportamentos diferentes, sendo que as respostas para CFT para ambos tratamentos demonstraram um aumento do 0 para 14º dia como pode ser observado na Figura (9, C). Porém dentro do fator tempo, os níveis para os valores de CFT aumentam do tempo zero (t0) para o tempo t3, dentro do tratamento T3. No tratamento T2 e T1 para o controle, este comportamento não se repetiu.

Esse aumento do teor de CFT em função da adição do extrato da planta, justifica-se pelo fato de que a *B. dracunculifolia* é reconhecida por apresentar dentre seus metabólitos secundários, diversos compostos fenólicos. Principalmente, artepilin C (derivado do ácido cinâmico), ácido p-cumárico, ácido cafeico, crisina, bacarina, canferide e outros já foram identificados em seu extrato (ALENCAR *et al.*, 2005; RESENDE *et al.*, 2007; PAULA *et al.*, 2017).

Leite (2015) na análise do conteúdo de compostos fenólicos de iogurte verificou o aumento do conteúdo desses compostos com a adição da polpa de açaí (variando de 18,17 a 117,84 mgGAE/100g – equivalente a: 181,7 e 178,4 µgGAE/g) durante 28 dias de armazenamento, porém, nesse caso, relatou que o fator tempo e interação não foram significativos.

Moura e colaboradores (2016) também detectaram a presença de compostos fenólicos (56,42 a 78,97 mg/GAE/100g – equivalente a: 564,2 e 789,7 µgGAE/g) em iogurte com diferentes concentrações de noni e acerola. Magalhães (2016) em iogurtes de *blueberry* enriquecido com fitoesteróis, com resultados entre 161,68 a 170,93 mg/GAE/100g – equivalente a 1616,8 e 1709,3 µgGAE/g).

No estudo realizado por Carvalho (2017), o conteúdo de CFT foi superior em amostras de iogurte adicionado de extrato de estêvia liofilizado em relação ao iogurte

controle, durante 30 dias de armazenamento. O autor relata ainda, que o teor de compostos fenólicos de todas as amostras não alterou significativamente durante o armazenamento.

5.6. Atividade antioxidante

Os resultados das análises da atividade antioxidante *in vitro* (DPPH, ABTS e FRAP) nas amostras de iogurte, foram analisados também, pelo modelo de equações de estimações generalizadas (GEE). Esses resultados estão representados na Figura 10.

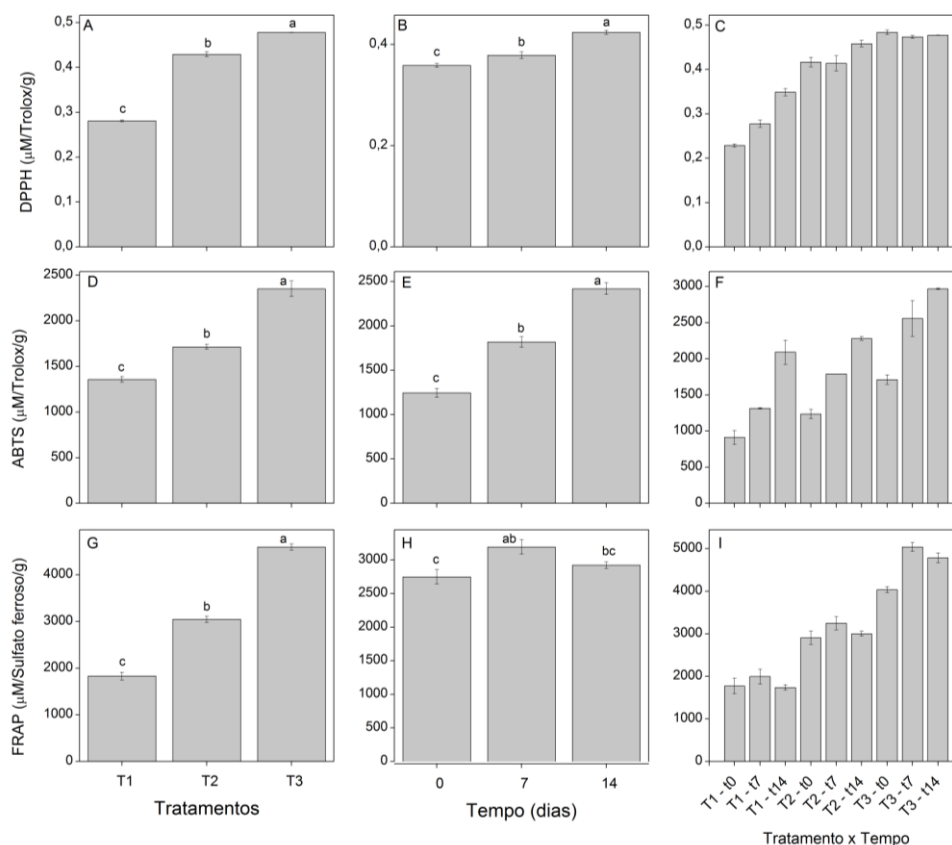


Figura 10. Atividade antioxidante por método DPPH ($\mu\text{M/Trolox/g}$) (Figuras A, B e C), ABTS ($\mu\text{M/Trolox/g}$) (Figuras D, E e F) e FRAP ($\mu\text{M/Sulfato ferroso/g}$) (Figuras G, H e I). Resultados de tratamentos (figuras A, D e G) (média no decorrer de 14 dias), tempo (dias) (Figuras B, E e H) (média de todos os tratamentos) e interação (tratamento*tempo) (Figuras C, F e I). Letras diferentes acima das colunas indicam diferença estatística significativa ($p < 0.05$). T1 (iogurte controle), T2 (iogurte com 2,5% de extrato de *B. dracunculifolia*), T3 (iogurte com 5,0 % de extrato de *B. dracunculifolia*) t0 (tempo zero) t7 (tempo sete dias) t14 (tempo quatorze dias), $n=3$.

Para ambos os ensaios, todos os fatores analisados (tratamentos, tempo e interação) foram significativos ao intervalo de confiança de 95% (Tabelas 9, 10 e 11).

Tabela 9. Teste de efeito de modelo para DPPH.

Fonte de variação	Qui-quadrado de Wald	gl	p-valor
Intercepto	41834,15	1	0,000
Tratamentos	8898,24	2	0,000
Tempo (dias)	219,22	2	0,000
Tratamento * Tempo (dias)	319,11	4	0,000

Tabela 10. Teste de efeito de modelo para ABTS.

Fonte de variação	Qui-quadrado de Wald	gl	p-valor
Intercepto	246508,13	1	0,000
Tratamentos	173,25	2	0,000
Tempo (dias)	118,50	2	0,000
Tratamento * Tempo (dias)	13,92	4	0,008

Tabela 11. Teste de efeito de modelo para FRAP.

Fonte de variação	Qui-quadrado de Wald	gl	p-valor
Intercepto	211200,64	1	0,000
Tratamentos	546,95	2	0,000
Tempo (dias)	6,69	2	0,035
Tratamento * Tempo (dias)	17,11	4	0,002

O estresse oxidativo, comumente definido como um desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação do sistema de defesa antioxidante a nível celular, é prejudicial à saúde do ser humano, podendo causar doenças crônicas não transmissíveis, como degeneração muscular, doença cardiovascular, diabetes e doença neurológica (BARBOSA *et al.*, 2010; SITI, KAMISAH; KAMSIAH, 2015). Com isso, a atividade antioxidante do iogurte enriquecido com extrato de *B. dracunculifolia* foi determinada a partir de diferentes metodologias.

Conforme pode ser observado na Figura 10 (A, D e G), a concentração de extrato afeta significativamente ($p < 0,05$) a atividade antioxidante, pelas metodologias baseadas na captura dos radicais DPPH, ABTS e na redução de íons de ferro (FRAP). Observou-se que o tratamento T3, que representa o iogurte com 5,0% de extrato de *B. dracunculifolia* apresenta os maiores valores para atividade antioxidante, seguido do iogurte com 2,5% (T2) e do iogurte controle (T1), em ambas metodologias.

Observa-se que o fator tempo também apresentou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os tempos analisados. Nota-se e destaca-se que houve um aumento da captura dos radicais utilizados pelas metodologias de DPPH e ABTS em

função do tempo (Figura 10, B e E). Para análise de FRAP, a diferença encontra-se entre o tempo 0 (2748,98 μM /Sulfato ferroso/g) e 7 dias (3194,37 μM /Sulfato ferroso/g) e nota-se uma diminuição da atividade antioxidante no 14º dia.

A análise da interação entre os fatores tempo * tratamento demonstrou que durante o período de estudo, a combinação de respostas entre ambos tratamentos no decorrer do período de armazenamento obtiveram comportamento inesperado, apresentando nesse caso, diferentes padrões de respostas dentro do nível do fator concentração (Figura 10, C, F e I).

Nota-se que apesar de não ter adição do extrato de *B. dracunculifolia*, o iogurte controle (T1), constituído basicamente de leite e bactérias lácticas, também apresentou resultados para as metodologias de atividade antioxidante. Isso justifica-se pelo fato de que, segundo Rutella, *et al.*, (2016), a atividade proteolítica das bactérias lácticas utilizadas na produção do iogurte gera peptídeos bioativos com capacidade antioxidante. Abdel-Hamid *et al.* (2019) no estudo de algumas propriedades do *Lactobacillus casei*, uma cepa probiótica, verificou que sua capacidade de produzir peptídeos bioativos a partir das proteínas do leite, aumentou significativamente durante o período de estudo, apresentando maior atividade antioxidante após 21 dias de armazenamento. Souza e colaboradores (2019) também detectaram a ação antioxidante por diferentes métodos em proteínas do soro do leite concentradas por ultrafiltração e hidrolisadas por diferentes proteases comerciais.

B. dracunculifolia já demonstrou ser uma importante fonte de atividade antioxidante em outros trabalhos (FABRI, *et al.*, 2011; GUIMARÃES, *et al.*, 2012; REZENDE, 2014). Portanto, como esperado, houve um aumento da atividade antioxidante frente aos sequestros dos radicais DPPH e ABTS e na redução de íons ferro nos iogurtes enriquecidos com o extrato da planta, que ocorre provavelmente, devido ao aumento do conteúdo de compostos fenólicos disponíveis no meio, como já foi demonstrado no item 5.5. Esses dados indicam que a *B. dracunculifolia* representa uma boa fonte para o incremento de compostos bioativos em produtos alimentícios, como o iogurte.

