

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

FELIPE MIGUEL FARION WATANABE

ESTUDO DA VIABILIDADE DE *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* EM SUCO DE  
YACON

CURITIBA

2013

FELIPE MIGUEL FARION WATANABE

ESTUDO DA VIABILIDADE DE *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* EM SUCO DE  
YACON

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Departamento de Engenharia Química do Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná como quesito parcial de obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Dr.<sup>a</sup> Maria Lucia Masson

Co-orientadora: Dr.<sup>a</sup> Luciana S. N. Ellendersen

CURITIBA

2013

---

W324e

Watanabe, Felipe Miguel Farion

Estudo da viabilidade de *Bifidobacterium animalis ssp. Lactis* em suco de Yacon / Felipe Miguel Farion Watanabe. – Curitiba, 2013.  
89f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, 2013.

Orientadora: Maria Lucia Masson -- Co-orientadora: Luciana S. N. Ellendensen.

Bibliografia: p. 75-89.

1. *Bifidobacterium*. 2. Yacon. 3. Alimentos funcionais. 4. Probióticos I. Universidade Federal do Paraná. II. Masson, Maria Lucia. III. Ellendensen, Luciana S. N.. IV. Título.

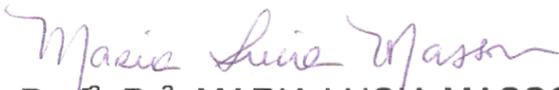
CDD: 641.30352

---

**FELIPE MIGUEL FARION WATANABE**

**ESTUDO DA VIABILIDADE DA *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* EM SUCO DE YACON**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

Orientadora:   
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. MARIA LUCIA MASSON  
Setor de Tecnologia, UFPR

  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. GISELE MARIA MACIEL  
Campus Curitiba - CIC, UTFPR

  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. MICHELE RIGON SPIER  
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 28 de agosto de 2013.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por todo o rumo acadêmico que tive até agora e por poder finalizar mais esta etapa.

Ao colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos (PPGEAL) pela oportunidade de ingressar no mestrado.

À minha orientadora, Maria Lucia Masson, por todo o apoio e orientação ao longo da realização do projeto.

À minha co-orientadora, Luciana de Souza Neves Ellendersen, por toda a ajuda dada nas etapas de fermentação, crioconcentração e análises estatísticas.

Aos colegas do PPGEAL, Roberta de Souza Leone e Talita Szlapak Franco, que auxiliaram durante as análises.

À pesquisadora Anne Caroline Defranceschi Oliveira pelo auxílio nas análises estatísticas

Aos funcionários da secretaria e do laboratório pelo atendimento e esclarecimento de todas as dúvidas geradas ao longo desta formação acadêmica.

## RESUMO

A maioria dos produtos probióticos são elaborados à base de leite, com desvantagens aos consumidores intolerantes à lactose, tornando assim produtos probióticos não lácteos vantajosos. O yacon é uma planta que acumula em suas raízes compostos prebióticos conhecidos como frutooligossacarídeos. O objetivo deste trabalho foi produzir o suco de yacon e utilizá-lo como matriz não láctea para a bactéria probiótica *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*. O yacon apresentou rápido escurecimento enzimático, requerendo tratamento para manter a coloração do suco durante o processamento e armazenamento. Foi avaliado a combinação de 3 tratamentos em diferentes níveis para manter a coloração do suco, sendo escolhido a combinação da imersão das fatias de yacon em solução de ácido ascórbico 0,5% (m/v), branqueamento a vapor por 6 minutos e adição direta de ácido ascórbico ao suco extraído na concentração final de 0,2% (m/v). Foi empregada a técnica de crioconcentração para aumentar o teor de sólidos solúveis do suco de 7 para até 18° Brix. Leite integral UHT foi fermentado por 10 horas a 45°C, apresentando pH 4,31 e produção de acidez expressa em ácido láctico de 6,35 g.L<sup>-1</sup>. Durante a fermentação, houve crescimento das bifidobactérias de 1,35.10<sup>8</sup> para 2,78.10<sup>8</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>, o que o classifica como produto probiótico pela ANVISA. Suco de yacon (6° Brix) e suco de yacon concentrado (12° Brix) foram fermentados a 35°C e 45°C por 10 horas. Ambos os sucos apresentaram redução de viabilidade celular de maneira dependente da temperatura. A 35°C, o suco de yacon apresentou redução de 8,83.10<sup>7</sup> para 2,52.10<sup>7</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> enquanto o suco de yacon concentrado apresentou redução de 1,07.10<sup>8</sup> para 2,05.10<sup>7</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>, porém em ambos os casos o número de bactérias viáveis foi suficiente para enquadrá-los como produto probiótico. A 45°C, o suco de yacon apresentou redução de 9,45.10<sup>7</sup> para 1,65.10<sup>5</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> e o suco de yacon concentrado de 7,77.10<sup>7</sup> para 1,29.10<sup>5</sup>, em ambos os casos o número de bactérias viáveis foi insatisfatório e portanto o suco fermentado a 45°C não seguiu adiante no estudo do armazenamento sob refrigeração. Leite, suco de yacon e suco de yacon concentrado foram transferidos no tempo 0 e 10 horas da etapa de fermentação para recipientes de vidro e plástico e mantidos sob refrigeração a 7°C por 28 dias. Durante o armazenamento, houve crescimento da bifidobactéria e acidificação do leite não fermentado. O leite fermentado apresentou pós-acidificação e redução da viabilidade celular, porém o número de bactérias viáveis permaneceu satisfatório mesmo após 28 dias. O suco de yacon e o suco de yacon concentrado, ambos não fermentados, apresentaram redução do número de bactérias viáveis, porém tal número permaneceu suficiente por até 28 dias para enquadrar o produto como probiótico. O suco de yacon e suco de yacon concentrado, ambos fermentados, apresentaram perda de viabilidade celular mais acentuada, possuindo número satisfatório de bactéria viáveis por apenas 14 e 21 dias, respectivamente. Um estudo mais aprofundado deve ser feito para manter a estabilidade da cor do suco de yacon sem promover grande diminuição do pH do suco, o que compromete o crescimento e sobrevivência da bifidobactéria.

Palavras-chave: Alimentos funcionais. Probiótico. Produto não lácteo. Yacon. *Bifidobacterium*

## ABSTRACT

Most of the probiotic products are made of milk, but it is not suitable for lactose intolerant consumers, therefore non-dairy probiotic products are advantageous. Yacon is a plant that stores in its root fructooligosaccharide, a prebiotic fiber. This work aim was to produce yacon juice and use it as a non-dairy matrix for the probiotic strain *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*. Yacon showed quickly enzymatic browning, requiring treatment to maintain the color along its process and storage. It was evaluated 3 treatments in different levels to maintain the color stability, the chosen process was: immersion of yacon slices into an 0.5% (w/v) ascorbic acid solution, steam blanching for 6 minutes and addition of ascorbic acid directly to the juice at a concentration of 0.2% (w/v). It was employed the cryoconcentration to increase the juice's solids content from 7 to 18° Brix. Whole milk was fermented at 45°C for 10 hours, presenting a pH value of 4,31 and increase of acidity expressed in lactic acid of 6.35 g.L<sup>-1</sup>. During the fermentation, the bifidobacterium population grew from 1.35x10<sup>8</sup> to 2.78x10<sup>8</sup> CFU.mL<sup>-1</sup>, which classifies the juice as a probiotic product according to ANVISA. Yacon juice (6° Brix) and concentrated yacon juice (12° Brix) were fermented at 35°C and 45°C for 10 hours. Both juices presented decrease of cell viability in a temperature dependent matter. At 35°C, yacon juice and concentrated yacon juice presented a cell viability loss from 8.83x10<sup>7</sup> to 2.52x10<sup>7</sup> CFU.mL<sup>-1</sup> and from 1.07x10<sup>8</sup> to 2.05x10<sup>7</sup> CFU.mL<sup>-1</sup>, respectively. For both juices, the number of viable cells was high enough to be classified as probiotic. At 45°C, yacon juice and concentrated yacon juice presented cell viability loss from 9.45x10<sup>7</sup> to 1.65x10<sup>5</sup> CFU.mL<sup>-1</sup> and from 7.77x10<sup>7</sup> to 1.29x10<sup>5</sup> CFU.mL<sup>-1</sup>, respectively. For both juices, the viable cells amount was unsatisfying and therefore the juice fermented at 45°C did not proceed to the storage under refrigeration assessment. Milk, yacon juice and concentrated yacon juice were transferred to glass and plastic containers at time 0 and 10 hours of the fermentation step and they were kept under 7°C for 28 days. During storage, there were bifidobacterium growth and acid production in non-fermented milk. Fermented milk presented post-acidification and cell viability loss, but the number of viable cells remained satisfying even after 28 days of storage. Non-fermented yacon juice and non-fermented concentrated yacon juice presented decrease in the number of viable cells, however this number remained high enough to classify these juices as probiotic even after 28 days of storage. Yacon juice and concentrated yacon juice, both fermented, showed a more intense loss of cell viability, presenting a satisfying number of viable cells for only 14 and 21 days of storage, respectively. A more accurate study is required to maintain the color stability of yacon juice without promoting a great pH decrease that compromise bifidobacteria development and survival.

Key-words: Functional foods. Probiotic beverage. Non-dairy product. Yacon. *Bifidobacterium*

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| FIGURA 1 – RAIZ TUBEROSA DE YACON ÍNTEGRA E DESCASCADA.....  | 26 |
| FIGURA 2 – ETAPAS DOS PROCESSOS DE OBTENÇÃO DO SUCO DE YACON.....  | 33 |
| FIGURA 3 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO $L^*$ EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E BRANQUEAMENTO FÍSICO NO DIA 0.....         | 47 |
| FIGURA 4 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO $L^*$ EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E BRANQUEAMENTO FÍSICO NO DIA 3.....         | 48 |
| FIGURA 5 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO $L^*$ EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 0.....       | 48 |
| FIGURA 6 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO $L^*$ EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 3.....       | 49 |
| FIGURA 7 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO $L^*$ EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS BRANQUEAMENTO FÍSICO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 0..... | 49 |
| FIGURA 8 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO $L^*$ EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS BRANQUEAMENTO FÍSICO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 3..... | 50 |
| FIGURA 9 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO $a^*$ EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E BRANQUEAMENTO FÍSICO NO DIA 0.....         | 51 |
| FIGURA 10 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO $a^*$ EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E BRANQUEAMENTO FÍSICO NO DIA 3.....        | 51 |
| FIGURA 11 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO $a^*$ EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 0.....      | 52 |

|  |    |
|--|----|
| FIGURA 12 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO a* EM<br>RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO<br>DIA 3.....       | 52 |
| FIGURA 13 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO a* EM<br>RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS BRANQUEAMENTO FÍSICO E ADIÇÃO DE<br>ANTIOXIDANTE NO DIA 0..... | 53 |
| FIGURA 14 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO a* EM<br>RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS BRANQUEAMENTO FÍSICO E ADIÇÃO DE<br>ANTIOXIDANTE NO DIA 3..... | 53 |
| FIGURA 15 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO b* EM<br>RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E BRANQUEAMENTO FÍSICO NO<br>DIA 0.....         | 54 |
| FIGURA 16 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO b* EM<br>RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E BRANQUEAMENTO FÍSICO NO<br>DIA 3.....         | 55 |
| FIGURA 17 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO b* EM<br>RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO<br>DIA 0.....       | 55 |
| FIGURA 18 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO b* EM<br>RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO<br>DIA 3.....       | 56 |
| FIGURA 19 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO b* EM<br>RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS BRANQUEAMENTO FÍSICO E ADIÇÃO DE<br>ANTIOXIDANTE NO DIA 0..... | 56 |
| FIGURA 20 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO b* EM<br>RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS BRANQUEAMENTO FÍSICO E ADIÇÃO DE<br>ANTIOXIDANTE NO DIA 3..... | 57 |
| FIGURA 21 - TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS DO SUCO CONCENTRADO<br>E DO GELO RETIDO EM CADA ETAPA DE CRIOCONCENTRAÇÃO.....                           | 58 |
| FIGURA 22 - SUCO DE YACON CONGELADO (A) E GELO RETIDO APÓS A<br>SEPARAÇÃO DO SUCO CRIOCONCENTRADO (B).....   | 59 |
| FIGURA 23 - NÚMERO DE BACTÉRIAS VIÁVEIS DO LEITE, SUCO DE YACON E<br>SUCO DE YACON CONCENTRADO AO LONGO DA INCUBAÇÃO.....                            | 60 |

|   |    |
|---|----|
| FIGURA 24 - VARIAÇÃO DE pH DO LEITE, SUCO DE YACON E SUCO DE YACON CONCENTRADO AO LONGO DA INCUBAÇÃO.....                             | 62 |
| FIGURA 25 - AUMENTO DA ACIDEZ EXPRESSA EM ÁCIDO LÁTICO AO LONGO DA INCUBAÇÃO DE LEITE, SUCO DE YACON E SUCO DE YACON CONCENTRADO..... | 63 |
| FIGURA 26 - ASPECTO VISUAL DO LEITE E DO LEITE FERMENTADO APÓS 28 DIAS DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO A 7°C.....                   | 66 |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| TABELA 1 – COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DO YACON IN NATURA.....  | 27 |
| TABELA 2 - VALORES DECODIFICADOS ATRIBUÍDOS AOS NÍVEIS -1, 0 E +1 DAS 3 VARIÁVEIS DO ESTUDO DA ESTABILIDADE DA COR DO SUCO DE YACON.....            | 37 |
| TABELA 3 - NÍVEIS CODIFICADOS DOS EXPERIMENTOS REALIZADOS PARA A ANÁLISE DA ESTABILIDADE DA COR DO SUCO DE YACON.....                               | 38 |
| TABELA 4 - PARÂMETRO DE COR L* DO SUCO DE YACON SUBMETIDO A DIFERENTES TRATAMENTOS PARA ESTABILIZAR A COR.....                                      | 42 |
| TABELA 5 - PARÂMETRO DE COR a• DO SUCO DE YACON SUBMETIDO A DIFERENTES TRATAMENTOS PARA ESTABILIZAR A COR.....                                      | 43 |
| TABELA 6 - PARÂMETRO DE COR b* DO SUCO DE YACON SUBMETIDO A DIFERENTES TRATAMENTOS PARA ESTABILIZAR A COR.....                                      | 44 |
| TABELA 7 - VALORES DE $p$ DAS VARIÁVEIS EMPREGADAS NO ESTUDO DA ESTABILIDADE DA COLORAÇÃO DO SUCO DE YACON NOS DIAS 0 E 3.....                      | 46 |
| TABELA 8 - LOGARITMO DO NÚMERO DE BACTÉRIAS VIÁVEIS EM DIFERENTES MOSTOS ARMAZENADOS SOB REFRIGERAÇÃO A 7°C EM RECIPIENTES DE VIDRO E PLÁSTICO..... | 65 |
| TABELA 9 - VARIAÇÃO DE pH E PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO EM DIFERENTES MOSTOS ARMAZENADOS EM RECIPIENTES DIFERENTES SOB REFRIGERAÇÃO A 7°C.....         | 67 |

## LISTA DE SIGLAS

FOS – Frutooligossacarídeos

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

GRAS – *Generally Recognized As Safe*

UFC – Unidades Formadoras de Colônia

SCFA – *Short Chain Fat Acid*

GOS – Galactooligossacarídeos

XOS – Xilooligossacarídeos

PPO – *Polyphenol Oxidase*

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....                               | 14 |
| <b>2 OBJETIVOS</b> .....                                | 16 |
| 2.1 OBJETIVOS GERAIS.....                               | 16 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....                          | 16 |
| <b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....                    | 17 |
| 3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS.....                           | 17 |
| 3.1.1 Probióticos.....                                  | 20 |
| 3.1.2 Bifidobactéria.....                               | 21 |
| 3.1.3 Prebióticos.....                                  | 21 |
| 3.1.4 Alimentos simbióticos.....                        | 23 |
| 3.2 YACON COMO FONTE DE PREBIÓTICO.....                 | 25 |
| 3.3 PROCESSAMENTO DE SUCO.....                          | 28 |
| 3.3.1 Branqueamento.....                                | 28 |
| 3.3.2 Crioconcentração.....                             | 30 |
| 3.3.3 Fermentação.....                                  | 31 |
| 3.3.4 Embalagem.....                                    | 32 |
| <b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....                      | 33 |
| 4.1 ELABORAÇÃO DO SUCO.....                             | 33 |
| 4.1.1 Matéria-prima.....                                | 34 |
| 4.1.2 Lavagem, descascamento e corte.....               | 34 |
| 4.1.3 Branqueamento.....                                | 34 |
| 4.1.4 Extração, filtração e adição de antioxidante..... | 35 |
| 4.1.5 Concentração do suco.....                         | 35 |
| 4.1.6 Preparo do inóculo.....                           | 35 |
| 4.1.7 Inoculação e fermentação.....                     | 36 |
| 4.1.8 Embalagem e armazenamento.....                    | 36 |
| 4.2 ESTABILIDADE DA COR.....                            | 37 |
| 4.3 pH E ACIDEZ TITULÁVEL.....                          | 39 |
| 4.4 CONTAGEM DE BACTÉRIAS VIÁVEIS.....                  | 39 |

|  |           |
|--|-----------|
| 4.5. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....        | 39        |
| <b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>   | <b>41</b> |
| 5.1 ESTABILIDADE DA COR.....           | 41        |
| 5.2 CRIOCONCENTRAÇÃO.....              | 57        |
| 5.3 FERMENTAÇÃO.....                   | 59        |
| 5.4 REFRIGERAÇÃO.....                  | 65        |
| <b>6 CONCLUSÕES.....</b>               | <b>73</b> |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b> | <b>75</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

Os anseios da sociedade por boa saúde associada à longevidade deram impulso ao desenvolvimento de alimentos funcionais que, além de suprirem as necessidades nutricionais, promovem uma vida mais saudável. Existem diversos tipos de alimentos funcionais, porém os que recebem maior destaque são os probióticos, os prebióticos e os simbióticos (SAAD *et al.*, 2011).

As bactérias probióticas são aquelas que, quando consumidas em quantidade suficiente, promovem benefícios à saúde do hospedeiro. Para que possam exercer tal efeito, as bactérias devem antes sobreviver ao processamento e ao armazenamento e ainda resistir ao processo de digestão para que possam alcançar o intestino e colonizá-lo. Diversos efeitos benéficos são atribuídos às bactérias probióticas, tais como proteção contra infecção de bactérias patogênicas, melhor absorção de lactose em indivíduos intolerantes, alívio dos sintomas de diarreia, aumento da absorção de minerais, atividade anticarcinogênica, entre outros (GUILLILAND, 1989; PARVEZ *et al.*, 2006; SAAD, 2006; VRESE e MARTEAU, 2007; SAAD *et al.*, 2011; PAULA *et al.*, 2012).

Já os prebióticos são componentes dos alimentos que não são digeridos pelo homem e, ao alcançar o intestino, são seletivamente fermentadas pelas bactérias associadas à saúde e ao bem-estar. Entre os prebióticos, ganham destaque a inulina e os frutoligosacarídeos (FOS), que são polímeros compostos de unidades de frutose ligados por ligação  $\beta$  (2 $\rightarrow$ 1), contendo geralmente uma unidade de glicose em sua extremidade. Tais carboidratos são fermentados principalmente pelas bactérias probióticas dos gêneros *Bifidobacterium* e, em menor grau, *Lactobacillus* (BELITZ *et al.*, 2004; ROBERFROID, 2007; DAMODARAN *et al.*, 2010).

A associação de um probiótico a um prebiótico gera outra classe de alimento funcional, o simbiótico. Tal associação é vantajosa pois adapta a bactéria probiótica ao seu substrato levando a uma vantagem competitiva desta bactéria. Porém, o emprego de um probiótico e um prebiótico aumenta os custos de produção (PANDEY *et al.*, 2008; SAAD *et al.*, 2011).

O yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é uma planta que, ao contrário da maioria dos vegetais que acumulam carboidratos na forma de amido, possui sua reserva energética principalmente na forma de FOS em suas raízes tuberosas. Sua raiz pode ser consumida *in natura*, havendo também estudos sobre produtos processados a base de yacon, tais como suco, farinha, xarope, yacon desidratado, yacon minimamente processado, entre outros (SILVA, 2004; MICHELS, 2005; SANTANA e CARDOSO, 2008; KOTOVICZ, 2011; RODRIGUES *et al.*, 2012).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

Estudar as condições de sobrevivência da bactéria probiótica *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* em bebida desenvolvida a partir da raiz tuberosa de yacon.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar os melhores tratamentos para estabilizar a coloração do suco de yacon.

Monitorar o crescimento da cepa probiótica *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* durante a fermentação do suco de yacon através da contagem de células viáveis e pela acidificação do meio observado pela diminuição de pH e produção de ácidos orgânicos.

Avaliar a pós-acidificação do produto armazenado sob refrigeração, assim como a viabilidade celular da cepa probiótica.

Comparar o crescimento e sobrevivência da bifidobactéria no suco de yacon e no leite para avaliar se o suco de yacon pode ser empregado como matriz não láctea de probiótico.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. ALIMENTOS FUNCIONAIS

São alimentos funcionais de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA):

O alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais ou de saúde pode, além de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir efeitos metabólicos e ou fisiológicos e ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica (1999).

Os alimentos funcionais podem ser classificados quanto ao componente bioativo presente nele, como probióticos, prebióticos, fitoquímicos, vitaminas e minerais essenciais, peptídeos bioativos, entre outros, sendo que os dois primeiros ganham destaque entre as classes de alimentos funcionais (SAAD *et al.*, 2011).

##### 3.1.1. Probiótico

Os probióticos são micro-organismos vivos que, quando ingeridos em quantidades apropriadas, promovem benefícios à saúde do hospedeiro. Para que um micro-organismo possa ser empregado em alimentos, ele deve ser antes classificado como seguro (ou GRAS, do inglês *Generally Recognized As Safe*) (MALAJOVICH, 2004; SAAD, 2006).

Para que um determinado micro-organismo possa oferecer benefício à saúde e seja caracterizado como probiótico, ela deve sobreviver à passagem pelo trato gastrointestinal e se desenvolver no intestino, o que implica sobreviver ao pH estomacal, ao suco gástrico, ao suco pancreático e à bile e ainda aderir à mucosa intestinal (FERREIRA, 2012). O estudo feito por Perdigón *et al.* (2003) indica que a adesão da bactéria probiótica depende das espécies envolvidas. Os autores

reportaram que enquanto a espécie probiótica *Bifidobacterium animalis* aderiu à mucosa dos intestinos delgado e grosso de camundongos, a cepa *Bifidobacterium adolescentis* – isolada de humanos - não teve a mesma capacidade.

De acordo com a ANVISA (2008), a recomendação diária de consumo de um produto probiótico pronto para consumo deve garantir o mínimo de  $10^8$  a  $10^9$  unidades formadoras de colônia (UFC) do micro-organismo probiótico. É importante que as bactérias probióticas se mantenham em elevado número de células viáveis durante o tempo de prateleira até o seu consumo. Diversos fatores afetam sua sobrevivência no produto alimentício como a cepa utilizada, a concentração do inóculo, a interação com as bactérias presente no alimento, a acidez do meio, o nível de oxigênio dissolvido, a disponibilidade de nutrientes, a temperatura e o tempo de incubação, a temperatura de armazenamento, entre outros (PANDEY *et al.*, 2008).

As bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são as mais empregadas e estudadas como probióticos. Enquanto que os lactobacilos colonizam preferencialmente a porção terminal do íleo, as bifidobactérias colonizam preferencialmente o cólon (SAAD *et al.*, 2011).

Nem todas as espécies pertencente aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são probióticas. De acordo com Jay (2005), a bactéria *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, utilizada na produção de iogurte convencional, não coloniza o intestino humano enquanto que a espécie *L. acidophilus*, utilizada como probiótico em iogurte e outros produtos, possui tal capacidade. A ANVISA (2008) aceita como probióticas as espécies *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus parasacei*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei* variedade *ramnosus*, *Lactobacillus casei* variedade *defensis*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* e *Enterococcus faecium*.

Diversos efeitos benéficos à saúde são associados aos probióticos, tais como regulação da microbiota intestinal, proteção contra infecções intestinais, atividade anticarcinogênica, aumento da absorção de minerais, melhor digestão de lactose em indivíduos intolerantes, redução do nível sérico de colesterol, modulação do sistema imune, alívio da constipação, tratamento de diarreia, entre outros (GILLILAND, 1989; PARVEZ *et al.*, 2006; SAAD, 2006; VRESE e MARTEAU, 2007; SAAD *et al.*, 2011).

Um estudo feito por Tejada-Simon *et al.* (1999) aponta que camundongos tratados com iogurte suplementado com cepas probióticas apresentaram resposta

imunológica significativamente maior frente a imunização oral com toxina da cólera comparado ao grupo tratado com iogurte contendo apenas bactérias convencionais. Wang *et al.* (2004) apontaram que a bactéria *Bifidobacterium lactis* possui efeito inibitório *in vitro* sobre a bactéria patogênica *Helicobacter pylori*. O estudo clínico feito por Kiessling *et al.* (2002) indica que o consumo de iogurte probiótico aumentou significativamente o nível sérico de colesterol HDL, o que é apontado como um “bom” transportador de colesterol por carregar colesterol dos tecidos periféricos para o fígado, reduzindo assim o risco de desenvolver aterosclerose (CHAMPE *et al.*, 2009). Já Barrenetxe *et al.* (2006) reportaram que a ingestão de bactérias probióticas afetou a fisiologia intestinal de ratos ao ativar o sistema imune e ao aumentar a atividade enzimática das enzimas digestivas sacarase, maltase e N-aminopeptidase.

Diversos produtos probióticos já são comercializados ou são objetos de estudo, tais como iogurte e outros tipos de leites fermentados, iogurte liofilizado, queijos, sorvetes, salames, cereais, margarina, sucos de fruta, chocolates, azeitona, entre outros (LAVERMICOCCA *et al.*, 2005; CAPELA *et al.*, 2006; BISPO *et al.*, 2011; CLERICI *et al.*, 2011; CRUZ *et al.*, 2011a; CRUZ *et al.*, 2011b; CRUZ *et al.*, 2011c; MACEDO *et al.*, 2011; SCHMIDT e PEREIRA, 2011).

Os produtos lácteos são os veículos mais frequentemente utilizados como probióticos, havendo crescente interesse em demais formulações alimentícias para tal função. O desenvolvimento de sucos vegetais probióticos possui certas vantagens tais como: ausência natural de colesterol, atendimento ao público vegetariano e intolerante à lactose, concentração elevada de açúcares fermentescíveis e reduzido potencial redox do alimento pela adição de antioxidantes - contribuindo assim para o crescimento dos lactobacilos e bifidobactérias que são microaerófilos e anaeróbios, respectivamente (RIVERA-ESPINOZA e GALLARDO-NAVARRO, 2010; SCHMIDT e PEREIRA, 2011; MARTINS *et al.*, 2013). O estudo feito por Bolduc *et al.* (2006) mostra que a suplementação do antioxidante ácido ascórbico afetou positivamente o crescimento das bactérias probióticas *Bifidobacterium infantis*, *B. longum* e *B. animalis ssp. lactis*.

