



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

JUSSARA KOWALESKI

**IOGURTE PROBIÓTICO À BASE DE FRUTAS EXÓTICAS DE LARANJEIRAS DO
SUL/PR**

LARANJEIRAS DO SUL - PR

2018

JUSSARA KOWALESKI

**IOGURTE PROBIÓTICO À BASE DE FRUTAS EXÓTICAS DE LARANJEIRAS DO
SUL/PR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Fronteira Sul como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. MARCOS ALCEU
FELICETTI

LARANJEIRAS DO SUL - PR

2018

PROGRAD/DBIB – Divisão de Bibliotecas

Kowaleski, Jussara

Iogurte probiótico à base de frutas exóticas de Laranjeiras do Sul/PR
/ Jussara Kowaleski. – 2018.

121 f. : il.

Orientador: Marcos Alceu Felicetti

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Fronteira Sul,
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos – PPGCTA, Laranjeiras do Sul, PR, 2018.

1. Bactérias lácteas. 2. Bifidobactérias. 3. Fibra alimentar. 4. Chia.
I. Felicetti, Marcos Alceu, orient. II. Universidade Federal da Fronteira
Sul. III. Título

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

JUSSARA KOWALESKI

TÍTULO: “Iogurte Probiótico à base de frutas exóticas de Laranjeiras do Sul/PR”.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* - **Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos** – PPGCTAL da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS para obtenção do título de Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos, defendido em 31/07/2018.

Presidente da Banca: Prof. Dr. Marcos Alceu Felicetti

Aprovado em: 31 / 07 / 2018

BANCA EXAMINADORA



Dr. Marcos Alceu Felicetti/UFFS



Dr^a. Leda Battestin Quast/UFFS



Dr^a. Juliana Steffens/URI

Laranjeiras do Sul/PR, julho de 2018

RESUMO

Vem crescendo a busca por uma alimentação saudável, a base de alimentos funcionais. Dentro do grupo dos alimentos funcionais, destacam-se os probióticos, elaborados com microrganismos vivos, que ao serem ingeridos regularmente em quantidades adequadas, resultam em benefícios à saúde. Estudos sugerem que os probióticos devem estar presentes na porção diária na faixa de 10^8 a 10^{10} UFC. Contudo, devido as diversidades, podem existir perdas da viabilidade destes, o que tem elevado às buscas por táticas para a manutenção, como a adição de prebióticos, definidos como carboidratos não digeríveis que ao serem adicionados aos produtos favorecem a multiplicação dos probióticos. Sendo assim a presença de polpa de fruta pode incrementar aspectos nutricionais e funcionais do alimento, especialmente ao teor de fibras prebióticas. A semente de chia (*Salvia hispanica*) vem se tornando conhecida pelos benefícios à saúde, devido ao seu alto teor de fibra alimentar, proteínas e ácidos graxos essenciais, como ômega-3 e ômega-6. Dessa forma, o objetivo deste estudo é desenvolver iogurte com propriedades funcionais à base de morango e semente de chia. Para tanto, foi realizado um delineamento composto central, 2^2 , para avaliar o efeito da concentração de chia e a concentração de morango sobre a contagem das bactérias lácticas e de bifidobactérias e sobre diversos nutrientes e propriedades dos iogurtes probióticos, incluindo a aceitação sensorial. Verificou-se que a adição de chia nos iogurtes aumentou os teores dos compostos avaliados: proteína, lipídios totais, extrato seco total e desengordurado, cinzas, fibra alimentar, ácidos graxos poli-insaturados, em especial ômega-3 e o teor de importantes minerais. Com relação a análise sensorial dos iogurtes, constatou-se que a aceitação foi proporcional a adição de morango e inversamente proporcional a adição de chia e que o iogurte contendo chia, mais bem avaliado, foi a formulação contendo 6% de chia e 12% de morango, tendo índice de aceitabilidade maior que 70%.

Palavras-chave: Bactérias lácteas. Bifidobactérias. Ômega-3. Fibra alimentar. Chia.

ABSTRACT

Growing the search for a healthy diet, the basis of functional foods. Within the functional food group, the most important are probiotics, made with live microorganisms, which, when eaten regularly in adequate amounts, result in health benefits. Studies suggest that probiotics should be present in the daily portion in the range of 10^8 to 10^{10} CFU. However, due to the diversities, there may be losses of viability of these, which has raised the search for tactics for maintenance, such as the addition of prebiotics, defined as nondigestible carbohydrates that when added to the products favor the multiplication of probiotics. Thus, the presence of fruit pulp may increase nutritional and functional aspects of the food, especially the content of prebiotic fibers. Chia seed (*Salvia hispanica*) has become known for its health benefits due to its high content of dietary fiber, protein and essential fatty acids such as omega-3 and omega-6. Thus, the objective of this study is to develop yogurt with functional properties based on strawberry and chia seed. A central composite design was used to evaluate the effect of chia concentration and strawberry concentration on lactic acid and bifidobacteria counts and on various nutrients and properties of probiotic yoghurts, including sensorial acceptance. It was verified that the addition of chia in the yogurt increased the contents of the evaluated compounds: protein, total lipids, total and defatted dry extract, ashes, dietary fiber, polyunsaturated fatty acids, in particular omega-3 and the content of important minerals. With regard to the sensory analysis of yogurts, it was verified that the acceptance was proportional to the addition of strawberry and inversely proportional to the addition of chia and that the yogurt containing chia, better evaluated, was the formulation containing 6% of chia and 12% of strawberry, having an acceptability index greater than 70%.

Key words: Lactic bacteria. Bifidobacteria. Omega 3. Fiber food. Chia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cultivo da chia (a) e grãos de chia (b).....	30
Figura 2 - Estrutura dos ácidos linoleico (a) e α -linolênico (b).....	35
Figura 3 - Esquema da síntese de ácidos graxos insaturados.	35
Figura 4 – Estrutura do ácido linoleico e dos isômeros cis-9, trans-11 e trans-10, cis-12 do ácido linoleico conjugado.	44
Figura 5 – Fluxograma da fabricação do iogurte.....	51
Figura 6 – Gráficos de Pareto para as variáveis: (a) Proteína, (b) Lipídios, (c) Extrato Seco Total, (d) Extrato Seco Desengordurado, (e) Cinzas, (f) Fibra Alimentar, (g) Carboidrato, (h) Acidez, (i) pH, (j) Viscosidade.....	66
Figura 7 – Superfícies de resposta do teor de proteína bruta (A), lipídios (B), fibra alimentar (C) e viscosidade (D) no planejamento DCC aplicado para o iogurte probiótico.....	68
Figura 8 – Gráficos de Pareto para os teores de minerais: (a) Cálcio, (b) Cobre, (c) Potássio, (d) Magnésio, (e) Zinco, (f) Sódio, (g) Ferro, (h) Manganês.....	74
Figura 9 – Superfícies de resposta do teor de cálcio (A), potássio (B), cobre (C) e magnésio (D) no planejamento DCC aplicado para o iogurte probiótico.	76
Figura 10 – Gráfico de Pareto para o perfil de ácidos graxos (a) Total ácidos graxos saturados, (b) Ácido láurico, (c) Ácido mirístico, (d) Ácido palmítico, (e) Ácido esteárico, (f) Total ácidos graxos monoinsaturados, (g) Ácido oleico, (h) Total ácidos graxos poli-insaturados, (i) Ácido linoleico, (j) Ácido α -linolênico, (k) Ácido linoleico conjugado (CLA).	80
Figura 11 – Superfícies de resposta da Soma dos ácidos graxos saturados (A), Ácido láurico (B), Ácido mirístico (C), Ácido palmítico (D), Ácido esteárico (E), Soma dos ácidos graxos monoinsaturados (F), Ácido oleico (G), Soma dos ácidos graxos poli-insaturados (H), Ácido linoleico (I), Ácido α -linolênico (J), Ácido linoleico conjugado (CLA) (K).	84
Figura 12 – Gráfico de Pareto da análise sensorial para os atributos (a) Sabor, (b) Aroma, (c) Textura, (d) Aspecto geral.....	96
Figura 13 – Superfícies de resposta dos atributos avaliados pela análise sensorial do iogurte: Sabor (A), Aroma (B), Textura (C) e Aspecto geral (D).....	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição nutricional de morangos	28
Tabela 2 - Propriedades nutricionais em 100g de grãos de chia	30
Tabela 3 – Nomenclaturas de ácidos graxos	34
Tabela 4 - Composição nutricional do leite de vaca em 100mL	40
Tabela 5 - Requisitos físico-químicos para o leite cru refrigerado.....	41
Tabela 6 - Parâmetros de qualidade de leites integrais pasteurizados.....	42
Tabela 7 - Ingredientes utilizados na formulação de iogurte controle.	49
Tabela 8 - Matriz de ensaios para o delineamento composto central 2 ² com valores reais % e codificados (entre parênteses).	49
Tabela 9 - Condições operacionais para a determinação de cálcio, cobre, potássio, magnésio, sódio, zinco, ferro e manganês no espectrômetro de absorção atômica.	56
Tabela 10 - Caracterização das matérias-primas utilizadas na produção dos iogurtes.....	59
Tabela 11 - Perfil dos ácidos graxos das matérias-primas utilizadas na produção dos iogurtes	61
Tabela 12 - Teor mineral das matérias-primas utilizadas na produção dos iogurtes.....	63
Tabela 13 - Qualidade microbiológica das matérias-primas utilizadas na produção dos iogurtes	64
Tabela 14 – Resultados da ANOVA para avaliação do teor de proteína, lipídios, fibra alimentar e viscosidade.....	67
Tabela 15 - Médias dos resultados dos ensaios físico-químicos realizados nos iogurtes.....	69
Tabela 16 – Acidez média dos iogurtes nos tempos 1, 9, 16, 26 e 35 dias de armazenamento.	71
Tabela 17 – pH médio dos iogurtes nos tempos 1, 9, 16, 26 e 35 dias de armazenamento.....	72
Tabela 18 – Resultados da ANOVA para o teor de cálcio, potássio, cobre e magnésio	75
Tabela 19 - Teor médio dos minerais dos iogurtes.....	77
Tabela 20 – Resultados da ANOVA para avaliação do perfil dos ácidos graxos	82
Tabela 21 – Perfil dos ácidos graxos dos iogurtes.....	86
Tabela 22 - Índices de qualidade nutricional da fração lipídica das matérias-primas utilizadas na fabricação dos iogurtes e dos iogurtes produzidos.	89
Tabela 23 - Média da contagem de coliformes totais, termotolerantes e de bolores e leveduras nos tempos 1, 9, 16, 26 e 35 dias de armazenamento dos iogurtes.	92

Tabela 24 - Média da contagem de bactérias lácteas nos tempos 1, 9, 16, 26 e 35 dias de armazenamento dos iogurtes.	93
Tabela 25 - Média da contagem de bifidobactérias nos tempos 1, 9, 16, 26 e 35 dias de armazenamento dos iogurtes.	94
Tabela 26 – Resultados da ANOVA para os atributos avaliados por meio da análise sensorial.	97
Tabela 27 - Médias referentes aos atributos dos iogurtes, avaliados por meio de análise sensorial utilizando Escala Hedônica.	99
Tabela 28 - Índice de aceitabilidade para as formulações de iogurtes, mediante os atributos avaliados.	99

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.2 OBJETIVO GERAL	12
1.2.1 Objetivos Específicos	12
2 ALIMENTOS FUNCIONAIS	13
2.1 DERIVADOS LÁCTEOS E SEMENTE DE CHIA	15
2.2 FIBRAS ALIMENTARES E PREBIÓTICOS	16
2.3 PROBIÓTICOS	17
2.3.1 Gênero Bifidobacterium	21
3 IOGURTE	24
3.1 MATÉRIAS-PRIMAS UTILIZADAS NA FABRICAÇÃO DO IOGURTE	27
3.1.1 Morango	27
3.1.2 Chia – <i>Salvia hispanica</i>	29
3.1.2.1 Ácidos graxos	32
3.1.2.1.1 <i>Estrutura química e nomenclatura</i>	33
3.1.2.1.2 <i>Síntese do ácido linoleico e ácido α-linolênico</i>	34
3.1.2.1.3 <i>Proporção n-6/n-3</i>	36
3.1.2.1.4 <i>Propriedades funcionais</i>	37
3.1.2.1.5 <i>Recomendações e fontes de ácidos graxos poli-insaturados</i>	38
3.1.3 Leite	39
3.1.3.1 Ácido linoleico conjugado - CLA	42
3.1.3.1.1 <i>Estrutura química do ácido linoleico conjugado</i>	44
3.1.3.1.2 <i>Síntese</i>	45
3.1.3.1.3 <i>Variação do conteúdo de CLA no leite e derivados lácteos</i>	45
3.1.3.1.4 <i>Propriedades funcionais</i>	46
4 MATERIAL E MÉTODOS	48
4.1 LOCAL DE PESQUISA	48
4.2 MATÉRIA-PRIMA	48
4.3 CULTURAS LÁCTEAS	48
4.4 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES	48
4.4.1 Delineamento Experimental	49
4.5 PROCESSAMENTO DAS FORMULAÇÕES DOS IOGURTOS	50
4.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS	51

4.7 ANÁLISE SENSORIAL	57
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	59
5.1.1 Composição Físico-química da Matéria-prima	59
5.1.2 Perfil de Ácidos Graxos da Matéria-prima.....	60
5.1.3 Teor de Minerais da Matéria-prima	62
5.1.4 Qualidade Microbiológica da Matéria-prima.....	63
5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS IOGURTES PRODUZIDOS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MORANGO E CHIA.....	64
5.2.1 Composição Físico-Química dos Iogurtes	64
5.2.2 Teor de Minerais dos Iogurtes.....	73
5.2.3 Perfil de Ácidos Graxos dos Iogurtes.....	79
5.2.4 Análise Microbiológica dos Iogurtes.....	91
5.2.5 Contagem de Bactérias Láticas e de Bifidobactérias dos Iogurtes	92
5.2.6 Análise Sensorial dos Iogurtes.....	95
6 CONCLUSÕES.....	102
REFERÊNCIAS	103

1 INTRODUÇÃO

Alimentos saudáveis com propriedades funcionais são excelente alternativa para melhorar a qualidade de vida. Uma vez que alimentos considerados funcionais, além de nutrir, promovem a melhoria da saúde (SAAD, 2006). Neste contexto, cresce o número de pessoas em busca de uma alimentação saudável, a base de alimentos funcionais, com elevado teor de fibras, teores reduzidos de gorduras e de açúcares. Na lista dos alimentos com alegações de propriedades funcionais atualizada pela Anvisa em 2016 encontra-se os probióticos (BRASIL, 2016).

O organismo humano precisa de uma quantidade adequada de “boas” bactérias no trato digestivo, que pode ser adquirida com uma boa alimentação que inclua, por exemplo, probióticos, como iogurtes elaborados com microrganismos vivos, que ao serem ingeridos em quantidades adequadas, resultam em benefícios à saúde, por ajustar a microflora (o equilíbrio natural dos organismos) nos intestinos, ou por atuação direta nas funções corporais, como digestão e função imune (NASSER et al., 2009).

Os leites fermentados são excelentes para consumo de probióticos, uma vez que, além de ter elevada aceitação sensorial, apresentam ainda significativo valor nutritivo. Dentre os leites fermentados, o iogurte destaca-se com predominância no mercado mundial, constituindo fonte de cálcio, potássio, fósforo, zinco, vitamina B2, vitamina B5, vitamina B12, iodo, proteína e molibdênio (ANTUNES et al., 2007). Além disso, é possível melhorar as características sensoriais e funcionais do produto por meio da adição de outros ingredientes, como frutas e sementes, além de microrganismos probióticos.