Observa-se na literatura que muitos pesquisadores avaliaram a atividade antioxidante em iogurte através do método de radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), sendo esse, o mais empregado (O'SULLIVAN, *et al.*, 2016; SOUZA, *et al.*, 2016; MORAIS, 2016; OLIVEIRA, 2017; CARVALHO, 2017; PEREIRA, *et al.*, 2018; ARELHANO, *et al.*, 2019). A molécula de DPPH é bastante conhecida e aplicada por

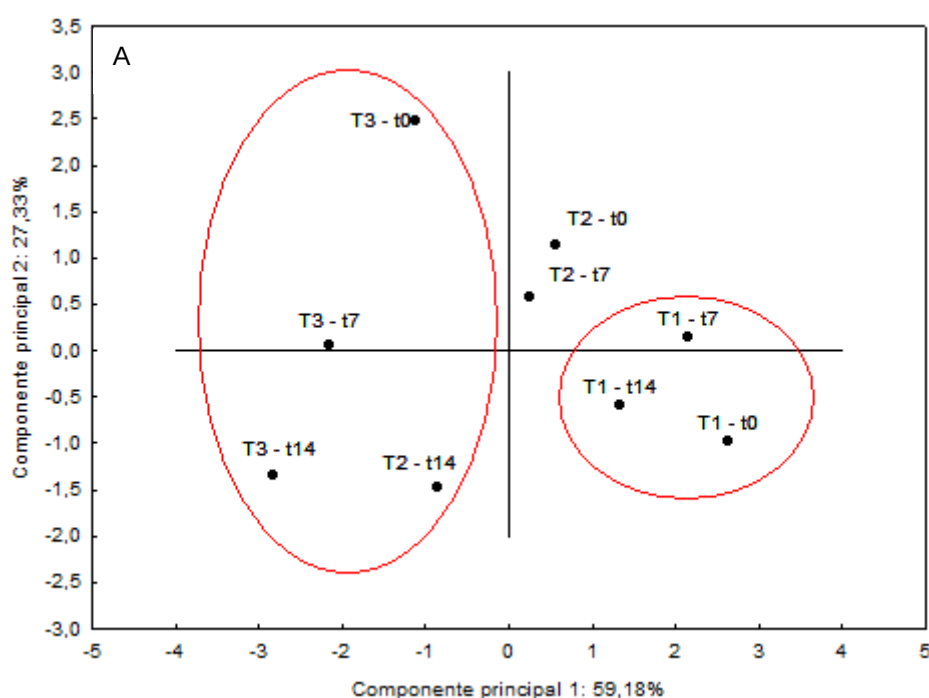
ser um radical orgânico livre estável e tem vantagens, tais como uma boa estabilidade na ausência da luz, aplicabilidade, simplicidade e viabilidade (OLIVEIRA, 2015).

A partir do método de ABTS, Leite (2015) verificou um aumento na atividade antioxidante em iogurte, variando de 0,71 a 6,95 $\mu\text{mol/trolox/g}$ com o incremento de diferentes concentrações de polpa de açaí em relação ao controle. Carvalho (2017) também verificou um aumento da atividade antioxidante em iogurte com extrato de estévia liofilizado quando comparado ao controle, durante 30 dias de armazenamento, por esse método. O autor relata ainda que houve uma diminuição da atividade em função do tempo, passando de 5,34 para 5,12 $\mu\text{mol/trolox/g}$ após 30 dias.

Dados da literatura também descrevem a atividade antioxidante pelo método de redução de íons de ferro (FRAP) em iogurtes suplementados com diferentes substâncias. Como polpa de jujuba (FENG *et al.*, 2019), chá verde, branco e preto (MUNIANDY, SHORY; BABA, 2016) e *Spirulina platensis* (SENGUPTA *et al.*, 2018).

5.7. Análise de Componentes Principais

Os resultados dos valores médios das respostas das análises dos teores de compostos fenólicos, da atividade antioxidante e das análises físico-químicas foram analisados e representados graficamente por análise de componentes principais (ACP) (Figura 11).



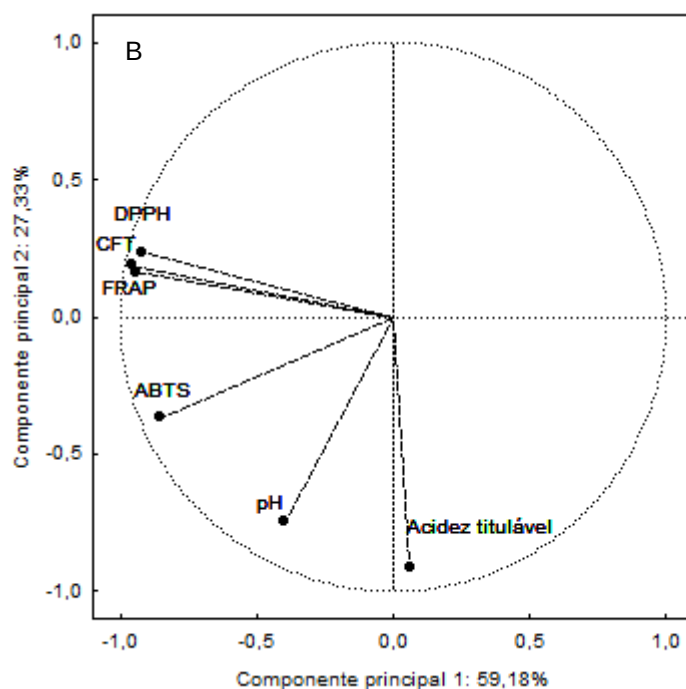


Figura 11. Projeções das variáveis respostas e tratamentos por ACP de amostras de iogurte. A) Escores, B) pesos utilizados na ACP.

Na ACP a soma dos componentes principais 1 e 2, indicam que 86,51% da variabilidade dos dados pode ser explicada por esse modelo. Houve a formação de dois grupos, em que se enfatiza o primeiro grupo distribuído entre o segundo e terceiro quadrante (Figura 11, A), formado por amostras dos tratamentos com a incorporação de 5,0% do extrato da *B. dracunculifolia*. Este grupo apresentou os maiores teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante pelos métodos de DPPH, ABTS e FRAP (Figura 11, B). Altos valores de pH também estão atribuídos a este grupo. Por outro lado, o segundo grupo, composto basicamente do iogurte controle, no quarto quadrante (Figura 11, A), representa apenas valores maiores de acidez titulável (Figura 11, B). A análise de componentes principais condiz com resultados encontrados nesse trabalho, em que, os iogurtes com adição do extrato de *B. dracunculifolia* representam maiores teores de CFT e atividade antioxidante em relação ao iogurte controle.

5.8 Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada com 64 avaliadores não treinados, sendo 31 homens e 33 mulheres com idade entre 19 e 60 anos. Os avaliadores atribuíram nota de 1 a 9 as amostras quanto aos aspectos de impressão global, cor, aroma, sabor,

acidez, textura e aparência de acordo com as diferentes concentrações de planta (0, 2,5 e 5,0%) incorporada nas formulações. Os resultados estão descritos na tabela 12.

Tabela 12. Dados da análise sensorial de iogurte elaborado com diferentes concentrações de extrato de *B. dracunculifolia*.

	T1	T2	T3	p- value
Impressão global	6,42 ^a ± 0,21	6,51 ^a ± 0,22	6,75 ^a ± 0,19	0,526
Cor	7,70 ^a ± 0,17	7,78 ^a ± 0,15	7,75 ^a ± 0,16	0,945
Aroma	7,23 ^a ± 0,19	7,18 ^a ± 0,17	7,31 ^a ± 0,17	0,888
Sabor	6,04 ^a ± 0,22	6,04 ^a ± 0,24	6,50 ^a ± 0,22	0,286
Acidez	6,32 ^a ± 0,22	6,51 ^a ± 0,22	6,82 ^a ± 0,20	0,268
Textura	6,71 ^a ± 0,22	6,92 ^a ± 0,21	7,04 ^a ± 0,20	0,552
Aparência	7,17 ^a ± 0,20	7,48 ^a ± 0,17	7,53 ^a ± 0,15	0,309

Resultados expressos em média ± erro padrão. Letras iguais acima dos resultados na mesma linha indicam que não houve diferença estatística ($p < 0,05$). T1 (iogurte controle), T2 (iogurte com 2,5% de extrato de *B. dracunculifolia*) e T3 (iogurte com 5,0% de extrato de *B. dracunculifolia*). n=64.

Baseando-se nos valores de média dos parâmetros avaliados, pode-se observar que não houve diferença estatística significativa em nenhum dos parâmetros avaliados (Tabela 12) sendo que a incorporação do extrato de *B. dracunculifolia* ao iogurte não afetou as características sensoriais do produto. Com exceção do atributo cor, o iogurte T3 obteve valores de aceitação superiores as amostras T1 e T2. É relevante ressaltar que a amostra T3 trata-se da formulação que obteve os maiores índices de compostos fenólicos e atividade antioxidante por possuir quantidades superiores de *B. dracunculifolia*, ingrediente responsável por atribuir ao produto as possíveis características terapêuticas.

De maneira geral, todas as formulações apresentaram médias em torno de 7,0 para os atributos avaliados, o que representa uma aceitabilidade satisfatória, considerando que a nota 7 na ficha de avaliação representava a opção “gostei moderadamente”.

Além dos atributos descritos, os avaliadores também atribuíram notas entre 1 a 7 para avaliar a possibilidade de compra para cada amostra. Os resultados demonstraram que não houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) para a intenção de compra das amostras de iogurte, as médias obtidas para essa análise (4,03; 4,18 e 4,45 respectivamente), correspondem ao intermédio entre os pontos 4 e 5 da ficha de avaliação sensorial, que correspondem às opções compraria ocasional e frequentemente.

A aceitação de iogurtes condimentados com as folhas de moringa, (*Moringa oleífera* Lam), uma planta perene da família *Moringaceae* foi avaliada por Silva e

colaboradores (2018). A análise dos iogurtes com diferentes concentrações da moringa (0,0; 2,0; 6,0 e 8,0 gramas de planta/2L de produto) demonstraram uma preferência pelas concentrações de 0,0 e 2,0 gramas, ambos diferenciando-se dos tratamentos com as maiores concentrações, demonstrando a preferência por um produto menos condimentado. Quanto a intenção de compra, os iogurtes obtiveram uma pontuação positiva independente do tratamento.

Preci (2010) na avaliação sensorial de iogurtes tradicional e probiótico com diferentes concentrações de extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) verificou que as menores médias de sabor e cor corresponderam às duas formulações que receberam maior adição de extrato em sua formulação (0,25%), e relaciona esse resultado ao maior percentual de compostos presentes nessas amostras, como polifenóis e flavonóides que conferem gosto adstringente ao iogurte.