Diversos autores têm reportado o estudo de sucos vegetais probióticos. Os estudos utilizam bactérias dos gêneros *Bifidobacterium* ou *Lactobacillus* para fermentar o suco de diversas fontes, como maçã, cenoura, beterraba, romã, caju, couve, laranja, abacaxi, *cranberry*, groselha, toranja, morango, melão, *maple* e

tomate (KLEWICKA *et al.*, 2004; LUCKOW e DELAHUNTY, 2004; YOON *et al.*, 2004; YOON *et al.*, 2005; NEVES, 2005; SHEEHAN *et al.*, 2007; KUN *et al.*, 2008; KHALF *et al.*, 2010; KOH *et al.*, 2010; VERGARA *et al.*, 2010; FONTELES *et al.*, 2011; MOUSAVI *et al.*, 2011; NUALKAEKUL *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2011; ELLENDERSEN *et al.*, 2012; PEREIRA *et al.*, 2012). O estudo feito por Saarela *et al.* (2011b) visou promover mutações aleatórias por radiação ultravioleta em uma cepa de *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* para gerar variedades mutantes mais tolerantes ao pH ácido e assim se adaptarem melhor ao suco de frutas. No mesmo ano, Saarela *et al.* (2011a) notaram que o enriquecimento de fibra de aveia aumentou a estabilidade de cepas de *Bifidobacterium breve* em suco de fruta durante a armazenagem.

### 3.1.2. Bifidobactéria

As bifidobactérias são bactérias Gram-positivas, anaeróbicas, catalase negativa, com morfologia ramificada em forma de Y ou V e não são formadoras de esporo. A faixa ideal de pH varia entre 6,5 e 7,0, apresentando sensibilidade a pH inferior a 5,0. A faixa de temperatura ideal das bifidobactérias isoladas de humanos é de 36 a 38°C, sendo que as cepas isoladas de animais apresentam uma faixa um pouco maior, entre 41 e 43°C. O crescimento das bifidobactérias é inibido em temperaturas inferiores a 20°C e superiores a 49,5°C, tendo elas um mecanismo molecular para se proteger de danos causados pelo stress térmico (CRONIN *et al.*, 2011; FERREIRA, 2012).

Embora anaeróbicas, algumas cepas de bifidobactéria apresentam certa aerotolerância, como a espécie *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*. Algumas estratégias são utilizadas para aumentar a sobrevivência das bifidobactérias na presença de oxigênio, como a adição de ácido ascórbico ou cisteína em produtos alimentícios e em meio de cultura (KUN *et al.*, 2008; CRONIN *et al.*, 2011). O estudo feito por Kawasaki *et al.* (2007), além de mostrar que certas cepas de bifidobactéria suportam a presença de 5% e 10% de gás oxigênio, aponta que a presença de gás carbônico é importante para o crescimento das colônias.

As bifidobactérias tem um largo arsenal bioquímico para metabolizar carboidratos, um indício de adaptação genética a ambientes competitivos ricos em carboidratos complexos. Diferente das demais bactérias lácticas, as bifidobactérias metabolizam a glucose através da via frutose-6-fosfato, graças à enzima frutose-6-fosfato fosfocetolase. Através desta via, a frutose-6-fosfato é quebrada em eritrose-4-fosfato e acetil-fosfato, produzindo no final da rota metabólica 1 mol de ácido láctico e 1,5 mols de ácido acético para cada mol de glucose. Além da produção de ácidos, algumas cepas são capazes de sintetizar algumas vitaminas do complexo B como tiamina, piridoxina, niacina e riboflavina além de ácido fólico (KUN *et al.*, 2008; CRONIN *et al.*, 2011; FERREIRA, 2012).

A microbiota intestinal de uma criança recém-nascida em amamentação é constituída por mais de 90% de bifidobactérias, sendo que essa proporção diminui ao longo do crescimento representando de 3 a 10% da microbiota intestinal de um adulto. Estudos apontam que algumas cepas apresentam adaptação específica ao intestino de certos animais, tais como *Bifidobacterium angulatum* e *Bifidobacterium gallinarum*, porém outras espécies como a *Bifidobacterium animalis* apresentam caráter cosmopolita, podendo colonizar o intestino de mais de uma espécie de animal. O sequenciamento genético das bifidobactérias aponta que o gênero possui genes codificadores para a síntese de polissacarídeos extracelulares que podem estar envolvidos na aderência da bactéria ao epitélio intestinal do hospedeiro e ainda contribuir para a resistência ao suco gástrico e aos sais biliares (TURRONI *et al.*, 2011; FERREIRA, 2012).

### 3.1.3. Prebióticos

Os prebióticos são compostos alimentícios que propiciam mudanças específicas na composição e na atividade da microflora intestinal, gerando benefícios à saúde do consumidor. Para que o composto seja classificado como prebiótico, ele deve resistir à acidez estomacal e à ação das enzimas digestivas humanas, não deve ser absorvida pelo intestino e deve ser fermentado pelas bactérias intestinais, estimulando seletivamente o crescimento das bactérias associadas à saúde e ao bem-estar (ROBERFROID, 2007).

Entre os benefícios à saúde associados aos prebióticos estão a redução do nível sérico de triacilglicerídeos e colesterol, maior absorção de cálcio e magnésio, atividade anticarcinogênica e aumento do volume do bolo fecal (ROBERFROID, 2007; SILVA *et al.*, 2007; SAAD *et al.*, 2011; PAULA *et al.*, 2012; SANT'ANNA *et al.*, 2012).

Coudray *et al.* (2003) analisaram o efeito de frutanos de diferentes graus de polimerização sobre a absorção de cálcio e magnésio em ratos. Os resultados apontam que todos os frutanos utilizados aumentaram significativamente a absorção de magnésio ao passo que a absorção de cálcio foi maior para o grupo tratado com Synergyl (mistura de FOS com inulina de alta performance). Os autores apontam também que todos os grupos tratados com frutanos produziram significativamente mais ácidos graxos de cadeia curta (SCFA, do inglês *short chain fatty acids*) do que o grupo controle, e que o grupo tratado com FOS foi o que apresentou maior teor de ácido butírico. De acordo com Goñi e López-Oliva (2006), o ácido butírico é o ácido graxo de cadeia curta mais benéfico ao epitélio e à parede intestinal, possuindo um efeito paradoxal ao estimular o crescimento das células sadias da base das criptas intestinais enquanto que inibe a proliferação das células da superfície das criptas e das células neoplásicas. Além disso, os SCFA produzidos pela microflora a partir da fermentação de fibras fornece de 50 a 75% da energia requerida pelas células do cólon (BRODY, 1994).

Entre os polissacarídeos, apenas o amido e o glicogênio são digeridos e absorvidos pelo homem, pois as enzimas  $\alpha$ -amilases e isomaltase conseguem hidrolisar, respectivamente, as ligações  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4) e  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 6) entre duas moléculas de glicose. Os outros polissacarídeos da dieta, tais como componentes estruturais vegetais (como celulose, hemicelulose e pectina) ou gomas adicionadas aos alimentos, não são digeridos pelo homem e são classificadas como fibra dietética. Tais polissacarídeos alcançam o intestino com pouca ou nenhuma modificação, pois a acidez estomacal ou o tempo de permanência no estômago não são suficientes para hidrolisar significativamente os polissacarídeos (CHAMPE *et al.*, 2009; DAMODARAN *et al.*, 2010).

De acordo com Ferreira (2012) e Rodrigues *et al.* (2012), são classificados como prebióticos os carboidratos lactulose, lactitol, FOS, inulina, galactooligossacarídeos (GOS), oligossacarídeos da soja, xilooligossacarídeos

(XOS), amido resistente, isomaltooligosacarídeos, lactossacarídeo, Palatinose<sup>®</sup>, entre outros.

A inulina é um carboidrato de reserva de algumas plantas, tais como chicória, cebola, alho, alcachofra, aspargo, banana, entre outras. Sua estrutura química é composta por uma cadeia de frutose unida por ligação  $\beta$  (2 $\rightarrow$ 1) e contendo uma unidade de glicose em sua extremidade (BELITZ *et al.*, 2004; DAMODARAN *et al.*, 2010). Raramente o grau de polimerização da inulina ultrapassa 60. Cadeias pequenas de inulina cujo grau de polimerização é menor do que 10 são chamadas de FOS (ROBERFROID, 2005; SANTOS *et al.*, 2011). Tanto a inulina quanto os FOS são fibras dietéticas e possuem índice glicêmico igual a zero, ou seja, não aumentam o nível sérico de glicose nem de insulina (DAMODARAN *et al.*, 2010). Além disso, ambos são seletivamente fermentados pelas bifidobactérias e em menor proporção pelos lactobacilos graças à ação da enzima inulinase intracelular (ROBERFROID, 2007). O teor mínimo de FOS ou inulina estipulado pela ANVISA (2008) que a porção dos alimentos prontos para consumo devem possuir para serem classificados como prebióticos é de 3 g para alimentos sólidos e 1,5 g para alimentos líquidos.

A inulina possui baixo sabor doce e pode ser utilizada como um substituto de gordura devido à formação de microcristais que dão ao alimento uma textura cremosa. Já os FOS, devido ao menor grau de polimerização, apresentam sabor mais adocicado (cerca de 1/3 do poder adoçante da sacarose) e são altamente higroscópicos. Ambos apresentam estabilidade em pH superior a 3 e em temperatura de até 140°C, porém em condições ácidas extremas e exposição prolongada ao binômio tempo e temperatura eles podem sofrer hidrólise (BELITZ *et al.*, 2004; ZULETA e SAMBUCETTI, 2006; SILVA *et al.*, 2007).

#### 3.1.4. Alimentos Simbióticos

Alguns alimentos possuem simultaneamente característica probiótica e prebiótica, sendo então denominado como simbiótico. O emprego conjunto desses elementos no alimento pode levar a uma melhor adaptação do micro-organismo à fibra e resultar em uma vantagem competitiva da bactéria probiótica frente as

demais (SAAD, 2006). O presença do prebiótico melhora a sobrevivência da bactéria probiótica durante o armazenamento do produto e durante a passagem pelo trato gástrico, estimulando assim o crescimento e a atividade não só das bactérias endógenas já presentes no cólon mas também das exógenas provenientes do alimento. Porém, a mistura de um probiótico com um prebiótico aumenta o custo de produção (PANDEY *et al.*, 2008).

O estudo feito por Lamoureux *et al.* (2002) indica que algumas cepas de bactérias podem produzir fibras prebióticas durante a fermentação por reação de transglicosilação. Os autores apontam que, entre as cepas estudadas, a bactéria probiótica *Bifidobacterium infantis* foi a que apresentou maior produção do prebiótico GOS em iogurte e que não houve hidrólise do oligossacarídeo ao longo do armazenamento.

Pedreschi *et al.* (2003) avaliaram a utilização de FOS pelas bactérias probióticas *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum* e *Bifidobacterium bifidum* e os autores reportaram que todas as espécies consumiram FOS, porém o consumo foi maior para a bifidobactéria.

Fooks e Gibson (2002) estudaram *in vitro* o efeito inibitório de diversas cepas probióticas associadas a diversas fontes de carbono sobre as espécies patogênicas *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* e *Salmonella enteritidis*. Os autores apontam que, entre os carboidratos testados, os FOS associados ao *Lactobacillus plantarum* foram os mais eficientes na inibição do crescimento das cepas patogênicas, enquanto que, para a bactéria *Bifidobacterium bifidum*, a mistura de FOS e XOS provou ser a mistura simbiótica mais efetiva. Os autores indicam também que a bactéria *L. plantarum* cresceu mais rapidamente quando a glicose foi a fonte de carbono, seguido dos FOS, enquanto que a bactéria *B. bifidum* apresentou crescimento mais acelerado na presença da mistura de FOS e XOS, ao passo que a cepa patogênica *E. coli* teve rápido crescimento na presença de glicose, porém crescimento lento na presença de inulina, FOS e XOS.

Liong e Shah (2005) avaliaram *in vitro* o efeito de diversos prebióticos associados à bactéria *Lactobacillus acidophilus* e concluíram que, entre os prebióticos analisados, apenas manitol, FOS e inulina aumentaram significativamente a redução do nível de colesterol do meio de crescimento.

O estudo feito por Capela *et al.* (2006) aponta que a presença de FOS, inulina e amilose aumentou a sobrevivência de cepas probióticas em iogurte refrigerado,

porém não garantiram a sobrevivência das mesmas em iogurte liofilizado. Macedo *et al.* (2008) reportaram que a adição de mel ao leite fermentado aumentou a sobrevivência das bifidobactérias nele presente, possuindo o mel oligossacarídeos que podem ter propriedades prebióticas. Já o estudo feito por Saarela *et al.* (2006b) aponta que dextrina de trigo e polidextrose aumentaram a viabilidade celular de *Lactobacillus rhamnosus* durante o processo de liofilização. Khalf *et al.* (2010) simularam o trato gastrointestinal humano e observaram que o extrato de *maple* contendo inulina promoveu maior sobrevivência das bactérias *Bifidobacterium lactis* e *Lactobacillus rhamnosus* durante a passagem pelo trato gastrointestinal comparado ao extrato sem adição de inulina.

Bruno *et al.* (2002) reportaram que a adição dos prebióticos inulina e lactulose reduziram o tempo de duplicação populacional de bifidobactérias durante a fermentação de leite. Shin *et al.* (2000) avaliaram o efeito de 3 prebióticos (FOS, GOS e inulina) sobre 2 cepas de bifidobactérias e os autores reportaram que todos os 3 prebióticos diminuíram o tempo de duplicação populacional de ambas as cepas, porém o FOS foi o mais eficiente, apresentando efeito positivo sobre o crescimento das bifidobactérias em concentrações menores que as concentrações requeridas pelos demais prebióticos analisados.

Já o estudo clínico feito com mulheres por Kiessling *et al.* (2002) aponta que o iogurte simbiótico reduziu significativamente o pH das fezes. De acordo com Parvez *et al.* (2006), a redução do pH intestinal auxilia na inibição do crescimento de espécies patogênicas invasoras. Além disso, a redução do pH aumenta a solubilidade dos minerais, potencializando assim a sua absorção (COUDRAY *et al.*, 2003). O estudo clínico feito por Gotteland *et al.* (2010) indica que o consumo de uma bebida láctea simbiótica reduziu significativamente a frequência de fezes muito duras em indivíduos acometidos por constipação, aliviando assim o sintoma dessa desordem.

### 3.2. YACON COMO FONTE DE PREBIÓTICO

O yacon (*Smallanthus sonchifolius*) é uma planta originária dos Andes que, devido à sua composição química, tem sido considerada como alimento funcional.

Enquanto a maioria dos tubérculos e raízes tuberosas acumulam carboidratos na forma de amido, o yacon acumula em suas raízes tuberosas (FIGURA 1) carboidrato na forma de FOS, sendo encontradas também pequenas quantidades de frutose, glicose e sacarose (SANTANA e CARDOSO, 2008; RODRIGUES *et al.*, 2012). Os cultivares de yacon podem ser distinguidos a partir da coloração de sua polpa e da sua casca, podendo ser roxo, branco ou amarelo (GRAEFE *et al.*, 2004).

O estudo feito por Pedreschi *et al.* (2003) mostra que o FOS do extrato de yacon é uma fonte de carbono fermentescível pelas as cepas probióticas *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum* e *Bifidobacterium bifidum*.

A composição centesimal do yacon pode ser observada na TABELA 1. O teor de FOS, porém, sofre redução após a colheita. O estudo da fisiologia pós-colheita da raiz de yacon feita por Graefe *et al.* (2004) aponta que ao longo do armazenamento há redução do teor de FOS e aumento do teor de glicose e frutose de maneira dependente do cultivar. Lachman *et al.* (2004) analisaram também os carboidratos do yacon e encontraram que o cultivar e a safra variam significativamente o teor de cada carboidrato.



FIGURA 1 – RAIZ TUBEROSA DE YACON ÍNTEGRA E DESCASCADA  
FONTE: O AUTOR (2013)

O yacon é popularmente utilizado no tratamento de diabete, por reduzir o índice glicêmico de refeições. Alimentos com baixo índice glicêmicos são recomendados a portadores de diabete pois apresentam lenta absorção e aumentam gradativamente a glicose, evitando oscilações bruscas no nível sérico de glicose e insulina (OLIVEIRA *et al.*, 2009; TEIXEIRA *et al.*, 2009). Teixeira *et al.* (2009) adicionaram yacon ao suco de laranja industrial e concluíram que a adição de 15% de yacon não foi sensorialmente percebida pelos provadores e que o grupo tratado com suco enriquecido com yacon não apresentou pico glicêmico, ao contrário do grupo tratado com o suco convencional.

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DO YACON *IN NATURA*

| <b>Componente</b>                             | <b>Teor (%)</b> |
|---|-----------------|
| Umidade                                       | 88,68           |
| Cinzas  | 0,34            |
| Lipídeos                                      | 0,07            |
| Proteínas                                     | 0,26            |
| Fibra Alimentar                               | 6,88            |
| Açúcares redutores (expresso em glicose)      | 2,86            |
| Açúcares não redutores (expresso em sacarose) | 6,18            |

FONTE: KOTOVICZ (2011)

O yacon pode ser consumido tanto *in natura* como processado (SANTANA e CARDOSO, 2008). O estudo feito por Silva (2004) visou a elaboração do suco feito a partir de yacon e pêssigo, enquanto que Lago (2010) estudou a concentração do suco de yacon. Já Michels (2005) estudou a raiz de yacon minimamente processada armazenada em atmosfera modificada.

Moscatto *et al.* (2004) desenvolveram um bolo de chocolate substituindo parcialmente a farinha de trigo por farinha de yacon e inulina. A farinha de yacon foi estudada também por Lobo *et al.* (2007), porém o estudo foi voltado para os benefícios que a inclusão da farinha de yacon na dieta de ratos proporciona. Os autores apontam que houve maior absorção de cálcio e magnésio, maior balanço de cálcio, maior concentração de cálcio presente no fêmur e na tíbia e maior número de criptas presentes no ceco dos animais tratados com a farinha de yacon. Campos *et al.* (2012) também estudaram os efeitos da suplementação de farinha de yacon na

dieta e observaram que em porcos houve aumento da população de bifidobactérias e lactobacilos assim como maior teor de SCFA no ceco dos animais tratados com farinha de yacon.

### 3.3. PROCESSAMENTO DE SUCO

#### 3.3.1. Branqueamento

O branqueamento físico consiste em um tratamento térmico que visa inativar enzimas que causam degradação do produto, tais como lipoxigenase, polifenol oxidase (PPO do inglês *polyphenol oxidase*), poligalacturonase, ácido ascórbico oxidase, catalase clorofilase, entre outros. A inativação ineficiente destas enzimas pode ocasionar odores indesejáveis, rancidez, alterações na textura e na cor dos alimentos estocados. Além disso, o branqueamento físico contribui para reduzir a carga microbiana, amolecer os tecidos vegetais e promover exaustão dos gases intracelulares (RAMASWAMY, 2004; FELLOWS, 2006; DAMODARAN *et al.*, 2010).

É importante estabelecer o binômio tempo-temperatura para que as enzimas sejam inativadas sem que ocorra perda da qualidade dos vegetais. O processo de branqueamento pode levar a uma perda de vitaminas, desnaturação de proteínas, alteração da membrana, gelatinização de amido e alteração do aroma e do sabor (FELLOWS, 2006; OKE e PALIYATH, 2006).

Os fatores que afetam o branqueamento físico são: temperatura do meio de aquecimento, o tempo de exposição, tamanho e forma do alimento, condutividade térmica do alimento e o tipo de branqueamento aplicado. O corte do alimento auxilia no processo de branqueamento, pois a redução do tamanho do alimento aumenta a relação área/volume, aumentando assim a taxa de aquecimento. Além disso, o corte melhora a eficiência da extração do suco (FELLOWS, 2006).

A enzima PPO é responsável pelo escurecimento enzimático dos alimentos. Tal enzima possui seu sítio ativo contendo cobre, sua faixa de pH ótimo em frutas e hortaliças se situa entre 4,0 e 7,0 e sua faixa ótima de temperatura encontra-se entre 30°C e 50°C, porém apresenta alta estabilidade térmica. O escurecimento

enzimático ocorre pela ação da enzima sobre compostos fenólicos (tais como catecol, ácido cafeico, ácido clorogênico, tirosina, epicatequina, entre outros) e  $O_2$  formando o-quinona. A o-quinona por sua vez sofre condensação e conjugação com aminas e proteínas formando diversos produtos poliméricos de cor marrom-avermelhado denominados “melaninas”. O ácido ascórbico possui efeito duplo como inibidor do escurecimento enzimático ao reduzir a o-quinona, retardando assim a formação das melaninas, ao mesmo tempo que inativa a enzima PPO ao degradar seu sítio ativo e liberar o cobre nele presente (NIP, 2006; DAMODARAN *et al.*, 2010).

O estudo feito por Campos *et al.* (2012) apontou que o yacon possui de 7,9 a 30,8 mg de compostos fenólicos expressos em ácido clorogênico por grama de extrato seco, enquanto que Castro *et al.* (2012) reportaram que *chips* desidratados de yacon possuem de 6,8 a 10,1 mg de compostos fenólicos expressos em ácido gálico por grama de *chips*. Já Quinteros (2000) reportou a presença de 410 a 472 mg de compostos fenólicos expressos em catecol por quilograma de yacon. Entre os compostos fenólicos presentes no yacon, já foram identificados o triptofano, ácido caféico, ácido ferrúlico, ácido clorogênico, derivados do ácido clorogênico e isômeros do ácido dicafeoil-quinico (SIMONOVSKA *et al.*, 2003; CAMPOS *et al.*, 2012).

Além da presença de compostos fenólicos, o yacon apresenta a enzima PPO, o que o torna suscetível ao escurecimento enzimático. Quinteros (2000) reportou que durante o processamento do suco de yacon, este rapidamente apresentou escurecimento, passando de sua coloração amarela normal para a cor verde, seguida de preta. Os autores Quinteros (2000) e Scher (2009) estudaram a inativação da enzima presente no yacon através do branqueamento físico empregando vapor d'água. Quinteros (2000) reportou que após 5, 10 e 20 minutos de branqueamento a enzima apresentava ainda 26%, 18% e 19% de atividade residual, respectivamente. Já Scher (2009) observou que mesmo após 10 minutos de branqueamento a atividade enzimática residual era de 12,7%.

### 3.3.2. Crioconcentração

A retirada parcial de água é um processo empregado para aumentar a estabilidade do alimento ao reduzir sua atividade de água e para reduzir o volume e massa do alimento economizando assim energia e custos em demais operações como armazenamento, transporte e distribuição (McLELLAN e PADILLA-ZAKOUR, 2004; FELLOWS, 2006).

O emprego de calor, embora apresente maior eficiência de retirada de água, leva a uma perda de compostos mais voláteis que a água, alterando as características sensoriais do produto (FELLOWS, 2006). A crioconcentração é uma possível técnica de concentração que apresenta a vantagem de manter a qualidade nutricional e os compostos voláteis do produto por não empregar baixa pressão nem altas temperaturas. Neste processo, a solução é congelada e durante o descongelamento a solução concentrada é separada da massa de gelo por gravitação forçada. Nessa condição, o bloco de gelo torna-se uma carcaça pela qual a solução concentrada passa, ficando apenas uma pequena quantidade de soluto retida entre os cristais de gelo (AIDER e HALLEUX, 2009). Esta técnica é possível pois durante o congelamento a água transforma-se em gelo puro, aumentando a concentração dos solutos na fase líquida devido a quantidade decrescente de água disponível como solvente (HORVÁTH-KERKAI, 2006; REID e FENNEMA, 2010).

Devido a essa característica, os alimentos não congelam a uma temperatura fixa e sim em uma faixa de temperatura. A maioria dos alimentos começa a congelar a temperatura de  $-1^{\circ}\text{C}$  a  $-3^{\circ}\text{C}$ , sendo que a maior mudança de fase ocorre na faixa de  $-4^{\circ}\text{C}$  a  $-10^{\circ}\text{C}$ . É considerado o congelamento completo dos alimentos somente em temperaturas abaixo de  $-40^{\circ}\text{C}$  (SINGH, 1986).

Aider e Halleux (2008) utilizaram a técnica de crioconcentração para concentrar os sucos de cereja e de damasco. Foi observado no estudo destes autores que a técnica pode ser utilizada repetidamente para aumentar gradativamente o teor de sólidos totais do suco e que as temperaturas de congelamento ( $-10^{\circ}\text{C}$  e  $-20^{\circ}\text{C}$ ) não influenciaram na eficiência do processo. Outros autores têm reportado o uso da crioconcentração em produtos alimentícios, tais como Aider *et al.* (2007), que crioconcentraram soro de leite, e Wiecheteck *et al.* (2005) que empregaram a técnica em suco de maçã para a produção de sidra.

### 3.3.3. Fermentação

A fermentação é um processo bioquímico no qual os compostos orgânicos são apenas parcialmente oxidados para a liberação de energia, gerando substâncias mais simples a partir da quebra destes compostos. Os alimentos fermentados possuem *shelf life* superior àquele apresentado por sua matéria-prima devido à maior acidez e menor disponibilidade de nutriente, possuindo também aroma e sabor característico resultante da ação dos micro-organismos envolvidos na fermentação (JAY, 2005; TUCKER, 2008). O processo é afetado por diversos fatores, tais como disponibilidade de nutriente, pH, temperatura, umidade, potencial de oxi-redução, presença de micro-organismos competidores, entre outros (FELLOWS, 2006).

O produto fermentado apresenta mudanças em seus atributos sensoriais. Ocorre produção de diversos compostos voláteis responsáveis pelo aroma, tais como aminas, ácidos graxos, aldeídos, ésteres e cetonas. O sabor apresenta-se menos doce e mais ácido pela produção de ácidos orgânicos a partir dos carboidratos (FELLOWS, 2006).

As bifidobacterias produzem grandes quantidades de ácido acético e ácido láctico. Em pequenas quantidades, o ácido acético pode oferecer influência positiva sobre o aroma, porém em concentração elevada pode gerar odor desagradável (CRUZ *et al.*, 2011c). O trabalho feito por Luckow *et al.* (2006) mostra que a adição de frutas tropicais (abacaxi, manga e maracujá) ao suco de laranja probiótico mascarou os odores desagradáveis associados aos probióticos. Os autores reportaram também que a exposição contínua do produto probiótico ao consumidor e informações sobre os benefícios à saúde promovidos pelos probióticos aumentaram a aceitação do suco de laranja probiótico sem a adição das frutas tropicais.