Nos últimos anos, com o propósito de melhorar a palatabilidade, tem havido um aumento de produtos lácteos fermentados adicionados de suco de frutas ou flavorizantes. A adição de polpa de fruta ao leite fermentado pode representar problemas ou benefícios tecnológicos, especialmente no que se refere à viabilidade dos microrganismos durante a vida de prateleira do produto. Por outro lado, a presença de polpa de fruta pode incrementar os aspectos nutricionais e funcionais do alimento (SANTO et al., 2011).

A quantidade e a sobrevivência dos probióticos são influenciados por inúmeros fatores como: a presença de outros microrganismos; a matriz do alimento no qual foi adicionado; a adição de diferentes tipos de frutas e/ou diferentes ingredientes; as condições de processamento; o tipo de embalagem usada; a barreira à passagem de oxigênio (MAZOCHI et al., 2010; SANTO et al., 2011).

Essa perda da viabilidade dos microrganismos probióticos tem levado a busca por táticas para a manutenção da viabilidade, como a seleção de estirpes resistentes e a adição de prebióticos para estimular seletivamente a atividade de algumas bactérias do cólon (VASILJEVIC; SHAH, 2008).

Os prebióticos estão entre os alimentos funcionais (BRASIL, 1999), sendo definidos como carboidratos não digeríveis que estimulam o crescimento e/ou a atividade de um grupo de bactérias no cólon, trazendo benefícios à saúde do indivíduo. Desta forma, podem ser utilizados como substrato para a microbiota intestinal, estimulando seletivamente a proliferação de bactérias que colaboram para o bem-estar e saúde do hospedeiro (ROBERFROID, 2007).

Uma microbiota intestinal saudável e equilibrada resulta em um desempenho normal das funções fisiológicas, assegurando melhoria da qualidade de vida. Uma colonização equilibrada, com quantidade elevada de probióticos no cólon do intestino, mantém um ambiente adverso aos patógenos que poderiam se instalar nessa região (OLIVEIRA et al., 2011).

A chia, por sua vez, pertencente à família das Lamináceas, apresenta alto conteúdo de proteínas, minerais, com destaque para o cálcio, ferro e potássio e, de acordo com Rupflin (2011), possui ainda propriedades funcionais devido ao seu alto teor de ácidos graxos α -linolênico (ômega 3), além do alto teor de fibras alimentares, podendo devido a este último atributo atuar como prebiótico, favorecendo a multiplicação dos probióticos nos produtos e, subsequentemente, também no cólon do intestino após ingestão destes.

Por ser um alimento rico nutricionalmente, pesquisadores como Ewerling (2018); Gohara et al. (2013); Souza et al. (2015) e Zerbielli (2014), têm desenvolvido estudos a fim de comprovar o enriquecimento nutricional adicionando chia em formulações alimentícias, que poderão auxiliar na prevenção de diversas doenças, incluindo as cardiovasculares, e numa melhor qualidade de vida aos potenciais consumidores. Porém, verifica-se ainda a necessidade de mais estudos científicos em relação a sua caracterização e aplicação em alimentos.

Sendo assim, justifica-se este estudo por somar as propriedades funcionais da chia e dos probióticos, para o desenvolvimento de um produto, que seja fonte de ácidos graxos Ômega-3 e de microrganismos probióticos.

1.2 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um iogurte probiótico que apresente propriedades funcionais à base de morango e chia.

1.2.1 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Caracterizar o leite, analisando parâmetros físico-químicos e microbiológicos;
- Caracterizar o morango, analisando parâmetros físico-químicos e microbiológicos;
- Caracterizar a semente de chia, analisando parâmetros físico-químicos e microbiológicos;
- Desenvolver iogurtes probióticos adicionando diferentes concentrações de morango e semente de chia afim de incrementar os aspectos nutricionais e funcionais do produto;
- Caracterizar os iogurtes obtidos, analisando parâmetros físico-químicos e microbiológicos;
- Acompanhar durante o armazenamento, por meio de análises laboratoriais, as alterações físico-químicas e microbiológicas até o fim da vida útil dos iogurtes produzidos, com previsão de vida útil de 35 dias;
- Realizar análise sensorial para verificar a aceitabilidade do consumidor em relação aos iogurtes produzidos com diferentes concentrações de morango e semente de chia.
- Definir a melhor formulação do iogurte probiótico adicionado de morango e chia, com base nas propriedades funcionais e nutricionais observadas, bem como na aceitação sensorial do consumidor.

2 ALIMENTOS FUNCIONAIS

A preocupação crescente em aumentar a expectativa de vida da população, bem como oferecer a esta uma vida saudável, com redução de doenças, tem promovido diversos estudos com relação aos alimentos e seus efeitos ao organismo humano. Dessa forma, a alimentação vem se tornando fator importante tanto na prevenção quanto na promoção da saúde, evitando e controlando diversas doenças, como: hipertensão, diabetes, neoplasias, insuficiência cardíaca, eczema atópico, diarreias causadas por microbiota desbalanceada e doenças inflamatórias intestinais (RAIZEL et al., 2011; SAAD, 2006; SHINOTSUKA; ALEXANDRE; DAVID, 2008; SOUZA et al., 2010).

Assim o progresso da ciência sobre a relação entre alimentação e saúde, juntamente com os elevados custos da saúde pública e a procura constante da indústria por inovações, têm instigado a busca por novos produtos que tenham funções além da de nutrir (SALES et al., 2008).

Segundo a Resolução nº 18 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é definido como funcional, todo alimento que, além das funções metabólicas normais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produza efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para o consumo sem supervisão médica (BRASIL, 1999).

Dessa forma, para um alimento ser considerado funcional deve ser capaz de afetar beneficemente uma ou mais funções do corpo, apresentando características relevantes para o bem-estar e a saúde de quem consome. Esses alimentos podem ser utilizados com o intuito de reduzir o risco de doenças e para a manutenção da saúde do usuário (MORAES; COLLA, 2006).

Os alimentos funcionais se destacaram e ganharam espaço mundialmente no mercado a partir dos anos 1980. Pesquisa conduzida entre os anos de 2002 a 2005, pelo Instituto AC Nielsen, mostra que o setor registrou crescimento de mais de 50% em termos globais (RAUD, 2008).

Ikeda, Moraes e Mesquita (2010) estimaram que os alimentos funcionais estavam crescendo 20% ao ano no mercado brasileiro, afirmando que os alimentos que prometiam promover à saúde estavam entre as principais tendências do mercado alimentício.

De acordo com a ABIAD (Associação Brasileira da Indústria de Alimentos para Fins Especiais e Congêneres), o mercado em 2008 rodeava em torno de US\$ 60 bilhões no mundo para estes alimentos (AGÊNCIA BRASIL, 2008). Esse número já estava próximo dos US\$ 150

bilhões, em 2011. Na época estimava-se que o segmento apresentaria um crescimento de 38% até 2017, com valores estimados na casa dos US\$ 207 bilhões (FRANCO, 2014).

Em 2014, a América Latina representava 17% do mercado de alimentos funcionais, chegando a valores de US\$ 45 bilhões; deste total o Brasil era responsável por US\$ 14,6 bilhões (SCHULKA; COLLA, 2014).

Na lista dos alimentos com alegações de propriedades funcionais atualizada pela Anvisa em 2016 encontram-se os probióticos e os prebióticos, o ácido graxo poli-insaturado ômega-3 e as fibras alimentares (BRASIL, 2016).

Segundo a Anvisa, os probióticos são definidos como microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal e assim de produzir efeitos benéficos à saúde do indivíduo (BRASIL, 2002).

Estudos sugerem que, para conferir a alegação funcional, os probióticos devem estar presentes na porção diária na faixa de 10^8 a 10^{10} unidades formadoras de colônia (UFC), o que representa que o consumo de 100g de alimento contendo no mínimo 10^6 UFC/g, é necessária para que esses possam desempenhar seu efeito probiótico (REID et al., 2003).

A elevada população viável de microrganismos probióticos no momento do consumo dos produtos não garante a sobrevivência depois das células chegarem ao intestino. O pH baixo do estômago, juntamente com a presença de sais biliares no intestino delgado, são as principais razões para que haja um declínio na viabilidade dos probióticos (MORTAZAVIAN; SOHRABVANDI, 2006).

Essa perda da viabilidade dos microrganismos probióticos tem levado a busca por táticas para manter a sobrevivência, como a seleção de estirpes resistentes e a adição de prebióticos para estimular seletivamente a atividade de bactérias específicas do cólon (VASILJEVIC; SHAH, 2008).

Dentre os produtos com alegações funcionais estão também os prebióticos (BRASIL, 1999), definidos como carboidratos não digeríveis que estimulam o crescimento e/ou a atividade de um grupo de bactérias no cólon, trazendo benefícios à saúde do indivíduo.

Uma microbiota intestinal saudável e equilibrada resulta em um desempenho normal das funções fisiológicas, assegurando melhoria da qualidade de vida. Uma colonização equilibrada, com quantidade elevada de probióticos no cólon do intestino, mantém um ambiente adverso aos patógenos que poderiam se instalar nessa região (OLIVEIRA et al., 2011).

Os alimentos que contêm microrganismos probióticos e ingredientes prebióticos são chamados de simbióticos, resultando em produtos com as características funcionais dos dois grupos que juntamente beneficiam o hospedeiro (SAAD, 2006). A associação entre o probiótico

e o prebiótico pode favorecer a sobrevivência dos microrganismos bem como aumentar os efeitos benéficos de cada um deles, tanto no alimento como no organismo do hospedeiro após ingestão do alimento (OLIVEIRA et al., 2011).

O consumo de ácidos graxos poli-insaturados ômega 3, que estão inclusos na lista de alimentos com alegações de propriedades funcionais, auxilia na manutenção de níveis saudáveis de triglicerídeos, desde que associados a uma alimentação equilibrada (BRASIL, 2016). São ácidos graxos formados por cadeias lineares de hidrocarbonetos que apresentam grupo carboxila em uma extremidade (delta) e um grupo metila na outra (ômega), com duas ou mais insaturações em suas cadeias carbônicas (CALDER; YAQOOB, 2009).

As fibras alimentares são de origem vegetal, resistentes à digestão e consequente absorção no intestino delgado. Possuem propriedades funcionais pois auxiliam o funcionamento do intestino. Associadas a um consumo hídrico adequado, retardam o esvaziamento gástrico, reduzindo o tempo do trânsito intestinal, elevam o volume do bolo fecal e à saciedade após seu consumo (CATALANI et al., 2003; DALL'ALBA; AZEVEDO, 2010). O consumo de fibras alimentares está associado também à redução do risco de câncer de cólon, prevenção da constipação, diabetes melito tipo 2, obesidade e doenças cardiovasculares (ARAÚJO, 2011).

2.1 DERIVADOS LÁCTEOS E SEMENTE DE CHIA

Entre a classe de alimentos que se destacam na área de funcionais, estão os produtos lácteos. Leites fermentados, como o iogurte, são excelentes para consumo de probióticos, bem como de prebióticos, uma vez que, além de terem elevada aceitação sensorial, apresentam ainda significativo valor nutritivo (ANTUNES et al., 2007).

Dessa forma, o iogurte além de bactérias iniciadoras pode conter diferentes probióticos, sendo mais utilizadas as dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, devido à viabilidade destes probióticos e às características sensoriais adequadas conferidas ao produto final (TAMINE et al., 2005).

Nos últimos anos, tem havido um aumento de produtos lácteos fermentados com adição de suco de frutas ou flavorizantes, inclusive de frutas pouco comuns, como as frutas consumidas tipicamente no nordeste brasileiro (BEZ et al., 2015). Do ponto de vista tecnológico, a adição de polpa de fruta nativa ao leite fermentado pode representar problemas ou benefícios tecnológicos, especialmente no que se refere à viabilidade dos microrganismos durante a vida de prateleira do produto. Por outro lado, a presença de polpa de fruta pode incrementar os

aspectos nutricionais e funcionais do alimento, especialmente em relação ao potencial antioxidante e ao teor de fibras prebióticas (SANTO et al., 2011).

Segundo Tombine (2013), a semente de chia pode ser considerada também como um alimento com alegações de propriedades funcionais uma vez sendo nutricionalmente rica e apresentando compostos que proporcionam benefícios a saúde, tais como diminuição de problemas de prisão de ventre, redução de risco de alguns tipos de câncer entre outros. De acordo com Rupflin (2011) a chia possui propriedades funcionais devido ao seu alto teor de ácidos graxos α -linolênico (ômega 3), além do alto teor de fibras alimentares presentes, podendo devido a este último atributo atuar como prebiótico, favorecendo a multiplicação dos probióticos nos produtos e, subsequentemente, também no cólon do intestino.

Devido às propriedades funcionais que lhe são atribuídas e por ser a mais rica fonte natural de ômega-3 e ácidos graxos, a semente de chia é ideal para enriquecer uma vasta gama de produtos, sendo, portanto, um grande potencial para o mercado de alimentos (TOSCO, 2004).

2.2 FIBRAS ALIMENTARES E PREBIÓTICOS

A fibra alimentar inclui polissacarídeos vegetais, como celulose, hemiceluloses, gomas, pectinas e mucilagens, oligossacarídeos e lignina, que pode ser agrupada em: fibras solúveis (gomas, pectinas, mucilagens e hemiceluloses) e fibras insolúveis (lignina, celulose, e algumas hemiceluloses e mucilagens). Com o tempo o conceito de fibras foi ampliado, incluindo substâncias funcionalmente semelhantes: inulina, amido resistente e frutooligossacarídeos. Dentre as principais funções das fibras, estão: atuar sobre a diabetes melito, constipação intestinal, obesidade e outros (LEITE et al., 2003).

De acordo com a RDC nº 54, da Anvisa, que dispõe sobre o regulamento técnico sobre informação nutricional complementar, os alimentos fontes de fibras são aqueles com no mínimo 3g de fibras em 100g ou 100 mL de produto final ou mesmo, pelo menos 2,5g destas por porção do produto. Os alimentos com alto teor de fibra devem apresentar pelo menos 6 g destas por 100 g ou 100 mL de produto pronto ou 5g de fibras por porção (BRASIL, 2012).

A Anvisa estabelece diversos requisitos para que os produtos possam alegar funcionalidade. No caso das fibras alimentares, e compostos de ação semelhante, estabelece que o produto deve fornecer 3g do componente, em caso de alimento sólido, ou 1,5g, em caso de líquido (BRASIL, 1999).

Além da introdução de bactérias vivas ao cólon, chamadas de probióticas, há outra maneira de aumentar o número de bactérias benéficas na microbiota intestinal (CARDARELLI, 2006). O consumo de prebióticos, definidos como substratos de crescimento dos microrganismos dos intestinos, são carboidratos não digeridos no intestino delgado e que, ao atingir o intestino grosso, são metabolizados seletivamente por um número limitado de bactérias denominadas benéficas, as quais alteram a microbiota do cólon gerando uma microbiota bacteriana saudável (RAIZEL et al., 2011).

São constituídos basicamente por carboidratos de diferentes tamanhos, desde mono, dissacarídeos, oligossacarídeos, até grandes polissacarídeos. Podem ser encontrados na chicória, alho, cebola, alcachofra, cereais, aspargos, beterraba, banana, raízes de almeirão, trigo e tomate, podendo ainda estar presentes no açúcar mascavo e no mel, em bulbos e em tubérculos, como a yacon (PASSOS; PARK, 2003).

Para ser definido como prebiótico, um ingrediente (ou grupo de substâncias), deve cumprir alguns requisitos, tais como: ser de origem vegetal, ser parte de um conjunto heterogêneo de moléculas complexas, não ser absorvido na porção superior do trato gastrointestinal e nem ser digerido por enzimas digestivas, ser osmoticamente ativo e ser seletivamente fermentado por bactérias potencialmente benéficas ao cólon; tornando assim a composição microbiota mais saudável (HAULY; MOSCATTO, 2002; ROBERFROID, 2007; SILVEIRA RODRÍGUEZ; MONEREO MEGÍAS; MOLINA BAENA, 2003).