O perfil do consumidor também foi avaliado na ficha de análise sensorial, os resultados estão demonstrados na Figura 12.

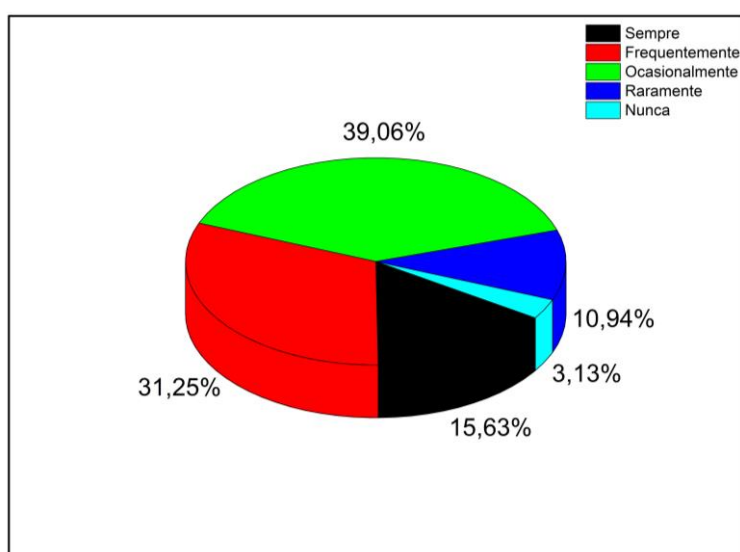


Figura 12. Dados de consumo de iogurte pelos avaliadores
FONTE, O autor, 2020

Os dados demonstram que o iogurte é um produto que está inserido na dieta dos indivíduos, sendo que a maioria dos avaliadores declarou consumi-lo de forma ocasional (39,06%) ou frequente (31,25%).

Segundo a Embrapa (2019), atualmente, 816 milhões de toneladas de leite são produzidas por ano no mundo e, em média, 116,5 equivalentes kg de leite são consumidos por habitante, sendo esses números aumentados a cada ano. Uma pesquisa do IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística demonstrou que o

leite longa vida foi o derivado lácteo de maior valor de vendas do setor em 2016, seguido pelos queijos, leite em pó e iogurte. Contudo, as demandas de consumo estão se renovando, e pesquisas indicam que os consumidores estão cada vez mais preocupados em consumir alimentos direcionados a saúde e o bem-estar. Isso significa um aumento de interesse por alimentos ditos funcionais, e nesse sentido, os iogurtes que são uma boa opção de veículo para inclusão, dentre outros, de prebióticos e probióticos, estão cada vez mais em alta (SIQUEIRA, 2019).

Um estudo do perfil de consumidores de iogurte foi desenvolvido por Ribeiro e colaboradores (2010) envolvendo 387 consumidores de iogurte, residentes em Belo Horizonte - MG, com idade média de 38 anos. Os dados de consumo, mostraram que 93,7% dos entrevistados disseram consumir iogurte pelo menos uma vez por semana e 54,0% utilizam o produto na versão light/ diet. Quando questionados quanto aos principais atributos observados na hora da compra, os entrevistados alegaram verificar o preço, a qualidade e a marca.

5.9 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Diversos trabalhos demonstram que a *B. dracunculifolia* possui dentre seus metabólitos secundários, principalmente compostos fenólicos, que podem ser responsáveis pela sua ação antioxidante (GUIMARÃES *et al.*, 2012; REZENDE, 2014). O ácido p-cumárico e seus derivados prenilados, por exemplo, já demonstraram atividade antioxidante (BRANSKOTA *et al.*, 2001). Tapia *et al.*, (2004) em seu estudo, também demonstrou que sete derivados de ácido p-cumárico e seis flavonoides oriundos de partes aéreas de *Baccharis grisebachii*, mostraram atividade como sequestradores de radicais livres e inibição da lipoperoxidação em eritrócitos.

Como pode ser observado na Figura 13 dentre os compostos fenólicos analisados por cromatografia líquida de alta eficiência, o ácido cumárico foi o componente majoritário encontrado no extrato da *B. dracunculifolia* (46,49 mg/L), seguido da crisina, da pinocembrina e do ácido caféico cujas concentrações estão descritas na Tabela 12.

Análise por CLAE também demonstrou presença de ácidos fenólicos (ácido cafeico, ácido p-cumarico, ácido cinâmico, drupanina, bacarina e artepilin C), ácidos hidroxicinâmicos e compostos flavonóides na composição de extrato de *B. dracunculifolia* no trabalho desenvolvido por Rezende (2014). Ácido cafeico, ácido p-

cumarico, aromadendrina-4'-O-metil eter, ácido 3-prenil-*p*-cumarico (drupanina), 3,5-diprenil-*p*-cumarico (artepelin C) e ácido 3-prenil-4-diidrocinamoiloxi-cinamico (bacarina) também foram identificados em extrato hidroalcoólico de *B. dracunculifolia* obtido por maceração simples, por CLAE (DEL LAMA, 2013).

Contudo, o perfil cromatográfico do iogurte T3 (Figura 13) demonstrou apenas a presença do ácido cumárico (Tabela 13). Segundo Arts *et al.*, (2002) existe uma afinidade entre as proteínas do leite e grupos hidroxila presentes nos compostos fenólicos, que leva a precipitação dos polifenóis. O pH ácido do iogurte pode aumentar a afinidade de ligação entre compostos fenólicos e proteínas do leite (HELAL E TAGLIAZUCCHI 2018). Por isso, alguns compostos podem não ter sido identificados na amostra de iogurte.

Muniandy., *et al* (2016) também observaram que a maioria das catequinas e seus derivados presentes nos extratos de chás verde, branco e preto não foram detectados por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas nas amostras de iogurte contendo os mesmos.

A interação de α - e β -caseínas com polifenóis de chá, também foi observada por Hasni *et al* (2011), através de análises de nível molecular, usando FTIR, UV-visível, CD e métodos espectroscópicos de fluorescência. As análises mostraram que os polifenóis ligam-se a caseína por meio de interações hidrofílicas e hidrofóbicas, justificando o mecanismo pelo qual a atividade antioxidante de compostos fenólicos é afetadas pela adição de leite.

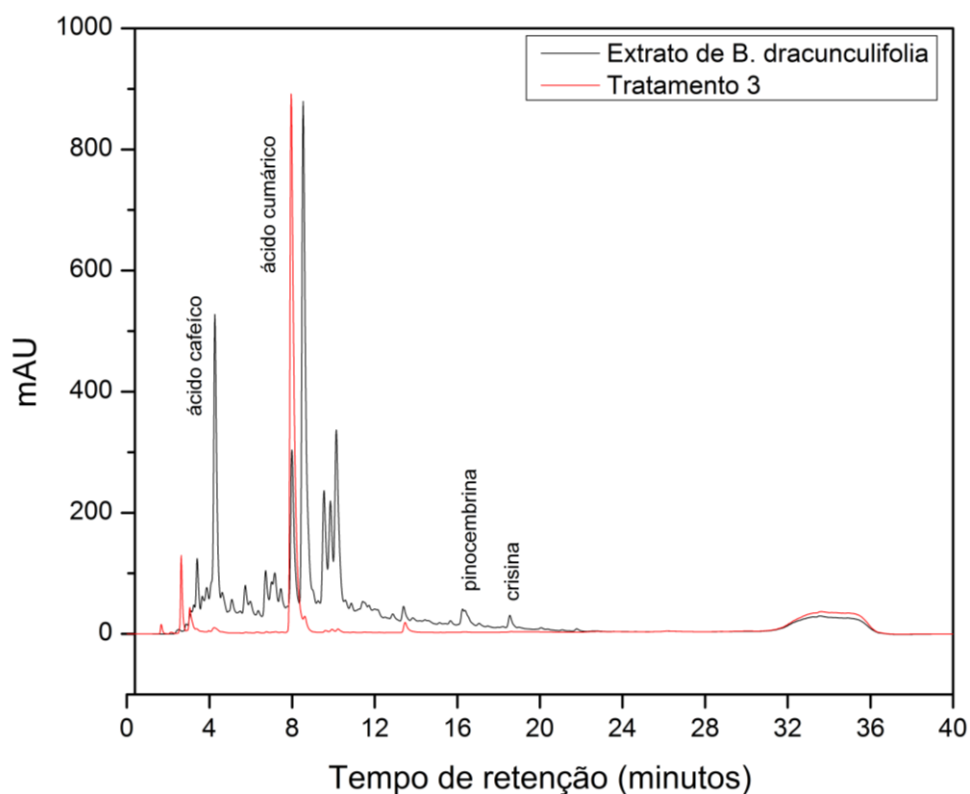


Figura 13. Cromatograma dos compostos fenólicos da formulação de iogurte T3 (iogurte com 5,0% de extrato) e do extrato de *B. dracunculifolia*. Os resultados indicam a presença dos compostos: ácido caféico, ácido cumárico, pinocembrina e crisina.

FONTE: O autor, 2020

Tabela 13. Padrões cromatográficos dos compostos fenólicos presentes nas amostras de iogurte T3 e extrato de *B. dracunculifolia*.

	Ácido caféico (mg/L)	Ácido cumárico (mg/L)	Pinocembrina (mg/L)	Crisina (mg/L)
Extrato	10,99	46,49	15,94	18,02
Iogurte T3	-	1,59	-	-
Tempo de retenção (min).	5,09	6,79	17,28	18,56
Comprimento de onda (nm)	323	309	289	267-313

FONTE: O autor, 2020

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A elaboração do iogurte prebiótico enriquecido com extrato de *B. dracunculifolia* torna-se viável do ponto de vista nutricional, uma vez que suas características microbiológicas e físico químicas encontraram-se em conformidade com as legislações vigentes e de acordo com dados da literatura. Além disso, as formulações enriquecidas com extrato da planta, demonstraram aumento significativo do teor de compostos fenólicos e da atividade antioxidante em comparação ao iogurte controle durante o período de armazenamento. A análise sensorial revelou que a incorporação do extrato da *B. dracunculifolia* ao iogurte não prejudicou as características sensoriais do produto. Além disso, o perfil cromatográfico do iogurte desenvolvido revelou a presença do ácido cumárico, presente também no extrato da planta, indicando a incorporação deste, ao produto desenvolvido. Torna-se viável portanto, mais pesquisas para melhorar as qualidades sensoriais do iogurte e para buscar formas de melhorar a interação produto/extrato para obter um alimento com melhor potencial antioxidante e funcional para ser inserido na dieta dos consumidores.