### 3.3.4. Embalagem

O *shelf life* é um indicativo do período de estabilidade do alimento embalado frente às agressões ambientais, tais como insetos, micro-organismos, luz, oxigênio, umidade, entre outros. Durante esse período, o alimento deve manter sua qualidade nutricional, microbiológica e sensorial. (FARIA *et al.*, 2011).

A embalagem adotada deve levar em consideração o custo, o impacto ambiental e as características tecnológicas de cada material. Embalagens de vidro, metal e laminadas com alumínio são barreiras mais eficientes ao oxigênio, sendo que a permeação ocorre na região de fechamento destes tipos de embalagem, enquanto que as embalagens plásticas são permeáveis ao oxigênio, sendo a permeabilidade dependente do tipo de plástico (FARIA *et al.*, 2011).

No caso dos probióticos, a adequação do sistema de armazenamento é mais complexo pois ele deve inibir o desenvolvimento das bactérias deteriorantes ao mesmo tempo que permite a viabilidade das bactérias probióticas. O oxigênio é tóxico às bifidobactérias pela ausência da cadeia transportadora de elétrons e da enzima catalase na bactéria, responsável pela quebra do peróxido de hidrogênio, logo na falta desta enzima há acúmulo do peróxido e formação de radicais tóxicos à bactéria. Algumas cepas de bifidobactéria, porém, são consideradas aerotolerantes por apresentarem enzimas que reduzem o efeito dos metabólitos oxigenados, tais como peróxido de hidrogênio, superóxido e radical hidroxila (CRUZ *et al.*, 2007; FARIA *et al.*, 2011).

Embalagens de vidro possuem vantagens tais como inércia química, resistência ao calor e transparência, porém é mais pesada e pode quebrar por choque térmico (McLELLAN e PADILLA-ZAKOUR, 2004).

Embalagens de plástico apresentam uma vasta variedade de polímeros. Estas embalagens possuem vantagens como leveza e baixo custo, porém apresentam maior permeabilidade, o que pode levar a um menor tempo de prateleira do produto. Além disso, há a preocupação de que não ocorra interação físico-química do alimento com a embalagem plástica, tais como migração de componentes da embalagem ao alimento ou absorção do aroma do alimento pelo plástico (McLELLAN e PADILLA-ZAKOUR, 2004).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. ELABORAÇÃO DO SUCO

A elaboração do suco foi feita conforme fluxograma ilustrado na FIGURA 2.

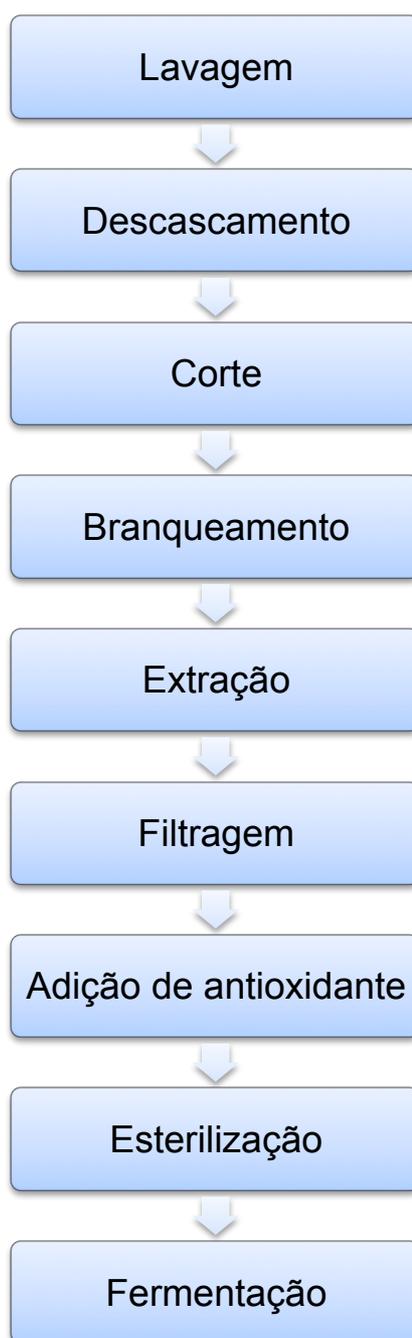


FIGURA 2 – ETAPAS DOS PROCESSOS DE OBTENÇÃO DO SUCO DE YACON  
FONTE: O AUTOR (2013)

#### 4.1.1. Matéria-prima

O yacon foi obtido do comércio local de Curitiba-PR, proveniente sempre do mesmo fornecedor. Neste trabalho foi utilizada a variedade que apresenta coloração roxa em sua casca. As raízes foram mantidas sob refrigeração a 7 °C por até 7 dias até que fossem processadas.

#### 4.1.2. Lavagem, descascamento e corte

As raízes foram lavadas em água corrente e descascadas manualmente com o auxílio de um descascador, retirando o mínimo possível do conteúdo vegetal. Em seguida, as raízes foram fatiadas em rodela transversais de aproximadamente 0,2 a 0,3 cm de espessura com o auxílio do processador de alimentos Skymesen PA-7SE (KOTOVICZ, 2011).

#### 4.1.3. Branqueamento

O processo de branqueamento descrito por Quinteros (2000) e Silva (2004) foi otimizado e utilizado neste trabalho. As fatias de yacon foram imersas em uma solução de ácido ascórbico 0,5% (m/v) e branqueadas a vapor por 6 minutos, conforme resultados obtidos do estudo da estabilidade da cor (4.2).

#### 4.1.4. Extração, filtração e adição de antioxidante

As raízes tuberosas foram processadas em liquidificador com água mineral em proporção m/v de 2:1 durante 1 minuto. O suco foi filtrado em gaze e algodão e a porção retida foi descartada.

Ao suco extraído e filtrado foi adicionado ácido ascórbico na concentração de 0,2% (m/v) conforme resultado obtido no estudo da estabilidade da cor (4.2).

#### 4.1.5. Concentração do suco

A crioconcentração foi feita de acordo com o trabalho de Wiecheteck *et al.*, (2005). O suco foi congelado em formas de alumínio dispostas entre placas de isopor e mantido a -16 °C por 24 horas. O suco congelado foi cortado em placas menores e disposto dentro de um saco de tecido. O saco foi centrifugado e o líquido concentrado escoado foi recuperado e o gelo retido foi descartado após as análises.

O processo foi repetido sucessivamente 4 vezes, sendo analisado o teor de sólidos solúveis totais do suco concentrado e do gelo retido no processo com o auxílio do refratômetro RL3 da marca Polskie Zakłady Optyczne.

#### 4.1.6. Preparo do inóculo

A espécie utilizada neste trabalho foi a *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* (cepa BB-12, Chr. Hansen). Dois meios foram utilizados para reativar a cepa, baseado no trabalho de Neves (2005):

-Suco de yacon

-Leite desnatado reconstituído 10% (m/v)

Um volume de 500 mL de ambos os meios foi esterilizados em autoclave a 121 °C por 15 minutos. Os meios estéreis receberam 1 g da cepa liofilizada e foram mantidos em estufa a 37 °C por 18 horas em jarras de anaerobiose. Após o período

de incubação foi realizada a contagem do número de células viáveis de cada meio, conforme descrito no subitem 4.4. Em seguida o meio foi mantido sob refrigeração a 7 °C por até 7 dias até que fossem utilizados como pé de cuba da fermentação. Após o período de 7 dias, uma nova contagem do número de bactérias viáveis foi realizada.

#### 4.1.7. Inoculação e fermentação

Foram estudadas três mostos para a cepa probiótica:

- Grupo 1: suco de yacon 6° Brix
- Grupo 2: suco de yacon 12° Brix
- Grupo 3: leite integral UHT

O teor de sólidos solúveis totais do suco de yacon foi corrigido com água mineral ou com suco crioconcentrado para atingir o valor pré-determinado. Os sucos foram esterilizados em autoclave a 121° C por 15 minutos para evitar a interferência de contaminantes.

A cada grupo foi adicionado uma quantidade suficiente do respectivo pé de cuba para que a concentração inicial de bactérias viáveis fosse de  $1.10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> (SHEEHAN *et al.*, 2007).

O leite foi fermentado a 45°C, enquanto os sucos de yacon a 6° Brix e 12° Brix foram fermentados a 35°C e a 45°C, conforme especificações do fabricante da cepa bacteriana, durante 10 horas. Foram analisados a acidez titulável, o pH e o número de bactérias viáveis a cada 2 horas durante o processo.

#### 4.1.8. Embalagem e armazenamento

Uma amostra de cada matriz foi envasada logo após a adição do pé de cuba (tempo 0) e após as 10 horas de fermentação (tempo 10). As amostras foram envasadas em recipientes de vidro e plástico (polipropileno) estéreis e mantidos sob

refrigeração a 7°C por 28 dias. A cada 7 dias o número de bactérias viáveis foi avaliado e no 28º dia foram determinados o pH e a acidez titulável.

#### 4.2. ESTABILIDADE DA COR

A estabilidade da cor foi estudada pelo planejamento experimental 3<sup>3</sup> completo em triplicata a partir da combinação de 3 tratamentos, totalizando 27 experimentos. Os níveis de cada tratamento podem ser observado na TABELA 2 e os tratamentos que cada um dos 27 experimentos recebeu pode ser observado na TABELA 3.

Os 3 tratamentos empregados foram:

-Pré-tratamento: imersão das fatias de yacon em solução de ácido ascórbico em diferentes concentrações (m/v) durante 5 minutos. Foi utilizado o volume de 1 L de solução de ácido ascórbico para imergir uma massa não superior a 500 g de yacon descascado e fatiado.

-Branqueamento: exposição das fatias de yacon ao vapor de água a pressão ambiente (aproximadamente 97°C) por tempos diferentes.

-Adição de ácido ascórbico diretamente ao suco processado em concentrações (m/v) diferentes.

Todas as amostras foram mantidas em estufa a 25°C durante 72 horas, sendo a cor avaliada a cada 24 horas com o auxílio do espectrofotômetro Hunterlab modelo Miniscan XE, expressa nos parâmetros de cor L\* (indicando luminosidade, variando entre 0 [preto] e 100 [branco]), a\* (variando entre -60 [verde] e +60 [vermelho]) e b\* (variando entre -60 [azul] e +60 [amarelo]), de acordo com Silva (2004).

TABELA 2 - VALORES DECODIFICADOS ATRIBUÍDOS AOS NÍVEIS -1, 0 E +1 DAS 3 VARIÁVEIS DO ESTUDO DA ESTABILIDADE DA COR DO SUCO DE YACON

| Variáveis   | Níveis |     |     |
|---|--------|-----|-----|
|   | -1     | 0   | +1  |
| Concentração da solução do pré-tratamento (% m/v) | 0      | 0,5 | 1   |
| Tempo de branqueamento (min)                      | 0      | 3   | 6   |
| Adição de ácido ascórbico ao suco (% m/v)         | 0      | 0,2 | 0,4 |

FONTE: O AUTOR (2013)

TABELA 3 - NÍVEIS CODIFICADOS DOS EXPERIMENTOS REALIZADOS PARA A ANÁLISE DA ESTABILIDADE DA COR DO SUCO DE YACON

| Experimento | Variáveis      |               |                           |
|-------------|----------------|---------------|---------------------------|
|             | Pré-tratamento | Branqueamento | Adição de ácido ascórbico |
| 1           | -1             | -1            | -1                        |
| 2           | -1             | -1            | 0                         |
| 3           | -1             | -1            | +1                        |
| 4           | -1             | 0             | -1                        |
| 5           | -1             | 0             | 0                         |
| 6           | -1             | 0             | +1                        |
| 7           | -1             | +1            | -1                        |
| 8           | -1             | +1            | 0                         |
| 9           | -1             | +1            | +1                        |
| 10          | 0              | -1            | -1                        |
| 11          | 0              | -1            | 0                         |
| 12          | 0              | -1            | +1                        |
| 13          | 0              | 0             | -1                        |
| 14          | 0              | 0             | 0                         |
| 15          | 0              | 0             | +1                        |
| 16          | 0              | +1            | -1                        |
| 17          | 0              | +1            | 0                         |
| 18          | 0              | +1            | +1                        |
| 19          | +1             | -1            | -1                        |
| 20          | +1             | -1            | 0                         |
| 21          | +1             | -1            | +1                        |
| 22          | +1             | 0             | -1                        |
| 23          | +1             | 0             | 0                         |
| 24          | +1             | 0             | +1                        |
| 25          | +1             | +1            | -1                        |
| 26          | +1             | +1            | 0                         |
| 27          | +1             | +1            | +1                        |

FONTE: O AUTOR (2013)

#### 4.3. pH E ACIDEZ TITULÁVEL

O pH foi mensurado pelo método eletrométrico, conforme Instituto Adolfo Lutz (2008) utilizando o pHmetro Accumet Excel XL25.

A produção de acidez ao longo da fermentação foi mensurada pelo método titulométrico de acordo com Klewicka *et al.* (2004). Os mostos foram tituladas com solução 0,1 N de NaOH e o valor expresso em gramas de ácido láctico por litro de meio fermentado, descontando-se o valor inicial.

#### 4.4. CONTAGEM DE BACTÉRIAS VIÁVEIS

Para a contagem das bactérias viáveis, 1mL da amostra foi diluída em 9mL de água peptonada 1% (m/v) estéril sucessivamente para que a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) se enquadrasse dentro da faixa 25-250 UFC por placa de Petri (CAPELA *et al.*, 2006).

Após a diluição seriada, 1mL da solução foi inoculada em placa de Petri por *pour plate* conforme técnica descrita por Silva *et al.* (1997). O meio de cultura utilizado foi o ágar de Mann, Rogosa e Sharpe (MRS) suplementado com 0,05% de L-cisteína e a placa incubada em jarra de anaerobiose a 37°C por 72 horas para posterior contagem de UFC.mL<sup>-1</sup> presente na amostra, conforme estudo feito por Shah (2000) e Capela *et al.* (2006).

#### 4.5. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados foram expressos na forma média aritmética  $\pm$  desvio padrão. O teste de Duncan foi aplicado sobre a análise de estabilidade da cor para observar diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os resultados obtidos e os controles positivo (experimento 27) e negativo (experimento 1) em cada dia respectivo. O teste de Duncan foi realizado com o auxílio do software Statistica. Os gráficos de superfície

de resposta referentes a análise de estabilidade de cor foram feitos com o auxílio do software Statistica. Gráficos referentes às análises de teor de sólidos solúveis totais, contagem de viabilidade celular, pH e acidez titulável foram feito com o auxílio do software Microsoft Excel 2011.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. ESTABILIDADE DA COR

Os resultados obtidos dos parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  do suco de yacon submetido a diferentes tratamentos estão descritos nas TABELAS 4, 5 e 6, respectivamente. Os dados foram analisados comparando-os com os resultados obtidos dos experimentos 1 (controle negativo) e 27 (controle positivo).

O efeito das variáveis pré-tratamento, branqueamento físico e adição de antioxidante sobre os parâmetros de cor nos dias 0 e 3 estão ilustrados nas FIGURAS de 3 a 20.

O valor de p de cada variável sobre os parâmetros de cor nos dias 0 e 3 estão descritos na TABELA 7.

TABELA 4 - PARÂMETRO DE COR L\* DO SUCO DE YACON SUBMETIDO A DIFERENTES TRATAMENTOS PARA ESTABILIZAR A COR

| Experimento | Dia                     |                         |                         |                         |
|-------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|             | 0                       | 1                       | 2                       | 3                       |
| 1           | 3,03±0,58 <sup>a</sup>  | 7,47±1,98 <sup>a</sup>  | 15,22±3,05 <sup>a</sup> | 14,78±3,00 <sup>a</sup> |
| 2           | 22,37±1,69              | 26,43±0,75              | 30,18±0,50              | 31,85±0,80              |
| 3           | 23,80±0,76              | 27,20±0,68              | 29,86±1,72              | 31,80±0,64              |
| 4           | 8,68±1,42               | 6,23±2,21 <sup>a</sup>  | 13,23±3,30 <sup>a</sup> | 15,94±4,74 <sup>a</sup> |
| 5           | 24,80±0,60              | 26,34±0,75              | 28,36±0,67              | 29,04±1,52              |
| 6           | 24,42±0,61              | 26,73±1,07              | 28,37±1,53              | 29,76±2,30              |
| 7           | 16,05±2,41              | 9,70±1,50 <sup>a</sup>  | 16,68±2,37 <sup>a</sup> | 17,42±1,29 <sup>a</sup> |
| 8           | 31,15±0,62              | 32,67±1,44              | 35,86±1,92 <sup>b</sup> | 36,43±2,15 <sup>b</sup> |
| 9           | 30,43±0,90              | 32,08±1,81              | 33,84±1,42              | 34,27±1,00              |
| 10          | 24,57±0,20              | 22,17±0,37              | 24,38±1,59              | 29,49±1,28              |
| 11          | 30,03±0,73              | 30,27±1,65              | 33,65±2,31              | 35,16±1,27              |
| 12          | 30,51±1,68              | 30,65±2,53              | 34,04±0,84              | 33,20±1,70              |
| 13          | 31,57±1,08 <sup>b</sup> | 28,98±1,32              | 31,79±1,39              | 33,55±2,73              |
| 14          | 35,42±1,40 <sup>b</sup> | 36,58±1,25 <sup>b</sup> | 36,80±1,33 <sup>b</sup> | 40,40±2,31 <sup>b</sup> |
| 15          | 35,77±1,42 <sup>b</sup> | 37,13±1,60 <sup>b</sup> | 37,79±2,24 <sup>b</sup> | 38,81±3,01 <sup>b</sup> |
| 16          | 28,79±1,06              | 28,03±1,27              | 32,66±1,67              | 35,10±0,80              |
| 17          | 35,56±0,88 <sup>b</sup> | 36,49±2,31 <sup>b</sup> | 37,41±3,03 <sup>b</sup> | 38,89±2,85 <sup>b</sup> |
| 18          | 36,12±0,85 <sup>b</sup> | 38,10±1,89 <sup>b</sup> | 40,27±1,45 <sup>b</sup> | 41,47±2,20 <sup>b</sup> |
| 19          | 26,86±1,64              | 26,97±5,58              | 32,40±5,24              | 34,72±6,75              |
| 20          | 30,52±0,74              | 31,12±1,61              | 34,07±2,10              | 36,45±1,27 <sup>b</sup> |
| 21          | 31,53±0,57 <sup>b</sup> | 32,12±0,49              | 33,37±1,64              | 35,06±1,45              |
| 22          | 34,24±1,88 <sup>b</sup> | 34,40±1,72 <sup>b</sup> | 36,67±1,30 <sup>b</sup> | 37,78±1,68 <sup>b</sup> |
| 23          | 36,18±0,94 <sup>b</sup> | 36,73±0,89 <sup>b</sup> | 37,27±0,43 <sup>b</sup> | 37,99±1,29 <sup>b</sup> |
| 24          | 36,53±1,55 <sup>b</sup> | 37,32±1,70 <sup>b</sup> | 37,81±1,65 <sup>b</sup> | 38,64±1,62 <sup>b</sup> |
| 25          | 31,37±0,31              | 33,59±0,99 <sup>b</sup> | 37,97±2,53 <sup>b</sup> | 39,69±1,31 <sup>b</sup> |
| 26          | 35,82±0,60 <sup>b</sup> | 36,51±0,94 <sup>b</sup> | 38,18±1,12 <sup>b</sup> | 39,88±0,58 <sup>b</sup> |
| 27          | 36,06±1,04 <sup>b</sup> | 37,37±1,26 <sup>b</sup> | 38,68±1,55 <sup>b</sup> | 39,88±1,76 <sup>b</sup> |

FONTE: O AUTOR (2013)

<sup>a</sup>DADOS ESTATISTICAMENTE IGUAIS AO EXPERIMENTO 1 EM SEU RESPECTIVO DIA (P<0,05)<sup>b</sup>DADOS ESTATISTICAMENTE IGUAIS AO EXPERIMENTO 27 EM SEU RESPECTIVO DIA (P<0,05)

TABELA 5 - PARÂMETRO DE COR  $a^*$  DO SUCO DE YACON SUBMETIDO A DIFERENTES TRATAMENTOS PARA ESTABILIZAR A COR

| Experimento | Dias                    |                         |                        |                        |
|-------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|
|             | 0                       | 1                       | 2                      | 3                      |
| 1           | -0,63±1,01 <sup>a</sup> | 4,31±1,27 <sup>ab</sup> | 7,28±1,05 <sup>a</sup> | 8,36±0,94 <sup>a</sup> |
| 2           | 5,74±0,70 <sup>b</sup>  | 3,13±0,44 <sup>ab</sup> | 3,09±1,00 <sup>b</sup> | 3,44±1,31 <sup>b</sup> |
| 3           | 4,85±0,22 <sup>b</sup>  | 3,72±0,37 <sup>ab</sup> | 3,46±1,00 <sup>b</sup> | 3,73±1,51 <sup>b</sup> |
| 4           | -3,87±0,89              | 1,21±2,29 <sup>b</sup>  | 7,95±2,56 <sup>a</sup> | 7,97±1,36 <sup>a</sup> |
| 5           | 4,03±1,23 <sup>b</sup>  | 5,91±1,77 <sup>ab</sup> | 6,38±2,48 <sup>a</sup> | 6,94±2,33 <sup>a</sup> |
| 6           | 4,43±1,46 <sup>b</sup>  | 6,95±2,10 <sup>a</sup>  | 7,48±2,56 <sup>a</sup> | 8,14±2,82 <sup>a</sup> |
| 7           | -4,26±1,88              | 3,47±2,71 <sup>ab</sup> | 8,03±3,72 <sup>a</sup> | 9,75±2,88 <sup>a</sup> |
| 8           | 1,78±0,78 <sup>ab</sup> | 2,54±1,00 <sup>ab</sup> | 2,30±1,27 <sup>b</sup> | 2,51±1,41 <sup>b</sup> |
| 9           | 1,84±1,00 <sup>ab</sup> | 2,97±1,19 <sup>ab</sup> | 2,93±1,18 <sup>b</sup> | 3,35±1,14 <sup>b</sup> |
| 10          | 7,31±0,47               | 7,34±1,62               | 8,42±1,34 <sup>a</sup> | 8,39±1,00 <sup>a</sup> |
| 11          | 5,33±0,27 <sup>b</sup>  | 4,23±0,37 <sup>ab</sup> | 3,44±0,72 <sup>b</sup> | 3,28±0,70 <sup>b</sup> |
| 12          | 5,21±0,70 <sup>b</sup>  | 4,43±0,48 <sup>ab</sup> | 3,64±0,39 <sup>b</sup> | 4,04±0,49 <sup>b</sup> |
| 13          | 2,91±0,48 <sup>b</sup>  | 3,07±0,66 <sup>ab</sup> | 3,23±0,67 <sup>b</sup> | 3,37±1,06 <sup>b</sup> |
| 14          | 2,41±0,58 <sup>b</sup>  | 2,82±0,60 <sup>ab</sup> | 2,37±0,63 <sup>b</sup> | 1,81±0,82 <sup>b</sup> |
| 15          | 2,44±0,92 <sup>b</sup>  | 2,61±0,92 <sup>ab</sup> | 2,27±0,94 <sup>b</sup> | 2,07±0,99 <sup>b</sup> |
| 16          | 2,68±0,83 <sup>b</sup>  | 0,62±0,44 <sup>b</sup>  | 2,87±0,42 <sup>b</sup> | 3,70±0,76 <sup>b</sup> |
| 17          | 2,49±0,63 <sup>b</sup>  | 3,20±0,77 <sup>ab</sup> | 2,93±0,67 <sup>b</sup> | 2,65±0,72 <sup>b</sup> |
| 18          | 2,58±0,64 <sup>b</sup>  | 3,15±0,69 <sup>ab</sup> | 2,77±0,69 <sup>b</sup> | 2,66±0,76 <sup>b</sup> |
| 19          | 5,35±0,17 <sup>b</sup>  | 4,64±1,44 <sup>ab</sup> | 4,27±1,99 <sup>b</sup> | 3,84±1,91 <sup>b</sup> |
| 20          | 4,32±0,81 <sup>b</sup>  | 3,16±0,52 <sup>ab</sup> | 2,50±0,75 <sup>b</sup> | 1,96±0,54 <sup>b</sup> |
| 21          | 4,11±0,79 <sup>b</sup>  | 3,01±0,73 <sup>ab</sup> | 2,46±0,75 <sup>b</sup> | 2,10±0,81 <sup>b</sup> |
| 22          | 3,01±0,11 <sup>b</sup>  | 3,13±0,46 <sup>ab</sup> | 2,70±0,40 <sup>b</sup> | 2,14±0,67 <sup>b</sup> |
| 23          | 2,61±0,49 <sup>b</sup>  | 2,86±0,51 <sup>ab</sup> | 2,41±0,63 <sup>b</sup> | 2,06±0,74 <sup>b</sup> |
| 24          | 2,57±0,28 <sup>b</sup>  | 2,73±0,24 <sup>ab</sup> | 2,45±0,38 <sup>b</sup> | 2,13±0,46 <sup>b</sup> |
| 25          | 3,11±1,04 <sup>b</sup>  | 3,12±0,88 <sup>ab</sup> | 2,63±1,00 <sup>b</sup> | 2,44±1,10 <sup>b</sup> |
| 26          | 2,91±0,65 <sup>b</sup>  | 3,15±0,79 <sup>ab</sup> | 2,74±0,70 <sup>b</sup> | 2,55±0,95 <sup>b</sup> |
| 27          | 3,03±0,68 <sup>b</sup>  | 3,31±0,56 <sup>ab</sup> | 2,80±0,75 <sup>b</sup> | 2,65±1,15 <sup>b</sup> |

FONTE: O AUTOR (2013)

<sup>a</sup>DADOS ESTATISTICAMENTE IGUAIS AO EXPERIMENTO 1 EM SEU RESPECTIVO DIA (P<0,05)<sup>b</sup>DADOS ESTATISTICAMENTE IGUAIS AO EXPERIMENTO 27 EM SEU RESPECTIVO DIA (P<0,05)