A inulina e os frutooligossacarídeos (FOS) ou simplesmente oligofrutose, formado a partir da hidrólise da inulina pela enzima inulase, são as fibras que vem sendo mais utilizadas como prebióticas. Estas fibras são denominadas frutanos, fibras insolúveis e fermentáveis, que não são degradadas pela α -amilase e por outras enzimas hidrolíticas, como maltase, sacarase e isomaltase, na parte superior do trato intestinal (RAIZEL et al., 2011).

2.3 PROBIÓTICOS

Os probióticos são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício de saúde ao hospedeiro. Dessa forma, microrganismos vivos usados como auxiliares de processamento ou fontes de compostos úteis, não são probióticos, mas sim, aqueles que são administrados principalmente por seus benefícios para a saúde (HILL et al., 2014).

Em sua maioria os probióticos são vendidos como ingredientes alimentares, comumente como produtos lácteos, mas é possível encontrar também na forma de cápsulas ou em pó. Os

microorganismos usados como probióticos são principalmente cepas bacterianas de lactobacilos (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Lactobacillus salivarius*) e bifidobactérias (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum* e *Bifidobacterium lactis*) (BRUNSER; GOTTELAND, 2010).

Para os microrganismos serem considerados probióticos devem ser do ambiente hospedeiro humano, serem capazes de suportar a acidez gástrica, os efeitos dos sais biliares conjugados e enzimas intestinais e pancreáticas, devendo ainda aderir ao epitélio celular, devem sobreviver aos processos industriais envolvidos em sua incorporação aos alimentos e devem ser seguros, mesmo quando administrados em grandes quantidades, devendo exibir as relações de dose e resposta. Boa parte destes requisitos já está incluída nas diretrizes da FAO/OMS para a avaliação de probióticos para uso alimentar (FAO; WHO, 2002; WILSON, 2005).

Há muito tempo os lactobacilos e as bifidobactérias estão sendo utilizados na nutrição, estando incluídos na categoria de organismos, do *Food and Drug Administration*, “Geralmente reconhecidos como seguros” (GRAS) ou na sua categoria equivalente “Percepção qualificada de segurança” (QPS) na união européia (BRUNSER; GOTTELAND, 2010).

À nível molecular os mecanismos de ação dos probióticos são amplamente desconhecidos, mas sua ação pode ser separada em (RIJKERS et al., 2010):

I - Interação direta com a microbiota, além de atividades enzimáticas diretas no lúmen intestinal;

II - Interação com epitélio e o muco intestinal, incluindo processos digestivos, efeitos de barreira, sistema imune da mucosa e sistema nervoso entérico;

III - Sinalizando para o hospedeiro além do intestino para o fígado, sistema imunológico sistêmico e órgãos em potencial.

Os probióticos têm sido utilizados para a prevenção e tratamento de várias doenças e para o bem-estar geral. Alguns de seus benefícios à saúde foram validados, enquanto outros ainda necessitam de mais estudos para a comprovação (WILLIAMS, 2010). Sabe-se atualmente que os probióticos auxiliam no equilíbrio da flora intestinal e a evidência disso é o uso dos probióticos no tratamento e prevenção de diarreias, na infecção por *Clostridium difficile* e na síndrome do intestino irritável. Além disso, exercem outros benefícios à saúde, como prevenção de infecções respiratórias em crianças, úlceras devido a *Helicobacter pylori*, cárie dentária, infecções do trato urinário, encefalopatia hepática, candidíase vulvovaginal, redução dos sintomas de dermatite e melhora da função do sistema imunológico (GOLDIN; GORBACH, 2008; WILLIAMS, 2010). Tem havido ainda relatos sobre a função dos probióticos na

prevenção da mortalidade e enterocolite necrosante em recém-nascidos prematuros de muito baixo peso, o desempenho como adjuvantes de vacinas e na modulação de doenças inflamatórias intestinais, obesidade, diabetes mellitus tipo 1, hipercolesterolemia (DESHPANDE; RAO; PATOLE, 2011).

Contudo, diferentes espécies ou diferentes cepas probióticas podem exercer efeitos diferentes e até mesmo antagonicos (BRUNSER; GOTTELAND, 2010). Dessa forma, considerando os benefícios específicos, se faz necessário a identificação e a seleção adequada das cepas (MERCENIER; LENOIR-WIJNKOOP; SANDERS, 2008).

Altas contagens de células viáveis e taxas de sobrevivência durante a passagem pelo estômago são necessárias para permitir que os probióticos desempenhem sua função no intestino humano. Acredita-se que seja necessária uma contagem de células viáveis entre 10^7 e 10^9 UFC/g de produto (OLIVEIRA et al., 2011). Contudo, acredita-se que o alimento que transporta essas bactérias também pode influenciar seu nível de atividade, alguns produtos permitem maior eficiência na entrega das bactérias viáveis ao intestino que outros. O ideal seria basear a decisão em um dado número de células de uma cepa específica para um determinado alimento. Como nem sempre isso é possível, a decisão deve-se basear em legislações ou recomendações de organizações. A *International Dairy Federation* (IDF), recomenda que produtos lácteos contenham pelo menos 10^7 UFC por mL da cultura probiótica e, da mesma forma que o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de leites fermentados, do MAPA, determina que, quando o probiótico *Bifidobacterium* estiver presente em leite fermentado, deve ter uma contagem mínima de 10^6 UFC/g até o final da vida útil do produto (BRASIL, 2007; CHAMPAGNE; GARDNER; ROY, 2005; PAVLOVIĆ; STANKOV; MIKOV, 2012).

O conteúdo de gordura, proteínas, açúcares, acidez e pH do produto podem afetar o crescimento e a sobrevivência dos probióticos nos alimentos. Dessa forma, as formulações dos produtos podem ser manipuladas para este fim. Alimentos, principalmente lácteos, são considerados, por muitos, ideais para o fornecimento de bactérias probióticas ao trato gastrointestinal humano. Atualmente, as bactérias probióticas são incorporadas principalmente em produtos como queijo, iogurte, leite fermentado (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010).

Alguns estudos demonstraram que algumas culturas probióticas não se multiplicam bem no leite puro, tendo crescimento frequentemente lento ou limitado e isso parece ser parcialmente devido às baixas atividades proteolíticas. As bifidobactérias geralmente não são altamente proteolíticas e seu crescimento no leite também é dependente de suas atividades de β -galactosidase. Em alguns casos, a mistura de cepas probióticas não proteolíticas com uma

bactéria do ácido láctico altamente proteolítica pode ser útil (FARNWORTH et al., 2007; VASILJEVIC; SHAH, 2008).

Com a estratégia de melhorar o crescimento de culturas probióticas pela adição de novos ingredientes, tem havido o desenvolvimento de novos produtos lácteos. Dados sugerem que suplementos à base de plantas têm tido bons resultados para este fim.

Iogurtes probióticos contendo frutas são bem aceitos pelos consumidores. Estes produtos são geralmente preparações estabilizadas com pH diferente dependendo do tipo de fruta e podem conter conservantes, açúcares e estabilizantes, que podem interferir no crescimento dos microrganismos probióticos. Segundo Champagne; Gardner; Roy (2005) embora a sensibilidade varia entre as cepas probióticas, sucos de frutas, sabores de morango e de baunilha, em concentrações comumente usadas em produtos lácteos, podem inibir o crescimento de bactérias probióticas. Um estudo realizado comparando iogurtes contendo diferentes frutas e iogurte natural, mostrou que o iogurte natural reteve maior número de *Lactobacillus acidophilus* do que os iogurtes contendo frutos silvestres mistos ou maracujá. O iogurte natural, no entanto, não continha maiores níveis de *Lactobacillus acidophilus* do que os iogurtes de manga ou morango. Indicando que algumas das misturas de frutas tiveram um efeito significativo na viabilidade de *Lactobacillus acidophilus*. Contudo, não foi detectado diferença no número de unidades formadoras de colônias de *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* entre os diferentes tipos de iogurte durante o mesmo período de armazenamento (KAILASAPATHY; HARMSTORF; PHILLIPS, 2008).

Foi observado que ao se fabricar queijo ou iogurte, por exemplo, a adição de culturas probióticas no início juntamente com as culturas iniciadoras geralmente resulta em um crescimento mais lento das cepas probióticas. Isso pode estar parcialmente relacionado à produção de inibidores produzidos pelas culturas iniciadoras, mas principalmente pelo fato de que as culturas típicas iniciais crescem mais rapidamente, a acidificação ocorre mais rápido, e os tempos de fermentação são muito menores, limitando o crescimento de probióticos durante a fabricação. Isso tem levado ao desenvolvimento de produtos onde as culturas de probióticos são as únicas a serem adicionadas (VASILJEVIC; SHAH, 2008).

O projeto europeu Fair CT96-1028 concluiu que, para cada cultura probiótica, é importante selecionar uma cultura de suporte ideal para obter uma boa sobrevivência em produtos fermentados, isso não apenas para o crescimento competitivo durante a fabricação, mas também para a manutenção de estabilidade durante o armazenamento do produto (CHAMPAGNE; GARDNER; ROY, 2005).

Numerosos estudos relatam a estabilidade dos probióticos durante o armazenamento, sendo que o pH é um fator crítico na sobrevivência destes microrganismos. Embora existam diferenças significativas entre as estirpes em relação à sobrevivência num meio ácido, em geral, *Lactobacillus*, culturas acidófilas são mais resistentes a ambientes ácidos do que as bifidobactérias. O fato de que a acidez pode aumentar durante o armazenamento, agrava esse problema. Para evitar isso, torna-se importante selecionar lactobacilos que tenham propriedades fracas de acidificação, ou reduzir e até mesmo excluir *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* da cultura iniciadora (CHAMPAGNE; GARDNER; ROY, 2005).

O oxigênio pode afetar as culturas probióticas diretamente, quando morrem em sua presença, devido à produção intracelular de peróxido de hidrogênio ou indiretamente, quando são afetadas pelo peróxido de hidrogênio produzido por outras culturas, particularmente *Lactobacillus delbrueckii* quando este encontra oxigênio no ambiente. Estudos têm focado em encontrar uma maneira de prevenir os efeitos prejudiciais do oxigênio nas culturas probióticas, a mais comum encontrada é a adição de antioxidantes, como o ácido ascórbico, e a eliminação de cepas produtoras de peróxido (CHAMPAGNE; GARDNER; ROY, 2005).

Durante a adição de polpas de frutas e agitação do iogurte pode haver incorporação de oxigênio, dessa forma iogurtes com adições de frutas podem resultar em baixos níveis de viabilidade em comparação com os iogurtes naturais, especialmente se a cepa probiótica for menos tolerante ao oxigênio (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010).

Kailasapathy; Harmstorf; Phillips (2008) relataram também perda rápida de viabilidade de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* com porcentagem crescente de polpa de frutas adicionada ao iogurte, sugerindo que a acidez do iogurte de frutas batido pode ser aumentada com a adição de mais polpa de frutas, resultando em perdas rápidas de viabilidade.

A resposta imunológica de um número crescente de pessoas tem reduzido, em parte devido às doenças como a AIDS e o câncer, em parte devido ao próprio envelhecimento ou, paradoxalmente, à melhoria do saneamento nas cidades, que nos expõe menos aos patógenos. Se conseguirmos superar os desafios inerentes as cepas probióticas e sua adição nos alimentos, teríamos um auxílio para resolver essa questão, pois são vários os benefícios que o consumo de alimentos probióticos podem trazer a sociedade (CHAMPAGNE; GARDNER; ROY, 2005).

2.3.1 Gênero Bifidobacterium

As bactérias do gênero *Bifidobacterium* são bacilos, gram positivos, não esporogênicos, imóveis, anaeróbios estritos e foram isolados pela primeira vez por Tissier em 1899. São

heterofermentativos e produzem ácidos acético e lático na proporção molar de 3:2 a partir de dois moles de hexoses, a enzima essencial desta via metabólica é a frutose-6-fosfato fosfocetolase, sendo que este gênero é diferenciado do gênero *Lactobacillus* pela presença desta enzima (ZERBIELLI, 2014). Produzem preferencialmente ácido lático L(+), que é mais facilmente metabolizado por humanos do que o ácido lático D(-). Todas as estirpes de origem humana são capazes de utilizar a lactose, a galactose e a frutose, além da glicose, como fontes de carbono. Não produzem CO₂, exceto na degradação do glucomato (GOMES; MALCATA, 1999).

As bifidobactérias são consideradas um dos grupos mais importantes em relação à saúde humana. No trato gastrointestinal humano há cerca de mais de 400 espécies de bactérias, sendo que as espécies do *Bifidobacterium* pertencem à flora anaeróbica dominante do cólon. Este gênero inclui 30 espécies, sendo 10 de origem humana (cáries dentárias, fezes e vagina), 17 de origem animal, 2 de águas residuais e 1 de leite fermentado, sendo que esta última apresenta uma boa tolerância ao oxigênio, ao contrário da maior parte das demais (PIMENTEL; FRANCKI; GOLLUCKE, 2005).

Este gênero compõe 5% a 10% da flora total de colônias de crianças e adultos saudáveis. Nos dias seguintes ao nascimento, os bebês apresentam flora intestinal dominada pelas bifidobactérias, contudo, com o passar do tempo e mudanças nos hábitos alimentares, tendem a ser suprimidas por outros microrganismos e sua população é até mesmo reduzida. As principais espécies presentes em humanos são *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium breve* e *Bifidobacterium longum* no cólon (CHAMPAGNE; GARDNER; ROY, 2005).

A temperatura que registra crescimento máximo fica em torno de 43-45°C e mínimo de 25-28°C. O pH ótimo de crescimento compreende a faixa de 6,0 a 7,0, não ocorrendo crescimento abaixo de 4,5 a 5,0 ou acima de 8 a 8,5 (PIMENTEL; FRANCKI; GOLLUCKE, 2005).

Pesquisas tem demonstrado que o consumo de bactérias bífidas vivas tem efeito na microbiota intestinal e que estirpes selecionadas são capazes de sobreviver ao transito estomacal e intestinal e alcançar o cólon em número elevado. Contudo, fatores como estresse, dieta e antibióticos são capazes de influenciar a população destes microrganismos no intestino (SHAH, 2007).

Segundo Gomes e Malcata (1999), a adição de microrganismos do gênero *Bifidobacterium* aos produtos lácteos, contribui para o aumento do valor nutritivo dos mesmos. Dentre os benefícios associados ao gênero estão: redução no conteúdo de lactose, absorção de

ferro e cálcio, aumento da digestibilidade de gorduras e proteínas, equilíbrio de conteúdo de várias vitaminas e presença de metabólitos secundários. Vinderola et al. (2000) afirmam também que as bifidobactérias possuem atuação antagônica contra patógenos, reduzindo ocorrências de infecções intestinais e modulando a imunidade intestinal.

Entretanto, esses microrganismos apresentam limitações tecnológicas como sensibilidade ao oxigênio e necessidades nutricionais específicas para sua multiplicação (OUWEHAND; SALMINEN; ISOLAURI, 2002). Se tornando, assim, um desafio para a indústria produzir produtos nos quais possam permanecer viáveis até o consumo do alimento.

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de leites fermentados, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, determina, que, quando o probiótico *Bifidobacterium* estiver presente em leite fermentado, deve ter uma contagem mínima de 10^6 UFC/g até o final da vida útil do produto (BRASIL, 2007).