7. REFERÊNCIAS

- ABDEL-HAMID, M.; ROMEIH, E.; GAMBA, R. R.; NAGAI, E.; SUZUKI, T.; KOYANAGI, T.; ENOMOTO, T. The biological activity of fermented milk produced by *Lactobacillus casei* ATCC 393 during cold storage. **International Dairy Journal**. v. 91, p. 1-8, 2019.
- ALENCAR, S. M. de.; AGUIAR, C. L. de.; PAREDES-GUZMÁN, j.; PARK, Y. K. Composição química de *Baccharis dracunculifolia*, fonte botânica das própolis dos estados de São Paulo e Minas Gerais. **Ciência Rural**. v.35, n.4, p. 909-915, jul-ago, 2005.
- ALVARADO-LOZA, E.; OROZCO-HERNÁNDEZ, R.; RUÍZ GARCÍA, I.; PAREDES-IBARRA, F.; FUENTES-HERNÁNDEZ, V.; El 2% de inulina de agave en el alimento del conejo afecta positivamente la digestibilidad y microbiota intestinal. **Abanico veterinário**. (3) p. 55-62. Sep-Dic. 2017.
- ALVES, K. F. **Alterações morfológicas e bioquímicas em larvas de *Culex quinquefasciatus* (Culicidae) submetidas à exposição de extratos de alecrim do campo - *Baccharis dracunculifolia* (Asteracea)**. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Biologia molecular) Universidade Federal de São João Del Rei. Divinópolis MG, 2016.
- ARELHANO, L. E.; CANDIDO, C. J.; GUIMARÃES, R. C. A. PRATES, M. F. O. Caracterização nutritiva, bioativas e sensorial de frozen yogurt adicionado de castanhas de baru. **Revista Interações**. Campo Grande, v. 20, n. 1, p. 257-265, jan-mar. 2019.
- ARTS, M. J.; HAENEN, G. R.; WILMS, L. C.; BEETSTRA, S. A.; HEIJNEN, C. G.; VOSS, H. P.; BAST, A. J. Interactions between flavonoids and proteins: effect on the total antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. (50), p. 1184–1187, 2002.
- BACHIEGA, T.F.; SOUSA, J.P.B.; BASTOS, J.K.; SFORCIN, J.M. Immunomodulatory/antiinflammatory effects of *Baccharis dracunculifolia* leaves. **Natural Product Research**. 27 (18), p.1646–1650. 2013.
- BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y.; ADNYANA, I. K.; ISHII, E.; MIDORIKAWA, K.; MATSUSHIGE, K.; KADOTA, S. Hepatoprotective and anti-Helicobacter pylori activities of constituents from Brazilian propolis. **Phytomedicine**. 8(1), p. 16–23, 2001.
- BARBI, R. C. T. **Extração e quantificação de compostos fenólicos e antioxidantes da chia (*Salvia hispânica* L) usando diferentes concentrações de solventes**. Trabalho de Conclusão de Curso. (Curso Superior de Engenharia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. Campo Mourão, 2016.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENA, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**. Campinas, 23(4) p. 629-643, jul-ago, 2010.

BATISTA, R.V. **Desenvolvimento de iogurte tipo “sundae” sabor jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg) com adição de ingredientes funcionais para aporte de fibras**. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal da Fronteira Sul. Laranjeiras do Sul, 2015.

BEAL, C.; SKOKANOVA, J.; LATRILLE, E.; MARTIN, N.; CORRIEU, G. Combined Effects of Culture Conditions and Storage Time on Acidification and Viscosity of Stirred Yogurt. **Journal of Dairy Science**. v. 82 (4), p. 673-681, apr, 1999.

BELINI, C. M .B. MARQUES, M. O. M.; FIGUEIRA, G. M.; BAJAY, M. M.; CAMPOS, J. B.; VIANA, J. P. G.; PINHEIRO, J. B.; ZUCCHI, M. I. . Characterization of Microsatellite Markers for *Baccharis Dracunculifolia* (Asteraceae). **Applications in Plant Sciences**. v.4, n.3, 2016.

BELINI, C. M. B. ***Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae): Composição do óleo essencial, diversidade e parâmetros genéticos**. Tese (Doutorado em agronomia). Universidade Estadual Paulista. Botucatu – SP, 2015.

BONIN. E.; CARVALHO, V. M. C.; AVILA, V. D.; SANTOS, N. C. A. dos.; BENASSI-ZANQUETA, E.; LANCHEROS, C. A. C.; PREVIDELLI, I. T. S.; UEDA-NAKAMURA, T.; ABREU FILHO, B. A. de.; PRADO, I. N. do. *Baccharis dracunculifolia*: Chemical constituents, cytotoxicity and antimicrobial activity. **LWT**. v. 120, 2020

BRANDÃO, S. C. C. **Tecnologia da produção industrial de iogurte. Leite e Derivados**. v.5, n. 25, p. 24-38, 1995.

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. **Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007**. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados, 2007. Diário Oficial da União, 24 de outubro de 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. **Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da União. 26 de dezembro de 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. RESOLUÇÃO-RDC Nº 12, DE 02 DE JANEIRO DE 2001. **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da União. 10 de janeiro de 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária –ANVISA. **Portaria nº 29, de 13 de janeiro de 1998**. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos para Fins Especiais. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 30 de março de 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. **Dispõe sobre os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água.** Diário Oficial da União, 18 de setembro de 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 18, de 30 de abril de 1999.** Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e/ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Diário Oficial da União, 1999.

BRASIL. Presidência da República. **DECRETO Nº 8.772, DE 11 DE MAIO DE 2016.** Regulamenta a Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015, que dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade. Diário oficial da União, 12 de maio de 2016.

BROINIZI, P. R. B.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S. de.; SILVA, A. M. de. O e.; NOVOA, A. J. V.; TORRES, R. P.; AZEREDO, H. M. C.; ALVES, R. E.; MANCINI FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** Campinas, 27(4) p. 902-908, out.-dez. 2007.

CAPITANI, C.; HAUSCHILD, F. A. D.; FRIEDRICH, C. J.; LEHN, D. N.; SOUZA, C. F. V. DE. Caracterização de iogurtes elaborados com probióticos e fibra solúvel. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial.** v. 08, n. 02, p. 1285-1300, 2014.

CARVALHO, M. W. de. **Propriedades e simulação gastrointestinal *in vitro* de iogurte adicionado de extrato de *stevia rebaudiana* (bert.) em pó.** Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2017.

CASAGRANDE, M. ZANELA, J.; WAGNER JÚNIOR, A.; BUSO, C.; WOUK, J.; IURCKEVICZ, G.; MONTANHER, P. F.; YAMASHITA, F.; Malfatti, C. R. M. Influence of time, temperature and solvent on the extraction of bioactive compounds of *Baccharis dracunculifolia*: *In vitro* antioxidant activity, antimicrobial potential, and phenolic compound quantification. **Industrial Crops & Products.** (125) p.207–219, 2018.

CASTELO-BRANCO, V. N.; LAGO, M. G.; MINUZZO, D. A.; MOURA-NUNES, N.; TORRES, A. G.; NUNES, J. C.; MONTEIRO, M. Bread formulated with guava powder was enriched in phenolic and aroma compounds, and was highly acceptable by consumers. **Journal of Food Science and Technology.** 53(12), p. 4168–4178, 2016.

CAVARSAN, E. C. M. **Avaliação da atividade antioxidante de plantas coletadas na floresta amazônica e na mata atlântica.** Dissertação. (Patologia Ambiental e Experimental). Universidade Paulista – UNIP. SÃO PAULO, 2015.

CHEUCZUK, F., ROCHA, L. A. **Propriedades antioxidantes de bebida láctea fermentada prebiótica incorporada de polpa de cajá-manga.** Trabalho de

conclusão de curso. (Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Francisco Beltrão PR, 2014.

COELHO, L.M., WOSIACK, G. Avaliação sensorial de produtos panificados com adição de farinha de bagaço de maçã. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. (30), p.582-588. 2010.

COSTA, A. de G. L. C. **Estudo químico de *Baccharis dracunculifolia* DC. e sua correlação com a própolis de uma microrregião dos campos gerais do Paraná**. Dissertação (Mestrado em química aplicada). Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa PR, 2009.

COSTA, N. M. B.; ROSA, C. de O. B. **Alimentos funcionais – componentes bioativos e efeitos fisiológicos**. Editora: Rubio, 2010.

CRUZ, A. G.; ZACARCHENCO, P. B.; OLIVEIRA, C. A. F.; CORASSIN, C. H. **Processamento de produtos lácteos**: queijos, leites fermentados, bebidas lácteas, sorvete, manteiga, creme de leite, doce de leite, soro e pó e lácteos funcionais. 1ªed. Volume 3, Rio de Janeiro: Elsevier, 2017. 360p

CURTI, C. A., VIDAL, P. M., CURTI, R. N., RAMÓN, A. N. Chemical characterization, texture and consumer acceptability of yogurts supplemented with quinoa flour. **Food Science and Technology**. Campinas, 37(4): 627-631, Oct.-Dec. 2017.

DAHMER, J.; SIEBENEICHLER, L. **Elaboração de bebida fermentada á base de soro lácteo**. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. Medianeira PR, 2011.

DEBON, J. **Emprego da microfiltração tangencial na obtenção de leite fermentado prebiótico**. Dissertação. (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal. Florianópolis SC, 2009.

DEL LAMA, D. S. A naturalidade da desinfecção origem, processo produtivo e eficácia da *Baccharis dracunculifolia* D.C. **Revista Científica ANAP Brasil**. v. 6, n. 8, p. 29-40, 2013.

DUNCAN, B. B.; CHOR, D.; AQUINO, E. M. L. BENSONOR, I. M.; MILL, J. G.; SCHMIDT, M. I.; LOTUFO, P. A.; VIGO, A.; BARRETO, S. M. Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil: prioridade para enfrentamento e investigação. **Revista de Saúde Pública**. v.46(1) São Paulo, dec. 2012.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. Curitiba: 3ª ed. Ed. Universitária. Champagnat, 426 p, 2011.

ELVAS, A. B. C. **Utilização de bagaço de maçã como ingrediente alimentar em iogurte com potencial efeito benéfico para a saúde**. Dissertação. (Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar). Instituto Politécnico de Viseu. Jul. 2016.

EMBRAPA. **Anuário Leite 2019**. Sua excelência, o consumidor. EGB - Editora Gráfica Bernardi. Edição digital. 2019. 104 páginas.