TABELA 6 - PARÂMETRO DE COR b\* DO SUCO DE YACON SUBMETIDO A DIFERENTES TRATAMENTOS PARA ESTABILIZAR A COR

| Experimento | Dia                     |                          |                          |                          |
|-------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|             | 0                       | 1                        | 2                        | 3                        |
| 1           | 2,82±1,08 <sup>a</sup>  | 10,26±1,69 <sup>ab</sup> | 17,32±2,08 <sup>ab</sup> | 18,54±2,42 <sup>ab</sup> |
| 2           | 26,02±1,15              | 27,34±2,62               | 29,54±2,22               | 31,46±1,43               |
| 3           | 24,84±1,07              | 27,67±2,54               | 28,21±1,31               | 30,14±1,14               |
| 4           | 4,58±1,29 <sup>a</sup>  | 5,01±3,22                | 14,99±3,10 <sup>ab</sup> | 14,26±2,81 <sup>ab</sup> |
| 5           | 22,69±2,12 <sup>b</sup> | 25,04±1,36               | 25,57±2,01               | 27,41±0,62               |
| 6           | 22,35±1,97 <sup>b</sup> | 25,49±1,16               | 26,73±1,09               | 28,39±1,59               |
| 7           | 10,41±2,30 <sup>b</sup> | 11,96±2,88 <sup>ab</sup> | 17,90±5,38 <sup>ab</sup> | 20,37±4,79 <sup>ab</sup> |
| 8           | 18,81±3,15 <sup>b</sup> | 20,51±4,40 <sup>b</sup>  | 20,50±4,77 <sup>ab</sup> | 20,99±4,65 <sup>ab</sup> |
| 9           | 19,69±3,53 <sup>b</sup> | 21,32±4,21 <sup>b</sup>  | 21,52±4,68 <sup>ab</sup> | 22,35±5,72 <sup>ab</sup> |
| 10          | 18,10±1,01 <sup>b</sup> | 25,19±4,74               | 28,10±2,71               | 27,54±2,48               |
| 11          | 14,05±0,57 <sup>b</sup> | 16,17±0,50 <sup>ab</sup> | 15,97±1,15 <sup>ab</sup> | 16,22±0,36 <sup>ab</sup> |
| 12          | 14,06±0,75 <sup>b</sup> | 15,05±0,70 <sup>ab</sup> | 15,80±1,81 <sup>ab</sup> | 16,43±1,68 <sup>ab</sup> |
| 13          | 16,40±1,72 <sup>b</sup> | 21,69±0,60 <sup>b</sup>  | 23,94±1,41               | 24,07±1,37 <sup>a</sup>  |
| 14          | 16,30±1,70 <sup>b</sup> | 16,33±1,49 <sup>ab</sup> | 16,15±1,77 <sup>ab</sup> | 16,57±1,14 <sup>ab</sup> |
| 15          | 16,73±1,47 <sup>b</sup> | 15,69±1,78 <sup>ab</sup> | 15,20±1,73 <sup>ab</sup> | 15,65±1,47 <sup>ab</sup> |
| 16          | 16,96±1,02 <sup>b</sup> | 21,57±1,29 <sup>b</sup>  | 25,58±0,89               | 26,74±0,35               |
| 17          | 15,88±1,58 <sup>b</sup> | 16,85±0,68 <sup>b</sup>  | 16,37±0,54 <sup>ab</sup> | 16,24±0,39 <sup>ab</sup> |
| 18          | 16,12±1,55 <sup>b</sup> | 16,42±1,25 <sup>ab</sup> | 16,72±1,35 <sup>ab</sup> | 17,27±1,48 <sup>ab</sup> |
| 19          | 15,65±1,59 <sup>b</sup> | 21,04±4,86 <sup>b</sup>  | 22,77±6,73 <sup>a</sup>  | 23,62±6,96 <sup>a</sup>  |
| 20          | 13,47±0,93 <sup>b</sup> | 15,10±2,19 <sup>ab</sup> | 15,24±1,36 <sup>ab</sup> | 14,03±1,89 <sup>ab</sup> |
| 21          | 13,00±0,72 <sup>b</sup> | 13,97±1,63 <sup>ab</sup> | 13,41±0,87 <sup>ab</sup> | 14,03±1,57 <sup>ab</sup> |
| 22          | 17,77±2,70 <sup>b</sup> | 18,50±2,06 <sup>b</sup>  | 18,18±2,62 <sup>ab</sup> | 17,91±2,17 <sup>ab</sup> |
| 23          | 17,30±2,43 <sup>b</sup> | 17,17±2,56 <sup>b</sup>  | 16,65±3,23 <sup>ab</sup> | 16,88±2,67 <sup>ab</sup> |
| 24          | 17,63±2,27 <sup>b</sup> | 16,85±2,46 <sup>b</sup>  | 16,69±2,98 <sup>ab</sup> | 16,63±2,53 <sup>ab</sup> |
| 25          | 17,80±1,62 <sup>b</sup> | 17,42±0,76 <sup>b</sup>  | 17,09±0,96 <sup>ab</sup> | 16,90±1,09 <sup>ab</sup> |
| 26          | 16,74±1,28 <sup>b</sup> | 16,16±0,57 <sup>b</sup>  | 15,99±0,97 <sup>ab</sup> | 15,75±1,33 <sup>ab</sup> |
| 27          | 16,61±1,39 <sup>b</sup> | 15,86±0,71 <sup>ab</sup> | 16,00±0,93 <sup>ab</sup> | 16,35±1,09 <sup>ab</sup> |

FONTE: O AUTOR (2013)

<sup>a</sup>DADOS ESTATISTICAMENTE IGUAIS AO EXPERIMENTO 1 EM SEU RESPECTIVO DIA (P<0,05)<sup>b</sup>DADOS ESTATISTICAMENTE IGUAIS AO EXPERIMENTO 27 EM SEU RESPECTIVO DIA (P<0,05)

Pode ser observado nas TABELAS 4 e 5 que as amostras de suco submetidas apenas ao tratamento térmico (experimentos 4 e 7) apresentaram escurecimento enzimático logo após a extração do suco, evidenciado pelos baixos valores de  $L^*$  e  $a^*$  comparados ao experimento 27 no dia 0. Pode-se observar também que as amostras 4 e 7 apresentaram comportamento semelhante ao controle negativo ao longo dos 3 dias, visto pelos dados estatisticamente iguais ao experimento 1 para os valores de  $L^*$  nos dias 1, 2 e 3 (TABELA 4). Esse resultado está de acordo com trabalhos publicados anteriormente sobre o branqueamento do yacon. Quinteros (2000) reportou que mesmo após 20 minutos de tratamento térmico a enzima PPO do yacon continuou apresentando atividade residual. Scher (2009) e Fante *et al.* (2013) também estudaram a inativação térmica da enzima PPO e concluíram que mesmo após 10 minutos de tratamento térmico a enzima não foi totalmente inativada. A partir desse resultado é possível concluir que uma etapa complementar deve ser empregada junto com o branqueamento para evitar o escurecimento enzimático do suco de yacon. De acordo com Neves e Silva (2007), o processamento de yacon requer tratamento térmico, adição de antioxidante ou ambos para controlar o escurecimento enzimático.

O estudo feito por Neves e Silva (2007) mostrou que o ácido ascórbico apresenta atividade inibitória sobre a enzima PPO de maneira dependente de sua concentração e do substrato presente no meio. O ácido ascórbico na concentração 0,6  $\mu\text{M}$  apresentou atividade inibitória de 31,1%, 28,7% e 77,3% sobre a PPO na presença dos substratos ácido clorogênico, ácido caféico e 4-metilcatecol, respectivamente.

Silva (2004) variou de 0,5 a 3,5% (m/v) a concentração de ácido ascórbico da solução de pré-tratamento e seus resultados apontam que a solução de 0,5% foi suficiente para evitar ao escurecimento enzimático. No presente trabalho, as concentrações avaliadas de ácido ascórbico da solução do pré-tratamento foram de 0; 0,5 e 1% (m/v). Assim como reportado por Silva (2004), a concentração de 0,5% foi suficiente para melhorar a estabilidade da cor do suco de yacon, conforme pode ser observado pelos pares de experimento 14/23, 15/24, 17/26 e 18/27 que não apresentam diferença significativa em nenhum dos parâmetros de cor quando comparado o uso de 0,5 ou 1% de ácido ascórbico na solução de pré-tratamento (TABELAS 4, 5 e 6).

Os experimentos 13 e 16 foram submetidos ao pré-tratamento seguido do tratamento térmico e não obtiveram resultado satisfatório para os parâmetros L\* e b\* quando comparados ao experimento 27, conforme pode ser observado nas TABELAS 4 e 6. Segundo Damodaran *et al.* (2010), os alimentos podem apresentar perdas significativas de ácido ascórbico por lixiviação devido à alta hidrossolubilidade do ácido. Fante *et al.* (2013) reportaram que após submeter as fatias de yacon ao vapor de água o conteúdo de FOS, frutose e glucose reduziu possivelmente pela dissolução e lixiviação causada pela água condensada sobre o yacon. Pode-se, portanto, levantar a hipótese de que o tratamento térmico promoveu redução do teor de ácido ascórbico incorporado no pré-tratamento por lixiviação do ácido pelo vapor condensado durante o tratamento térmico, requerendo uma adição de antioxidante posteriormente ao branqueamento.

Quinteros (2000) ao reportar a termoestabilidade da enzima PPO do yacon sugeriu a adição de 0,2% (m/v) de ácido ascórbico ao suco para estabilizar sua coloração. De fato, ao comparar os pares de experimento 14/15, 17/18, 23/24 e 26/27 (TABELAS 4, 5 e 6) pode-se observar que todos apresentaram resultado satisfatório para a estabilidade de cor e cada par difere entre si apenas na concentração de ácido ascórbico adicionado diretamente ao suco extraído, indicando que a adição de 0,2% de ácido ascórbico é suficiente.

TABELA 7 - VALORES DE p DAS VARIÁVEIS EMPREGADAS NO ESTUDO DA ESTABILIDADE DA COLORAÇÃO DO SUCO DE YACON NOS DIAS 0 E 3

| Dia | Parâmetro | p              |                      |                        |
|-----|-----------|----------------|----------------------|------------------------|
|     |           | Pré-tratamento | Branqueamento físico | Adição de antioxidante |
| 0   | L*        | 0,0000146      | 0,0105993            | 0,0008629              |
|     | a*        | 0,0693528      | 0,0095296            | 0,0989389              |
|     | b*        | 0,7681859      | 0,7409568            | 0,0652577              |
| 3   | L*        | 0,0000410      | 0,0324438            | 0,0019347              |
|     | a*        | 0,0002842      | 0,3718384            | 0,0189736              |
|     | b*        | 0,0050592      | 0,3494670            | 0,5305747              |

FONTE: O AUTOR (2013)

A partir da TABELA 7 é possível observar que, tanto logo após a extração do suco quanto após 3 dias de armazenamento, todas as 3 variáveis foram estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) sobre o parâmetro de cor  $L^*$ , sendo que o pré-tratamento foi o que apresentou o efeito mais pronunciado, seguido da adição de antioxidante e por fim o branqueamento físico.

O efeito das variáveis sobre o parâmetro  $L^*$  pode ser visualizado nas FIGURAS 3, 4, 5, 6, 7 e 8. A partir das FIGURAS 3, 4, 5, 6 é possível observar o efeito mais pronunciado da variável pré-tratamento a partir da maior diferença da resposta quando esta variável muda de nível. Já as FIGURAS 7 e 8 mostram o efeito das variáveis branqueamento físico e adição de antioxidante, pode-se observar o efeito mais pronunciado da adição da adição de antioxidante comparado ao branqueamento físico.

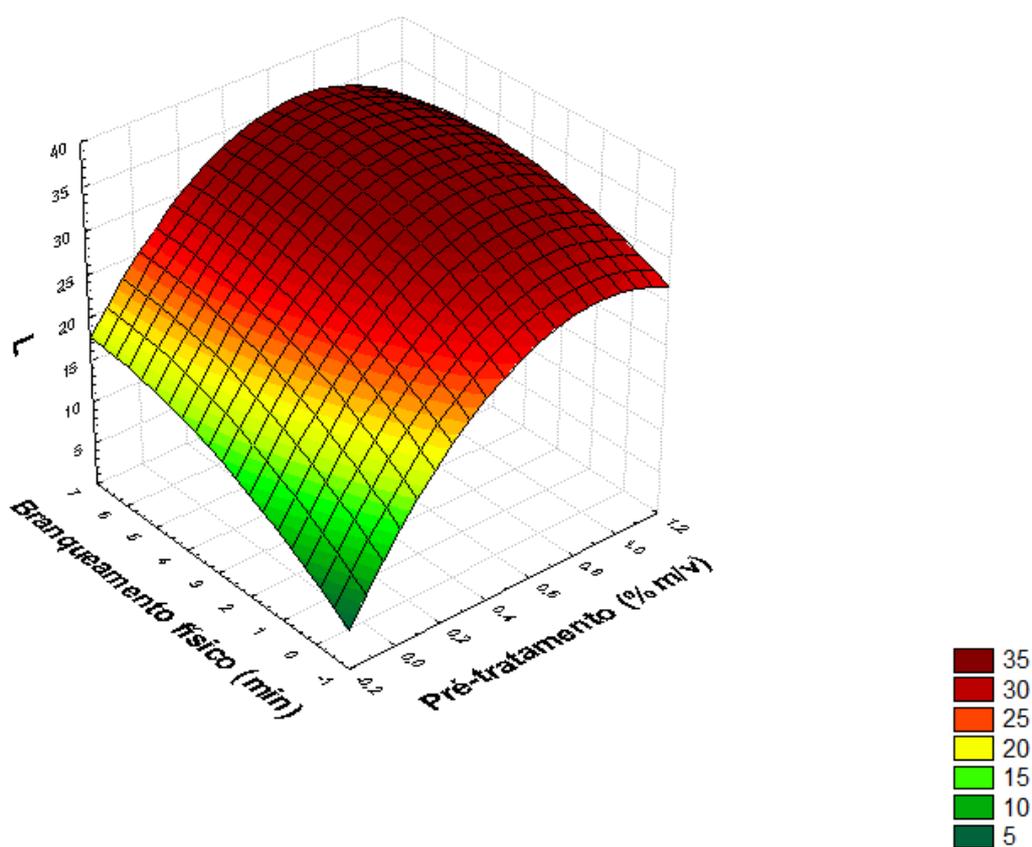


FIGURA 3 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO  $L^*$  EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E BRANQUEAMENTO FÍSICO NO DIA 0  
FONTE: O AUTOR (2013)

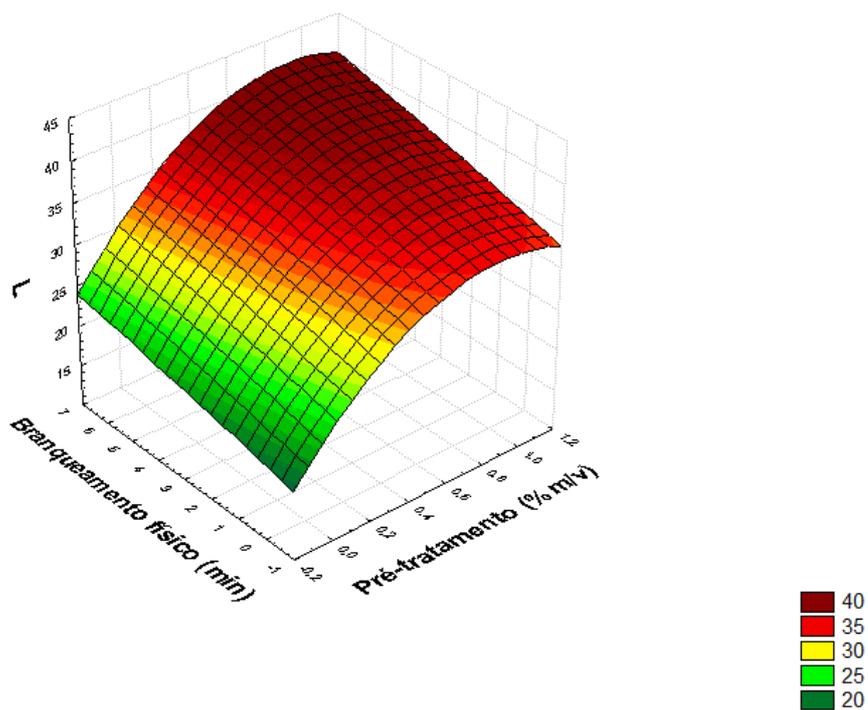


FIGURA 4 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO  $L^*$  EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E BRANQUEAMENTO FÍSICO NO DIA 3  
 FONTE: O AUTOR (2013)

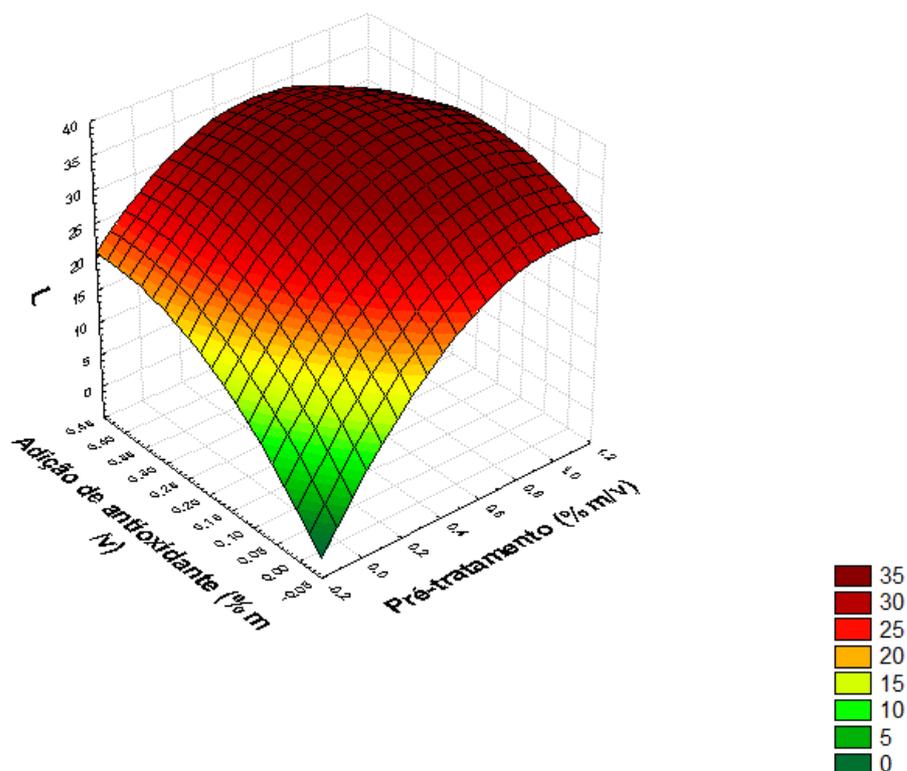


FIGURA 5 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO  $L^*$  EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 0  
 FONTE: O AUTOR (2013)

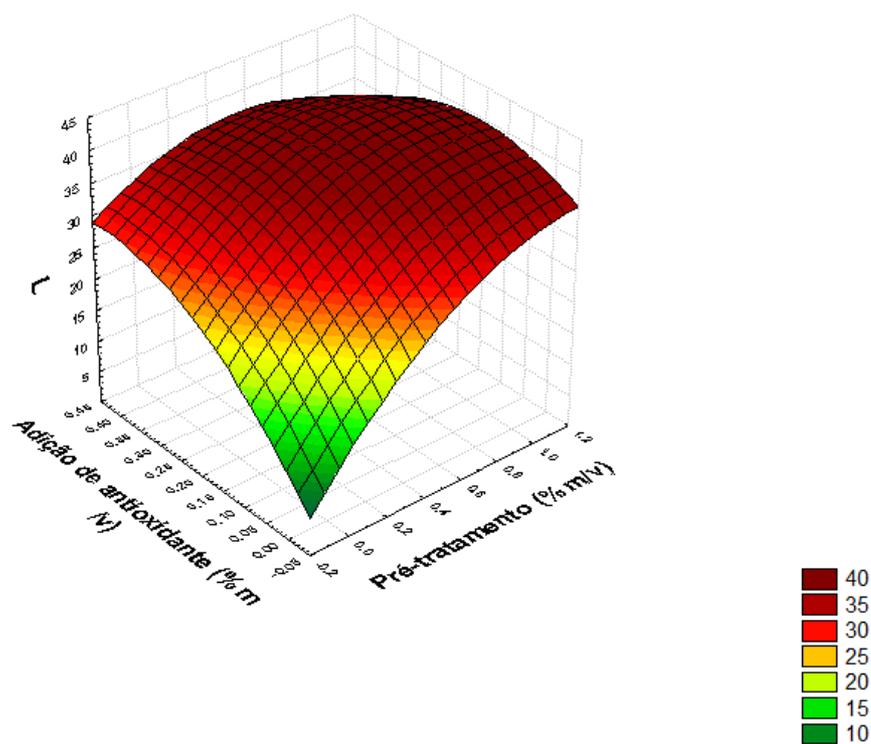


FIGURA 6 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO L\* EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 3  
 FONTE: O AUTOR (2013)

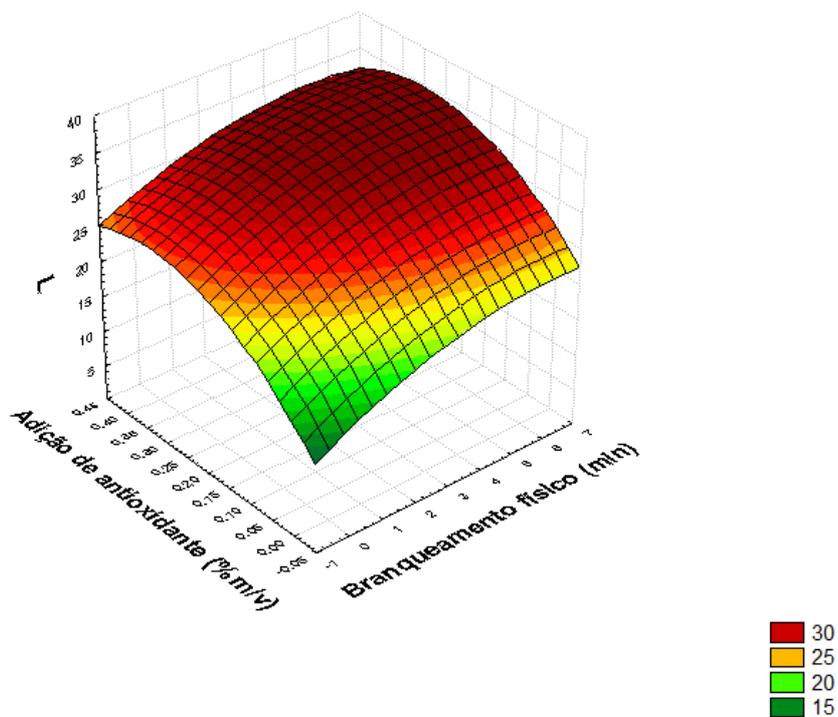


FIGURA 7 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO L\* EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS BRANQUEAMENTO FÍSICO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 0  
 FONTE: O AUTOR (2013)

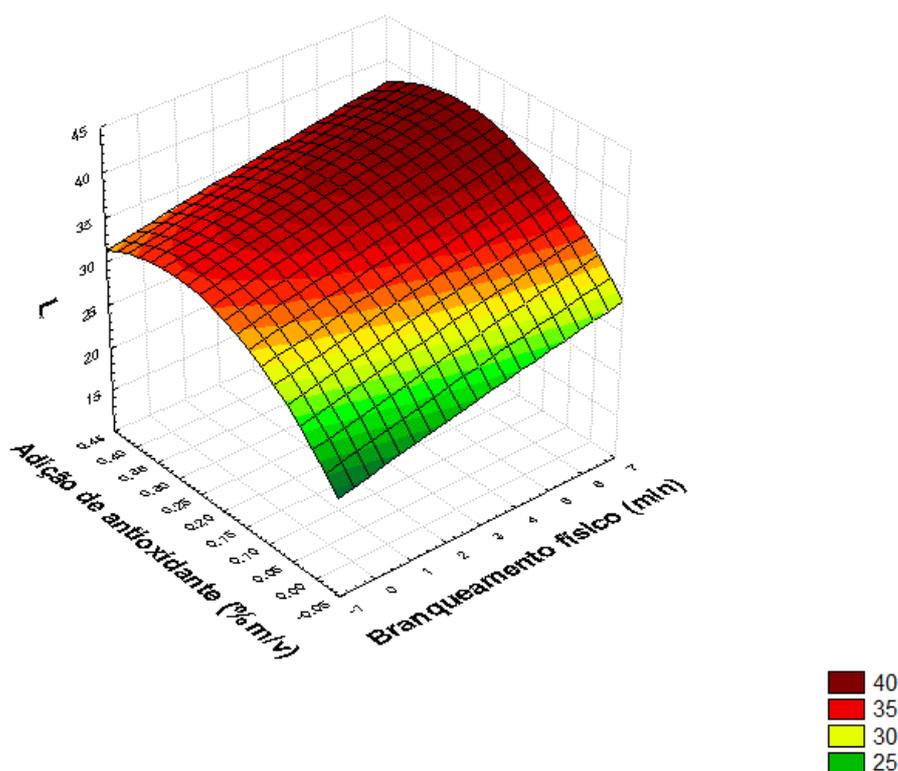


FIGURA 8 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO L\* EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS BRANQUEAMENTO FÍSICO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 3  
 FONTE: O AUTOR (2013)

Para o parâmetro de cor  $a^*$ , logo após a extração do suco apenas o branqueamento físico apresentou efeito significativo (TABELA 7), porém após 3 dias de armazenamento esta variável deixou de apresentar significância ao passo que o pré-tratamento e a adição posterior de antioxidante ao suco extraído passaram a apresentar efeito significativo, sendo o efeito do pré-tratamento o mais proeminente. Tais resultados confirmam que o emprego de antioxidantes deve ser empregado junto com o branqueamento físico para manter a estabilidade de cor do suco de yacon.

O efeito das variáveis sobre o parâmetro  $a^*$  pode ser visualizado nas FIGURAS 9, 10, 11, 12, 13 e 14. A partir das FIGURA 9, 10, 13 e 14 é possível notas a mudança do comportamento do gráfico quando se compara o suco logo após a extração e após 3 dias de armazenamento, podendo ser observado a perda da influência da variável branqueamento físico no dia 3 a partir da menor inclinação do gráfico quando esta variável muda de nível.