3 IOGURTE

A fermentação do leite é um dos métodos mais antigos para preservar o leite e assim obter uma vida útil prolongada deste alimento. A origem exata da fermentação do leite não é clara, no entanto, alguns pesquisadores dizem ser do início da civilização. O mais aceito entre os historiadores é que a fermentação do leite foi descoberta acidentalmente quando era armazenado em métodos primitivos, como em sacos de pele de ovelha em climas quentes. Sugere-se que ele tenha evoluído na Turquia, pois o termo “iogurte” foi derivado de um verbo turco, “jugurt”, que significa “ser coagulado ou coalhado” (DAIRY GOODNESS, 2013; TAMIME; ROBINSON, 1999).

Segundo a legislação brasileira o iogurte é o produto obtido por coagulação e redução do pH do leite, ou do leite reconstituído, por fermentação láctea mediante a ação protossimbiótica de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, aos quais se pode acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-láticas que podem contribuir para a determinação das características finais do produto, podendo o iogurte ainda ser adicionado ou não de outros produtos lácteos ou de outras substâncias alimentícias (BRASIL, 2007).

Basicamente o processo de fabricação do iogurte se trata da modificação da composição original do leite, iniciando com pasteurização da matéria-prima, passando então para a fermentação a temperatura de 40 a 45°C, resfriamento e adição de frutas, aromas e etc. O leite a ser utilizado na fabricação depende da variedade ou tipo de iogurte que se pretende preparar. Leite integral é usado para iogurte integral/normal, leite desnatado é usado para iogurte desnatado. O creme/gordura do leite pode ser utilizado para ajustar o teor de gordura enquanto o leite em pó desnatado, concentrado de proteína de soro de leite podem ser utilizados para elevar o teor de sólidos totais do iogurte. Estabilizadores também podem ser adicionados à mistura, a fim de aumentar o corpo e a textura, levando a um aumento na firmeza, prevenindo a separação do soro, conhecida como sinérese e ajudando na distribuição uniforme dos ingredientes. Além disso, pode-se adicionar aromas e adoçantes para aumentar o sabor e assim o apelo ao consumidor (WEERATHILAKE et al., 2014).

As bactérias que realizam a fermentação do iogurte dividem-se em dois grupos: homofermentadoras, que degradam açúcares transformando-os principalmente em ácido láctico, causando aumento da acidez e proporcionando à coagulação das caseínas do leite e as heterofermentadoras, que além de ácido láctico, produzem também o acético, o succínico, álcoois e gases. O equilíbrio adequado das bactérias é importante para que o produto permaneça

suficientemente ácido e aromático. A acidez dos iogurtes os tornam relativamente estáveis por inibir o crescimento de bactérias gram negativas (COGO et al., 2012).

A composição nutricional do iogurte varia de acordo com as cepas de cultura usadas na fermentação, tipo de leite usado (integral, semidesnatado ou desnatado), espécies que o leite é obtido (bovino, caprino, ovino), adoçantes e frutas adicionados, bem como a duração do processo de fermentação. Contudo, pode-se afirmar que é um produto lácteo altamente nutritivo e facilmente digerível, sendo fonte de proteínas do leite, carboidratos, minerais como cálcio e fósforo e vitaminas como a riboflavina (B2), tiamina (B1), cobalamina (B12), folato (B9), niacina (B3) e vitamina A. As proteínas disponíveis no iogurte são de alta qualidade, fornecendo quase todos os aminoácidos essenciais necessários para manter a boa saúde, além de conterem maior teor dos aminoácidos prolina e glicina do que no leite integral, realizando funções corporais adicionais, como aumentar a absorção de cálcio e estimular o sistema imunológico (MCKINLEY, 2005; WEERATHILAKE et al., 2014).

Assim como no leite, nos derivados lácteos como o iogurte, as vitaminas e minerais estão na forma biodisponível, estando disponíveis para absorção e uso pelo corpo. Uma porção de 150g de iogurte natural de leite integral e iogurte natural com baixo teor de gordura fornecerá 31% e 30% da necessidade diária de riboflavina e 23% e 45% da necessidade diária de tiamina de um adulto, respectivamente. Por outro lado, as vitaminas B12 e B6 são encontradas em concentrações bem menores do que as do leite, uma vez que o *Streptococcus thermophilus* usa essas vitaminas para o seu metabolismo. Quanto ao teor de ácido fólico/folato do iogurte pode variar dependendo da composição das bactérias do ácido láctico utilizadas, pois algumas espécies, como *S. thermophilus* e Bifidobacterias, sintetizam certas vitaminas, incluindo folato, por si próprias (MCKINLEY, 2005).

O leite cru possui um teor de aproximadamente 4,6% de lactose, que é reduzido em 20-30% durante o processo de fermentação, quando a lactose é convertida nas suas formas simples de glicose e galactose, devido à atividade metabólica das bactérias do ácido láctico. Mesmo com essa redução a lactose é o principal carboidrato do iogurte (WEERATHILAKE et al., 2014). Contudo, essa redução do teor de lactose, faz com que o iogurte possa ser ingerido, desde que em pouca quantidade, por algumas pessoas que são intolerantes a lactose, embora isso dependa do grau de intolerância à lactose.

Ao contrário do leite, os processos, como a homogeneização e a fermentação, praticados na produção de iogurtes, resultam na decomposição de certa quantidade de gordura em ácidos graxos facilmente digeríveis e absorvíveis (MCKINLEY, 2005). O teor de gordura do iogurte está diretamente ligado ao teor de gordura da mistura original utilizada na fabricação do iogurte.

De acordo com as especificações do USDA (2001) para iogurte, iogurte desnatado e iogurte magro, o conteúdo de gordura varia de 0,5 a 3,25%. No entanto, o teor de gordura do iogurte é altamente subjetivo, por exemplo o iogurte grego contém teor de gordura de até 10%, devido sua fabricação e ingredientes adicionados.

Segundo o Codex Alimentarius Commission (2010) o iogurte deve ter um teor proteico mínimo de 2,7% e um teor máximo de gordura de 15%, a fim de atender esse quesito, a FAO/OMS especifica que o leite deve ser padronizado com teor mínimo de 8,2% de extrato seco desengordurado e 3% de gordura para a produção de iogurte.

Conforme a legislação brasileira, o iogurte integral deve possuir de 3,0 a 5,9 g/100g de gordura, o parcialmente desnatado de 0,6 a 2,9 g/100g e o desnatado máximo de 0,5 g/100g, quanto ao teor de proteína a legislação estipula mínimo de 2,9 g/100g, contudo é aceitável valores menores para iogurtes adicionados de frutas e açúcares. O iogurte deve também apresentar acidez entre 0,6 a 1,5 g de ácido láctico/100g e uma contagem de bactérias lácticas totais de no mínimo 10^7 UFC/g (BRASIL, 2007).

Consumir produtos lácteos ajuda a melhorar a qualidade geral da dieta e aumenta a chance de suprir a dieta recomendada de cada nutriente, diariamente. São uma fonte rica de cálcio na forma biodisponível. É relatado que 50g de iogurte forneça 41% da necessidade diária recomendada de cálcio para uma criança de 5 anos de idade (MCKINLEY, 2005).

O Dietary Guidelines for Americans (DGA) tem recomendado o aumento do consumo de leite e produtos lácteos sem gordura ou com baixo teor de gordura (2010). Embora geralmente tenha uma composição semelhante ao leite, o iogurte é altamente concentrado com proteínas, vitaminas e minerais. Por exemplo, o iogurte com baixo teor de gordura contém aproximadamente 50% mais potássio, cálcio e magnésio por porção de aproximadamente 236mL do que o leite com baixo teor de gordura (WANG et al., 2013).

Além da rica composição nutricional, pode-se destacar que os iogurtes trazem como benefícios à saúde a capacidade de restabelecer a flora intestinal do aparelho digestivo, proporcionar melhor digestibilidade do que o leite, onde a atividade enzimática é associada ao crescimento dos microrganismos que pré-digerem o produto (COGO et al., 2012).

Dessa forma, tem se intensificado cada vez mais o consumo de iogurte e isso se deve as suas propriedades nutricionais, bem como das suas características organolépticas agradáveis. Os diversos sabores do iogurte existentes no mercado possibilitam o seu consumo por pessoas que não apreciam o paladar do leite. Além da acidez do produto ser fator determinante para aceitação do produto, a aromatização também se tornou fundamental e pode ser feita com ampla variedade de frutas *in natura*, polpas de frutas ou sucos utilizados no preparo do iogurte. É

comum o uso de frutas de clima temperado como coco, morango, pêsego e ameixa (MARTINS; RUDGE; MEIRA, 2008).

3.1 MATÉRIAS-PRIMAS UTILIZADAS NA FABRICAÇÃO DO IOGURTE

3.1.1 Morango

O morango (*Fragaria vesca*) teve origem há cerca de 250 anos, na Europa e está entre as espécies de culturas mais jovens (SHULAEV et al., 2011). É considerado não-climatérico por não amadurecer em resposta ao etileno, devendo ser colhido em plena maturação, já que não desenvolve atributos de qualidade adequados após ter sido colhido (NUNES et al., 2006).

O morango é um alimento rico nutricionalmente, conforme pode ser observado na Tabela 1, na qual consta a composição nutricional de morangos. Os teores de frutose e fibra alimentar podem ajudar a regular o nível de açúcar no sangue por retardar a digestão, pode ainda contribuir no controle da ingestão de calorias pelo efeito saciante que seu conteúdo de fibras fornece. Embora em pequenas quantidades, por possuírem baixo teor lipídico, os morangos possuem ácidos graxos essenciais e saudáveis, porque o óleo de semente de morango é rico em ácidos graxos insaturados (~72% de ácidos graxos poli-insaturados) (USDA, 2010).

Na Tabela 1 também são apresentados os principais carotenóides e tocoferóis identificados nesta fruta. O alto conteúdo de vitamina C (Tabela 1) nos morangos, os torna uma importante fonte dessa vitamina e tem chamando atenção de pesquisadores (SCALZO et al., 2005). Assim como a vitamina C, o morango é considerado uma das fontes naturais mais rica de folato, micronutriente essencial ao funcionamento fisiológico. Cerca de 250g de morangos (~60mg de folato em média) podem fornecer 30% da dose diária de folato recomendada. Além disso, o morango é fonte de várias outras vitaminas, como a tiamina, a riboflavina, a niacina, a vitamina B6, a vitamina K, a vitamina A e a vitamina E, embora em menores quantidades (TULIPANI et al., 2008).

A fruta também é rica em manganês, de modo que uma porção de morangos de aproximadamente 144 g, pode fornecer mais de 20% da ingestão diária adequada desse mineral. A mesma quantidade pode ainda fornecer cerca de 5% da ingestão adequada de potássio. O morango é ainda considerado uma boa fonte de iodo, magnésio, cobre, ferro e fósforo. Além destes compostos, os morangos contêm uma variedade de componentes não nutritivos, como os fitoquímicos polifenólicos (flavonóides, ácidos fenólicos, lignanas e taninos) que possuem propriedades antioxidantes e moduladoras do metabolismo (GIAMPIERI et al., 2012).

Tabela 1 - Composição nutricional de morangos

	Nutrientes	Por 100 g
Composição	Água (g)	90,95
	Energia (kcal)	32
	Proteína (g)	0,67
	Resíduo mineral fixo (g)	0,40
	Lipídios totais (g)	0,30
	Carboidrato (g)	7,68
	Fibra alimentar (g)	2,0
	Açúcares (g)	4,89
	Sacarose (g)	0,47
	Glicose (g)	1,99
	Frutose (g)	2,44
Minerais	Cálcio (mg)	16
	Ferro (mg)	0,41
	Magnésio (mg)	13
	Fósforo (mg)	24
	Potássio (mg)	153
	Sódio (mg)	1
	Zinco (mg)	0,14
	Cobre (mg)	0,048
	Manganês (mg)	0,386
Selênio (mg)	0,4	
Vitaminas	Vitamina C (mg)	58,8
	Tiamina (mg)	0,024
	Riboflavina (mg)	0,022
	Niacina (mg)	0,386
	Ácido pantotênico (mg)	0,125
	Vitamina B6 (mg)	0,047
	Folato (mg)	24
	Colina (mg)	5,7
	Betaína (mg)	0,2
	Vitamina B12 (mg)	0
	Vitamina A, RAE (mg)	1
	Luteína β zeaxantina (mg)	26
	Vitamina E, α-tocoferol (mg)	0,29
	β-tocoferol (mg)	0,01
γ-tocoferol (mg)	0,08	
δ-tocoferol (mg)	0,01	
Vitamina K, hialoquinona (mg)	2,2	

Fonte: Adaptado de USDA (2010).

Os fitoquímicos desta fruta são representados principalmente pela extensa classe de compostos fenólicos que possuem enormes potencialidades biológicas (GIAMPIERI et al., 2012).

A presença de sequestradores de radicais de oxigênio, como vitamina C e compostos fenólicos, está correlacionado ao poder antioxidante da fruta. Diversos pesquisadores destacaram a capacidade antioxidante e os morangos estão classificados entre as principais fontes de fenólicos totais e capacidade antioxidante total (TAC), com níveis até 4 vezes maiores

do que os outros frutos, 10 vezes maior do que as hortaliças, e 40 vezes maior do que os cereais (HALVORSEN et al., 2002, 2006; PELLEGRINI et al., 2003; PROTEGGENTE et al., 2002). Os morangos têm uma capacidade antioxidante 2 a 11 vezes maior do que as maçãs, os pêssegos, as peras, as uvas, os tomates, as laranjas e os kiwis (SCALZO et al., 2005).

O consumo de morango tem sido relacionado à diversos benefícios à saúde, incluindo a prevenção de inflamações doença cardiovascular e o estresse oxidativo, além de certos tipos de câncer, obesidade, diabetes tipo 2 e neurodegeneração (GIAMPIERI et al., 2012).

Além disso, os morangos são economicamente muito importantes e amplamente consumidos frescos ou também em formas processadas, tais como sucos e geleias. Contudo, são necessárias mais pesquisas a cerca dos mecanismos e fatores que governam a biodisponibilidade dos fitoquímicos de morango, sendo importante para permitir o desenvolvimento de novos produtos alimentícios funcionais e para possibilitar a obtenção de mais benefícios para a saúde com o consumo deste produto (GIAMPIERI et al., 2012).

3.1.2 Chia – *Salvia hispanica*

A chia (*Salvia hispanica*) é uma planta herbácea pertencente à família Lamiaceae, originada no México (TOLENTINO et al., 2014). A semente da chia foi amplamente utilizada por tribos astecas, que a consideravam como alimento e medicamento. Posteriormente, foi comercializada na forma de farinha, sementes inteiras, mucilagem e o óleo extraído da semente. Atualmente os países que mais cultivam esse alimento são México, Bolívia, Equador e Guatemala (MARTÍNEZ et al., 2012).

É uma planta anual que pode alcançar de 1 até 1,5 metros de altura, podendo produzir até 3 toneladas de grãos por hectare. Seu fruto possui quatro pequenos grãos oleaginosos, lisos, brilhantes, ovais e de cor cinza com manchas avermelhadas (TOSCO, 2004). Na Figura 1 pode ser visto a planta *Salvia hispânica*, bem como sua semente.

Figura 1 - Cultivo da chia (a) e grãos de chia (b)



Fonte: Migliavacca; Silva; Vasconcelos (2014).

Na Tabela 2 é apresentada a composição nutricional dos grãos da chia, que além destes nutrientes possui importantes antioxidantes.