FABERSANI, E.; GRANDE, M. V.; ARÁOZ, M. V. C.; ZANNIER, M. L.; SÁNCHEZ, S. S.; GRAU, A.; OLISZEWSKI, R.; HONORÉ, S. M. Metabolic effects of goat milk yogurt supplemented with yacon flour in rats on high-fat diet. **Journal of Functional Foods**. (49), p. 447–457, 2018.

FABRI, R.L.; NOGUEIRA, M.S.; DUTRA, L.B.; BOUZADA, M.L.M.; SCIO, E. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, n.2, p.183-189, 2011.

FENG, C.; WANG, B.; ZHAO, A.; WEI, L.; SHAO, Y.; WANG, Y. CAO, B.; ZHANG, F. Quality characteristics and antioxidant activities of goat milk yogurt with added jujube pulp. **Food Chemistry** (277) p. 238–245, 2019.

FUNARI, C. S. de.; FERRO, V. de. O.; MATHOR, M. B. Analysis of propolis from *Baccharis dracunculifolia* DC. (Compositae) and its effects on mouse fibroblasts. **Journal of Ethnopharmacology**. (111) p. 206–212, 2007.

GALANTE, R. M. **Extração de Inulina do alho (*Allium sativum* L. var. Chonan) e simulação dos processos em batelada e em leite fixo**. Dissertação. (mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis SC. 2008.

GALLINA, D. A.; ORMENESE, R. C. S. C.; GARCIA, A. O. Iogurte probiótico com polpa de frutas vermelhas: caracterização físico química e microbiológica, aceitabilidade sensorial e viabilidade dos probióticos. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora, v. 73, n. 4, p. 196-208, out/dez, 2018.

GAO, H.; YU, Z.; HE, Q.; TANG, S.; ZENG, W. A potentially functional yogurt co-fermentation with *Gnaphalium affine*. **LWT - Food Science and Technology**. 91 p. 423–430, 2018.

GONÇALVES, N. M.; FERREIRA, I. M.; SILVA, A. M. O. e.; CARVALHO, M. G. de. Iogurte com geleia de cajá (*Spondias mombin* L.) adicionado de probióticos: avaliação microbiológica e aceitação sensorial. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**. v.12, n.1 p. 54 – 63, jan – mar, 2018.

GUIMARÃES, N. S. S.; MELLO, J. C.; PAIVA, J. S.; BUENO, P. C. P.; BARRETTA, A. A.; TORQUATO, R. J.; NANTES, I. L.; RODRIGUES, T. *Baccharis dracunculifolia*, the main source of green propolis, exhibits potente antioxidant activity and prevents oxidative mitochondrial damage. **Food and Chemical Toxicology** (50) p.1091–1097, 2012.

HASNI, I.; BOURASSA, P.; HAMDANI, S.; SAMSON, G.; CARPENTIER, R.; TAJMIR-RIAAHI, H. A. Interaction of milk α - and β -caseins with tea polyphenols. **Food Chemistry**. 126, 630–639. 2011

HELAL, A.; TAGLIAZUCCHI, D.; VERZELLONI, E.; CONTE, A. Bioaccessibility of polyphenols and cinnamaldehyde in cinnamon beverages subjected to in vitro gastropancreatic digestion. **Journal of Functional Foods**, 7, 506–516. 2014

HELAL, A.;TAGLIAZUCCHI, D. Impact of in-vitro gastro-pancreatic digestion on polyphenols and cinnamaldehyde bioaccessibility and antioxidant activity in stirred cinnamon-fortified yogurt. **LWT - Food Science and Technology**. (89), p164–170, 2018.

HOCAYEN, P. de A.S.; GRASSIOLLI, S.; LEITE, N.C.; POCHAPSKI, M.T.; PEREIRA, R.A.; DA SILVA, L.A.; SNACK, A.L.; MICHEL, R.G.; KAGIMURA, F.Y.; DA CUNHA, M.A.A.; Malfatti, C.R.M. *Baccharis dracunculifolia* methanol extract enhances glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic islets of monosodium glutamate induced-obesity model rats. **Pharmaceutical Biology**. 54 (7), p. 1263–1271, 2016.

ILLANES, A. Alimentos funcionales y biotecnología. **Revista Colombiana de Biotecnología**. v. XVII, n. 1, p. 5-8, Universidad Nacional de Colombia Bogotá, Colombia. jun. 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos, Versão eletrônica, 4. ed. São Paulo: IAL, 2008, 1000p

JIMÉNEZ, F. E. G. **Caracterización de compuestos fenólicos presente en la semilla y aceite de chía (*Salvia hispanica* L.), mediante electroforesis capilar**. 2010. 101p. Tese (Mestrado em Ciências em Alimentos) Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Cidade do México, 2010.

LEITE, S. T. **Iogurte simbiótico de açaí (*Euterpe edulis* Mart.): Caracterização físico-química e viabilidade de bactérias lácticas e probióticas**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos). Universidade Federal do Espírito Santo. Alegre - ES, 2015.

LIMA, A. C. B. M. de. **Consumo de flavonoides totais e cítricos de indivíduos com e sem doenças auto-referidas e hábitos de vida para prevenção de doenças crônicas não transmissíveis**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos alimentos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara – UNESP. Araraquara, 2015.

LIMA, J. de. O. **Ação do extrato alcoólico de *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) em órgãos de *Prochilodus lineatus* (curimbatá)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Rio Claro SP, 2018.

LIMA, M.S.; OLIVEIRA, L. I. G.; SILVA, V. F. da.; SILVA, A. C. da.; SOARES, J. K. B. Perfil sensorial de iogurte enriquecido com geleia de goji berry (*Lycium barbarum*). **Nutrição e saúde: Conhecimento, integração e Tecnologia**. [recurso eletrônico] / Organizadores: Giselle Medeiros da Costa One, Adriana Gomes César Carvalho.-- João Pessoa: Impressos Adilson, 2016.

LUCATTO, J. N. **Produção e caracterização de iogurte simbiótico sabor banana, obtido a partir de leite de vaca e de cabra, cultura probiótica e polpa de banana verde**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2013.

MACÊDO, I. S. V.; CUNHA, K. G.; ALVES, A. T.; MARTINS, R. M.; SIMÕES, M. O. S. Atividade antioxidante da rutina: Uma revisão. **Biofarm.** v.13 , n. 01, jan-mar 2017.

MACEDO, L. T.; OLIVEIRA, J. M. de.; OLIVEIRA, K. A. R. de.; OLIVEIRA, F. L. N. de.; AZERÊDO, G. A. Green bananas and carrots add nutritional and sensory value to yoghurt. **Brazilian Journal of health Review.** Curitiba, v. 2, n. 5, p. 4298-4309 sep./out. 2019.

MAGALHÃES, M. L. **Iogurte de blueberry com baixo teor de gordura e enriquecido com fitoesteróis.** Dissertação. (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro. Uberaba-MG, 2016.

MALDANER, C. L. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade anti-inflamatória e antinociceptiva de *Baccharis dracunculifolia* DC e *Bryophyllum pinnatum* Kurtz. **SaBios: Revista Saúde e Biologia.** v.10, n.3, p. 49-58, set-dez., 2015.

MARTINS, R. L. **Fermentação divertida: introdução à ciência através de atividade culinária investigativa** [recurso eletrônico] – 1º edição – São Paulo : Cultura Acadêmica, 2014.

MATTA, C. M. B. da.; KUNIGK, C. J. Probióticos e prebióticos. **Revista Funcionais Nutracêuticos.** nov. 2009

MENDES, A. H. L., DIONÍSIO, A. P., MOUTA, C. F. H., ABREU, F. A. P., PINTO, C. O., GARRUTI, D. S., ARAÚJO, I. M. Sensory acceptance and characterization of yoghurt supplemented with yacon syrup and cashew apple extract as a source of bioactive compounds. **Brazilian Journal of Food Technology.** Campinas, v. 22, 2019.

MORAIS, E. C. de. **Avaliação da atividade antioxidante de iogurte com polpa de araticum (*Annona crassiflora*) adicionado de óleo essencial de capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*).** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso. Cuiabá MT, 2016.

MOREIRA-ARAÚJO, R. S. R.; BARROS, N. V. dos. A.; PORTO, R. G. C. L.; BRANDÃO, A. de. C. A. S.; LIMA, A. de. FETT, R.. Bioactive compounds and antioxidant activity three fruit species from the Brazilian Cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura.**, Jaboticabal. v. 41, n. 3, 2019.

MOURA, A. A. C.; AROUCHA, E. M. M.; GÓIS, V. A. de.; LEITE, R. H. de L.; FERREIRA, R. M. de A.; SILVA, M. C. de P. Iogurtes com polpa de noni e acerola: avaliação físico-química, atividade antioxidante e perfil sensorial. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 34, n. 2, jul-dez. 2016.

MUNDIM, S. A. P. **Elaboração de iogurte funcional com leite de cabra, saborizado com frutos do cerrado e suplementado com inulina.** Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2008.

MUNIANDY, P.; SHORI, A. B.; BABA, A. S. Influence of green, white and black tea addition on the antioxidant activity of probiotic yogurt during refrigerated storage. **Food Packaging and Shelf Life**. (8) p.1–8, 2016.

NEVES, P. D. O. **Importância dos compostos fenólicos dos frutos na promoção da saúde**. Monografia. (Ciências Farmacêuticas). Universidade Fernando Pessoa. 2015.

O'SULLIVAN, A. M., O'GRADY, M. N., O'CALLAGHAN, Y. C., SMYTH, T. J., O'BRIEN, N. M., KERRY, J. P. Seaweed extracts as potential functional ingredients in yogurt. Innovative. **Food Science and Emerging Technologies**. (37) p. 293–299, 2016.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.17, n.1, jan./mar, 2015.

OLIVEIRA, L. C. P. de. **Utilização de polpa e resíduos de beterraba para aproveitamento tecnológico na formulação de iogurte concentrado**. Dissertação. (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso. Cuiabá-MT, 2017.

OLIVEIRA, T.A.; Malfatti, C.R.M.; Michel, R. G.; SNAK, A. L.; PEREIRA, R. A.; SILVA, L. A.; KAGIMURA, F. Y; CUNHA, M. A. A. *Baccharis dracunculifolia* with high levels of phenol compounds reduces blood glucose in healthy human. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 8, p. 670, 2014.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos – Alimentos de origem animal**. v. 2. Porto Alegre, RS: Artmed, 2005, 279p

PÁDUA, H. C.; SILVA, M. A. P. DA.; SOUZA, D. G.; MOURA, L. C. DE.; PLÁCIDO, G. R.; COUTO, G. V. L.; CALIARI, M. Iogurte sabor banana (*Musa AAB*, subgrupo *prata*) enriquecido com farinha da casca de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba* (Vell.) Berg.). **Global Science and Technology**. Rio Verde, v.10, n.01, p.89 – 104, jan-abr, 2017.