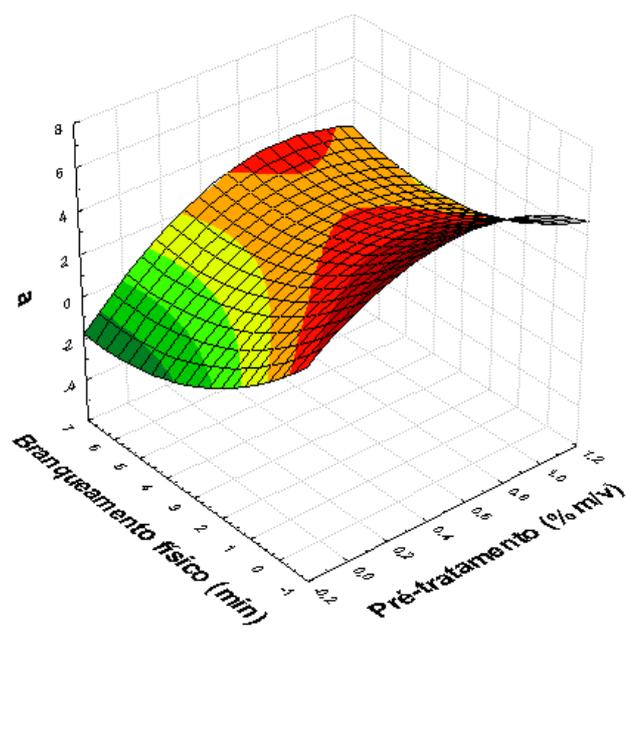


FIGURA 9 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO  $a^*$  EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E BRANQUEAMENTO FÍSICO NO DIA 0  
 FONTE: O AUTOR (2013)

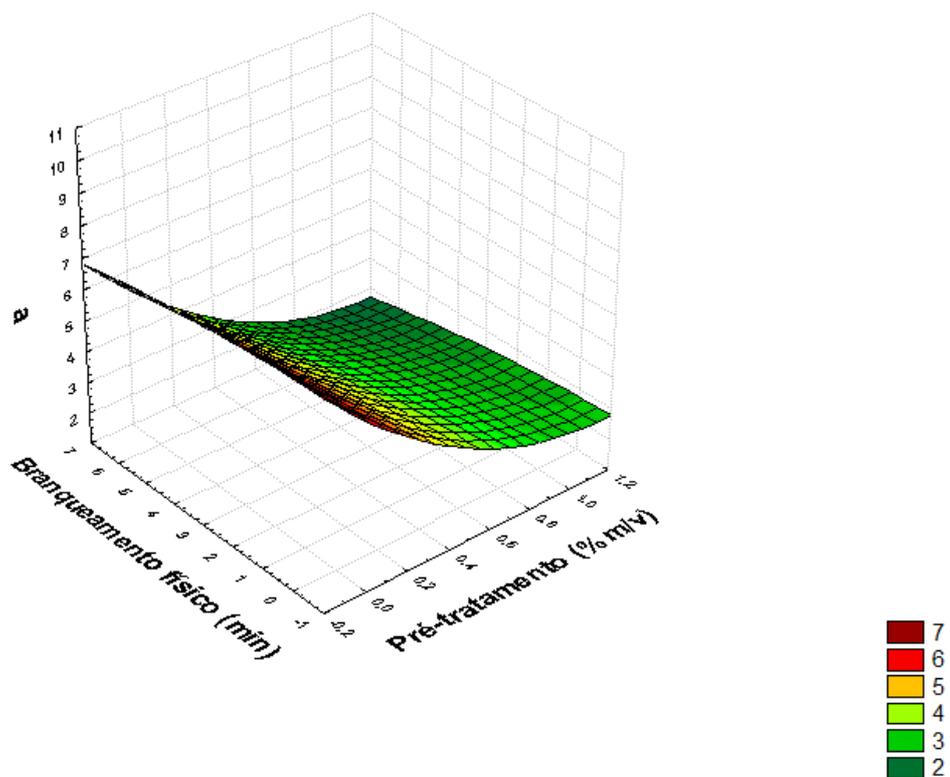


FIGURA 10 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO  $a^*$  EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E BRANQUEAMENTO FÍSICO NO DIA 3  
 FONTE: O AUTOR (2013)

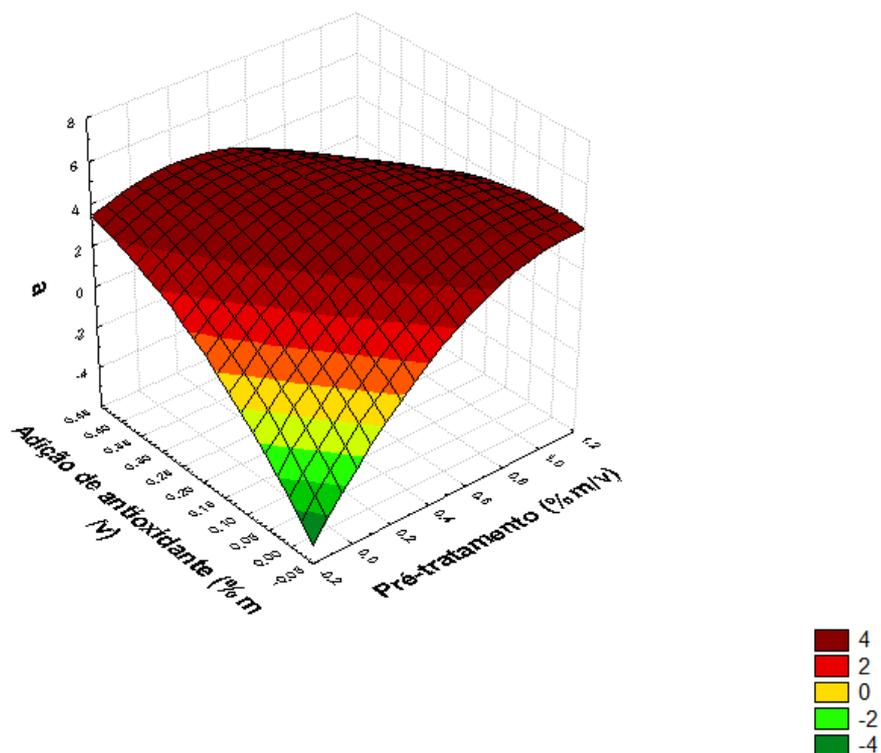


FIGURA 11 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO  $a^*$  EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 0  
 FONTE: O AUTOR (2013)

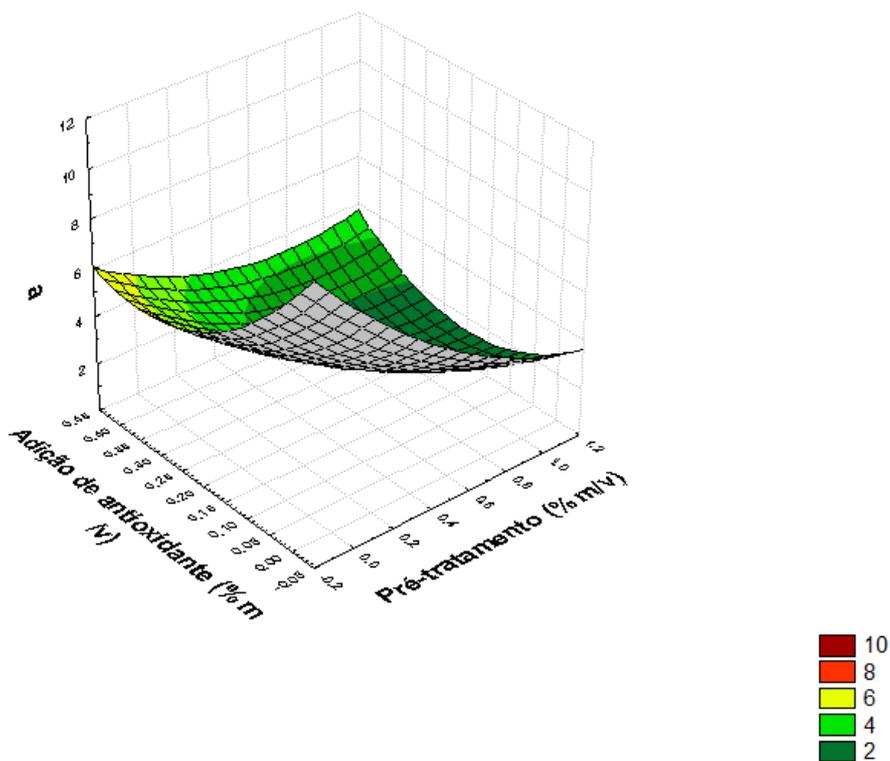


FIGURA 12 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO  $a^*$  EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 3  
 FONTE: O AUTOR (2013)

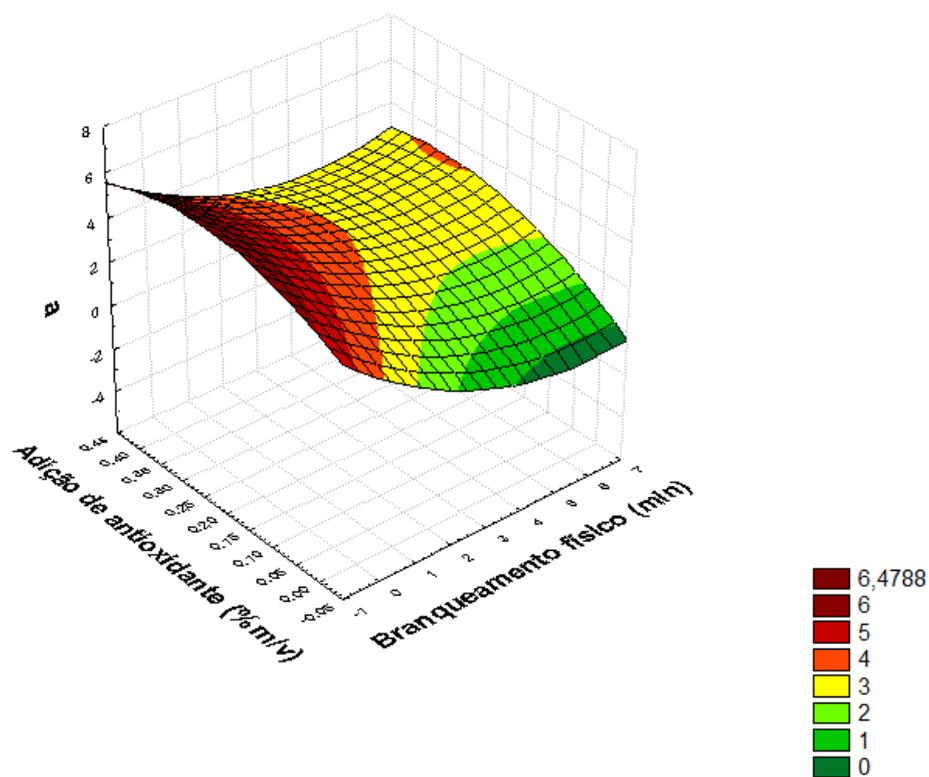


FIGURA 13 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO  $a^*$  EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS BRANQUEAMENTO FÍSICO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 0  
 FONTE: O AUTOR (2013)

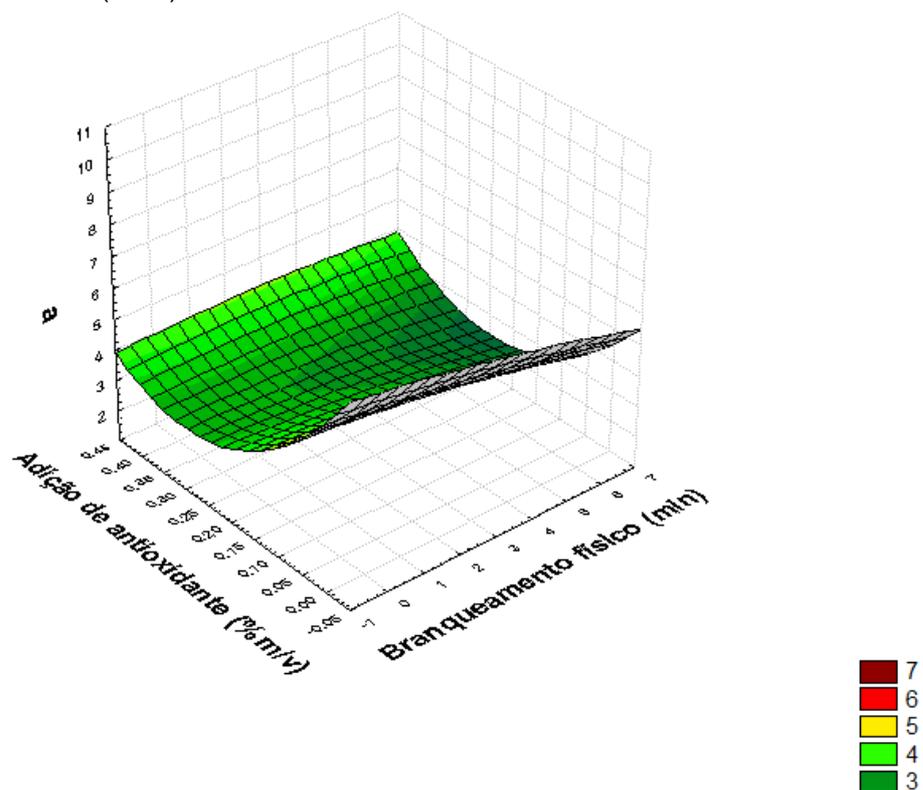


FIGURA 14 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO  $a^*$  EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS BRANQUEAMENTO FÍSICO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 3  
 FONTE: O AUTOR (2013)

Para o parâmetro de cor  $b^*$ , o efeito de nenhuma das variáveis foi estatisticamente significativo no dia 0, porém após 3 dias de armazenamento o efeito da variável pré-tratamento passou a apresentar significância (TABELA 7). O efeito das variáveis sobre o parâmetro  $b^*$  pode ser visualizado nas FIGURAS 15, 16, 17, 18, 19 e 20.

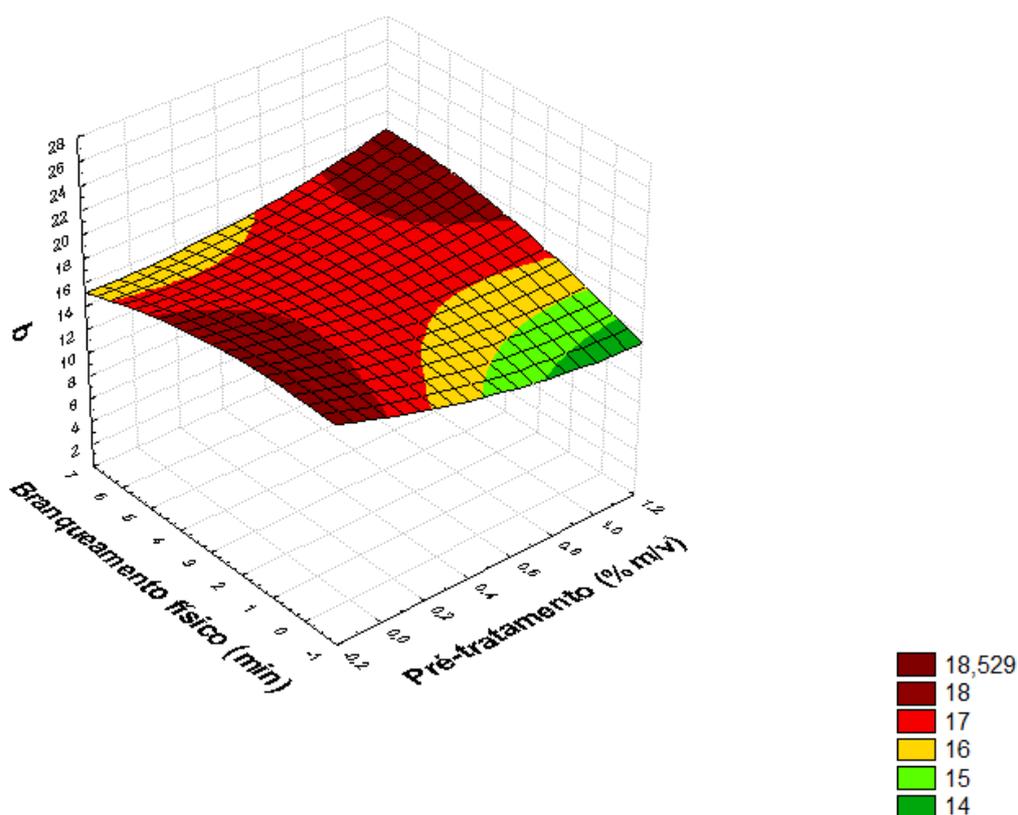


FIGURA 15 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO  $b^*$  EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E BRANQUEAMENTO FÍSICO NO DIA 0  
FONTE: O AUTOR (2013)

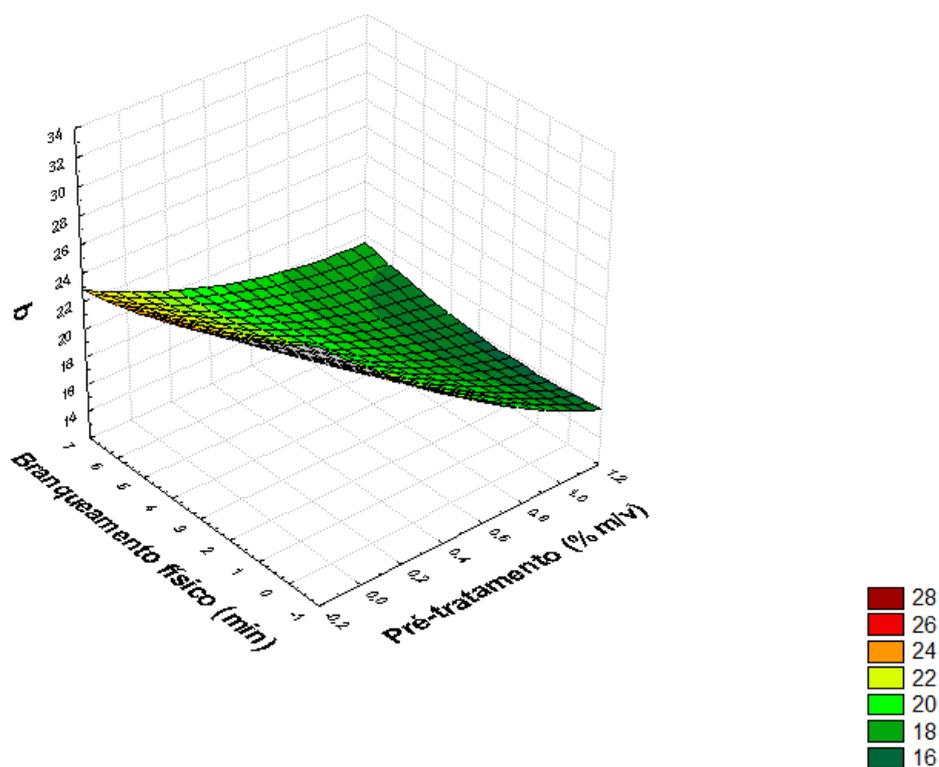


FIGURA 16 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO  $b^*$  EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E BRANQUEAMENTO FÍSICO NO DIA 3  
 FONTE: O AUTOR (2013)

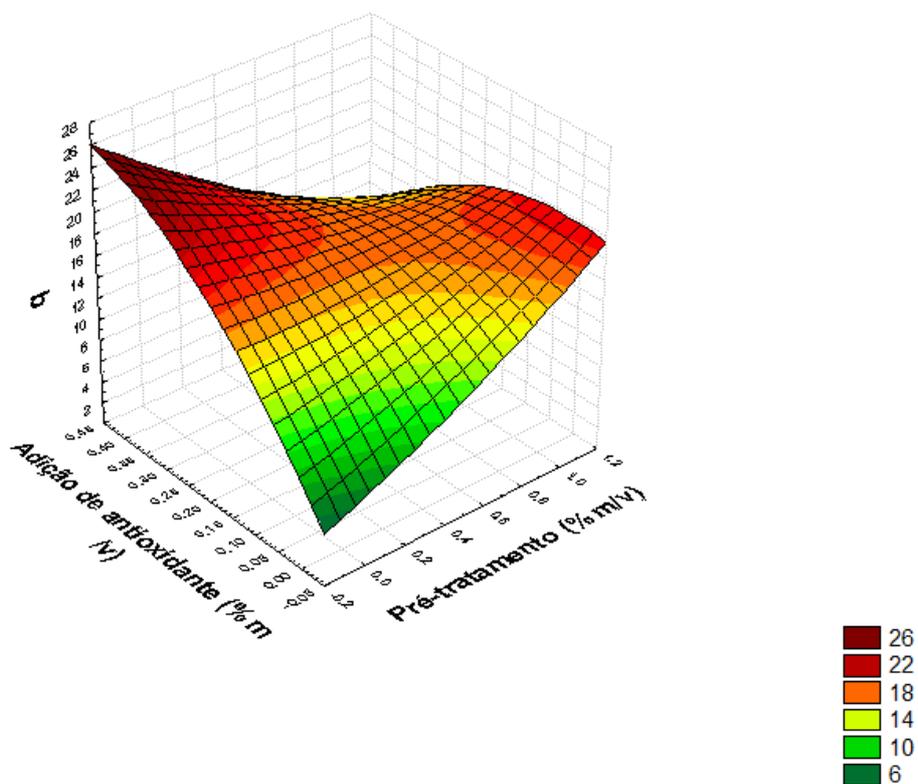


FIGURA 17 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO  $b^*$  EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 0  
 FONTE: O AUTOR (2013)

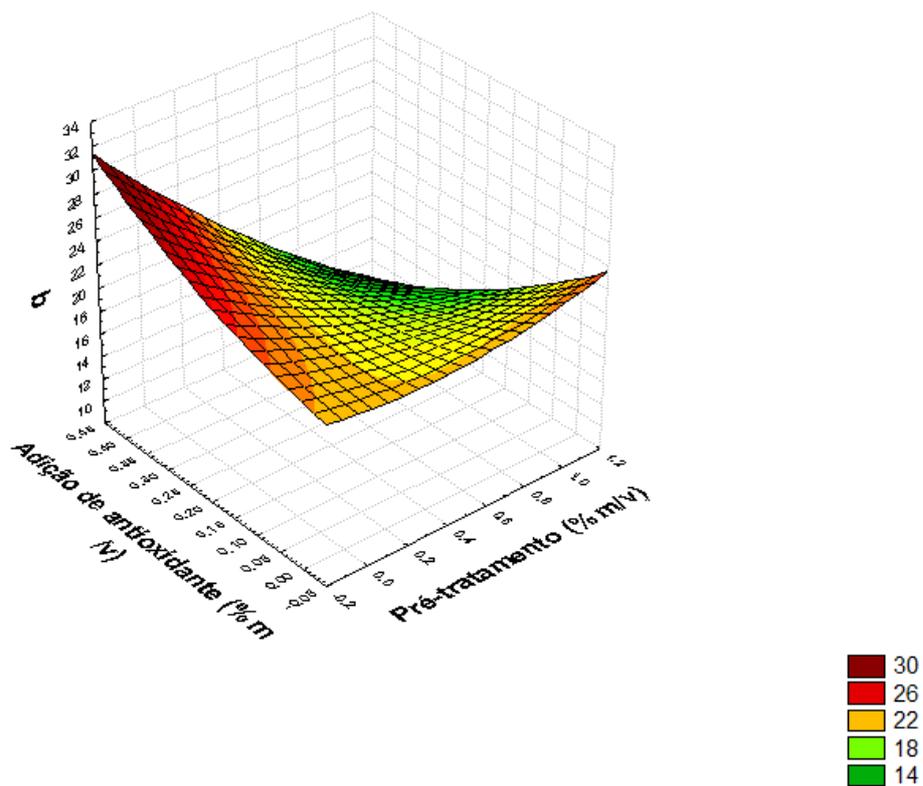


FIGURA 18 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO  $b^*$  EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS PRÉ-TRATAMENTO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 3  
 FONTE: O AUTOR (2013)

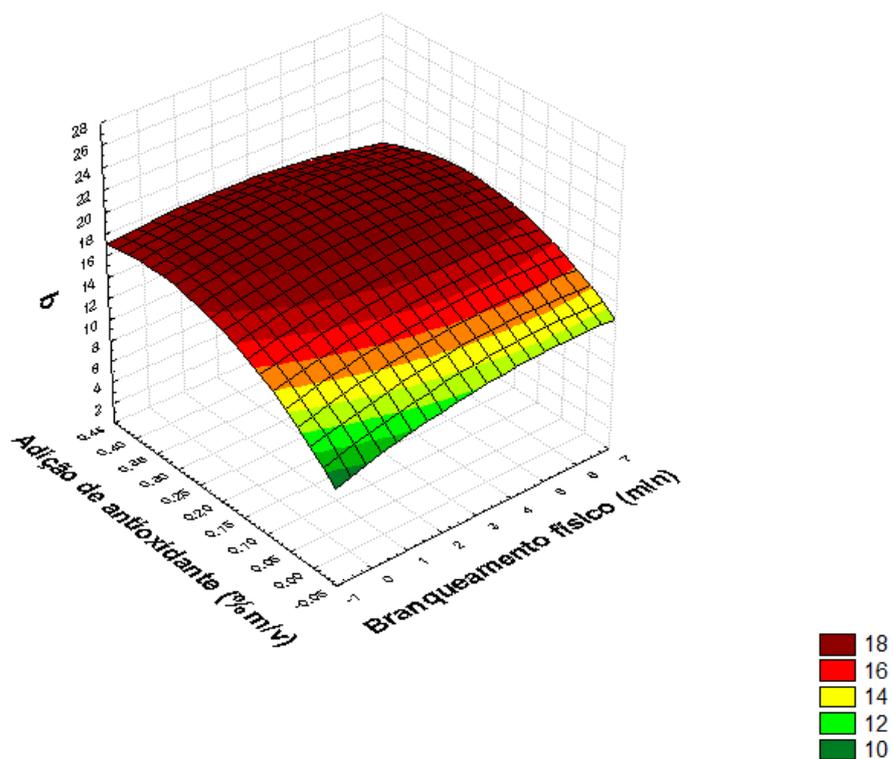


FIGURA 19 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO  $b^*$  EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS BRANQUEAMENTO FÍSICO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 0  
 FONTE: O AUTOR (2013)

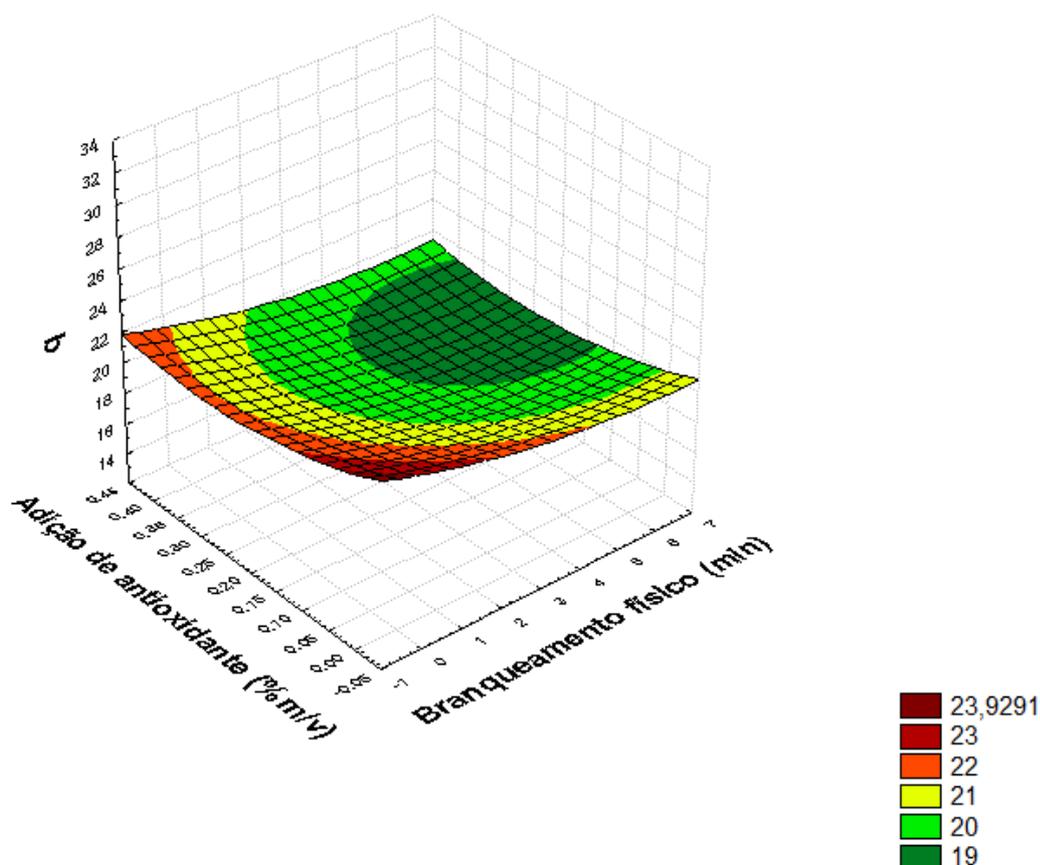


FIGURA 20 - GRÁFICO SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DO PARÂMETRO  $b^*$  EM RELAÇÃO ÀS VARIÁVEIS BRANQUEAMENTO FÍSICO E ADIÇÃO DE ANTIOXIDANTE NO DIA 3  
 FONTE: O AUTOR (2013)

A partir dos resultados obtidos, foi escolhido o experimento 17 para prosseguir com a pesquisa pois apresentou resultados semelhantes ao experimento 27 e é o experimento que emprega a menor concentração de ácido ascórbico e o maior tempo de tratamento térmico, garantindo uma melhor inativação não apenas da polifenol oxidase mas também das demais enzimas deteriorantes presentes nas células do yacon.