Tabela 2 - Propriedades nutricionais em 100g de grãos de chia

Nutrientes	Quantidade (g/100g de chia)
Proteínas	15-20
Lipídios totais*	30-33
Resíduo mineral fixo (Cinzas)	4-5
Carboidratos totais	26-41
Fibra alimentar	37,6
Minerais	Quantidade (mg/100g de chia)
Cálcio	870
Ferro	48,8
Magnésio	466
Fósforo	922
Potássio	890
Sódio	20
Zinco	7,4
Cobre	2,45
Manganês	5,85
Molibdênio	0,2
Alumínio	44,4
Boro	0,92
Vitaminas	Quantidade (mg/100g de chia)
Vitamina A	1,29
Tiamina	0,144
Riboflavina	0,213
Niacina	8,250
Lipídios	Quantidade (g/100g de chia)
Ácidos graxos ômega 3	20,8
Total de ácidos graxos monoinsaturados	27,1
Colesterol	0

* Destes 50-57% são de Omega-3 e 17-26% de Omega-6.

Fonte: Adaptada de Amato et al. (2015), Coelho; Salas-Mellado (2015) e Tosco (2004).

Segundo Ewerling (2016) o Brasil tem boas condições climáticas, de temperatura, altitude e precipitação para o cultivo. Devendo-se, contudo, observar o período da sementeira, pois é uma planta sensível ao frio, fator que limita seu cultivo em regiões que tendem às geadas.

No Brasil, as regiões do noroeste do Rio Grande do Sul e do oeste do Paraná começaram a investir no cultivo de chia, apresentando bons resultados, apesar da falta de informação a respeito das exigências da planta (MIGLIAVACCA et al., 2014).

A semente da chia é rica em ácidos graxos importantes como ômega-3 e ômega-6, que são capazes de reduzir os riscos de doenças cardiovasculares e de melhorar a saúde e a qualidade de vida (AMATO et al., 2015). Além disso é boa fonte de proteína, com variações de 15 a 20% do seu valor total (PEIRETTI; GAI, 2009).

Um estudo sobre a composição e o valor nutritivo demonstrou que a semente, armazenada durante 18 meses em sacos de tecidos fechados, protegidos da luz, em temperaturas de 5 a 35°C e com umidade relativa entre 40 e 85%, não apresentou alterações, apresentando-se íntegras (BRESSION et al., 2009).

A chia possui antioxidantes naturais e suas propriedades biológicas não diminuem com o excesso de calor, podendo ser utilizada em produtos submetidos à cocção (RUPFLIN, 2011). De acordo com Reyes-Caudillo; Tecante; Valdivia-López (2008), os compostos bioativos da chia podem ser usados na produção de potentes antioxidantes naturais ou ainda como ingredientes funcionais com aplicação em alimentos. Além disso é rica em vitaminas e minerais como riboflavina, niacina, tiamina, cálcio, fósforo, potássio, zinco e cobre, sendo considerada um alimento de relevado interesse para enriquecimento de diversos produtos, como barras de cereais, iogurte, molhos, entre outros (JUSTO et al., 2007). Tem se tornado também opção para substituir a gordura e/ou emulsificantes em produtos alimentícios, devido sua capacidade de reter água e formar a mucilagem, proporcionando qualidade funcional e nutricional (COELHO; SALAS-MELLADO, 2014).

Em contato com a água o grão forma uma camada de gel que, quando ingerido, pode formar uma barreira separando as enzimas digestíveis dos carboidratos, auxiliando na absorção de açúcar, sendo assim, aliada no controle e prevenção do diabetes. O grão é capaz ainda de aumentar o seu volume dentro do organismo, sendo uma excelente fonte de fibra (TOSCO, 2004).

As fibras alimentares, que estão presentes na semente, regulam o funcionamento do intestino e proporcionam bem-estar ao serem consumidas diariamente, auxiliando na prevenção do câncer de intestino, da diabetes, da hipertensão, de doenças cardiovasculares e na excreção de gorduras prejudiciais e toxinas do organismo (DE MATTOS; MARTINS, 2000), possuindo

ainda o efeito de melhorar a saciedade e, conseqüentemente, diminuir o consumo de calorias (AYERZA; COATES, 2002). As sementes podem conter de 34 a 40g de fibra dietética em 100g, igual a recomendação diária para adultos, da Organização Mundial de Saúde (OMS), para diminuir o risco de doença cardíaca, diabetes melito tipo 2 e vários tipos de câncer (AMATO et al., 2015).

Ayerza e Coates (2005), por meio da administração de semente de chia para ratos normais, demonstraram que houve redução dos triacilgliceróis no sangue e os níveis de colesterol total e houve aumento do colesterol bom – HDL (High Density Lipoproteins).

A chia possui uma grande quantidade de lipídios, quase 40% do peso total da semente, dos quais quase 60% são ômega-3 (COELHO; SALAS-MELLADO, 2014). O Ministério da Saúde recomenda o consumo de 4g de ômega-3 por dia, dessa forma há evidências de que o consumo de 24g de semente de chia supriria as necessidades recomendadas (MIRANDA, 2012).

O óleo presente na chia é cerca de 3 a 10 vezes superior a outros grãos e os ácidos graxos insaturados da chia são essenciais para emulsificar e absorver vitaminas lipossolúveis, como A, D, E e K, promovendo adequada respiração dos órgãos vitais, além de regular a coagulação do sangue, células da pele, membranas, mucosas e nervos (TOSCO, 2004).

Porém o local de plantio da chia, o tipo de solo e outras diversidades, podem influenciar a composição do grão, alterando por exemplo o teor de óleo em sua composição, bem como o teor de ácidos graxos (MIGLIAVACCA; SILVA; VASCONCELOS, 2014).

O grão de chia vem sendo usado largamente na sociedade, pois aumenta a saciedade, melhora o funcionamento intestinal e reduz o risco de doenças cardiovasculares (WANDERLEY; OLIVEIRA, 2014).

3.1.2.1 Ácidos graxos

Reconhecidamente as gorduras e óleos são nutrientes indispensáveis à nossa dieta, pois proporciona energia e é fundamental no fornecimento de ácidos graxos essenciais (EWERLING, 2016).

Lipídios são compostos químicos insolúveis em água. Os lipídios simples ou acilgliceróis são formados pela reação entre o álcool glicerol ($\text{CH}_2 \text{OH} - \text{CHOH} - \text{CH}_2 \text{OH}$) e ácidos graxos, por meio de uma reação de esterificação, formando, portanto, um éster de ácido graxo (SANT´ANA, 2004).

3.1.2.1.1 Estrutura química e nomenclatura

Ácidos graxos são formados por cadeias lineares de hidrocarbonetos contendo grupo carboxilo e grupo metílico, cada um em uma extremidade. O grupo carboxilo é reativo e forma ligações éster com grupos álcoois, como os que se ligam em glicerol ou colesterol, formando acilgliceróis (por exemplo, triacilgliceróis, fosfolípidos) e ésteres de colesterol. Os ácidos graxos podem conter de 2 a 30 ou até mais átomos de carbono em sua cadeia, podendo conter ainda ligações duplas. Os que não possuem ligações duplas são chamados de ácidos graxos saturados, os que possuem duplas ligações são referidos como ácidos graxos insaturados e os que contem duas ou mais duplas ligações são chamados de ácidos graxos poli-insaturados (CALDER, 2008; CALDER; YAQOUB, 2009).

Os ácidos graxos recebem nome conforme o número de carbonos e de duplas ligações na cadeia, conforme mostra a Tabela 3. No entanto, há várias possibilidades para a posição de ligações duplas e cada ligação dupla pode estar na configuração cis ou trans. Tradicionalmente, a posição de ligações duplas foi identificada nomeando o número do carbono (do carbono 1 (o carbono carboxílico)) no qual cada ligação dupla ocorre. Assim, o ácido octadecadienóico, um ácido graxo de 18 carbonos com ligações duplas cis entre os carbonos 9 e 10 e os carbonos 12 e 13 é corretamente denotado como ácido cis-9, cis-12-octadecadienóico ou como cis, cis, 9,12 ácido octadecadienóico. Contudo, uma notação alternativa abreviada para ácidos graxos tem entrado em uso e depende da identificação do número de átomos de carbono na cadeia e do número de ligações duplas e sua posição. Assim, o ácido octadecanóico é identificado como 18:0, indicando que tem uma cadeia de 18 carbonos e não contém duplas ligações. Os ácidos graxos insaturados são denominados pela identificação do número de ligações duplas e a posição da primeira dupla ligação contada a partir do terminal metílico (com o grupo metílico, ou x, carbono como número 1). A primeira ligação dupla é identificada como ω -x, onde x é o número de carbonos no qual a ligação dupla ocorre. Portanto, o ácido cis, cis, 9,12-octadecadienóico é também conhecido como 18:2 ω -6. A nomenclatura ω -x é algumas vezes referida como ômega-x (por exemplo, 18:2 ômega 6) ou n-x (por exemplo, 18: 2 n-6). Além dessas nomenclaturas, os ácidos graxos são também descritos por seus nomes comuns (Tabela 3) (CALDER, 2008).

Tabela 3 – Nomenclaturas de ácidos graxos

Nome sistemático	Nome trivial	Notação abreviada
Octanoico	Caprílico	8:0
Decanoico	Capric	10:0 16:0
Dodecanóico	Lauric	12:0
Tetradecanóico	Myrsitic	14:0
Hexadecanóico	Palmítico	18:0
Octadecanóico	Esteárico	16:1n-7
cis-9-Hexadecenoico cis-9-Octadecenoico	Palmitoleico Oleico	18:1n-9
cis-9,12-Octadecadienóico	Linoleico	18:2n-6
cis-9,12,15-Octadecatrienoico	α -linolênico	18:3n-3
cis-6,9,12-Octadecatrienoicos	Lin-Linolênico	18:3n-6
cis-8,11,14-eicosatrienoicos	Diomo-linolênico	20:3n-6
cis-5,8,11,14-eicosatetraenoicos	Araquidônico	20:4n-6
cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoicos	Eicosapentaenoico	20:5n-3
cis-7,10,13,16,19-Docosapentaenoico	Docosapentaenoico	22:5n-3
cis-4,7,10,13,16,19-Docosaenoico	Docosaenoico	22:6n-3

Fonte: Calder (2008).

3.1.2.1.2 Síntese do ácido linoleico e ácido α -linolênico

As duas famílias principais de poli-insaturados são as famílias n-6 e as n-3. O termo ômega-3 (w-3 ou n-3) é um descritor estrutural de uma família de ácidos graxos poli-insaturados. Dessa forma, n-3 significa a posição da dupla ligação que está mais próxima do terminal metílico da cadeia de carbonos (Figura 2), todos os ácidos graxos n-3 possuem essa dupla ligação no carbono 3, contando o carbono metílico como carbono. O membro mais simples da família n-6 é o ácido linoleico (18:2n-6) e da família n-3 é o ácido α -linolênico (18:3n-3). O ácido α -linolênico é sintetizado a partir do ácido linoleico por dessaturação catalisada pela enzima delta-15 dessaturase. Animais, incluindo humanos, não são capazes de sintetizar o ácido α -linolênico por não possuírem tal enzima (ARTERBURN; HALL; OKEN, 2006).

Como são usadas as mesmas enzimas, a conversão do ácido α -linolênico em ácido eicosapentaenóico compete com a conversão do ácido linoleico em ácido araquidônico (20: 4n-6) (Figura 3). A reação da delta-6 dessaturase é limitante nessa via e embora tenha maior afinidade com o ácido α -linolênico, o ácido linoleico tem sido muito mais consumido em relação ao ácido α -linolênico e devido a isso o metabolismo dos ácidos graxos n-6 tem se sobressaído (CALDER, 2012; MARTIN et al., 2006). Por esse motivo, vários autores e órgãos de saúde, tem feito recomendações em relação a ingestão diária de alimentos fontes de ácidos graxos n-6 e n-3.

3.1.2.1.3 Proporção n-6/n-3

Geralmente, o ácido α -linolênico é o principal ácido graxo n-3 consumido. No entanto, o principal ácido graxo poli-insaturado consumido no ocidente é o ácido linoleico n-6, que é tipicamente consumido em quantidades 5 a 20 vezes maiores do que o ácido α -linolênico (BURDGE; CALDER, 2006; CALDER; BURDGE, 2004).

A relação mais recomendada entre os ácidos graxos n-6 e n-3 é de 4:1 a 5:1. Dietas baseadas em razões de n-6/n-3 inferiores a 1:1 não são recomendadas por inibirem a transformação do ácido linoleico. Estima-se que no período anterior à industrialização, quando havia maior consumo de vegetais e de peixes, contendo ácidos graxos n-3, a razão n-6/n-3 era de aproximadamente 1:1 a 2:1. Com a industrialização, ocorreu um aumento dessa razão, principalmente devido à comercialização de óleos de cozinha e margarinas, oriundos de espécies com alto teor de ácido linoleico e à redução da ingestão de frutas e verduras, resultando em dietas com quantidades inadequadas de ácidos graxos n-3. Foi verificado nas últimas décadas que a ingestão média de ácidos graxos tem resultado em relações n-6/n-3 entre 10:1 a 20:1, ocorrendo registros de até 50:1 (ANDERSON; MA, 2009; LINSEISEN et al., 2009; SIMOPOULOS, 2001, 2011).

Algumas pesquisas demonstraram que a diminuição da razão n-6/ n-3 para 4:1 na nossa alimentação seria capaz de reduzir 70% da taxa de mortalidade em pacientes com doença cardiovascular, para 3 a 4:1 seria capaz de reduzir inflamações decorrentes da artrite reumatóide e ao redor de 5:1 é capaz de diminuir os sintomas da asma, sendo que em 10:1 os sintomas foram intensificados (BROUGHTON et al., 1997; JAMES; CLELAND, 1997; LORGERIL et al., 1994; LORGERIL; SALEN, 2012).

3.1.2.1.4 Propriedades funcionais

Nos últimos anos, a industrialização tem levado a sociedade a aumentar o consumo de gordura saturada, ácidos graxos poli-insaturados ômega 6 e ácidos graxos trans, ao mesmo tempo que reduziu a ingestão de ácidos graxos ômega-3 (SIMOPOULOS, 2011). Na nutrição ancestral o consumo de ácidos graxos representava em torno de 20-30% da energia total, atualmente os ácidos graxos representam 28-42% da energia total consumida pela população ocidental (LECLERCQ; OLIVIER; LEGRY, 2011; LINSEISEN et al., 2009; SIMOPOULOS, 2001).

Na maioria dos países as doenças cardiovasculares ainda são uma das principais causas de morte. Nos EUA representa 36% de todas as mortes. Uma das recomendações para reduzir o risco de desenvolver doenças cardiovasculares é a redução da ingestão de ácidos graxos saturados, principalmente devido ao seu efeito sobre o colesterol sanguíneo (SMITH et al., 2011).

Os ácidos graxos poli-insaturados desempenham um papel importante na composição das membranas celulares, assegurando um ambiente adequado para a função das proteínas da membrana, mantendo a fluidez e regulando a sinalização celular, a expressão gênica e a função celular (UNDURTI, 2006). Além disso, regulam uma ampla variedade de funções biológicas, desde a pressão arterial, coagulação do sangue até o funcionamento do cérebro e do sistema nervoso, dependendo da localização da última dupla ligação (BURDGE; CALDER, 2006).

Numerosas pesquisas mostraram que o consumo moderado de óleo de peixe diminui o risco de eventos cardiovasculares, como morte súbita cardíaca, infarto do miocárdio, fibrilação atrial e morte em pacientes com insuficiência cardíaca (GISSI-HF INVESTIGATORS, 2008). Dessa forma, tem se direcionado as atenções às várias classes de ácidos graxos e seu impacto na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares (LAVIE et al., 2009).