PASQUALLI, M. **Potencial antiproliferativo, antigenotóxico e análise fitoquímica dos extratos aquosos e do óleo de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae)**. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia). Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria RS, 2016.

PAULA, J. T.; SOUZA, I. M. O.; FOGGIO, M. A.; CABRAL, F. A. Selective fractionation of supercritical extracts from leaves of *Baccharis dracunculifolia*. **The Journal of Supercritical Fluids** (127) p. 62–70, 2017.

PEGORARO, B. **Desenvolvimento de um iogurte acrescido de geléia de amora-preta (*morus nigra* L.) e pólen apícola**. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Química). Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Pato Branco – PR, 2011.

PEREIRA, P. A. P.; FAGUNDES, B. M.; DIVINO, V. B.; DIAS, J. G.; GANDRA, K. M. B.; CUNHA, L. R. Desenvolvimento e avaliação de iogurte concentrado salgado adicionado de especiarias. **Journal of Bioenergy and Food Science**, 5(2), p.66-84. 2018.

PEREIRA, R. A. **Efeitos do tratamento do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* sobre alterações bioquímicas e histológicas de um modelo animal de diabetes**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava PR, 2014.

PIRES, I. F. B.; SOUZA, A.A.; FEITOSA, M.H.A.; COSTA, S.M. Plantas medicinais como opção terapêutica em comunidade de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.16, n.2, 2014.

PRECI, D. **Extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis* st. Hil) em iogurte light tradicional e probiótico**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos). Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões. Erechim, RS, 2010

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C.. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radicals Biology and Medicinal**. v.26, n.9/10, p.1231-1237, 1999.

REIS, S. A. dos.; COMCEIÇÃO, L. L.; ROSA, D. D.; DIAS, M. M S.; PELUZIO, M. C. G. Mechanisms used by inulin-type fructans to improve the lipid profile. **Nutrición Hospitalaria**.31(2) p. 528-534, 2015.

RESENDE, F. A.; ALVES, J. M.; MUNARI, C. C.; SENEDESE, J. M.; SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; TAVARES, D. C. Inhibition of doxorubicin-induced mutagenicity by *Baccharis dracunculifolia*. **Mutation Research**. (634) p.112–118, 2007 .

REZENDE, T. P.; CORRÊA, J. O. A.; AARESTRUP, B. J. V.; AARESTRUP, F. M.; SOUZA, O. V. de.; SILVA FILHO, A. A. da. Protective Effects of *Baccharis dracunculifolia* Leaves Extract against Carbon Tetrachloride- and Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Experimental Animals. **Molecules**. (19) p. 9257-9272, 2014.

RIBEIRO, M. M.; MINIM, V. P. R.; MINIM, L. A.; ARRUDA, A. C.; CERESINO, E. B.; CARNEIRO, H. C. F.; CIPRIANO, P. A. Estudo de mercado de iogurte da cidade de Belo Horizonte/MG. **Revista Ceres**, v. 57, n.2, p. 151-156, mar/abr, 2010.

RIGO, M. **Tecnologia do iogurte**. In: Introdução à tecnologia de leite e derivados. Bezeera. J. R. M. V (org). Editora Unicentro, 2º Edição. Guarapuava, 2013. Capítulo 5.

RIGO, M., CÓRDOVA, K. R. V., RAYMUNDO, M. S. **Introdução à tecnologia de leite e derivados**. Editora Unicentro. 2º edição. Guarapuava, 2013. 206p.

ROBERFROID M.B.; SLAVIN. J. Nondigestible oligosaccharides. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** (40) p. 461- 480, 2000.

ROBERFROID, M. B. Introducing inulin-type fructans. **British Journal of Nutrition**. (93-1) , S13–S25. 2005.

ROBERFROID, M. Dietary fiber, inulin, and oligofructose: a review comparing their physiological effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 33, p. 103–148.1993.

ROBERT, N. F. **Dossiê Técnico: Fabricação de iogurtes**. Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro. REDETEC. Julho 2008 – Disponível em: <<http://www.respostatecnica.org.br/>>.

ROBERTO, M.; JAMAL, C. M.; MALASPINA, O.; MARIN-MORALES, M. A. Antigenotoxicity and antimutagenicity of ethanolic extracts of Brazilian green propolis and its main botanical source determined by the *Allium cepa* test system. **Genetics and Molecular Biology**. (39, 2) p. 257-269, 2016.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L. da.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat* e *Ancelota*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, 28(Supl.) p.238-244, dez. 2008.

RODRIGUES, D. M.; SOUZA, M. C. de.; ARRUDA, C.; PEREIRA, R. A. S.; BASTOS, J. K. The Role of *Baccharis dracunculifolia* and its Chemical Profile on Green Propolis Production by *Apis mellífera*. **Journal of Chemical Ecology**. v.46, p.150–162, 2020

RODRIGUES, L. A. N.; BELISÁRIO, C. M.; CASTRO, C. F. S.; RODRIGUES, T. G. C.; FERREIRA, A. A. R. Fenólicos totais e capacidade antioxidante de extratos de casca, folha e fruto do muricizeiro. **Tecnologia e Ciências agropecuárias**. v.12, n.5, João pessoa, dez. 2018.

ROSA, L. P. S.; CRUZ, D.J. Aplicabilidade dos frutooligossacarídeos como alimento funcional. **Nutrivisa – Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**. v. 4, n.1, mar-jun. 2017.

RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de.; MORAIS, S. M. de.; SAMPAIO, C. de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **Comunicado Técnico 125**. Embrapa - Fortaleza, CE, 2006.

RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de.; MORAIS, S. M. de.; SAMPAIO, C. de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS•+ . **Comunicado Técnico 128**. Embrapa - Fortaleza, CE, 2007.

RUTELLA, G. S.; TAGLIAZUCCHI, D.; SOLIERI, L. Survival and bioactivities of selected probiotic lactobacilli in yogurt fermentation and cold storage: New insights for developing a bi-functional dairy food. **Food Microbiology** v.60. dec. p. 54-61, 2016.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. São Paulo, v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.

SALAZAR, G. J. T.; SOUZA, J; P. de.; LIMA, C. N. F.; LEMOS, I. C. S.; SILVA, A. R. P. da.; FREITAS, T. S. de.; COUTINHO, H. D. M.; SILVA, L. E. da.; AMARAL, W. do.; DESCHAMPS, C. Phytochemical characterization of the *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) essential oil and antibacterial activity evaluation. **Industrial Crops & Products**. (122) p.591–595. 2018.

SANCHEZ-GONZALES, G.; CASTRO-RUMICHE, C.; ALVAREZ-GUZMAN, G.; FLORES-GARCÍA, J.; BARRIGA-SÁNCHEZ, M. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de los extractos de la hoja de chirimoya (*Annona cherimola* Mill). **Revista Colombiana de Química**. v. 48, n. 2, p. 21-26, 2019.

SANTOS, A. C. dos.; SAGGIOMO, G. M.; SILVA, P. B.M.da. **Compostos bioativos em iogurte adicionado de flores comestíveis**. Trabalho de conclusão de curso. (Engenharia de Alimentos) Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande RS, 2017.

SANTOS, K. A.; SANTOS, E. F. dos S.; MANHANI, M. R.; SANCHES, F. L. F. Z.; BALLARD, C. R.; NOVELLO, D. Avaliação das características sensoriais e físico-químicas de iogurte adicionado de inulina. **Revista UNIABEU Belford Roxo**. v.7, n.15, jan- abr, 2014.

SANTOS, L. C. S. dos., CANÇADO, I. A. C. Probióticos e prebióticos: Vale a pena incluí-los em nossa alimentação! **Revista Digital FAPAM**, Pará de Minas, v.1, n.1, 308-317, out. 2009.

SANTOS, L. S. N.; SALLES, M. G. F.; PINTO, C. M.; PINTO, O. R. O.; RODRIGUES, I. C. S. O saber etnobotânico sobre plantas medicinais na comunidade da brenha, Redenção, CE. **Agrarian Academy-Centro Científico Conhecer**. Goiânia, v.5, n.9; p. 409, 2018.

SANTOS, R. B.; BARBOSA, L. P. J. L.; BARBOSA, F. H. F. Probióticos: microrganismos funcionais. **Ciência Equatorial**. v.1, n. 2, 2011.

SCHAFRANSKI, K. **Extração e caracterização de compostos fenólicos de folhas de amoreira preta (*Morus nigra* L.) e encapsulamento em esferas de alginato**. Dissertação. (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Ponta Grossa, 2019.

SENGUPTA, S.; KOLEY, H.; DUTTA, S. BHOWAL, J. Hypocholesterolemic effect of *Spirulina platensis* (SP) fortified functional soy yogurts on diet-induced hypercholesterolemia. **Journal of Functional Foods**. (48) p. 54–64, 2018.

SEUGLING, J. **Desenvolvimento de nanoemulsão de *Baccharis dracunculifolia* (ASTERACEAE) e sua atividade larvívora sobre pré pupas de *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae)**. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2018.

SFAKIANAKIS, P.; TZIA, C. Conventional and innovative processing of milk for yogurt manufacture; development of texture and flavor: a review. **Foods**. 3(1), p. 176-193, 2014.

SFORCIN, J. M.; SOUZA, J. P. B. DE.; SILVA FILHO, A. A. DA.; BASTOS, J. K.; BÚFALO, M. C.; TONUCCI, L. R. S. ***Baccharis Dracunculifolia: Uma das principais fontes vegetais da própolis brasileira***. São Paulo: UNESP, 2012.

SHI, M., MATHAI, M. L., XU, G., McAINCH, A. J., SU, X. Q. The effects of supplementation with blueberry, cyanidin-3-O- β -glucoside, yoghurt and its peptides on obesity and related comorbidities in a diet-induced obese mouse model. **Journal of Functional Foods**. n.56 p. 92–101, 2019.

SHIBY, V.K.; MISHRA, H.N. Fermented milks and milk products as functional foods: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **Food Science and Nutrition**. 53, p.482–496, 2013.

SILVA, A. C. C., SILVA, N. A., PEREIRA, M. C. S. P., VASSIMON, H. S. Alimentos Contendo Ingredientes Funcionais em sua Formulação: Revisão de Artigos Publicados em Revistas Brasileiras. **Revista Conexão Ciência**. v.1, n.º. 2, 2016.