## 5.2. CRIOCONCENTRAÇÃO

O suco de yacon inicialmente possui  $7 \pm 0,5^\circ$  Brix. Após o primeiro ciclo de crioconcentração o teor de sólidos solúveis totais foi de  $10,5 \pm 0,5^\circ$  Brix, o que representa um aumento de 50%. Após o segundo ciclo, o teor aumentou para

14,25±0,25° Brix, o que representa um aumento de 35,7%. Após o terceiro ciclo, o teor foi de 18±0,87° Brix, um aumento de 26,3%. Porém, após o quarto ciclo não houve aumento do teor de sólidos solúveis totais, mantendo o teor de 18±1° Brix, conforme pode ser observado na FIGURA 21.

Wiecheteck *et al.* (2005) estudaram a crioconcentração do suco de maçã e observou que o teor de sólidos solúveis aumentou de 13,5° Brix para 22,5° Brix após 2 ciclos de crioconcentração, porém o aumento não foi expressivo após o 3° ciclo. Aider *et al.* (2007) aplicaram a crioconcentração sobre soro de leite e observaram que a base seca do soro subiu progressivamente ao longo das etapas de concentração, de 6,93% para 34,20% (m/m) após 4 ciclos sucessivos, sendo que o 5° ciclo de crioconcentração não apresentou aumento significativo da porcentagem de base seca. Pode ser observado neste trabalho que 3 ciclos consecutivos de crioconcentração elevaram o teor de sólidos solúveis totais do suco de yacon de 7° Brix para 18° Brix, o que representa 257% do teor inicial.

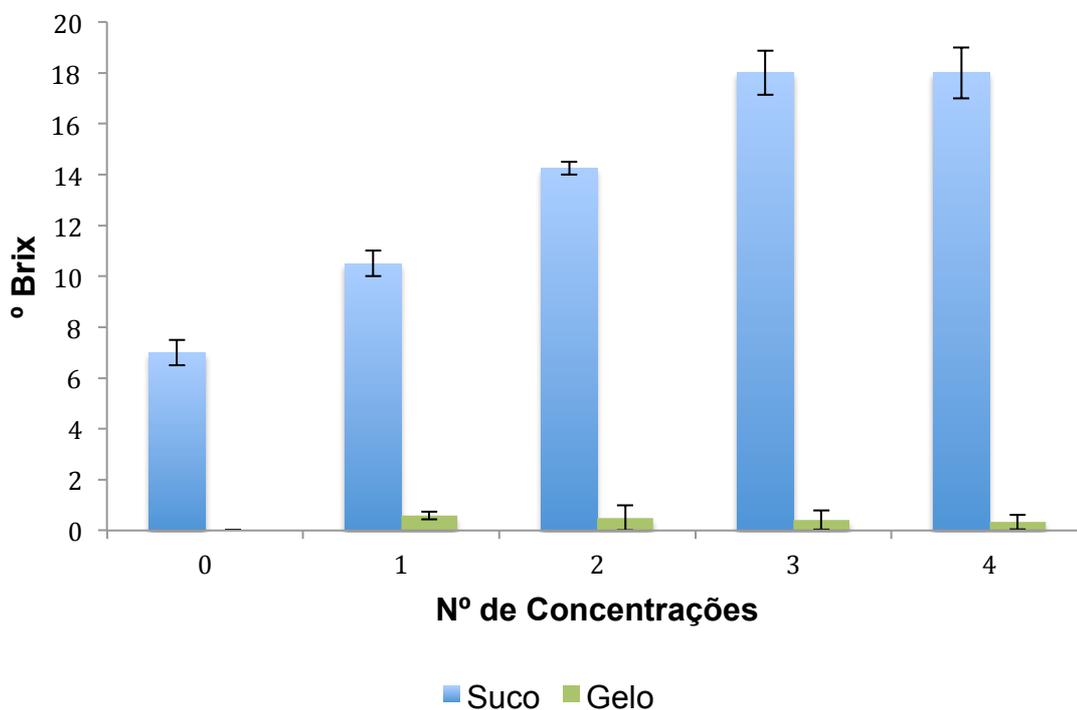


FIGURA 21 - TEOR DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS DO SUCO CONCENTRADO E DO GELO RETIDO EM CADA ETAPA DE CRIOCONCENTRAÇÃO  
 FONTE: O AUTOR (2013)

A partir da FIGURA 22 pode-se observar visualmente o suco de yacon congelado antes da etapa de centrifugação e o gelo retido após a centrifugação.

Assim como foi descrito por Aider e Halleux (2009), uma carcaça de gelo ficou retida no processo de crioconcentração, enquanto que o suco concentrado escoou através da carcaça. O gelo retido em todas as etapas de crioconcentração apresentou teor de sólidos solúveis totais inferior a 1º Brix.

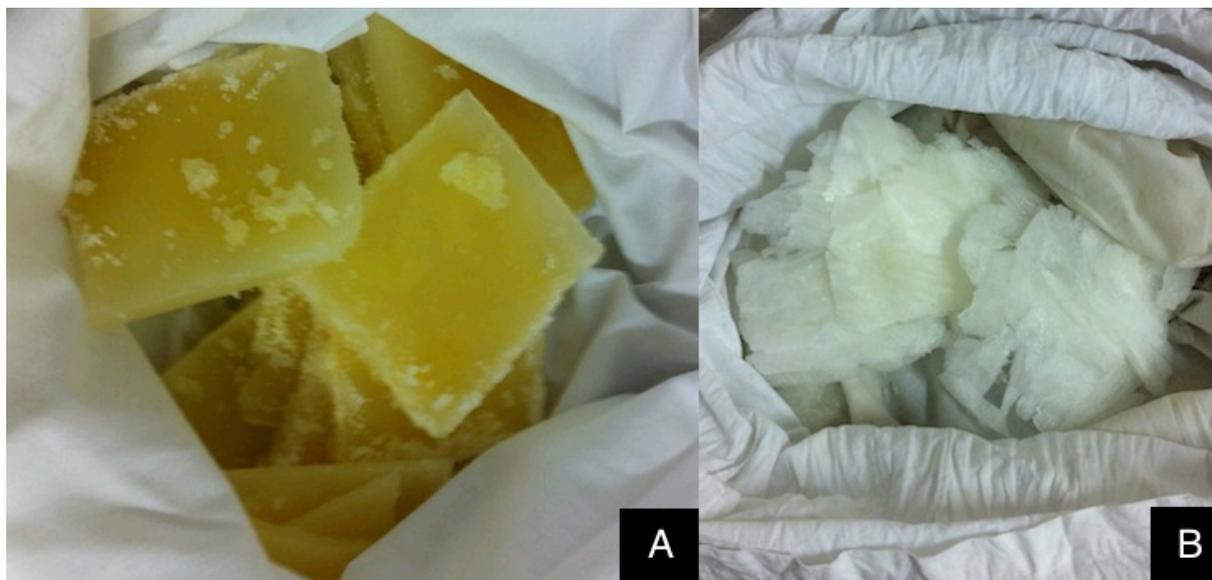


FIGURA 22 - SUCO DE YACON CONGELADO (A) E GELO RETIDO APÓS A SEPARAÇÃO DO SUCO CRIOCONCENTRADO (B)  
FONTE: O AUTOR (2013)

### 5.3. FERMENTAÇÃO

O número de bactérias viáveis no leite, suco normal e suco concentrado de yacon ao longo da incubação da bifidobactéria pode ser observado na FIGURA 23.

É possível notar que enquanto o leite promoveu crescimento das bactérias, o suco de yacon tanto normal quanto concentrado levou à redução do número de bactérias viáveis de maneira dependente da temperatura.

Samona *et al.* (1996) fermentaram leite com diferentes espécies do gênero *Bifidobacterium* (*B. adolescentis*, *B. bifidum* e *B. longum*) e os autores reportaram que o crescimento variou de acordo com a cepa. A cepa *B. adolescentis* apresentou crescimento de  $1,4 \cdot 10^8$  para  $6,7 \cdot 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> após 12 horas de fermentação a 37°C, porém após esse período ocorreu a fase estacionária e de declínio, atingindo a concentração de  $4,1 \cdot 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> após 48 horas de fermentação. Já a cepa *B.*

*bifidum* apresentou crescimento menor quando comparada à cepa *B. adolescentis*, crescendo de  $2,7 \cdot 10^8$  para  $2,8 \cdot 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> após 12 horas de fermentação seguido de um decréscimo de viabilidade, atingindo a concentração de  $2 \cdot 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> após 48 horas de fermentação.

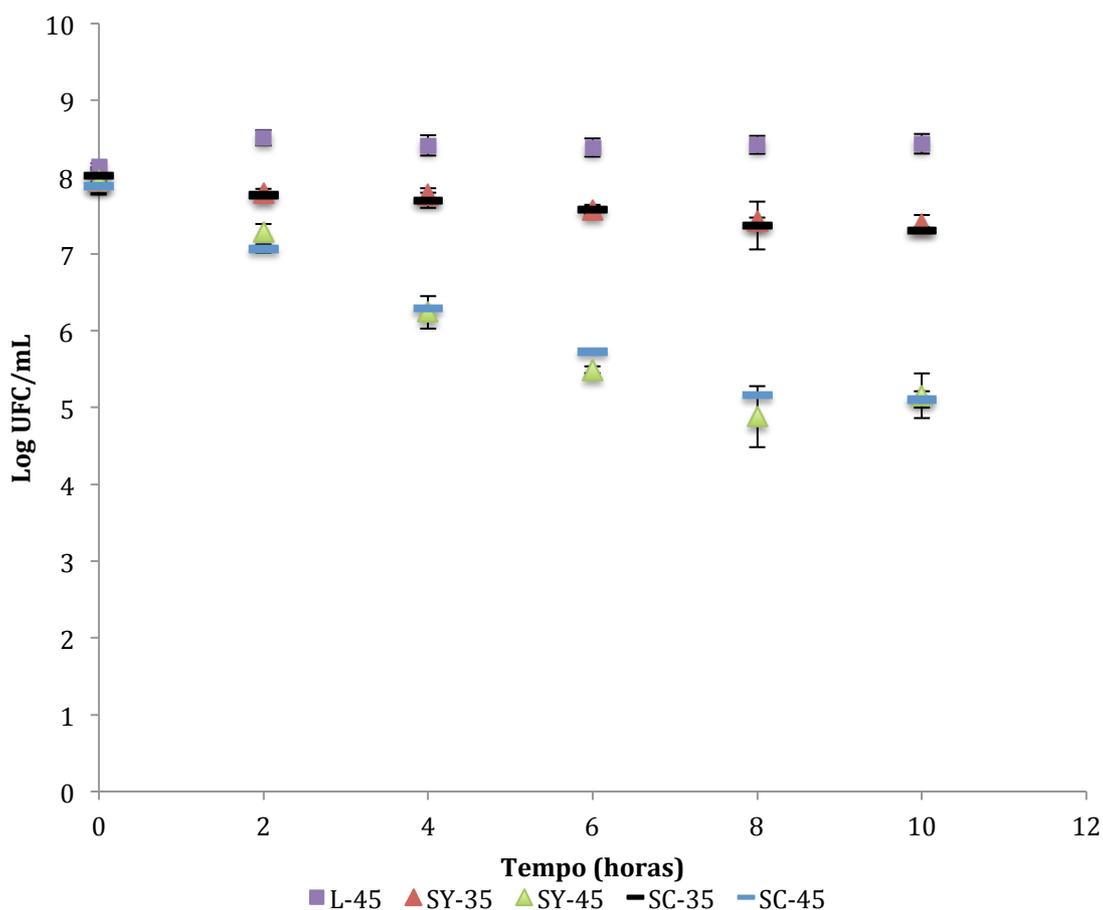


FIGURA 23 - NÚMERO DE BACTÉRIAS VIÁVEIS DO LEITE, SUCO DE YACON E SUCO DE YACON CONCENTRADO AO LONGO DA INCUBAÇÃO

FONTE: O AUTOR (2013)

LEGENDA: L-45: LEITE INCUBADO A 45°C; SY-35: SUCO DE YACON INCUBADO A 35°C; SY-45: SUCO DE YACON INCUBADO A 45°C; SC-35: SUCO DE YACON CONCENTRADO E INCUBADO A 35°C; SC-45: SUCO DE YACON CONCENTRADO E INCUBADO A 45°C

Já neste presente trabalho, a cepa *B. animalis* ssp. *lactis* apresentou no leite um crescimento de  $1,35(\pm 0,14) \cdot 10^8$  para  $2,78(\pm 0,75) \cdot 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> após 10 horas de fermentação a 45°C, o que enquadra o produto como probiótico de acordo com as especificações da ANVISA.

Já o suco de yacon fermentado a 35°C apresentou redução de  $8,83(\pm 1,01) \cdot 10^7$  para  $2,52(\pm 0,68) \cdot 10^7$  UFC.mL<sup>-1</sup> ao longo da fermentação. A morte das bifidobactérias foi mais pronunciada quando o suco foi fermentado a 45°C,

apresentando  $9,45 (\pm 3,61) \cdot 10^7$  UFC.mL<sup>-1</sup> inicialmente e  $1,65 (\pm 1,14) \cdot 10^5$  UFC.mL<sup>-1</sup> após 10 horas de fermentação. Tal comportamento ocorreu também com o suco de yacon concentrado, que quando fermentado a 35°C apresentou redução de  $1,07 (\pm 0,22) \cdot 10^8$  para  $2,05 (\pm 0,21) \cdot 10^7$ , já quando fermentado a 45°C a redução foi de  $7,77 (\pm 2,04) \cdot 10^7$  para  $1,29 (\pm 0,30) \cdot 10^5$ . Considerando uma recomendação de dose diária de 100mL, apenas o leite fermentado a 45°C e os sucos de yacon fermentados a 35°C atendem à norma da ANVISA e podem ser considerados probióticos. Já os sucos de yacon fermentados a 45°C apresentaram número de bactérias viáveis insuficiente para serem enquadrados como probióticos.

Diversos autores reportaram a fermentação por bactérias probióticas de suco de frutas, tais como maçã, beterraba, romã, couve, melão e caju (KLEWICKA *et al.*, 2004; YOON *et al.*, 2005; YOON *et al.*, 2006; FONTELES *et al.*, 2011; MAUSAVI *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2011; ELLENDERSEN *et al.*, 2012), porém todos esses autores utilizaram cepas do gênero *Lactobacillus* e não *Bifidobacterium*. De acordo com Shah (2000), as bifidobactérias não são tão tolerantes ao ambiente ácido quanto os lactobacilos. Sheehan *et al.* (2007) reportaram que a bactéria *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* sofreu perda de viabilidade em suco de laranja (pH 3,65) e de abacaxi (pH 3,40) ao longo do armazenamento até não ser mais detectada após 12 semanas, porém as bactérias *Lactobacillus casei*, *L. rhamnosus* e *L. paracasei* apresentaram sobrevivência.

Conforme pode ser observado na FIGURA 24, o pH do suco de yacon é inferior ao pH do leite. Enquanto o pH inicial do leite era de 6,26, o pH inicial do suco de yacon variou entre 4,25 e 4,31 e o pH inicial do suco de yacon concentrado variou de 4,35 a 4,49. De acordo com Prado *et al.* (2008), a adição de probióticos a sucos é mais complexa quando comparada com produtos lácteos pois as bactérias requerem proteção contra a acidez dos sucos. De acordo com Saarela *et al.* (2011a), as bifidobactérias são sensíveis a pH inferior a 4,60. Kun *et al.* (2008) fermentaram suco de cenoura (pH inicial 6,40) pela bactéria *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* e observaram que a bactéria apresentou crescimento nas primeiras 12 horas de fermentação, quando o pH do suco atingiu o valor 4,30, porém após esse período houve perda de viabilidade celular da bifidobactéria. De acordo com Britt (2008), produtos ácidos (pH inferior a 4,60) requerem tratamento térmico mais brandos para destruir micro-organismos presentes nos alimentos quando comparados com produtos pouco ácidos (pH superior a 4,60).

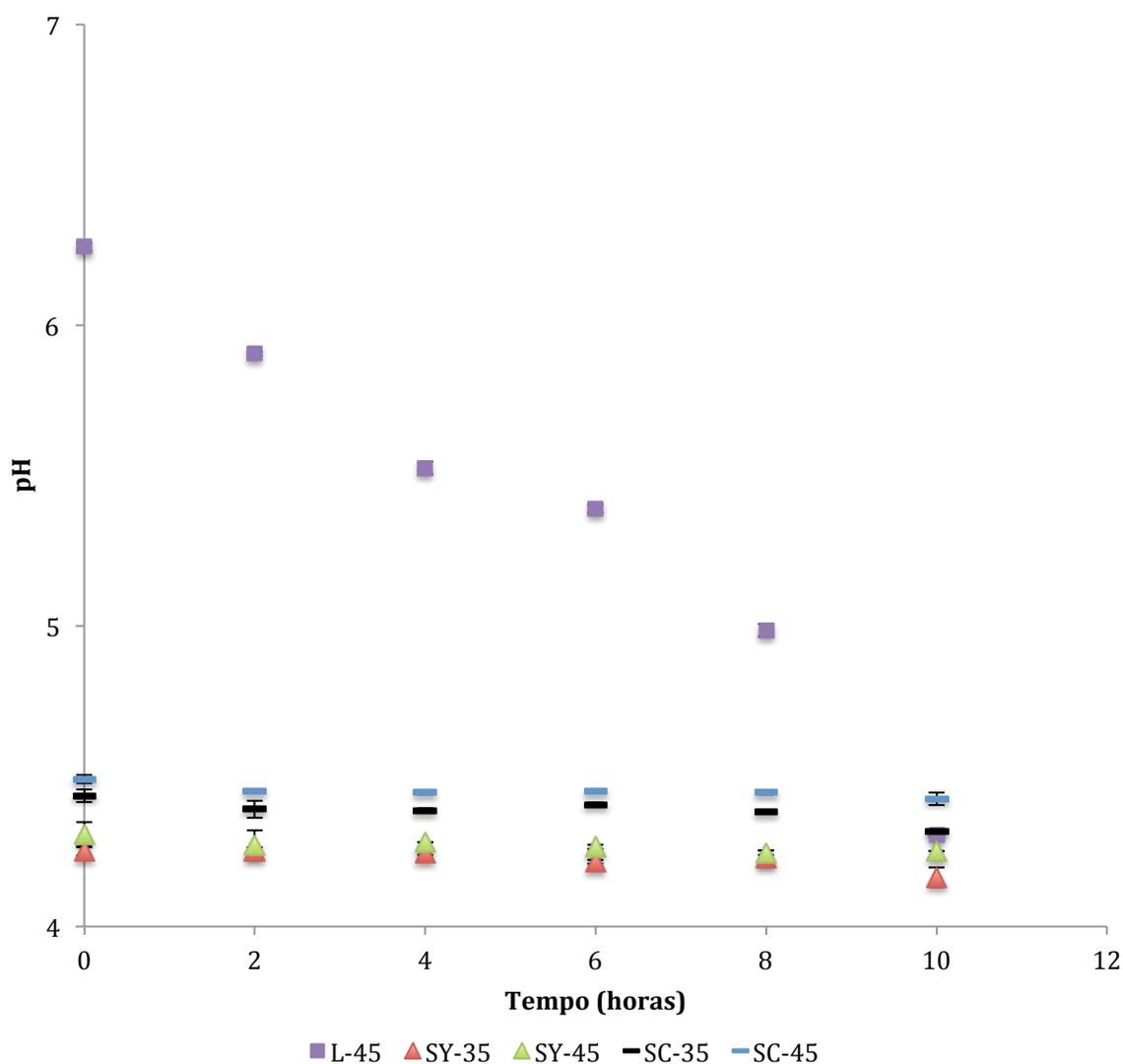


FIGURA 24 - VARIAÇÃO DE pH DO LEITE, SUCO DE YACON E SUCO DE YACON CONCENTRADO AO LONGO DA INCUBAÇÃO

FUNTE: O AUTOR (2013)

LEGENDA: L-45: LEITE INCUBADO A 45°C; SY-35: SUCO DE YACON INCUBADO A 35°C; SY-45: SUCO DE YACON INCUBADO A 45°C; SC-35: SUCO DE YACON CONCENTRADO E INCUBADO A 35°C; SC-45: SUCO DE YACON CONCENTRADO E INCUBADO A 45°C

A partir dos dados obtidos nesse trabalho comparado com os dados da literatura é possível apontar o pH ácido como responsável pela perda da viabilidade celular da bifidobactéria no suco de yacon de maneira dependente da temperatura observado neste presente trabalho.

Outra hipótese que pode ser levantada para explicar a perda de viabilidade da bifidobactéria no suco de yacon é a presença de algum composto antimicrobiano na raiz de yacon. Padla *et al.* (2012) reportaram que o extrato diclorometanólico da folha de yacon apresentou atividade inibitória nas bactérias gram-positivas testadas

(*Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* e *Bacillus subtilis*). Lin *et al.* (2003) identificaram no extrato metanólico das folhas de yacon lactonas sesquiterpenas com atividade antimicrobiana contra *Bacillus subtilis* e *Pyricularia oryzae*. Já a raiz de yacon possui compostos fenólicos; conforme foi reportado por Quinteros (2000), Simonovska *et al.* (2003), Campos *et al.* (2012) e Castro *et al.* (2012); e segundo o estudo feito por Nualkaekul *et al.* (2011) o teor de compostos fenólicos nos sucos pode afetar negativamente o crescimento e sobrevivência de micro-organismos.

A produção de acidez expressa em ácido láctico ao longo da fermentação pode ser observada na FIGURA 25.