Pesquisas a respeito de doenças cardiovasculares tem focado nos efeitos cardioprotetores do consumo de peixes, óleos de peixe ou de ácidos graxos poli-insaturados ômega 3 individuais, ou mais especificamente, ácido eicosapentaenóico (20:5 n-3), ácido docosahexanóico (22: 6 n-3) e α ácido α -linolênico (18: 3 n-3), constatando a eficácia destes contra estas doenças (BUCHER et al., 2002; HARRIS, 2005; LEE et al., 2008). Os ácidos graxos poli-insaturados n-3, ao contrário dos fármacos cardíacos, têm menos efeitos colaterais (KRIS-ETHERTON; HARRIS; APPEL, 2002) e são geralmente reconhecidos como seguros (GRAS) pela Food and Drug Administration dos Estados Unidos.

Os ácidos graxos poli-insaturados ômega-6 (n-6) (por exemplo, ácido araquidônico) e ômega-3 (n-3) (por exemplo, ácido eicosapentaenóico) são precursores de moléculas sinalizadoras de mediadores lipídicos potentes denominados eicosanóides, importantes na regulação da inflamação. Geralmente os eicosanóides derivados de ácidos graxos poli-insaturados n-6 são pró-inflamatórios, enquanto os derivados de ácidos graxos poli-insaturados n-3 são anti-inflamatórios. Coincidindo com o aumento na proporção de (n-6): (n-3), está o aumento na ocorrência de doenças inflamatórias crônicas, como doença cardiovascular, obesidade, doença hepática gordurosa não alcoólica, artrite reumatoide, doença de Alzheimer e doença inflamatória intestinal (CORSINOVI et al., 2011). A alta ingestão de ômega 6, juntamente com baixas ingestões de ômega 3, altera o estado fisiológico para um pró-inflamatório e pró-trombótico, com aumento do vasoespasmos, vasoconstrição e viscosidade sanguínea e assim há o desenvolvimento de doenças associadas a essas condições. Contudo, é possível alterar a proporção de ácidos graxos poli-insaturados, a fim de se obter reduções na incidência dessas doenças (PATTERSON et al., 2012).

3.1.2.1.5 Recomendações e fontes de ácidos graxos poli-insaturados

Geralmente as recomendações de ingestão de ácidos graxos n-3 são de pelo menos 0,2-0,65 g/dia para se manter uma boa saúde (VERBEKE et al., 2005), 1 g/dia para prevenção de infarto do miocárdio e 2-4 g/dia para redução de triglicerídeos no sangue (CALDER; YAQOOB, 2009; KRIS-ETHERTON; HARRIS; APPEL, 2002).

De acordo com a ANVISA, o alimento, para ser considerado fonte de ômega-3, deve possuir pelo menos 0,3g de ácido α -linolênico por 100g do produto. Para ser considerado de alto conteúdo, deve apresentar mínimo de 0,6g/100g. Com relação ao ômega-6, para ser considerado fonte deste deve possuir o mínimo de 1,5 g/100g e para ser considerado de alto conteúdo, deve apresentar acima de 3g/100g (BRASIL, 2012).

O ácido linoleico é encontrado em muitos óleos vegetais: óleos de milho, girassol e soja, e em produtos feitos a partir desses óleos, como margarinas. O ácido α -linolênico é encontrado em plantas, folhas verdes, alguns óleos vegetais, nozes e sementes (BURDGE; CALDER, 2006).

Alguns óleos vegetais contêm ácido γ -linolênico, ácido dihomo- γ -linolênico e ácido estearidônico (18:4n-3), mas a ingestão típica é de 10 mg/dia. Em carnes é encontrado o ácido araquidônico, sendo as ingestões estimadas em 50-500 mg/dia (CALDER; BURDGE, 2004). Já os ácidos eicosapentaenóico, docosapentaenóico e docosahexaenóico podem ser encontrados

em peixes, especialmente salmão, atum, cavala e sardinha. Pode-se encontrar entre 1,5 e 3,5 g destes ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa n-3 em uma farinha de peixe oleosa (CALDER, 2008).

Os óleos de peixe comerciais também contêm ácidos graxos poli-insaturados n-3 de cadeia longa, que contribuem com cerca de 30% dos ácidos graxos presentes. Dessa forma, uma cápsula de óleo de peixe típica de 1 g por dia fornece cerca de 300 mg destes ácidos graxos. Não havendo consumo destes, a ingestão de ácidos graxos poli-insaturados n-3 de cadeia longa provavelmente deve ser menor de 100 mg/dia, embora já existam alimentos fortificados com esses ácidos graxos (CALDER; BURDGE, 2004; CALDER, 2008).

Uma forma para alcançar a ingestão recomendada dos ácidos graxos poli-insaturados, sem exigir mudanças na dieta, é o consumo diário de cápsulas de óleo de peixe (VERBEKE et al., 2005).

Outra alternativa que pode ser útil para aumentar a ingestão de ácidos graxos n-3 é o enriquecimento de alimentos com esses ácidos graxos. Dois caminhos para este enriquecimento estão sendo desenvolvidos. Um pela adição de óleo de peixe ou óleos similares a produtos como pastas, iogurtes ou leite. Outro através da alimentação de animais com ácidos graxos n-3, que resulta em carne, leite e ovos enriquecidos. Uma vantagem do enriquecimento dos alimentos é que os consumidores não precisam mudar seus hábitos alimentares para aumentar sua ingestão de ácidos graxos n-3. Contudo, ainda deve-se estudar o nível de enriquecimento que pode ser alcançado, pois este pode ser limitado por processos metabólicos nos animais (no caso da abordagem de alimentação animal) ou por questões de tecnologia de alimentos, processamento e armazenamento destes produtos. Mas é uma opção atrativa para aumentar a ingestão, especialmente para os indivíduos que não consomem peixes oleosos e que não desejam usar suplementos (CALDER; YAQOOB, 2009).

3.1.3 Leite

Leite é um líquido branco, opalescente, homogêneo, possui sabor e odor característicos, deve ser isento de sabores e odores estranhos e é proveniente da ordenha completa e ininterrupta, em condições assépticas, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2011).

Como é a principal matéria-prima utilizada na fabricação do iogurte é imprescindível que o leite seja de qualidade, obtido e manipulado adequadamente, evitando contaminações, além de ser importante a verificação de sua procedência, pois podem ser utilizadas várias

formas para falsificá-lo, com o propósito de aumentar o volume, ou mesmo conservar por mais tempo, mascarando assim, condições muitas vezes precárias de higienização, o que provoca profundas alterações nas características originais do produto. Práticas inadequadas em fraudes do leite vão desde adição de água, soro e até soda cáustica (SINGH; GANDHI, 2015).

É um alimento muito consumido no Brasil, principalmente por crianças e idosos, pode ser considerado fundamental para a dieta humana por apresentar elevado valor nutricional, como: vitaminas, gorduras, proteínas, carboidratos, sais minerais, como pode ser observado na Tabela 4 (SALVADOR et al., 2012).

Contudo, devido a esta riqueza nutricional, torna-se um meio ideal para o crescimento de microrganismos. Esta contaminação pode-se iniciar durante a ordenha pelos microrganismos presentes no teto da vaca, e depois do meio ambiente, pela ordenha realizada de forma manual ou até mesmo pela ordenha mecânica por meio dos equipamentos e utensílios utilizados sem a higienização correta e também por meio do transporte, armazenamento e distribuição inadequados (SALVADOR et al., 2012).

Tabela 4 - Composição nutricional do leite de vaca em 100mL

Nutriente	Quantidade
Energia	63 Kcal
Água	87,2 mL
Proteína	3,2 g
Lipídios	3,5 g
Carboidrato	4,6 g
Vitamina A	56-80 mg RE
Vitamina D	1,0 mg
Vitamina E	0,04 mg
Vitamina K	0,1-0,4 mg
Vitamina C	3,0 mg
Tiamina	0,04 mg
Riboflavina	91 mg
Niacina	166 mg
Piridoxina	55 mg
Ác. Pantotênico	0,33 mg
Folato	6 mg
Vitamina B12	0,43 mg
Cálcio	115 mg
Fósforo	91 mg
Ferro	0,05 mg
Zinco	0,4 mg
Magnésio	9,6 mg
Sódio	51,5 mg
Cloro	97 mg
Potássio	140 mg

Fonte: Adaptado de Speridião (2013).

Os requisitos físico-químicos estabelecidos pela Instrução Normativa nº 62 para o leite cru refrigerado estão apresentados no Tabela 5.

Tabela 5 - Requisitos físico-químicos para o leite cru refrigerado

Requisitos	Limites
Matéria gorda (g/100g)	Mínimo de 3,0
Densidade relativa a 15°C (g/mL)	1,028 a 1,034
Acidez titulável em ácido láctico (g/100mL)	0,14 a 0,18
Extrato seco desengordurado (g/100g)	Mínimo de 8,4
Índice crioscópico	- 0,530 °H a - 0,550°H (- 0,512°C a - 0,531°C)
Proteínas (g/100g)	Mínimo de 2,9

Fonte: Brasil (2011).

A contaminação microbiológica, constitui risco à saúde da população, principalmente quando consumido sem tratamento térmico. Além disso a multiplicação dos microrganismos provoca alterações químicas das gorduras, açúcares e proteínas, que modificam suas características normais. Dessa forma, o controle microbiológico do leite e seus derivados torna-se imprescindível a indústria e principalmente ao consumidor (PADILHA et al., 2001).

O tratamento térmico pode tornar o leite um produto seguro para o consumo. Dentre os mais empregados estão a pasteurização e a esterilização, sendo a temperatura de cada uma estipulada por microrganismos patogênicos mais termoresistentes o *Mycobacterium tuberculosis* e a *Coxiella burnetii*. A pasteurização pode ainda ser lenta, baixa ou descontínua ou LTLT (low temperature long time) com temperatura de 62,8-65°C por 30 minutos ou pasteurização rápida, contínua ou alta, de placas ou HTST (high temperature and short time) com temperatura de 72-75°C por 15 segundos. Quanto a esterilização pode ser a comercial ou UHT (ultra high temperature) com temperatura de 135-140°C por 2-3 segundos (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Segundo o RIISPOA, define-se pasteurização como o emprego de calor, com a finalidade de destruir os microrganismos, sem causar alterações na constituição física, química e dos elementos bioquímicos, como das propriedades organolépticas do leite, assim tem por objetivo conservar a qualidade do produto, permitindo-lhe uma vida útil mais longa e evitando riscos à saúde (BRASIL, 2017).

A quantidade de microrganismos encontrados após o processo de pasteurização é influenciada pela quantidade destes no leite cru antes do processo. Dessa forma, a pasteurização elimina a maior parte das bactérias, mas não se obtém a esterilização do alimento. Portanto, tornam-se imprescindíveis os cuidados com a contaminação do leite durante

a ordenha e a refrigeração adequada para obter um produto de qualidade (SALVADOR et al., 2012).

Segundo a Instrução Normativa nº 62, o leite pasteurizado integral deve seguir os parâmetros de composição e requisitos físico-químicos descritos no Tabela 6 a seguir:

Tabela 6 - Parâmetros de qualidade de leites integrais pasteurizados

Item da composição	Requisito
Gordura (g/100g)	Mínimo 3,0
Acidez, em g de ácido láctico/100mL	0,14 a 0,18
Índice crioscópico	- 0,530°H a - 0,550°H (-0,512°C e a -0,531°C)
Sólidos desengordurados (g/100g)	Mínimo 8,4
Estabilidade ao alizarol 72% (V/V)	Estável
Contagem Padrão em Placas (UFC/mL)	n = 5; c = 2; m = 4,0x10 ⁴ M = 8,0x10 ⁴
Coliformes, NMP/mL (30/35°C)	n = 5; c = 2; m = 2; M = 4
Coliformes, NMP/mL(45°C)	n = 5; c = 1; m = 1; M = 2
Salmonella spp /25mL	n = 5; c = 0; m= ausência

Fonte: Brasil (2011).

O processo de esterilização leva a destruição de todas as células viáveis que possam ser contadas por técnicas de semeadura, sendo usado o termo “esterilização comercial” no caso de alimentos (FRANCO et al., 2008). A esterilização por UHT (ultra high temperature), ou ultrapasteurização, consiste na conservação de alimentos líquidos após exposição breve a altas temperaturas. O produto obtido é estéril e deve manter as características nutricionais e organolépticas do produto inicial, possuindo uma vida de prateleira de mais de seis semanas (FRANCO et al., 2008; TRONCO, 2010).

3.1.3.1 Ácido linoleico conjugado - CLA

A gordura é um dos componentes mais ricos do leite, estando presente na forma de glóbulos em suspensão na fase aquosa, formando uma emulsão estável. Estes glóbulos são formados por triglicerídeos e cada um é envolto por camadas de proteínas (imunoglobulinas e fosfolipídeos). O leite bovino possui aproximadamente 437 moléculas de ácidos graxos e entre os principais ácidos graxos, estão o ácido palmítico com 25 a 29% e o ácido oleico com 30 a 40% (ALMEIDA, 2008).

A gordura do leite caracteriza-se por possuir uma proporção maior de ácidos graxos saturados, com cadeias que variam de 4 a 16 carbonos. Geralmente, os ácidos graxos saturados tendem a elevar tanto o colesterol Low Density Lipoprotein (LDL) como o High Density

Lipoprotein (HDL), porém esse efeito pode estar limitado aos ácidos graxos de cadeia entre 10 e 18 carbonos, principalmente o palmítico (C 16:0), mirístico (C 14:0) e possivelmente o láurico (C 12:0) (COLLOMB et al., 2006).

Nem todos os lipídios têm o mesmo potencial no aparecimento de doenças cardiovasculares, em um estudo sobre os efeitos dos lipídios na ocorrência de doença cardíaca, Ulbricht; Southgate (1991) verificaram que a avaliação da relação de lipídios poli-insaturados/saturados não é adequada para se avaliar os alimentos, pois apenas três ácidos graxos são de fato hipercolesterolêmicos (C 12:0, C 14:0 e C 16:0). E assim propuseram a utilização de dois índices na avaliação lipídica, o índice aterogênico (IA) e o índice trombogênico (IT), estes índices auxiliam na compreensão do valor nutricional dos alimentos.

Dessa forma, para determinação do valor nutricional de alimentos que contenham alto teor lipídico, deve ser considerado a razão entre AGPI/AGS (ácidos graxos poli-insaturados/ácidos graxos saturados), os índices HH (ácidos graxos hipocolesterolêmicos/hipercolesterolêmicos), IA (índice de aterogenicidade) e IT (índice de trombogenicidade). Para uma melhor qualidade do conteúdo lipídico do alimento são preconizados valores maiores para AGPI/AGS e HH e menores para IA e IT, uma vez que estes valores indicam redução nos níveis de ácidos graxos prejudiciais e aumento nos níveis de ácidos graxos hipocolesterolêmicos, amenizando o risco de incidência de doenças cardiovasculares (DIBBERN, 2014).

A maior parte dos ácidos graxos insaturados presente nos alimentos apresenta conformação cis (hidrogênios posicionados no mesmo lado da dupla ligação), mas alguns processos químicos podem isomerizar as insaturações à configuração trans (LEDOUX et al., 2005). A principal fonte de ácidos graxos trans é a hidrogenação parcial de óleos vegetais na indústria. Porém, também são formados em pequena quantidade durante a biohidrogenação bacteriana dos ácidos graxos insaturados no rúmen de animais poligástricos tais como bovinos, ovinos e caprinos. Dessa forma, os ácidos graxos trans de origem animal são provenientes principalmente do leite e da carne de animais ruminantes (MOTARD-BÉLANGER et al., 2008).

Segundo Mozaffarian et al. (2006), o consumo de ácidos graxos trans têm sido associado ao risco de doenças cardiovasculares. Entretanto, pesquisadores têm tido um interesse especial no ácido linoleico conjugado (CLA), termo que descreve um grupo de isômeros geométricos e posicionais do ácido linoleico, sendo encontrados naturalmente na gordura do leite e da carne de animais ruminantes, devido ao processo de isomerização enzimática do ácido linoleico conduzido pelas bactérias localizadas no intestino desses animais (BRASIL., 2013). O CLA

pode ainda ser produzido industrialmente por meio da isomerização alcalina do ácido linoleico (BANNI, 2002).