SILVA, A. M. T. da; CAVALCANTE, J. A.; ALMEIDA, M. M. de.; SANTIAGO, A. M. Elaboração de iogurte com propriedades funcionais utilizando *Bifidobacterium lactis* e fibra solúvel. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande, v.16, n.3, p.291-298, 2014.

SILVA, B. R. da.; HORTINS, J. S.; MACÊDO, F. D. de.; ARAÚJO, J. M. M. de.; GUIMARÃES, G. H. C. **Aceitação sensorial de iogurtes com adição de folhas moringa (*Moringa oleifera* lam.)** III congresso Internacional das Ciências Agrárias. Pôster. 2018

SILVA, D. C. G. **Desenvolvimento de iogurte á base de leite de cabra com extrato hidrossolúvel de soja**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos alimentos). Universidade Federal de Lavras. Lavras MG, 2010.

SILVA, F. B. da. **Efeitos da inulina nas propriedades físico químicas, sensoriais e de textura de embutido de peito de peru defumado**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010

SILVA, L. A. da.; RAPOSO, J. D. A.; CAMPOS, L. P. G.; CONCEIÇÃO, E. C. da.; OLIVEIRA, R. B. de.; MOURÃO, R. H. V. Atividade antioxidante do óleo essencial de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. por diferentes métodos de análises antioxidantes (ABTS, DPPH, FRAP, β caroteno/ácido linoleico). **Revista Fitos**. Rio de Janeiro. 12(2), p. 117-126. 2018.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 31, n. 3, p. 669-682, Londrina, jul./set. 2010.

SILVA, M. O. **Atividade antioxidante e composição de oligossacarídeos em subproduto obtido do processamento industrial da goiaba (*Psidium guajava*)**.

Dissertação. (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2015.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. São Paulo: Blucher, 2017.

SILVEIRA, M. P.; ROCHA, L. O. F.; CASTRO, A. L.; BRANDÃO, D. C.; GUEDES, T. J.; FERNANDES, M. K. O. Avaliação da qualidade de *labneh* (iogurte grego): estudo com consumidores. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 71, n. 2, p. 65-74, abr-jun, 2016.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, 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.

SIQUEIRA, K. B. **O Mercado Consumidor de Leite e Derivados**. Circular técnica 120. EMBRAPA. Juiz de Fora, MG, 2019.

SIRÓ I., KÁPOLNA E., KÁPOLNA B., LUGASI A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance - a review. **Appetite**. (51) p. 456-467. 2008.

SITI, H. N., KAMISAH, Y., & KAMSIAH, J. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). **Vascular Pharmacology**. (71) p. 40–56, 2015.

SOARES, B. M. **Efeitos da ingestão subcrônica em diferentes doses do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* (alecrim do campo) sobre marcadores bioquímicos e histológicos de um modelo animal de diabetes**. Dissertação (Pós-Graduação Interdisciplinar em Desenvolvimento Comunitário). Universidade Estadual do Centro-Oeste. Irati PR, 2015.

SOUZA, B. O.; CAMPOS, D. C. S.; FLACH, A.; COSTA, L. A. M.; ALVES. **Determinação de compostos bioativos em iogurte de leite de cabra adicionado de polpa de cupuaçu**. XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. 24 – 27 de outubro de 2016. FAURGS. Gramado RS, 2016.

SOUZA, R. S. C.; TONON, R. V.; STEPHAN, M. P.; SILVA, C. M.; PENTEADO, A. L.; CABRAL, L. M. C.; KUROSZAWA, L. E. Evaluation of the antioxidant potential of whey protein concentrated by ultrafiltration and hydrolyzed by different commercial proteases. **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 22, 2019.

TAMINE A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yoghurt: Science and Technology**. 3rd ed. Cambridge, Woodhead Publishing Limited. 2007

TAMINE, A. Y., ROBINSON, R. K. **Yogurt: ciência y tecnologia**. Zaragoza. Acribia, 1991, 368p.

TAPIA, A.; RODRIGUEZ, J.; THEODULOZ, C.; LOPEZ, S.; FERESIN, G. E.; SCHMEDA- HIRSCHMANN, G. Free radical scavengers and antioxidants from *Baccharis grisebachii*. **Journal of Ethnopharmacology**. 95 (2-3), p. 155-161, 2004.

TONET, A.; ZARA, R. F.; TIUMAN, T. S. Biological activity and quantification of bioactive compounds in yerba mate extract and its application in fish hamburger. **Brazilian Journal of Food Technology**. (22), 2019.

TREVISAN, M. M. W. **Abordagem Fitoquímica de *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae)**. Monografia de Conclusão de Curso. Universidade Paranaense – UNIPAR, Paraná – PR, 2007.

VEIGA, R. S.; MENDONÇA, S. de.; MENDES, P. B.; PAULINO, N.; MIMICA, M. J.; LAGAREIRO NETTO, A. A.; LIRA, I. S.; LÓPEZ, B. G. C.; NEGRÃO V.; MARCUCCI, M. C. Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC. **Journal of Applied Microbiology**. (122) p. 911–920, 2017.

VÉNICA, C. I.; WOLF, I. V.; SUÁREZ, V. B.; BERGAMINI, C. V.; PEROTTI, M. C. Effect of the carbohydrates composition on physicochemical parameters and metabolic activity of starter culture in yogurts. **LWT - Food Science and Technology**. (94) p.163–171, 2018.

VENTURINI FILHO, W. G (coord). **Bebidas não alcoólicas: Ciência e tecnologia**. v.2. São Paulo. Editora Blucher, 2010.

VIEIRA, C. F. de. S. **Elaboração e caracterização de iogurte de extrato hidrossolúvel da amêndoa de baru (*Dipterix Alata vog.*)**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Tocantins. Palmas TO, 2017

VINDEROLA, C. G.; BAILO, N.; REINHEIMER, J. A. Survival of probiotic in Argentina yogurts during refrigerate storage. **Food Research International**. v.33, p. 97 – 102, 2000.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. Amora-preta (*Rubus* sp.): Otimização do processo de extração para determinação de compostos fenólicos antioxidantes. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33, n. 4, p. 1209-1214, Dezembro 2011.

WENDLING, L. K.; WESCHENFELDER, S. Probióticos e alimentos lácteos fermentados – uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora, v. 68, n. 395, p. 49-57, nov-dez., 2013.

YURRITA, L. C.; MARTÍN, I. S. M.; CIUDEDE-CABAÑAS, M. J.; CALLEOPURÓN, M. E.; CABRIA, M. H. Effectiveness of inulin intake on indicators of chronic constipation; a meta-analysis of controlled randomized clinical trials. **Nutrición Hospitalaria**. 30(2) p.244-252, 2014.

ZHANG, T.; JEONG, C. H.; CHENG, W. N.; BAE, H.; SEO, H. G.; PETRIELLO, M. C.; HAN, S. G. Moringa extract enhances the fermentative, textural, and bioactive properties of yogurt. **Food Science and Technology**. (101) p. 276–284, 2019.

ANEXO 1

	PREFEITURA MUNICIPAL DE CURITIBA MUSEU BOTÂNICO MUNICIPAL	MBM 52860 
Asteraceae <i>Baccharis dracunculifolia</i> DC. Det.: Malfatti, C.R.M. 23 VI 2019 Brazil, Paraná, Guarapuava, UNICENTRO. 25°22'56" S 51°29'28" W Goes, A.K.S. 2; 23 VI 2019 Arbusto com 2 m de altura; com poucas flores e odor característico suave. Duplicatas: MBM		

ANEXO 2

**(21) BR 10 2012 020540-8 A2****(22) Data de Depósito:** 16/08/2012**(43) Data da Publicação:** 23/12/2014
(RPI 2294)

(54) Título: PROCESSO DE EXTRAÇÃO E USO DE BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA PARA AMPLIFICAR A SECREÇÃO DE INSULINA IN VIVO

(51) Int.Cl.: A61K36/28; A61P3/10

(73) Titular(es): Universidade Estadual do Centro Oeste - Unicentro

(72) Inventor(es): Carlos Ricardo Maneck Malfatti, Ricardo Aparecido Pereira

(57) Resumo: PROCESSO DE EXTRAÇÃO E USO DE BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA PARA AMPLIFICAR A SECREÇÃO DE INSULINA IN VIVO. O objetivo da presente patente de invenção é apresentar uma nova possibilidade no auxílio do controle de glicemia do paciente com Diabetes mellitus, demonstrando que o extrato de uma planta Baccharis dracunculifolia, nas doses utilizadas (200mg/kg a 800 mg/kg), é capaz de amplificar a sinalização da secreção de insulina em ratos obesos e com resistência a insulina. O mecanismo de produção de insulina pode ser falho ou com sinal subsensibilizado em pacientes com diabetes mellitus, sendo este amplificado pelo extrato supracitado.

ANEXO 3



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso
Cadastro nº A2968AB

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A2968AB**
 Usuário: **Carlos Ricardo Maneok Malfatti**
 CPF/CNPJ: **886.881.840-34**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso:

☐ Pesquisa Científica
 ☐ Bioprospeção
 ☒ Desenvolvimento Tecnológico

Espécie
Baccharis draunculifolia

Título da Atividade: **AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE COMERCIAL DE Baccharis draunculifolia COM PROSPECÇÃO BIOTECNOLÓGICA E MÉDICA**