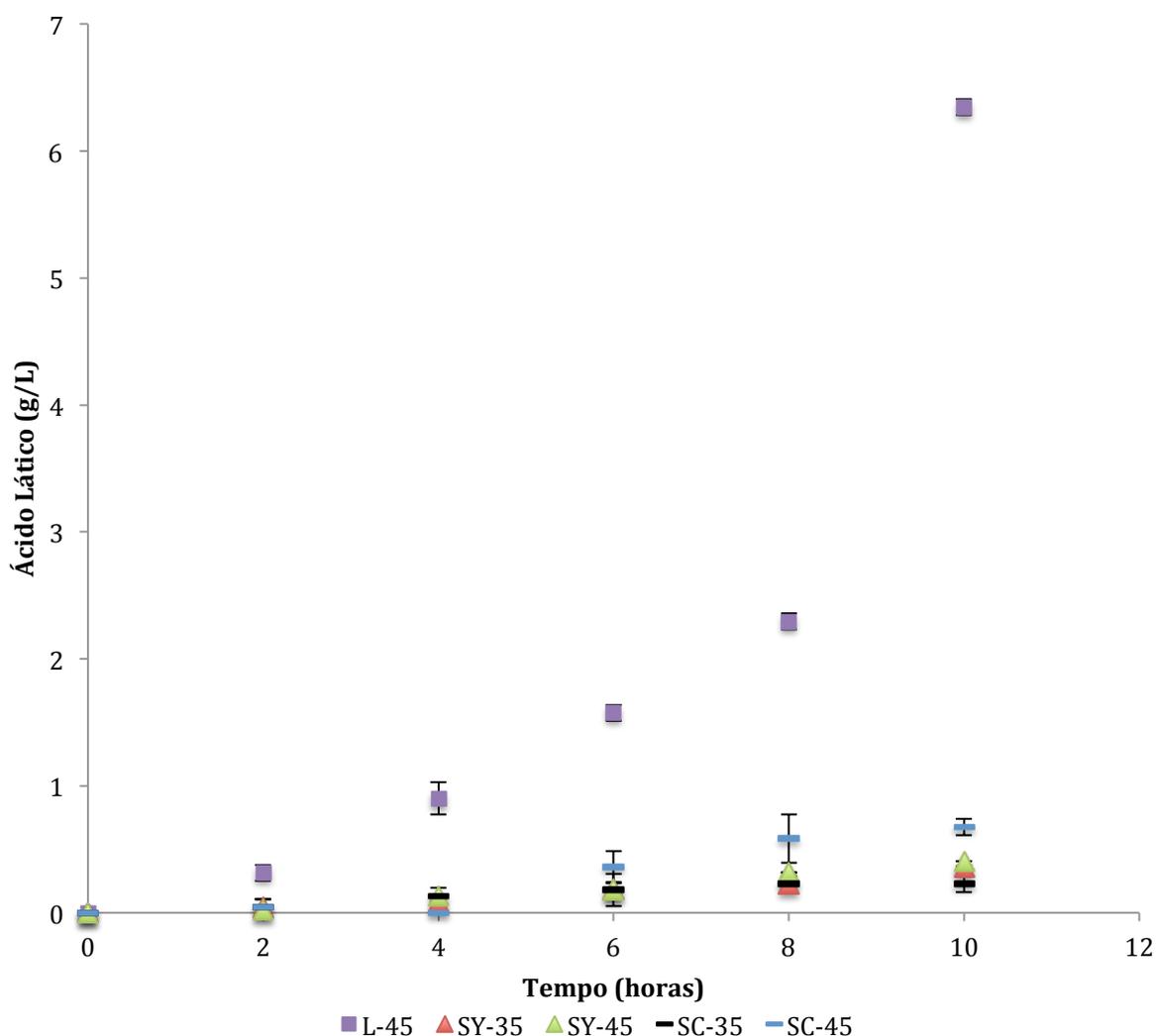


FIGURA 25 - AUMENTO DA ACIDEZ EXPRESSA EM ÁCIDO LÁCTICO AO LONGO DA INCUBAÇÃO DE LEITE, SUCO DE YACON E SUCO DE YACON CONCENTRADO

FONTE: O AUTOR (2013)

LEGENDA: L-45: LEITE INCUBADO A 45°C; SY-35: SUCO DE YACON INCUBADO A 35°C; SY-45: SUCO DE YACON INCUBADO A 45°C; SC-35: SUCO DE YACON CONCENTRADO E INCUBADO A 35°C; SC-45: SUCO DE YACON CONCENTRADO E INCUBADO A 45°C

De acordo com Aquarone *et al.* (2001) e Ordóñez (2005), na produção de iogurte, o leite é fermentado pelas bactérias *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* que irão produzir ácido láctico e reduzir o pH até que se aproxime do ponto isoelétrico da caseína 4,60, promovendo a formação de coágulo devido à redução da repulsão entre as micelas de caseína e formação de interação hidrofóbica entre elas. Samona *et al.* (1996) reportaram que a produção de ácidos durante a fermentação de leite por cepas de bifidobactérias varia de acordo com a cepa. O trabalho de tais autores mostra que a cepa *B. adolescentis* produziu 12,15 g.L<sup>-1</sup> de ácido láctico e 0,84 g.L<sup>-1</sup> de ácido acético após 12 horas de fermentação, enquanto que a cepa *B. bifidum* no mesmo tempo de fermentação produziu 3,15 g.L<sup>-1</sup> de ácido láctico e 2,1 g.L<sup>-1</sup> de ácido acético. De acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2007), o iogurte é o leite fermentado pelas bactérias *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* com acidez entre 6 e 15g.L<sup>-1</sup> de ácido láctico, já o leite fermentado por outras cepas lácticas –incluindo as bifidobactérias- que apresentam acidez nessa faixa são classificados como leite fermentado. Pode ser observado que o leite após 10 horas de fermentação apresentou características físico-químicas satisfatórias para se enquadrar como ‘leite fermentado’, pois apresentou pH 4,31 e sua acidez foi de 6,35g.L<sup>-1</sup> expresso em ácido láctico, o que conseqüentemente promoveu coagulação da caseína.

A partir das FIGURAS 24 e 25 pode-se notar que a diminuição do pH e o aumento da acidez do suco de yacon e suco de yacon concentrado foram menos acentuados como ocorreu com o leite. O pH do suco de yacon caiu de 4,25 para 4,16 e de 4,31 para 4,25 quando fermentado a 35°C e 45°C, respectivamente. Já o pH do suco de yacon concentrado caiu de 4,44 para 4,32 e de 4,49 para 4,43 quando fermentado a 35°C e 45°C, respectivamente.

O trabalho feito por Kun *et al.* (2008) mostra que o suco de cenoura (pH inicial 6,4) ao ser fermentado pela *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* apresentou pH 4,90 após 6 horas de fermentação e 4,30 após 12 horas, porém nas 12 horas seguintes o pH reduziu apenas de 4,30 para 4,24. Semelhante ao que foi reportado por Kun *et al.* (2008), neste trabalho a redução de pH do leite foi de 6,26 para 4,31 após 10 horas de fermentação, enquanto que o suco de yacon - que apresentava pH inicial entre 4,25 e 4,49 - não apresentou redução desse valor superior a 0,12. Estes dados indicam que a produção de ácidos ao longo da fermentação do suco de yacon foi

inferior àquela apresentada pelo leite devido à maior acidez do suco, o que não foi propício para o desenvolvimento das bifidobactérias.

#### 5.4. REFRIGERAÇÃO

A viabilidade celular da bifidobactéria nos respectivos mostos armazenados sob refrigeração a 7°C em recipientes de vidro e polipropileno pode ser observada na TABELA 8. A mudança de pH e a produção de ácido láctico sob as mesmas condições podem ser observadas na TABELA 9.

TABELA 8 – LOGARITMO DO NÚMERO DE BACTÉRIAS VIÁVEIS EM DIFERENTES MOSTOS ARMAZENADOS SOB REFRIGERAÇÃO A 7°C EM RECIPIENTES DE VIDRO E PLÁSTICO

|             |                 | <b>Dias</b> |          |           |           |           |
|-------------|-----------------|-------------|----------|-----------|-----------|-----------|
|             |                 | <b>0</b>    | <b>7</b> | <b>14</b> | <b>21</b> | <b>28</b> |
| <b>LNF</b>  | <b>Vidro</b>    | 8,13        | 8,21     | 8,25      | 8,26      | 8,82      |
|             | <b>Plástico</b> | 8,13        | 7,97     | 7,91      | 8,55      | 9,06      |
| <b>LF</b>   | <b>Vidro</b>    | 8,44        | 8,67     | 8,77      | 8,70      | 8,06      |
|             | <b>Plástico</b> | 8,44        | 8,78     | 8,72      | 8,56      | 7,85      |
| <b>SYNF</b> | <b>Vidro</b>    | 7,95        | 7,87     | 7,81      | 7,43      | 6,82      |
|             | <b>Plástico</b> | 7,95        | 7,79     | 7,63      | 7,54      | 6,85      |
| <b>SYF</b>  | <b>Vidro</b>    | 7,40        | 6,81     | 6,64      | 5,99      | 5,13      |
|             | <b>Plástico</b> | 7,40        | 6,74     | 6,35      | 5,76      | 4,78      |
| <b>SCNF</b> | <b>Vidro</b>    | 8,03        | 8,05     | 7,73      | 7,54      | 6,88      |
|             | <b>Plástico</b> | 8,03        | 7,76     | 7,60      | 7,40      | 6,49      |
| <b>SCF</b>  | <b>Vidro</b>    | 7,31        | 6,89     | 6,60      | 6,43      | 4,40      |
|             | <b>Plástico</b> | 7,31        | 6,79     | 6,54      | 6,27      | 4,85      |

FONTE: O AUTOR (2013)

LNF: LEITE NÃO FERMENTADO CONTENDO BIFIDOBACTÉRIA

LF: LEITE CONTENDO BIFIDOBACTÉRIA E INCUBADO A 45°C POR 10 HORAS

SYNF: SUCO DE YACON NÃO FERMENTADO CONTENDO BIFIDOBACTÉRIA

SYF: SUCO DE YACON CONTENDO BIFIDOBACTÉRIA E INCUBADO A 35°C POR 10 HORAS

SCNF: SUCO DE YACON CONCENTRADO NÃO FERMENTADO CONTENDO BIFIDOBACTÉRIA

SCF: SUCO DE YACON CONCENTRADO CONTENDO BIFIDOBACTÉRIA E INSUBADO A 35°C POR 10 HORAS

De acordo com Cronin *et al.* (2011), geralmente não há crescimento das bifidobactérias abaixo de 20°C, porém é possível observar pelas TABELAS 8 e 9 que a bifidobactéria utilizada neste estudo apresentou crescimento e acidificação do meio mesmo a 7°C no leite não fermentado (LNF). O pH inicial do leite era de 6,26, mas após 28 dias de armazenamento o pH caiu para 4,56 e 4,51 para o leite armazenado em recipiente de vidro e plástico, respectivamente. Durante esse período, a produção de acidez expressa em ácido láctico foi de 8,9 e 9,2 para o leite armazenado em vidro e plástico, respectivamente, o que é um valor superior ao apresentado pela fermentação do leite a 45°C por 10 horas (FIGURA 25). Conseqüentemente, houve coagulação do leite e separação do soro, conforme pode ser visualizado na FIGURA 26.

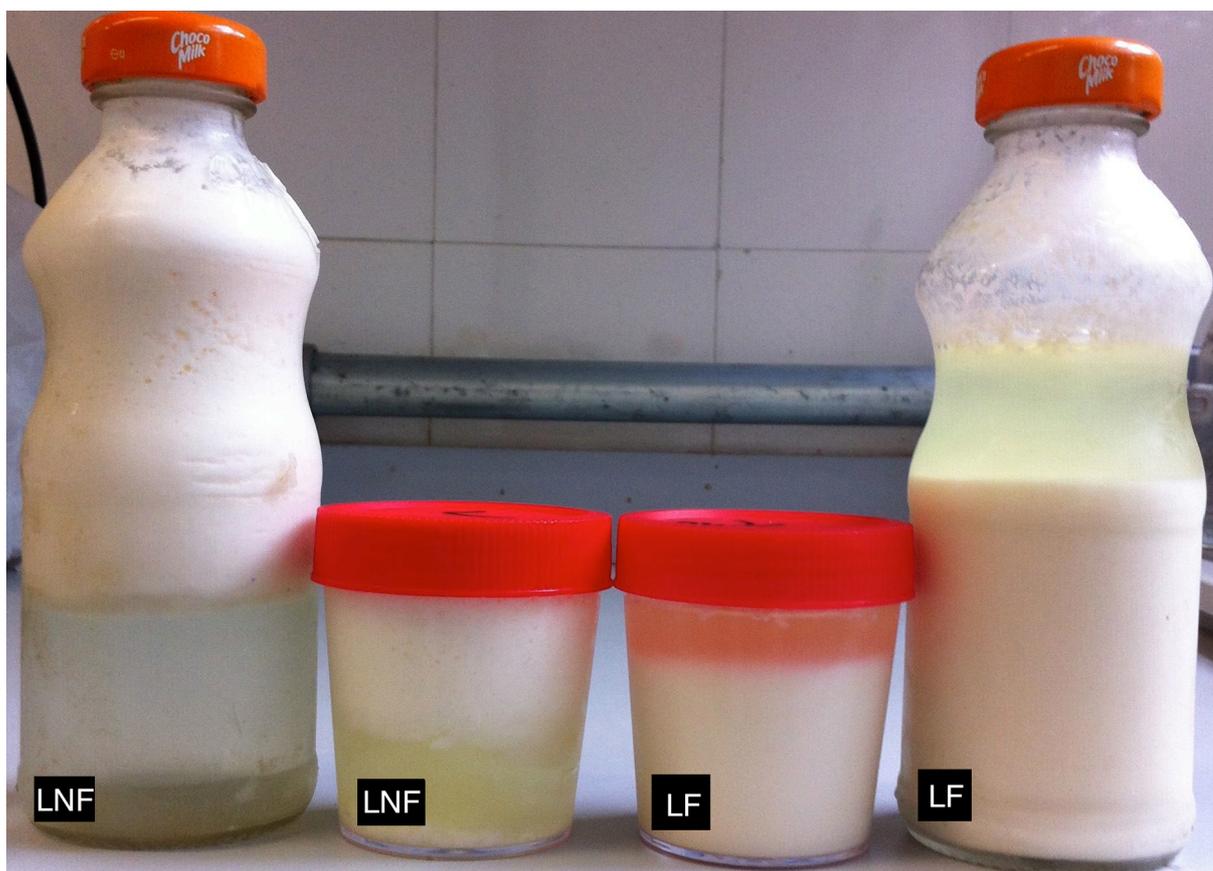


FIGURA 26 - ASPECTO VISUAL DO LEITE E DO LEITE FERMENTADO APÓS 28 DIAS DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO A 7°C

FONTE: O AUTOR (2013)

LEGENDA: LNF: LEITE NÃO FERMENTADO CONTENDO BIFIDOBACTÉRIA; LF: LEITE FERMENTADO POR BIFIDOBACTÉRIA

TABELA 9 - VARIAÇÃO DE pH E PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO EM DIFERENTES MOSTOS ARMAZENADOS EM RECIPIENTES DIFERENTES SOB REFRIGERAÇÃO A 7°C

|      |          | Dias de armazenamento |      |   |      |
|------|----------|-----------------------|------|---|------|
|      |          | pH                    |      | Produção de ácido lático (g.L <sup>-1</sup> ) |      |
|      |          | 0                     | 28   | 0   | 28   |
| LNF  | Vidro    | 6,26                  | 4,56 | 0   | 8,9  |
|      | Plástico | 6,26                  | 4,51 | 0   | 9,2  |
| LF   | Vidro    | 4,31                  | 3,96 | 6,35  | 16,9 |
|      | Plástico | 4,31                  | 3,94 | 6,35  | 15,6 |
| SYNF | Vidro    | 4,25                  | 4,29 | 0   | 1,7  |
|      | Plástico | 4,25                  | 4,15 | 0   | 1,7  |
| SYF  | Vidro    | 4,16                  | 4,14 | 0,36  | 1,9  |
|      | Plástico | 4,16                  | 4,04 | 0,36  | 1,9  |
| SCNF | Vidro    | 4,44                  | 4,31 | 0   | 2,6  |
|      | Plástico | 4,44                  | 4,37 | 0   | 2,8  |
| SCF  | Vidro    | 4,32                  | 4,23 | 0,225   | 2,9  |
|      | Plástico | 4,32                  | 4,27 | 0,225   | 2,9  |

FONTE: O AUTOR (2013)

LNF: LEITE NÃO FERMENTADO CONTENDO BIFIDOBACTÉRIA

LF: LEITE INCUBADO COM BIFIDOBACTÉRIA

SYNF: SUCO DE YACON NÃO FERMENTADO CONTENDO BIFIDOBACTÉRIA

SYF: SUCO DE YACON INCUBADO COM BIFIDOBACTÉRIA

SCNF: SUCO CONCENTRADO DE YACON NÃO FERMENTADO CONTENDO BIFIDOBACTÉRIA

SCF: SUCO CONCENTRADO DE YACON INCUBADO COM BIFIDOBACTÉRIA

Após 28 dias de armazenamento, o leite mantido tanto em recipiente de vidro quanto de plástico apresentou crescimento das bifidobactérias. Para o leite armazenado em recipiente de vidro, a concentração inicial de  $1,35 \cdot 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> aumentou para  $6,65 \cdot 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> ao final do experimento. Já o leite armazenado em recipiente plástico apresentou crescimento de  $1,35 \cdot 10^8$  para  $1,15 \cdot 10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup> após os 28 dias de experimento. Bruno *et al.* (2002) avaliaram o efeito da adição de prebióticos no leite sobre o metabolismo e crescimento de cepas de bifidobactérias e os autores reportaram que após 4 semanas de armazenamento a 4°C houve redução em torno de 1 ciclo logaritmo para todas as cepas estudadas, exceto para a espécie *B. longum* que apresentou crescimento de  $1,12 \cdot 10^8$  para  $7,53 \cdot 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> na presença de amilose de milho.

O leite previamente fermentado a 45°C por 10 horas (LF) também apresentou redução do valor de pH e aumento de acidez ao longo do armazenamento sob refrigeração. Logo após a etapa de fermentação, o leite apresentava pH 4,31 e houve produção de 6,35 g.L<sup>-1</sup> de ácido láctico. Após o período de armazenamento o pH foi reduzido a 3,96 e 3,94 quando armazenado em vidro e plástico, respectivamente. Já a acidez ao final do período de armazenamento foi de 16,9 e 15,6 g.L<sup>-1</sup> de ácido láctico para o leite armazenado em vidro e plástico, respectivamente.

As análises microbiológicas (TABELA 8) do leite fermentado armazenado em recipiente de vidro mostram que houve crescimento das bactérias até o 14º dia de armazenamento, período em que o número de bactérias viáveis foi de 2,78.10<sup>8</sup> a 5,85.10<sup>8</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. Após o 14º dia, houve diminuição do número de bactérias viáveis até o 28º dia, quando o leite fermentado apresentou 1,15.10<sup>8</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. Já o leite fermentado armazenado em recipiente plástico apresentou crescimento até o 7º dia de armazenamento, quando o leite fermentado apresentava 6,05.10<sup>8</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. Do 7º ao 28º dia de armazenamento, houve perda de viabilidade celular, apresentando o leite fermentado 7.10<sup>7</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> no 28º dia de armazenamento. Para ambos os recipientes, o leite fermentado manteve quantidade de bactérias viáveis suficiente para ser considerado um produto probiótico pela legislação brasileira. Reilly e Gilliland (1999) avaliaram a sobrevivência de cepas de bifidobactéria cultivadas em diferentes valores de pH e posteriormente armazenadas em leite sob refrigeração a 5°C. Tais autores concluíram que a sobrevivência da bactéria depende da cepa utilizada, pH do meio de crescimento da cepa e do período de armazenamento, no qual os menores valores de pH promoveram menor sobrevivência das cepas.

O suco de yacon não fermentado armazenado tanto em recipientes de vidro e plástico apresentou diferença de pH não superior a 0,10 e aumento de acidez expresso em ácido láctico de 1,7 g.L<sup>-1</sup>. O suco de yacon incubado com bifidobactéria apresentou redução de pH de 0,02 e 0,12 quando armazenado em recipiente de vidro e plástico, respectivamente, enquanto que a produção de ácido foi de 1,54 g.L<sup>-1</sup> de ácido láctico para ambos os recipientes.

O suco de yacon concentrado não fermentado apresentou durante o armazenamento uma redução de pH inferior a 0,15, enquanto a produção de ácido láctico foi de 2,6 e 2,8 g.L<sup>-1</sup> para o suco concentrado armazenado em recipiente de

vidro e plástico, respectivamente. Já o suco de yacon concentrado e incubado com bifidobactéria apresentou redução de pH inferior a 0,10 e produção de ácido láctico de  $2,675 \text{ g.L}^{-1}$  durante o período de armazenagem para ambos os recipientes.

As análises microbiológicas mostram que houve perda da viabilidade celular ao longo do armazenamento das bifidobactérias presentes no suco de yacon, concentrado ou não. A concentração inicial de  $8,83.10^7 \text{ UFC.mL}^{-1}$  apresentado pelo suco de yacon não fermentado foi reduzida a  $6,65.10^6$  e  $7,05.10^6 \text{ UFC.mL}^{-1}$  após 28 dias quando o suco foi armazenado em recipiente de vidro e plástico, respectivamente. Em ambos os recipientes, a concentração de bactérias viáveis presentes no suco foi suficiente para enquadrá-lo como produto probiótico.

O suco de yacon incubado a  $35^\circ\text{C}$  apresentou inicialmente  $2,52.10^7 \text{ UFC.mL}^{-1}$ . O suco apresentou número de bactérias viáveis suficiente para ser enquadrado como produto probiótico por até 14 dias de armazenamento sob refrigeração, quando apresentou  $4,35.10^6$  e  $2,25.10^6 \text{ UFC.mL}^{-1}$  para o suco armazenado em recipiente de vidro e plástico, respectivamente. Após esse período, o número de bactérias viáveis foi insuficiente, apresentando o suco ao final de 28 dias de armazenamento  $1,35.10^5 \text{ UFC.mL}^{-1}$  quando armazenado em recipiente de vidro e  $6,00.10^4 \text{ UFC.mL}^{-1}$  quando armazenado em recipiente plástico.

O suco de yacon concentrado e não fermentado apresentou inicialmente  $1,07.10^8 \text{ UFC.mL}^{-1}$ . Ao longo do armazenamento, o número de bactérias viáveis diminuiu, atingindo o valor de  $7,50.10^6$  e  $3,10.10^6 \text{ UFC.mL}^{-1}$  após 28 dias de armazenamento em recipiente de vidro e plástico, respectivamente. Em ambos os recipientes, o número de bactérias viáveis permaneceu o suficiente para enquadrar o suco concentrado como produto probiótico durante todo o período de 28 dias de armazenamento sob refrigeração.

O suco de yacon concentrado e incubado a  $35^\circ\text{C}$  apresentou inicialmente  $2,05.10^7 \text{ UFC.mL}^{-1}$ . A viabilidade celular da bifidobactéria permaneceu grande o suficiente para enquadrar o produto como probiótico por até 21 dias de armazenamento a  $7^\circ\text{C}$ , quando o suco concentrado apresentou  $2,70.10^6 \text{ UFC.mL}^{-1}$  quando armazenado em recipiente de vidro e  $1,87.10^6 \text{ UFC.mL}^{-1}$  quando armazenado em recipiente plástico. No 28º dia de armazenamento, o suco concentrado apresentou  $2,50.10^4$  e  $7,00.10^4 \text{ UFC.mL}^{-1}$  quando armazenado em recipiente de vidro e plástico, respectivamente. Para ambos os recipientes, a

viabilidade celular não foi suficiente para enquadrar o produto como probiótico após 28 dias de armazenamento sob refrigeração.

Os dados apresentados neste trabalho estão de acordo com os apresentados por Saarela *et al.* (2006a) que analisaram a viabilidade de *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* em leite e suco de frutas armazenados sob refrigeração. Tais autores reportaram que a viabilidade da bifidobactéria foi maior no leite (pH 6,6-6,7) do que nos sucos de laranja, uva e maracujá (pH 3,7), e que a perda de viabilidade foi mais intensa quando o suco foi armazenado a 20°C comparado ao suco armazenado a 4°C, concluindo que o pH foi determinante para promover a perda da viabilidade celular das bifidobactérias no suco.

Hsiao *et al.* (2004) estudaram o efeito da embalagem sobre a sobrevivência das bactérias *Bifidobacterium longum* e *Bifidobacterium infantis* microencapsuladas e os autores reportaram que embalagens de vidro garantiram maior sobrevivência da bactéria comparado com embalagem de plástico poliéster (PET), porém quando agentes sequestradores de oxigênio são empregados, a sobrevivência das bifidobactérias é maior e o efeito da embalagem torna-se menos pronunciado. Neste trabalho, as embalagens de vidro e polipropileno garantiram sobrevivência da bifidobactéria durante um mesmo período de tempo de armazenamento do suco para enquadrar o produto como probiótico. De acordo com Talwalkar e Keilasapathy (2004), o ácido ascórbico reduz o conteúdo de oxigênio e o potencial redox de iogurte. Pode-se levantar a hipótese de que o emprego do ácido ascórbico utilizado para evitar o escurecimento enzimático do suco de yacon protegeu a bifidobactéria do efeito nocivo do oxigênio mesmo em embalagem plástica, mais permeável ao oxigênio que embalagens de vidro. Outra hipótese que pode ser levantada é que a cepa utilizada neste trabalho, ao contrário das cepas utilizadas por Hsiao *et al.* (2004), foram menos afetadas pela difusão de oxigênio promovido pela embalagem. De acordo com Kun *et al.* (2008), a espécie *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* utilizada neste experimento é utilizada industrialmente por apresentar algumas vantagens em relação às demais espécies do mesmo gênero, como aerotolerância.

De acordo com Rivera-Espinoza e Gallardo-Navarro (2010) o crescimento e viabilidade de probióticos em frutas e vegetais depende da cepa utilizada, da acidez e das concentração de ácido láctico e acético do meio. Pode-se levantar a hipótese de que o suco de yacon incubado a 35°C por 10 horas apresentou meio menos

favorável às bifidobactérias quando comparado ao suco não fermentado ao longo do armazenamento sob refrigeração devido à sua maior acidez.

Nualkaekul *et al.* (2011) suplementaram o suco de diversas frutas (laranja, toranja, abacaxi, romã, morango e groselha) com a bactéria probiótica *Bifidobacterium longum* e avaliaram sua viabilidade durante o armazenamento sob refrigeração a 4°C por 6 semanas. Os autores reportaram que a sobrevivência da bifidobactéria foi maior nos sucos de laranja, toranja, groselha e abacaxi, nos quais o decréscimo de viabilidade foi inferior a 0,8 ciclos logaritmos, enquanto que os sucos de morango e romã apresentaram redução da viabilidade celular superior a 8 ciclos logaritmos, não havendo níveis detectáveis da bactéria no suco após 1 e 4 semanas de armazenamento para os sucos de romã e morango, respectivamente. Os autores apontaram a maior concentração de fenóis presentes nestes sucos (6,2 g.L<sup>-1</sup> para romã e 3,3 g.L<sup>-1</sup> para morango, enquanto que os sucos de laranja, abacaxi, toranja e groselha apresentaram 0,6; 1,0; 1,2 e 1,2 g.L<sup>-1</sup> de fenóis, respectivamente) como causa da menor viabilidade celular das bifidobactérias neles, tendo a romã polifenóis com atividade inibitórias do crescimento de bifidobactérias, clostrídios e *Staphylococcus aureus*. Já o yacon apresenta certos compostos fenólicos como triptofano, ácido caféico, ácido ferrúlico, ácido clorogênico, derivados do ácido clorogênico e isômeros do ácido dicafeoil-quínico (SIMONOVSKA *et al.*, 2003; CAMPOS *et al.*, 2012). A presença destes compostos pode ter influenciado negativamente a sobrevivência das bifidobactérias no suco de yacon durante o armazenamento sob refrigeração.

Neste presente trabalho, o suco de yacon suplementado com bifidobactéria e não fermentado apresentou perda de viabilidade celular de 1,13 e 1,10 ciclos logaritmos quando armazenado em recipientes de vidro e plástico, respectivamente. Já o suco de yacon concentrado, suplementado com bifidobactéria e não fermentado apresentou perda de viabilidade celular de 1,15 e 1,54 ciclos logaritmos quando armazenados em recipientes de vidro e plástico, respectivamente. Levando em consideração que o período de armazenamento deste trabalho foi inferior ao período empregado pelo trabalho de Nualkaekul *et al.* (2011), pode-se comparar os resultados e observar que o suco de yacon apresentou meio menos favorável à bifidobactéria quando comparado aos sucos de laranja, toranja, groselha e abacaxi, porém não promoveu a depleção das bactérias como ocorreu nos sucos de romã e morango.

De acordo com Rivera-Espinoza e Gallardo-Navarro (2010), é possível obter produtos probióticos não lácteos a partir de diversas matrizes, tanto fermentadas como não fermentadas. Pode-se observar que o suco de yacon não fermentado produzido neste trabalho pode ser empregado como matriz para cepas probióticas.