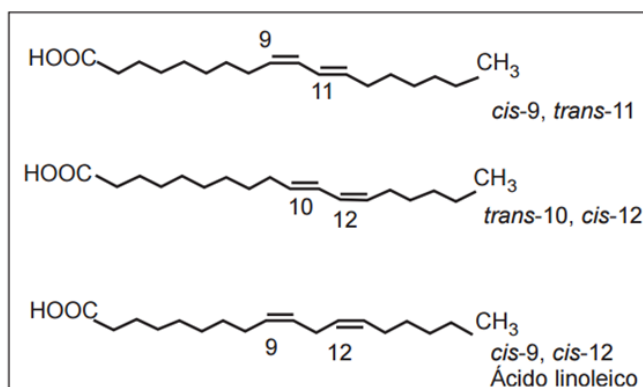
Pesquisas tem demonstrado importantes propriedades atribuídas por estes, como: redução da fração lipídica corporal e aumento no percentual de massa magra (PARK; PARIZA, 2007), atividade anticarcinogênica (HEINZE; ACTIS, 2012), atividade anti-inflamatória (REYNOLDS; ROCHE, 2010), melhorias no sistema imune, bem como efeitos benéficos contra a asma (MACREDMOND; DORSCHIED, 2011), diabetes (HOUSEKNECHT et al., 1998), Alzheimer (LEE et al., 2013) e arteriosclerose (MOONEY; MCCARTHY; BELTON, 2012).

3.1.3.1.1 Estrutura química do ácido linoleico conjugado

O ácido graxo 9,12 octadecadienóico ou mais conhecido como ácido linoleico pertence à família n-6, sendo composto por dezoito átomos de carbono e duas duplas ligações nas posições 9 e 12 (RAINER; HEISS, 2004a). O termo “ácido linoleico conjugado” (do inglês, conjugated linoleic acid – CLA) refere-se à mistura dos isômeros posicionais (dos carbonos 6 - 8 até 12 - 14) e geométricos (cis-trans, trans-cis, cis-cis e trans-trans) do ácido linoleico (EVANS; BROWN; MCINTOSH, 2002; PARIZA; PARK; COOK, 2001).

O cis-9, trans-11 (CLA_9c11t), também conhecido como ácido rumênico, constitui mais de 90% do conteúdo de CLA na gordura láctea e é o que apresenta maior predominância nos alimentos (STANTON et al., 2003). A Figura 4 ilustra a estrutura química do ácido linoleico conjugado.

Figura 4 – Estrutura do ácido linoleico e dos isômeros cis-9, trans-11 e trans-10, cis-12 do ácido linoleico conjugado.



Fonte: Fernández Quintela et al. (2004).

3.1.3.1.2 Síntese

Encontra-se o CLA naturalmente no leite e seus derivados, devido ao metabolismo dos ruminantes. (LUCATTO, 2013). Contudo, pesquisadores suspeitaram de que microrganismos também seriam capazes de sintetizar o CLA, devido ao mesmo ser produzido pelas bactérias do rúmen. Assim, diversas pesquisas têm constatado a capacidade de algumas bactérias lácticas de produzir o CLA a partir de ácido linoleico livre e que isso depende da cepa escolhida (ALONSO; CUESTA; GILLILAND, 2003; ESPÍRITO SANTO et al., 2010; GORISSEN et al., 2010; RODRÍGUEZ-ALCALÁ et al., 2011).

O CLA produzido por algumas bactérias anaeróbias é um intermediário do processo de saturação de ácidos graxos poli-insaturados. O crescimento desses microrganismos é inibido pelos ácidos graxos poli-insaturados livres, por isso, as reações de saturação podem ser mecanismos de desintoxicação destas bactérias. Deve ser observado os limites de tolerância da espécie de bactéria utilizada, pois, apesar de atuar como principal substrato para a produção de CLA, a presença de altas concentrações de ácido linoleico livre inibe o crescimento de bactérias ácido lácticas, resultando em baixa obtenção de CLA (OGAWA et al., 2005).

Embora a produção de CLA seja dependente da cultura utilizada, a adição de fibras, prebióticos, bem como a adição de ácido linoleico livre podem também intervir positivamente na produção de CLA pelas bactérias (DO ESPÍRITO SANTO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2009; VAN NIEUWENHOVE et al., 2007).

3.1.3.1.3 Variação do conteúdo de CLA no leite e derivados lácteos

O CLA é encontrado em diversos alimentos, mas em maiores quantidades nos lácteos e na carne bovina e em menores proporções na suína e em aves (HUR; PARK; JOO, 2007).

Os leites que apresentam maior concentração de CLA são de espécies ruminantes, como bovinos, caprinos, ovinos e bubalinos, devido a capacidade desses animais de converter ácidos graxos insaturados em CLA (LUCATTO, 2013).

A ampla faixa de variação nos níveis de CLA no leite, pode ser atribuída a fatores associados aos animais como espécie, raça, estágio de lactação, idade, variação sazonal, tipo de alimentação, incorporação de ácidos graxos e CLA na dieta (COLLOMB et al., 2006; TSIPLAKOU; MOUNTZOURIS; ZERVAS, 2006).

O teor de CLA em produtos lácteos variam em torno de 0,29 a 0,82 g/ 100 g de gordura, sendo que o isômero cis-9, trans-11 representa entre 73 a 93 % do total de CLA (FUKE et al.,

2014). A concentração de CLA em derivados lácteos é determinada pela concentração inicial deste no leite empregado como matéria-prima ou devido ao enriquecimento do produto. No iogurte o principal isômero encontrado é o cis-9, trans-11 (CLA_9c11t) e a concentração deste depende do tipo de leite empregado, variando de 0,24 - 0,48 g/ 100g de gordura para leite de vaca (LUCATTO, 2013; RAINER; HEISS, 2004b). Contudo, o processo de fabricação empregado também pode interferir na concentração, Zlatanov e Tourianis (2013) na fabricação de iogurtes tipo Grego elaborados a partir de leites de vaca, ovelha e cabra obtiveram concentrações de CLA na faixa de 0,128 – 1,501 g/ 100g de gordura; 0,405 – 1,250 g/100g de gordura e 0,433 – 0,976 g/100 g de gordura, respectivamente.

Tem sido apontada como alternativa ao baixo conteúdo do ácido graxo poli-insaturado a adição direta de CLA em alimentos. Porém, a perda da qualidade nutricional nos alimentos enriquecidos e o desenvolvimento de sabor e aroma indesejáveis, pode ocorrer devido à baixa estabilidade oxidativa de suas insaturações conjugadas (JIMENEZ; GARCÍA; BERISTAIN, 2004; LEE et al., 2009).

Diante da dificuldade de incorporação direta do CLA, a síntese do mesmo a partir de bactérias ácido lácticas pode ser uma alternativa ao enriquecimento dos alimentos, com características sensoriais agradáveis. Foi verificado em leite orgânico adicionado de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* em co-cultura com *S. thermophilus* um aumento em 65% da quantidade de CLA (FLORENCE, 2009). Segundo Coskun e Ondul (2004) a adição de bactérias ácido-lácticas em produtos lácteos, especialmente *Lactobacillus* e as bifidobactérias, auxilia na produção de ácidos graxos livres, pela lipólise da gordura do leite. A produção de CLA por probióticos pode estar associada a um dos mecanismos propostos para explicar os benefícios relacionados ao consumo destes (O'SHEA et al., 2012).

3.1.3.1.4 Propriedades funcionais

No Brasil a ingestão média de CLA é em torno de 36 mg/dia. Apesar do maior conteúdo de CLA observado nas dietas de países da Europa, sua ingestão ainda é considerada muito baixa (LUCATTO, 2013). No entanto, são necessárias mais pesquisas para determinar a recomendação diária de ingestão do CLA (FUKE et al., 2014).

Devido aos inúmeros isômeros, que apesar da semelhança estrutural, possui diversas propriedades funcionais distintas. Contudo, os efeitos relacionados a maioria destes isômeros, bem como a interação entre eles ainda não são conhecidos, com exceção dos isômeros cis-9, trans- 11 e trans-10, cis-12 (RAINER; HEISS, 2004a).

Pesquisas têm evidenciado que o CLA, a partir de diferentes mecanismos, pode retardar ou mesmo reduzir o aparecimento de tumores quimicamente induzidos em diversas partes do organismo. Porém, a atividade anticarcinogênica do CLA difere de acordo com a origem e o tipo de isômero. O isômero trans-10, cis-12 tem demonstrado ser mais eficaz no combate ao câncer de colón in vitro do que o cis-9, trans-11 (PIERRE et al., 2013). Um estudo demonstrou que o isômero cis-9, trans-11 possui propriedade antiestrogênica, que pode, em parte, ser responsável por sua atividade antitumoral contra células de câncer de mama (TANMAHASAMUT et al., 2004). Masso-Welch et al. (2002) verificaram que tanto o isômero cis-9, trans- 11, quanto o trans-10, cis-12 pode contribuir como agente quimiopreventivo.

O CLA apresenta ainda ações sobre fatores de risco relacionados às doenças cardiovasculares, como redução do colesterol plasmático e dos níveis de triacilgliceróis (KRITCHEVSKY et al., 2000, 2004), sendo capaz ainda de reduzir a fração lipídica corporal e o isômero trans-10,cis-12 é o que tem apresentado melhores resultados (OBSEN et al., 2012). Estão sendo propostos inúmeros mecanismos para explicar a redução da gordura corporal pela ação do CLA, entre eles, aumento do gasto energético, modulação do metabolismo dos adipócitos, modulação das adipocinas e citocinas e aumento da β -oxidação dos ácidos graxos (PARK; PARIZA, 2007).

Sendo a obesidade um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de diabetes do tipo 2 e diante de evidências de que o CLA reduz níveis de adiposidade, pesquisadores investigam seus efeitos sobre essa doença. Em um estudo com pacientes portadores de diabetes tipo 2, Belury et. al. (2002), constataram que a suplementação de 6g/dia de CLA durante 8 semanas foi capaz de reduzir significativamente a glicose no sangue dos pacientes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL DE PESQUISA

A produção dos iogurtes e as análises físico-químicas e microbiológicas foram feitos na Fundetec (Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico), localizada na cidade de Cascavel/PR.

O perfil dos ácidos graxos e a análise de viscosidade foram realizados na UTFPR (Universidade Tecnológica Federal do Paraná), *Campus* de Medianeira/PR.

O teor de minerais foi realizado na Unioeste (Universidade Estadual do Oeste), *Campus* de Cascavel/PR.

A análise de fibra alimentar foi realizada no laboratório A3Q, localizado na cidade de Cascavel/PR.

A análise sensorial foi realizada na UFFS (Universidade Federal da Fronteira Sul), *Campus* de Laranjeiras do Sul/PR.

4.2 MATÉRIA-PRIMA

A matéria-prima utilizada na produção do iogurte probiótico foi:

- Leite e morangos - obtidos de produtores de Laranjeiras do Sul/PR;
- Semente de chia - obtida de comércio local de Laranjeiras do Sul/PR.

4.3 CULTURAS LÁCTEAS

Para a fermentação, foi utilizado fermento lácteo liofilizado concentrado para inoculação direta DELVO-YOG[®] FVV-21 DSL, contendo *Lactobacillus delbrueckii subspécie bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* e cultura probiótica LAFTI[®] B94, contendo *Bifidobacterium lactis*, doados pela Globalfood – Advanced Food Technology.

4.4 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES

O desenvolvimento das formulações dos iogurtes foi baseado no regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados (BRASIL, 2007), que determina a proporção

máxima permitida para a adição de ingredientes opcionais não lácteos de 30%. A concentração dos ingredientes foi calculada com base no total de leite utilizado, conforme a Tabela 7.

Tabela 7 - Ingredientes utilizados na formulação de iogurte controle.

Ingredientes	Quantidade	Porcentagem (%)*
Leite integral (L)	5,5	100
Sacarose (g)	220	4
Morango (g)	1430	26
Chia (g)	0	0

*Cálculo dos ingredientes com base no total de leite (5,5L).

Fonte: Elaborado pela autora.

4.4.1 Delineamento Experimental

Para este estudo foi utilizado o delineamento composto central (DCC), com dois fatores (2^2), concentração de chia (X1) e concentração de morango (X2). Cada fator foi estabelecido e codificado em três diferentes níveis, baixo (-1), médio (0) e alto (+1), conforme apresentado na Tabela 8.

Tabela 8 - Matriz de ensaios para o delineamento composto central 2^2 com valores reais % e codificados (entre parênteses).

Ensaios	Concentração de chia (%)* (X1)	Concentração de morango (%)* (X2)
1	6 (-1)	8 (-1)
2	14 (+1)	8 (-1)
3	6 (-1)	12 (+1)
4	14 (+1)	12 (+1)
5	10 (0)	10 (0)
6	10 (0)	10 (0)
7	10 (0)	10 (0)

* Os valores estão apresentados em (%) sobre o total de leite.

Fonte: Elaborado pela autora.

Os valores de X1 utilizados foram 6, 10 e 14%, enquanto que os do X2 foram 8, 10 e 12%, respectivamente. Um total de 7 ensaios experimentais, incluindo 3 repetições no ponto central, foram realizados. O teor de proteína, lipídios, extrato seco total, extrato seco desengordurado, cinzas, carboidratos, acidez, pH, viscosidade, fibra alimentar, perfil dos ácidos graxos, teor dos minerais, atributos avaliados na análise sensorial e contagem das bactérias lácticas e probióticas em iogurtes probióticos foram selecionadas como variáveis dependentes do processo. Teste de significância a nível de 95% e análise de variância (ANOVA) foram usados para avaliar a qualidade dos ajustes para o modelo. A fim de verificar o efeito das

variáveis independentes sobre as respostas, a metodologia de superfície de resposta foi aplicada. O modelo matemático básico para ajustar os dados foi conforme a Equação 1.

$$y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{12}X_1X_2 \quad (1)$$

Onde, y é a resposta, b_0 é termo de interceptação, b_1 - b_2 são os coeficientes de termos lineares, b_{12} é o coeficiente de termo de interação, X_1 e X_2 são os fatores.

Adicionalmente, foi desenvolvida uma amostra controle, sem adição de chia, (não incluída no DCC) para fins de comparação, conforme pode ser observado na Tabela 7.