Equipe
Carlos Ricardo Maneok Malfatti **Universidade Estadual do Centro Oeste**

Data do Cadastro: **08/06/2018 08:40:38**
 Situação do Cadastro: **Concluído**

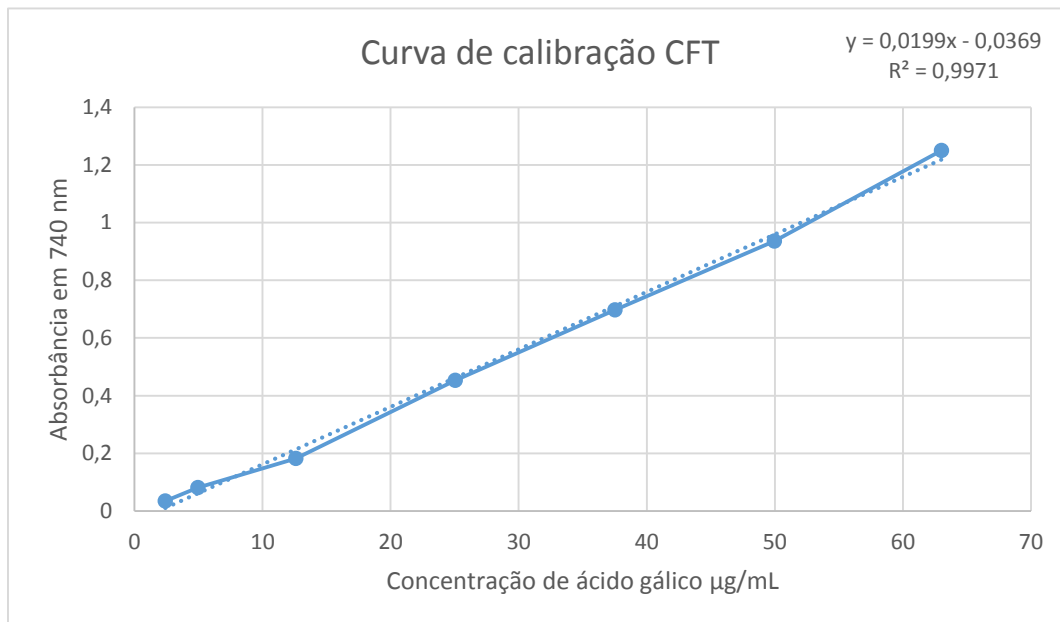




Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 14:28 de 04/06/2018.
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**

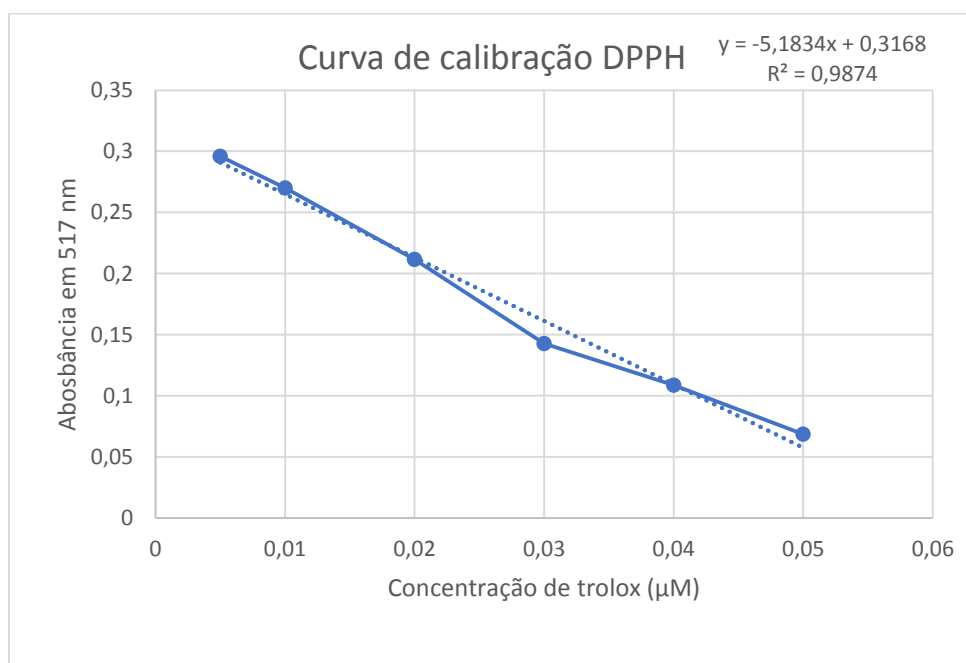
ANEXO 4

Curva de calibração da análise de Compostos Fenólicos Totais, utilizando ácido gálico como padrão.



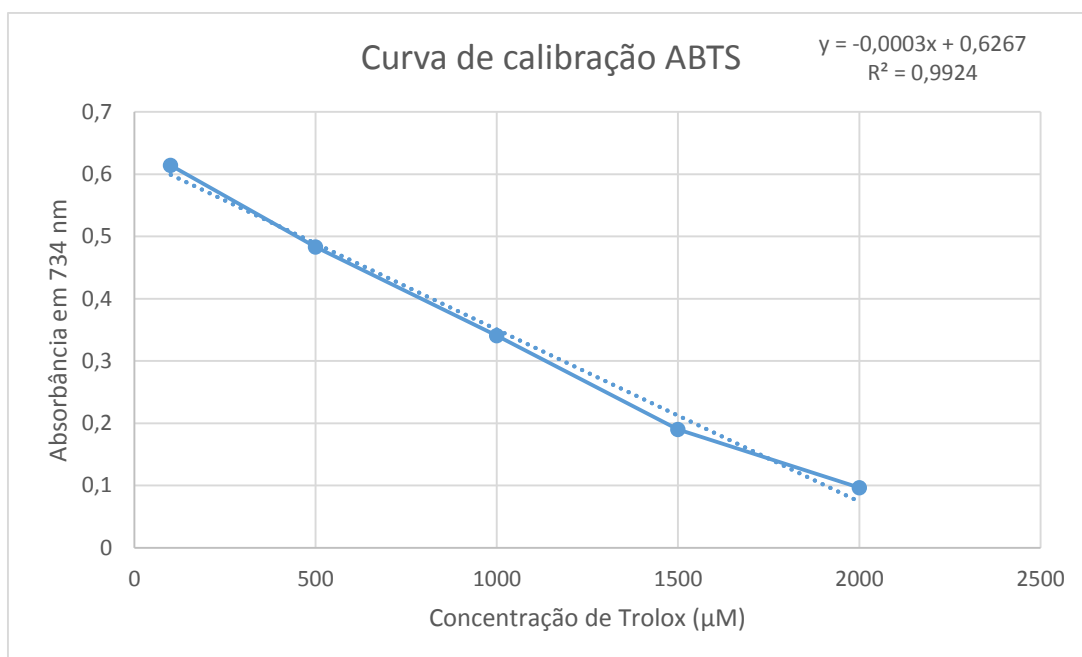
ANEXO 5

Curva de calibração da análise de DPPH, utilizando Trolox como padrão.



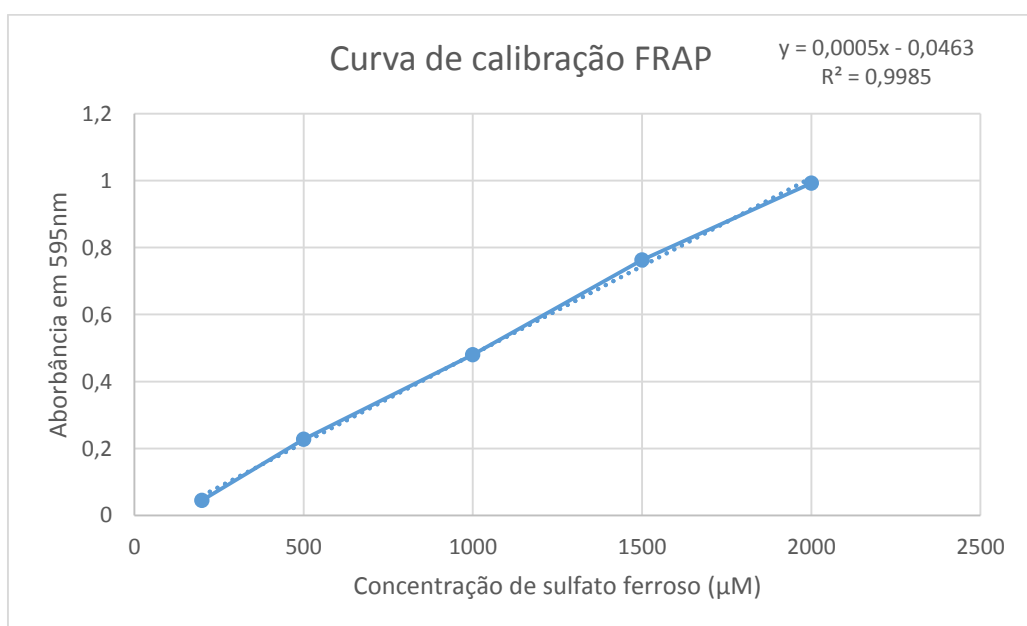
ANEXO 6

Curva de calibração da análise de ABTS, utilizando Trolox como padrão.



ANEXO 7

Curva de calibração da análise de FRAP, utilizando Sulfato ferroso como padrão.



ANEXO 8

AVALIAÇÃO SENSORIAL

Idade: _____ Sexo: () Feminino ou () Masculino Data: __/__/____

- 1) Você está recebendo amostras de logurte com extrato de *Baccharis dracunculifolia* (alecrim do campo). Avalie globalmente cada uma das amostras codificadas e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou de cada uma das amostras.

9 – Gostei muitíssimo	AMOSTRA	NOTA
8 – Gostei muito		
7 – Gostei moderadamente	<u>801</u>	_____
6 – Gostei ligeiramente		
5 – Nem gostei/nem desgostei	<u>724</u>	_____
4 – Desgostei ligeiramente		
3 – Desgostei moderadamente	<u>653</u>	_____
2 – Desgostei muito		
1 – Desgostei muitíssimo		

- 2) Agora avalie as amostras que você recebeu com relação aos atributos a seguir, sendo score um “1” para “péssimo” e nove “9” para “excelente”:

9 – Gostei muitíssimo		801	724	653
8 – Gostei muito	ATRIBUTOS	NOTA	NOTA	NOTA
7 – Gostei moderadamente	Cor			
6 – Gostei ligeiramente	Aroma			
5 – Nem gostei/nem desgostei	Sabor			
4 – Desgostei ligeiramente	Acidez			
3 – Desgostei moderadamente	Textura			
2 – Desgostei muito	Aparência			
1 – Desgostei muitíssimo				

- 3) E em relação à essas amostras deste produto, qual sua intenção de compra? Notifique entre um “1” se você nunca compraria e sete “7” se você compraria sempre.

	AMOSTRA	NOTA
7 – Compraria sempre		
6 – Compraria muito frequentemente	<u>801</u>	_____
5 – Compraria frequentemente		
4 – Compraria ocasionalmente	<u>724</u>	_____
3 – Compraria raramente		
2 – Compraria muito raramente	<u>653</u>	_____
1 – Nunca compraria		

- 4) Agora eu gostaria de saber se você costuma consumir iogurte natural no seu dia a dia, e qual a frequência. Vamos lá? Notifique entre um “1” se você nunca consome e cinco “5” se você consome sempre.

5 – Consumo sempre	CONSUMO: _____
4 – Consumo frequentemente	
3 – Consumo ocasionalmente	
2 – Consumo raramente	
1 – Nunca consumo	

Algum comentário/observação?

Fique à vontade:

Obrigada pela participação!!