## 6. CONCLUSÕES

O suco de yacon apresenta rápido escurecimento enzimático quando processado. O tratamento térmico é insuficiente para prevenir o escurecimento enzimático do suco de yacon, devendo ser empregado em associação com um antioxidante e o ácido ascórbico pode ser utilizado para esta finalidade. O branqueamento a vapor requer adição de ácido ascórbico após o tratamento térmico pois o vapor promove perda da eficiência do antioxidante possivelmente por condensação do vapor sobre o yacon e consequente lixiviação do antioxidante. O tratamento escolhido neste trabalho foi a imersão das fatias de yacon em solução de ácido ascórbico 0,5% (m/v) por 5 minutos, seguidos de 6 minutos de branqueamento físico a vapor e adição de ácido ascórbico diretamente ao suco extraído na concentração de 0,2% (m/v).

A bactéria *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* consegue utilizar leite como substrato para seu crescimento e metabolismo, acidificando o leite o suficiente para dar características físico-químicas de iogurte após 10 horas de fermentação a 45°C. O suco de yacon e suco de yacon concentrado promoveram diminuição da viabilidade celular da bifidobactéria ao longo da fermentação de maneira dependente da temperatura. A morte celular foi mais pronunciada a 45°C do que a 35°C, apresentando o suco fermentado a 45°C valor insuficiente de bactérias viáveis para ser enquadrado como produto probiótico.

A bifidobactéria apresentou crescimento e produção de ácido no leite não fermentado e armazenado por 4 semanas sob refrigeração a 7°C, dando ao leite características físico-químicas de iogurte. O leite fermentado apresentou, durante o armazenamento, pós-acidificação e promoveu crescimento até os primeiros 14 e 7 dias de armazenamento quando armazenado em recipiente de vidro e plástico, respectivamente. Após esse período, houve redução da viabilidade celular, porém em ambos os recipientes o número de bactérias viáveis após 28 dias foi suficiente para enquadrar o produto como probiótico.

O suco de yacon e o suco de yacon concentrado, ambos não fermentados, apresentaram perda de viabilidade celular ao longo do armazenamento, porém

mesmo após 28 dias sob refrigeração ambos os sucos apresentaram valor satisfatório de bactéria viáveis tanto quando armazenado em recipiente de vidro quanto de plástico. O suco de yacon e o suco de yacon concentrado, ambos fermentados, apresentaram perda de viabilidade celular mais pronunciada ao longo do armazenamento quando comparado com a mesma matriz não fermentada. O suco de yacon fermentado manteve o número suficiente de bactérias viáveis para caracterizar o suco como probiótico por 14 dias, enquanto o suco de yacon concentrado e fermentado manteve esse número por 21 dias, para ambos os recipientes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos**, Resolução nº 18, de abril de 1999.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos produtos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos**. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm). Acesso em: 20 de dezembro de 2012.

AIDER, M. HALLEUX, D; AKBACHE, A. Whey cryoconcentration and impact on its composition. **Journal of Food Engineering**, n. 82, issue 1, p. 92-102, 2007.

AIDER, M. HALLEUX, D. Production of concentrated cherry and apricot juices by cryoconcentration technology. **LWT – Food Science and Technology**, v. 41, issue 10, p. 1768-1775, 2008.

AIDER, M; HALLEUX, D. Cryoconcentration technology in the bio-food industry: principles and applications. **LWT – Food Science and Technology**, v. 42, issue 3, p. 679-685, 2009.

AQUARONE, E; BORZANI, W; SCHMIDELL, W; LIMA, U. A. **Biotecnologia Industrial vol. IV: biotecnologia na Produção de alimentos**. São Paulo: Blucher, 2001.

BARRENETXE, J; ARANGUREN, P; GRIJALBA, A; MARTINÉZ-PEÑUELA, J. M; MARZO, F; URDANETA, E. Modulación de la fisiología gastrointestinal mediante cepas probióticas de *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium bifidum*. **Anales del Sistema Sanitario de Navarra**, v. 29, n. 3, 2006.

BELITZ, H.-D; GROSCH, W; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. 3. ed. Berlin: Springer-Verlag, 2004.

BISPO, E. S; GUIMARÃES, A. G; MIRANDA, M. S. Cacau e café e a aplicação de probióticos e prebióticos. In: SAAD, S. M. I; CRUZ, A. G; FARIA, J. A. F. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Livraria Varela, 2011.

BOLDUC, M.-P; RAYMOND, Y; FUSTIER, P; CHAMPAGNE, C. P; VUILLEMARD, J.-C. Sensitivity of bifidobacteria to oxygen and redox potential in non-fermented pasteurized milk. **International Dairy Journal**, v. 16, issue 9, p. 1038-1048, 2006.

BRASIL. Instrução normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, Brasília, nº 205, p. 4. Seção 1.

BRITT, I. J. Thermal processing. In: TUCKER, G. S. **Food Biodeterioration and Preservation**. Ames: Blackwell Publishing, 2008.

BRODY, T. **Nutricional Biochemistry**. San Diego: Academic Press Inc., 1994.

BRUNO, F. A; LANKAPUTHRA, W. E. V; SHAH, N. P. Growth, viability and activity of *Bifidobacterium* spp. in skim milk containing prebiotics. **Food Microbiology and Safety**, v. 67, n. 7, p. 2740-2744, 2002.

CAMPOS, D; BETALLELUZ-PALLARDEL, I; CHIRINOS, R; AGUILAR-GALVEZ, A; NORATTO, G; PEDRESCHI, R. Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1592-1599, 2012.

CAPELA, P; HAY, T. K. C; SHAH, N. P. Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and freeze-dried yoghurt. **Food Research International**, v. 39, issue 2, p. 203-211, 2006.

CASTRO, A; CABALLERO, M; HERBAS, A; CARBALLO, S. Antioxidants in yacon products and effect of long term storage. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 3, p. 432-435, 2012.

CHAMPE, P. C; HARVEY, R. A; FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

CLERICI, M. T. P. S; STEEL, C. J; CHANG, Y. K. Produtos probióticos e prebióticos à base de cereais. In: SAAD, S. M. I; CRUZ, A. G; FARIA, J. A. F. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Livraria Varela, 2011.

COUDRAY, C; TRESSOL, J. C; GUEUX, E; RAYSSIGUIR, Y. Effects of inulin-type fructans of different chain length and type of branching on intestinal absorption and balance of calcium and magnesium in rats. **European Journal of Nutrition**, v. 42, n. 2, 2003.

CRONIN, M; VENTURA, M; FITZGERALD, G. F; SINDEREN, D. V. Progress in genomics, metabolism and biotechnology of bifidobacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 149, n. 1, p. 4-18, 2011.

CRUZ, A. G; FARIA, J. A. F; VAN DENDER, A. D. F. Packaging system and probiotic dairy foods. **Food Research International**, v. 40, p. 951-956, 2007.

CRUZ, A. G; ANTUNES, A. E. C; FARIA, J. A. F; CHAVES, A. C. S. D; CARVALHO, L. M. J; SAAD, S. M. I. Leites fermentados e iogurtes probióticos e prebióticos. In: SAAD, S. M. I; CRUZ, A. G; FARIA, J. A. F. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Livraria Varela, 2011a.

CRUZ, A. G; ANTUNES, A. E. C; HARAMI, J. B; SOUSA, A. L. O. P; FARIA, J. A. F; SAAD, S. M. I. Sorvetes probióticos e prebióticos. In: SAAD, S. M. I; CRUZ, A. G; FARIA, J. A. F. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Livraria Varela, 2011b.

CRUZ, A. G; BURITI, F. C. A; SOUZA, C. H. B; FARIA, J. A. F; SAAD, S. M. I. Queijos probióticos e prebióticos. In: SAAD, S. M. I; CRUZ, A. G; FARIA, J. A. F. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Livraria Varela, 2011c.

DAMODARAN, S; PARKIN, K. L; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

ELLENDERSEN, L. S. N; GRANATO, D; GUERGOLETTI, K. B; WOSIACKI, G. Development and sensory profile of a probiotic beverage from apple fermented with *Lactobacillus casei*. **Engineering in Life Science**, v. 12, issue 4, p. 475-485, 2012.

FANTE, L; SCHER, C. F; NOREÑA, C. P. Z; RIOS, A. O. Study of enzyme inactivation using steam in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) roots. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 37, issue 1, p. 16-24, 2013.

FARIA, J. A. F; WALTER, E. H. M; CRUZ, A. G. Sistemas de embalagens para alimentos probióticos e prebióticos. In: SAAD, S. M. I; CRUZ, A. G; FARIA, J. A. F. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Livraria Varela, 2011.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Prática**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

FERREIRA, C. L. L. F. **Prebióticos e Probióticos; atualização e prospecção**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2012.

FONTELES, T. V; COSTA, M. G. M; JESUS, A. L. T; RODRIGUES, S. Optimization of the fermentation of cantaloupe juice by *Lactobacillus casei* NRRL B-442. **Food and Bioprocess Technology**, v. irreg., n. irreg., p. irreg., 2011.

FOOKS, L. J; GIBSON, G. R. In vitro investigations of the effect of probiotics and prebiotics on selected human intestinal pathogens. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 39, p.67-75, 2002.

GILLILAND, S. E. Acidophilus milk products: a review of potential benefits to consumers. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 10, p. 2483-2494, 1989.

GOÑI, I; LÓPEZ-OLIVA, E. Carbohidratos y salud gastrointestinal. In: LAJOLO, F. M; MENEZES, E. W. **Carbohidratos en alimentos regionales iberoamericanos**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2006.

GOTTELAND, M; VIZCARRA, M; MAURY, E. Efecto de un producto lácteo con probióticos y prebióticos sobre la función digestiva de sujetos sanos y constipados. **Revista Chilena de Nutrición**, v. 37, n. 3, p. 340-351, 2010.

GRAEFE, S; HERMANN, M; MANRIQUE, I; GOLOMBEK, S; BUERKERT, A. Effects of post-harvest treatments on the carbohydrate composition of yacon roots in the Peruvian Andes. **Field Crops Research**, v. 86, issues 2-3, p. 157-165, 2004.

HORVÁTH-KERKAI, E. Manufacturing fruit beverages. In: HUI, Y. H; BARTA, J; CANO, M. P; GUSEK, T; SIDHU, J. S; SINHA, N. **Handbook of Fruits and Fruit Processing**. Ames: Blackwell Publishing, 2006.

HSIAO, H.-C; LIAN, W.-C; CHOU, C.-C. Effect of packing conditions and temperature on viability of microencapsulated bifidobacteria during storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, p. 134-139, 2004.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

JAY, J. M. **Microbiología de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KAWASAKI, S; NAGASAKU, M; MIMURA, T; KATASHIMA, H. IJYUIN, S; SATOH, T; NIIMURA, Y. Effect of CO<sub>2</sub> on colony development by *Bifidobacterium* species. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 23, p. 7796-7798, 2007.

KHALF, M; DABOUR, N; KHEADR, E; FLISS, I. Viability of probiotic bacteria in maple sap products under storage and gastrointestinal conditions. **Bioresource Technology**, v. 101, issue 20, p. 7966-7972, 2010.

KIESSLING, G; SCHNEIDER, J; JAHREIS, G. Long-term consumption of fermented dairy products over 6 months increases HDL cholesterol. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, n. 9, p. 843-849, 2002.

KLEWICKA, E; MOTYL, I; LIBUDZISZ, Z. Fermentation of beet juice by bacteria of genus *Lactobacillus* sp. **European Food Research and Technology A**, v. 218, n. 2, p. 178-183, 2004.

KOH, J.-H; KIM, Y; OH, J.-H. Chemical characterization of tomato juice fermented with bifidobacteria. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 5, p. C428-C432, 2010.

KOTOVICZ, V. **Otimização da desidratação osmótica e secagem de yacon (*Polymnia sonchifolia*)**. 2011. 89 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

KUN, S; REZESSY-SZABÓ, J. M; NGUYEN, Q. D; HOSCHKE, A. Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected *Bifidobacterium* strains. **Process Biochemistry**, v. 43, issue 8, p. 816-821, 2008.

LACHMAN, J; HAVRLAND, B; FERNÁNDEZ, E. C; DUDJAK, J. Saccharides of yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] tubers and rhizomes and factors affecting their content. **Plant, Soil and Environment**, v. 50, n. 9, p. 383-390, 2004.

LAGO, C. C. **Estudo do suco concentrado e da polpa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*)**. 2010. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

LAMOUREUX, L; ROY, D; GAUTHIER, S. F. Production of oligosaccharides in yogurt containing bifidobacteria and yogurt cultures. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 5, p. 1058-1069, 2002.

LAVERMICOCCA, P; VALERIO, F; LONIGRO, S. L; ANGELIS, M; MORELLI, L; CALLEGARI, M. L; RIZZELLO, C. G; VISCONTI, A. Study of adhesion and survival of lactobacilli and bifidobacteria on table olives with the aim of formulating a new probiotic food. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 8, p. 4233-4240, 2005.

LIN, F; HASEGAWA, M; KODAMA, O. Purification and identification of antimicrobial sesquiterpene lactones from yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 67, n. 10, p. 2154-2159, 2003.

LIONG, M. T; SHAH, N. P. Optimization of cholesterol removal, growth and fermentation patterns of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4962 in the presence of mannitol, fructo-oligosaccharide and inulin: a response surface methodology approach. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, issue 5, p. 1115-1126, 2005.

LOBO, A. R; COLLI, C; ALVARES, E. P; FILISETTI, T. M. C. C. Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) flour on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance and bone calcium retention in growing rats. **British Journal of Nutrition**, v. 97, p. 776-785, 2007.

LUCKOW, T; DELAHUNTY, C. Which juice is 'healthier'? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. **Food Quality and Preference**, v. 15, issue 7-8, p. 751-759, 2004.

LUCKOW, T; SHEEHAN, V; FITZGERALD, G; DELAHUNTY, C. Exposure, health information and flavour-masking strategies for improving the sensory quality of probiotic juice. **Appetite**, v. 47, issue 3, p. 315-323, 2006.

MACEDO, F. E. F; PFLANZER, S. B; GOMES, C. L. Produtos cárneos probióticos. In: SAAD, S. M. I; CRUZ, A. G; FARIA, J. A. F. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Livraria Varela, 2011.

MACEDO, L. N; LUCHESE, R. H; GUERRA, A. F; BARBOSA, C. G. Efeito prebiótico do mel sobre o crescimento e viabilidade de *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. em leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas , v. 28, n. 4, p. 935-942, 2008.

MALAJOVICH, M. A. **Biotecnologia**. Rio de Janeiro: Axcel Books do Brasil, 2004.

MARTINS, E. M. F; RAMOS, A. M; VANZELA, E. S. L; STRINGHETA, P. C; PINTO, C. L. O; MARTINS, J. M. Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. **Food Research International**, v. 51, issue 2, p. 764-770, 2013.

McLELLAN, M. R; PADILLA-ZAKOUR, O. I. Juice Processing. In: BARRETT, D. M; SOMOGYI, L; RAMASWAMY, H. **Processing Fruits**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2004.

MICHELS, I. **Aspectos tecnológicos do processamento mínimo de tubérculos de yacon (*Polymnia sonchifolia*) armazenados em embalagens com atmosfera modificada**. 2005. 93 f. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

MOSCATTO, J. A; PRUDÊNCIO-FERREIRA, S. H; HAULY, M. C. O. Farinha de yacon e inulina como ingredientes na formulação de bolo de chocolate. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 634-640, 2004.

MOUSAVI, Z. E; MOUSAVI, S. M; RAZAVI, S. H; EMAM-DJOMEH, Z; KIANI, H. Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, issue 1, p. 123-128, 2011.

NEVES, L. S. **Fermentado probiótico de suco de maçã**. 2005. 94 f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos Agroindustriais) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

NEVES, V. A; SILVA, M. A. Polyphenol oxidase from yacon roots (*Smallanthus sonchifolius*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 6, p. 2424-2430, 2007.

NIP, W. K. Food biochemistry – an introduction. In: HUI, Y. H; NIP, W.-K; NOLLET, L. M. L; PALIYATH, G; SIMPSON, B. K. **Food Biochemistry & Food Processing**. Ames: Blackwell Publishing, 2006.

NUALKAEKUL, S; SALMERON, I; CHARALAMPOPOULOS, D. Investigation of the factors influencing the survival of *Bifidobacterium longum* in model acidic solutions and fruit juices. **Food Chemistry**, v. 129, issue 3, p. 1037-1044, 2011.

OKE, M; PALIYATH, G. Biochemistry of vegetable processing. In: HUI, Y. H; NIP, W.-K; NOLLET, L. M. L; PALIYATH, G; SIMPSON, B. K. **Food Biochemistry & Food Processing**. Ames: Blackwell Publishing, 2006.

OLIVEIRA, L. A; COSTA, T. M. B; OLIVEIRA, L. R. A; FERREIRA, J. F; NAVARRO, A. M. Respostas glicêmicas de ratos diabéticos recebendo solução aquosa de yacon. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 1, p. 61-67, jan./mar. 2009.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos, vol. 2: alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PADLA, E. P; SOLIS, L. T; RAGASA, C. Y. Antibacterial and antifungal properties of ent-kaurenoic acid from *Smallanthus sonchifolius*. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 10, n. 5, p. 408-414, 2012.

PANDEY, A; LARROCHE, C. SOCCOL, C. R; DUSSAP, C.-G. **Advances in Fermentation Technology**. Nova Delhi: Asiatech Publisher Inc; 2008.

PARVEZ, S; MALIK, K. A; KANG, S. A; KIM, H.-Y. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. **Journal of Applied Microbiology**, v. 100, issue 6, p. 1171-1185, 2006.

PAULA, H. A. A; TESHIMA, E. FERREIRA, C. L. L. F. Aspectos terapêuticos de probióticos, prebióticos e simbióticos. In: FERREIRA, C. L. L. F. **Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2012.

PEDRESCHI, R; CAMPOS, D; NORATTO, G; CHIRINOS, R; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Andean yacon roots (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. Endl) fructooligosaccharides as a potencial novel source of prebiotics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 18, p. 5278-5284, 2003.

PERDIGÓN, G; LOCASCIO, M; MEDICI, M; HOLGADO, A. P. R; OLIVER, G. Interaction of bifidobacteria with the gut and their influence in the immune function. **Biocell**, vol. 27, n. 1; p. 1-9, 2003.

PEREIRA, A. L. F; ALMEIDA, F. D. L; JESUS, A. L. T; COSTA, J. M. C; RODRIGUES, S. Storage stability and acceptance of probiotic beverage from cashew apple juice. **Food and Bioprocess Technology**, v. irreg., n. irreg., p. irreg., 2012.

PEREIRA, A. L. F; MACIEL, T. C; RODRIGUES, S. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1276-1283, 2011.

PRADO, F. C; PARADA, J. L; PANDEY, A; SOCCOL, C. R. Trends in non-dairy probiotic beverages. **Food Research International**, v. 41, issue 2, p. 111-123, 2008.

QUINTEROS, E. T. T. **Produção com tratamento enzimático de avaliação do suco de yacon**. 2000. 148 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

RAMASWAMY, H. S. Thermal processing of fruits. In: BARRETT, D. M; SOMOGYI, L; RAMASWAMY, H. **Processing Fruits**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2004.

REID, D. S; FENNEMA, O. R. Água e gelo. In: DAMODARAN, S; PARKIN, K. L; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

REILLY, S. S; GILLILAND, S. E. *Bifidobacterium longum* survival during frozen and refrigerated storage as related to pH during growth. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 4, p. 714-718, 1999.

RIVERA-ESPINOZA, Y; GALLARDO-NAVARRO, Y. Non-dairy probiotic products. **Food Microbiology**, v. 27, p. 1-11, 2010.

ROBERFROID, M. B. Introducing inulin-type fructans. **British Journal of Nutrition**, v. 93, suppl. 1, p. S13-S25, 2005.

ROBERFROID, M. B. Inulin-type fructans: functional food ingredients. **The Journal of Nutrition**, v. 137, n. 11, p. 2493S-2502S, 2007.

RODRIGUES, F. C; BORGES, J. T; PIROZI, M. R; FERREIRA, C. L. L. F. Yacon como alimento funcional e fonte de prebiótico. In: FERREIRA, C. L. L. F. **Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2012.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, jan./mar., 2006.

SAAD, S. M. I; BEDANI, R; MAMIZUKA, E. M. Benefícios à saúde dos probióticos e prebióticos. In: SAAD, S. M. I; CRUZ, A. G; FARIA, J. A. F. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Livraria Varela, 2011.

SAARELA, M; VIRKAJÄRVI, I; ALAKOMI, H.-L; SIGVART-MATTILA, P; MÄTTÖ, J. Stability and functionality of freeze-dried probiotic *Bifidobacterium* cells during storage in juice and milk. **International Dairy Journal**, v. 16, issue 12, p. 1477-1482, 2006a.

SAARELA, M; VIRKAJÄRVI, I; NOHYNEK, L; VAARI, A; MÄTTÖ, J. Fibers as carriers for *Lactobacillus rhamnosus* during freeze-drying and storage in apple juice and chocolate-coated breakfast cereals. **International Journal of Food Microbiology**, v. 112, issue 2, p. 171-178, 2006b.

SAARELA, M; ALAKOMI, H. L; MÄTTÖ, J; AHONEN, A. M; PUHAKKA, A; TYNKKYNNEN, S. Improving the storage stability of *Bifidobacterium breve* in low pH fruit juice. **International Journal of Food Microbiology**, v. 149, n. 1, p. 106-110, 2011<sup>a</sup>.

SAARELA, M; ALAKOMI, H.-L; MÄTTÖ, J; AHONEN, A.-M; TYNKKYNNEN, S. Acid tolerant mutants of *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* with improved stability in fruit juice. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44, issue 4, p. 1012-1018, 2011b.

SAMONA, A; ROBINSON, R. K; MARAKIS, S. Acid production by bifidobacteria and yoghurt bacteria during fermentation and storage of milk. **Food Microbiology**, v. 13, p. 275-280, 1996.

SANTANA, I; CARDOSO, M. H. Raiz tuberosa de yacon (*Smallanthus sonchifolius*): potencialidade de cultivo, aspectos tecnológicos e nutricionais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 898-905, 2008.

SANT'ANNA, M. S. L; YBARRA, L. M; PAULA, H. A. A; COSTA, N. M. B; FERREIRA, C. L. L. F. Probióticos e prebióticos na absorção de minerais. In:

FERREIRA, C. L. L. F. **Prebióticos e Probióticos: atualização e prospecção**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2012.

SANTOS, R; NETTO, C. C; MACEDO, G. A; PASTORE, G. M. Biotecnologia aplicada à produção de prebióticos. In: SAAD, S. M. I; CRUZ, A. G; FARIA, J. A. F. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Livraria Varela, 2011.

SCHER, C. F. **Estudo do branqueamento e da secagem mediante ar quente do yacon (*Smallanthus sonchifolius*)**. 2009. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

SCHMIDT, F. L; PEREIRA, K. S. O potencial dos probiótico e prebióticos em bebidas de origem vegetal. In: SAAD, S. M. I; CRUZ, A. G; FARIA, J. A. F. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Livraria Varela, 2011.

SHAH, N. P. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 4, p. 894-907, 2000.

SHEEHAN, V. M; ROSS, P; FITZGERALD, G. F. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 8, issue 2, p. 279-284, 2007.

SHIN, H.-S; LEE, J.-H; PESTKA, J. J; USTUNOL, Z. Growth and viability of commercial *Bifidobacterium* spp in skim milk containing oligosaccharides and inulin. **Food Microbiology and Safety**, v. 65, n. 5, p. 884-887, 2000.

SILVA, A. S. S; HAAS, P; SARTORI, N. T; SANTON, A. A; FRANCISCO, A. Frutoligosacarídeos: fibras alimentares ativas. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 25, n. 2, p. 295-304, jul./dez. 2007.

SILVA, E. B. **Processamento de bebida funcional à base do yacon (*Polymnia sonchifolia* Poepping & Endlicher)**. 2004. 96 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

SILVA, N; JUNQUEIRA, V. C. A; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997.

SIMONOVSKA, B; VOVK, I; ANDRENESEK, S; VALENTOVÁ, K; ULRICHOVÁ, J. Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. **Journal of Chromatography A**, v. 1016, issue 1, p. 89-98, 2003.

SINGH, R. P. Thermal properties of frozen foods. In: RAO, M. A; RIZVI, S. S. H. **Engineering Properties of Foods**. Nova York: Marcel Dekker, 1986.

TALWALKAR, A.; KAILASAPATHY, K. The role of oxygen in the viability of probiotic bacteria with reference to *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, v. 5, p. 1-8, 2004.

TEIXEIRA, A. P; PAIVA, C. F; RESENDE, A. J; ZANDONADI, R. P. O efeito da adição de yacon no suco de laranja industrializado sobre a curva glicêmica de estudantes universitários. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 2, p. 313-319, abr./jun. 2009.

TEJADA-SIMON, M. V; LEE, J. H; USTUNOL, Z; PESTKA, J. J. Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* to potentiate immunoglobulin A responses to cholera toxin in mice. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 4, p. 649-660, 1999.

TUCKER, G. S. **Food Biodeterioration and Preservation**. Carlton: Blackwell Publishing, 2008.

TURRONI, F; SINDEREN, D. V; VENTURA, M. Genomics and ecological overview of the genus *Bifidobacterium*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 149, issue 1, p. 37-44, 2011.

VERGARA, C. M. A. C; HONORATO, T. L; MAIA, G. A; RODRIGUES, S. Prebiotic effect of fermented cashew apple (*Anacardium occidentale* L) juice. **LWT – Food Science and Technology**, v. 43, n. issue 1, p. 141-145, 2010.

VRESE, M; MARTEAU, P. R; Probiotics and prebiotics: effects on diarrhea. **The Journal of Nutrition**, v. 137, n. 3, p. 803S-811S, 2007.

WANG, K.-Y; LI, S.-N; LIU, C.-S; PERNG, D.-S; SU, Y.-C; WU, D.-C; JAN, C.-M; LAI, C.-H; WANG, T.-N; WANG, W.-M. Effects of ingesting Lactobacillus- and Bifidobacterium-containing yogurt in subjects with colonized Helicobacter pylori. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, n. 3. p. 737-741, 2004.

WIECHETECK, F. V. B; NOGUEIRA, A; DRILLEAU, J.-F; WOSIACKI, G. Efeito da crioconcentração sobre o teor de compostos fenólicos em mostos industriais de maçã. **Publicatio UEPG – Ciências Exatas e da Terra, Agrárias e Engenharia**, Ponta Grossa, v. 11, n. 1, p. 27-34, 2005.

YOON, K. Y; WOODAMS, E. E; HANG, Y. D. Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria. **LWT – Food Science and Technology**, v. 38, issue 1, p. 73-75, 2004.

YOON, K. Y; WOODAMS, E. E; HANG, Y. D. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. **Bioresource Technology**, v. 97, issue 12, p. 1427-1430, 2005.

ZULETA, A; SAMBUCETTI, M. E. Fructanos: características estructurales y metodología analítica. In: LAJOLO, F. M; MENEZES, E. W. **Carbohidratos en alimentos regionales iberoamericanos**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2006.