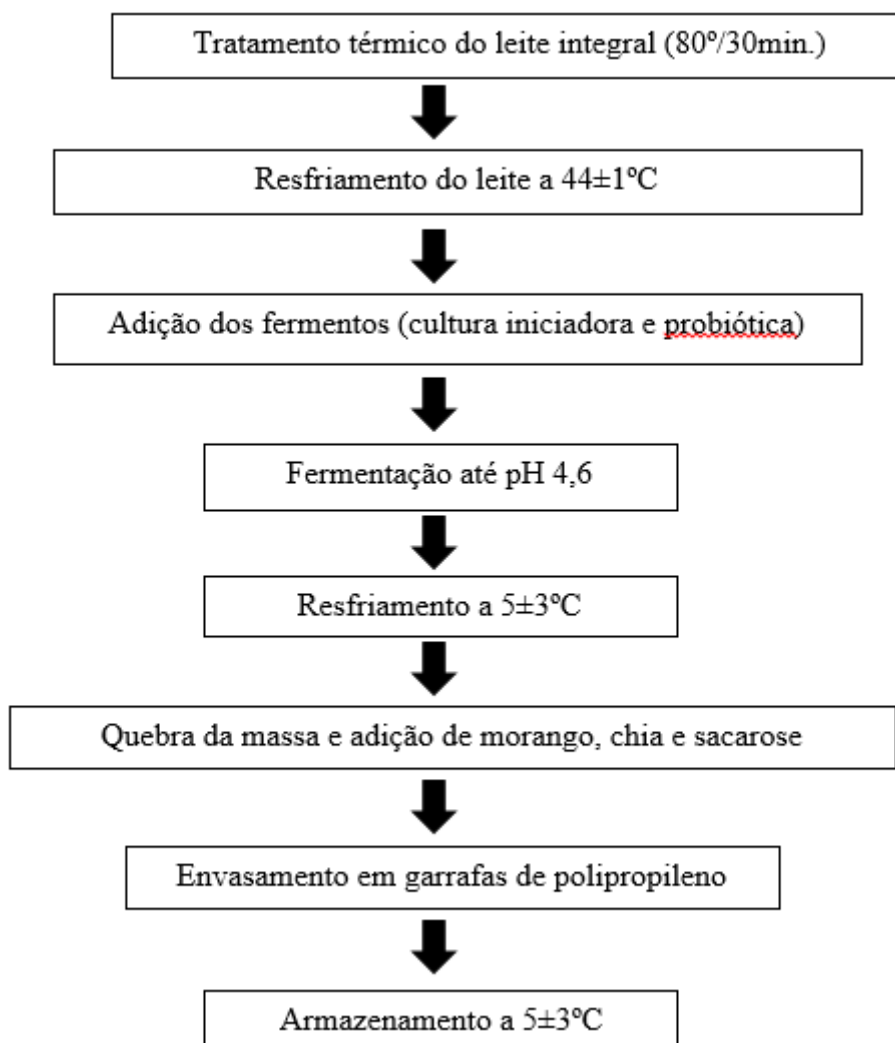
Os resultados foram analisados usando o software *Statistica*, versão 10. O teste de Tukey foi aplicado também para comparar os resultados entre as formulações com diferentes concentrações de morango e chia e principalmente entre estas e a formulação controle (sem adição de chia), bem como para comparar os resultados de acidez, pH, contagem de bactérias lácticas e bifidobactérias no decorrer do armazenamento dos iogurtes.

Os ensaios foram realizados aleatoriamente e em triplicata, seguindo a matriz do planejamento mostrado na Tabela 8.

4.5 PROCESSAMENTO DAS FORMULAÇÕES DOS IOGURTES

Foram pasteurizados (80°C/30 minutos) 35 litros de leite integral. Alíquotas foram retiradas e armazenadas em garrafas de polipropileno a 5±3°C, em geladeira, marca Consul, contendo controle de temperatura, para posteriores análises. Posteriormente, foram adicionados 5,5 litros de leite pasteurizado em 6 recipientes de polipropileno para a fabricação dos iogurtes. Com o leite a temperatura de 44±1°C, foram inoculadas as culturas iniciadoras de iogurte e probiótica dentro de cada recipiente, que foram incubados em estufa incubadora tipo BOD (*Biochemical Oxygen Demand*), marca Micronal, a 43±1°C até atingir pH de 4,6, em torno de 6 horas. Na sequência, os iogurtes resfriados foram adicionados de sacarose e diferentes concentrações de morango e semente de chia. Anterior a adição, a sacarose e os morangos foram liquefeitos em liquidificador, marca Mondial. Após a homogeneização os iogurtes foram armazenados em garrafas de polipropileno com capacidade de 300mL para posterior realização de análises laboratoriais, em cada garrafa foi adicionado de 100 a 200mL dependendo das análises a serem realizadas. Foram separadas em garrafas também amostras para a realização das análises em diferentes tempos de armazenamento. Para a realização da análise sensorial foi separado cerca de 4 litros de cada iogurte em 2 garrafas de polipropileno de 2 litros. As garrafas contendo os iogurtes foram armazenadas sob refrigeração em geladeira, marca Consul, a 5±3°C até realização das análises. A Figura 5 apresenta o fluxograma para a fabricação do iogurte.

Figura 5 – Fluxograma da fabricação do iogurte



Fonte: Adaptado de Ferreira (2005).

4.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS

Matéria-prima:

Leite: Foram realizadas análises físico-químicas de: proteína, crioscopia, lipídios, densidade, extrato seco total, extrato seco desengordurado, cinzas, carboidratos, acidez titulável, pH e fibra alimentar, perfil dos ácidos graxos, teor dos minerais e análises microbiológicas de: contagem de coliformes totais, contagem de coliformes termotolerantes, contagem de aeróbios mesófilos e pesquisa de *Salmonella sp.*

Morango: Foram realizadas análises físico-químicas de: Brix, proteína, lipídios, umidade, cinzas, carboidratos, acidez titulável, pH e fibra alimentar, perfil dos ácidos graxos,

teor dos minerais e análises microbiológicas de: contagem de coliformes totais, contagem de coliformes termotolerantes, contagem de bolores e leveduras e pesquisa de *Salmonella sp.*

Chia: Foram realizadas as análises físico-químicas de: proteína, lipídios, umidade, cinzas, carboidratos, acidez em álcool solúvel, pH e fibra alimentar, perfil dos ácidos graxos, teor dos minerais e as análises microbiológicas de: contagem de coliformes totais, contagem de coliformes termotolerantes, contagem de bolores e leveduras e pesquisa de *Salmonella sp.*

Iogurtes:

Foram realizadas análises em triplicata de proteína, carboidratos, cinzas, extrato seco total, extrato seco desengordurado, lipídios, acidez titulável, pH, além de contagem de coliformes totais e termotolerantes, contagem de bolores e leveduras, contagem de bactérias lácteas e de *Bifidobacterium* nos tempos 1, 9, 16, 26, 35 dias de armazenamento dos iogurtes.

Foram realizadas ainda análises de viscosidade, fibra alimentar, perfil dos ácidos graxos e teor de minerais, além da análise sensorial.

As análises físico-químicas das amostras do leite, do morango, da semente de chia e dos iogurtes foram realizadas segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008):

- **Acidez titulável:** Determinada através de titulação com hidróxido de sódio 0,1N, em presença do indicador fenolftaleína até o aparecimento de uma coloração rósea. Nas amostras de iogurte, a titulação foi realizada sob agitação até atingir o pH de 8,3;

- **Acidez álcool solúvel:** A amostra de chia foi mantida com álcool em erlenmeyer tampado por 24 horas, após foi transferido 20mL do sobrenadante em erlenmeyer, no qual foi adicionado fenolftaleína e, então, realizou-se a titulação com hidróxido de sódio 0,1 N até coloração rósea persistente;

- **Carboidratos:** Obtido por diferença conforme cálculo abaixo.

$$\% \text{ Carb} = 100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ cinzas} + \% \text{ proteína bruta} + \% \text{ lipídios totais}) \quad (2)$$

- **Crioscopia:** Medida do ponto de congelamento do leite, utilizando crioscópio eletrônico;

- **Densidade:** Leitura em termolactodensímetro mergulhado em uma proveta contendo leite;

- **Extrato seco total (EST):** Determinado gravimetricamente após secagem em estufa a 105°C;

- **Extrato seco desengordurado:** Obtido por diferença, conforme cálculo abaixo.

$$\% \text{ extrato seco desengordurado} = \% \text{ extrato seco} - \% \text{ gordura} \quad (3)$$

- **Fibra alimentar:** Método enzimático-gravimétrico, que consistiu em tratar a amostra com diversas enzimas fisiológicas, simulando as condições do intestino humano, permitindo separar e quantificar gravimetricamente o conteúdo total da fração fibra e/ou as frações solúveis e insolúveis;
 - **pH:** Leitura direta em um potenciômetro Micronal, modelo B474, devidamente calibrado;
 - **Proteína total:** por determinação do nitrogênio total, segundo o método de micro-Kjeldahl e conversão em proteína bruta utilizando-se o fator correspondente;
 - **Resíduo mineral fixo (cinzas):** Através da incineração do material em mufla regulada a 550°C até peso constante;
 - **Sólidos solúveis por refratometria:** Transferência de 3 a 4 gotas da amostra homogeneizada para o prisma do refratômetro;
 - **Umidade:** Determinado através do método gravimétrico, baseado na perda de peso do material submetido ao aquecimento em estufa a 105°C até peso constante;
 - **Viscosidade aparente:** Utilizando cerca de 10mL de amostra, a 10±1°C, 50 RPM, em viscosímetro marca Brookfield, Modelo DV-III Ultra TC 602 – spindle 10 ASC4-25.
- Foi realizado análise de lipídios nas amostras de chia e morango, de acordo com Bligh; Dyer (1959) e nas amostras de leite e de iogurte, de acordo Folch; Lees; Stanley (1957):
- **Lipídios em amostras de chia e morango:** Cerca de 10,0g± 0,1g de amostra foram adicionados em 60 mL de mistura de clorofórmio: metanol (1: 2, v/v) e agitados por 2 minutos. Posteriormente, adicionou-se 20 mL de clorofórmio na mistura que foi agitada por 30 segundos. Adicionou-se 20 mL de água destilada à mistura que foi agitada por mais 30 segundos. A mistura foi, então, filtrada a vácuo no funil Büchner com um papel de filtro qualitativo. O resíduo da mistura foi lavado com 20 mL de clorofórmio que foi agitada por 2 minutos e o processo de filtração foi repetido. O filtrado foi transferido para um funil de separação. Após a separação de fases, a fase inferior, contendo clorofórmio e matéria gorda, foi coletada em um balão de fundo chato previamente pesado e o solvente foi evaporado em evaporador rotatório (801, Fisatom, Brasil) com banho a 30-35°C. O conteúdo de lipídios foi determinado por método gravimétrico. Anterior a adição da mistura clorofórmio: metanol, foi adicionado 10mL de água na amostra de chia para correção da umidade.
 - **Lipídios em amostras de leite e iogurtes:** Foi pesado 10,0g± 0,1g de amostra em um béquer de 250mL, no qual foi adicionado 200mL de uma mistura de clorofórmio-metanol (2:1, v/v), a mistura foi agitada por 2 minutos e a solução obtida foi filtrada a vácuo

em funil de Büchner com papel de filtro. A solução resultante foi transferida para um funil de separação. O retentado foi retirado do papel filtro com auxílio de uma espátula, foi adicionado 30mL de clorofórmio e 30mL de água, sendo agitado por 2 minutos. A solução obtida foi filtrada a vácuo em funil de Büchner com papel de filtro e a solução resultante foi transferida para o funil de separação. Para quebrar a emulsão foi adicionado uma solução de 50mL de NaCl (0,9%, m/v). Após separação das fases, a fase inferior, contendo o clorofórmio e a matéria gorda, foi coletada em um balão de fundo chato, previamente pesado e o solvente foi evaporado em evaporador rotatório (801, Fisatom, Brasil) com banho a 30-35°C. O conteúdo de lipídios foi determinado por método gravimétrico.

Foi realizada análise do perfil de ácidos graxos em amostras do leite, do morango, da semente de chia e dos iogurtes.

- **Perfil de ácidos graxos:** Utilizou-se a fração de lipídios extraída das respectivas amostras. Estes lipídios foram derivatizados e convertidos em ésteres metílicos de ácidos graxos de acordo com Hartman; Lago (1973). Os ésteres metílicos foram, então, separados em cromatógrafo à gás, com detector de ionização em chama e coluna capilar de sílica fundida Select FAME (100 m, 0,25 mm e 0,25 µm d.i., Agilent J&W). As condições cromatográficas utilizadas foram: vazões dos gases de 1,30 mL min⁻¹ para o gás de arraste (He); 45 e 450 mL min⁻¹ para o gás H₂ e para o ar sintético, respectivamente. A razão de divisão da amostra (split) foi de 1:50. As injeções foram realizadas em triplicatas e os volumes das injeções foram de 1,0 mL. A identificação dos ácidos graxos foi baseada na comparação dos tempos de retenção com os dos ésteres metílicos da mistura padrão contendo os isômeros geométricos dos ácidos graxos. Os resultados foram expressos como porcentagem relativa dos ácidos graxos identificados.

Por meio dos dados do perfil lipídico, foi determinada a qualidade nutricional da fração lipídica das amostras do leite, do morango, da chia e dos iogurtes, por meio do cálculo de três índices e a razão entre os ácidos graxos ômega 6 e ácidos graxos ômega 3, além da razão entre ácidos graxos poli-insaturados e saturados:

- Índice de Aterogenicidade (IA) (ULBRICHT; SOUTHGATE, 1991): O IA foi obtido aplicando-se a Equação 4

$$IA = \frac{L+4M+P}{n6+n3+O+M'} \quad (4)$$

- Índice de Trombogenicidade (IT) (ULBRICHT; SOUTHGATE, 1991): O IT foi obtido aplicando-se a Equação 5

$$IT = \frac{M+P+S}{0,5O+0,5M'+0,5n6+3n3+\left(\frac{n3}{n6}\right)} \quad (5)$$

• Razão entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (HH) (SANTOS-SILVA; BESSA; SANTOS-SILVA, 2002): O HH foi obtido aplicando-se a Equação 6

$$HH = \frac{C18:1n9+C18:2n6+C20:4n6+C18:3n3+C20:5n3+C22:5n3+C22:6n6}{C14:0+C16:0} \quad (6)$$

- Razão entre ácidos graxos ômega 6 (n6) e ácidos graxos ômega 3 (n3).
- Razão entre os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) e ácidos graxos saturados (AGS).

Sendo,

L = ácido láurico (C 12:0)

M = ácido mirístico (C 14:0)

P = ácido palmítico (C 16:0)

S = ácido esteárico (C 18:0)

n3 e n6 = ácidos graxos poli-insaturados das respectivas famílias

O = ácido oleico

M' = restante dos ácidos graxos monoinsaturados.

Foi realizado análise do teor de minerais em amostras do leite, do morango, da semente de chia e dos iogurtes.

• **Teor de minerais:** Inicialmente as vidrarias a serem utilizadas foram descontaminadas de acordo com Miller (1998), sendo mergulhadas em solução de 1% de detergente por 1 hora, em seguida enxaguadas com água de torneira e lavadas com solução de HCl 0,5 mol/L, enxaguadas com água deionizada (água de milli-q) por 3 vezes e por fim secadas em estufa a 80°C por 1 hora. Posteriormente, foi realizado a digestão das amostras de acordo com Jiménez-Aguilar; Grusak (2015), pesando 0,25g±0,01g das amostras, adicionado 3 mL de HNO₃ concentrado, deixando por 16 horas. Após a mistura foi aquecida a 125°C por 2,5 horas, sendo que a temperatura foi aumentada gradualmente. Foi deixado esfriar e, então, adicionado 3 mL de H₂O₂ e aquecido a 125°C por 2 horas, em tudo parcialmente aberto. Em seguida, foi aquecido a 200°C em tubo aberto, até eliminação total do solvente e foi realizada a dissolução quantitativa do resíduo com 25mL HNO₃ 2% (m/v). A amostra foi então completada para 100mL com água deionizada. Foi realizada a determinação do cálcio, cobre, potássio, magnésio, sódio, zinco, ferro e manganês no espectrômetro de absorção atômica, modelo AA-6300, utilizando chama: Ar-C₂H₂. Na Tabela 9 estão descritas as condições operacionais para a obtenção do teor de minerais.

Tabela 9 - Condições operacionais para a determinação de cálcio, cobre, potássio, magnésio, sódio, zinco, ferro e manganês no espectrômetro de absorção atômica.

Cálcio	
Comprimento de onda (nm)	422,7
Corrente da lâmpada baixa (mA)	10
Vazão de Gás de Combustível (L / min)	2,0
Taxa de fluxo de gás de apoio (L / min)	15,0
Cobre	
Comprimento de onda (nm)	324,8
Corrente da lâmpada baixa (mA)	6
Vazão de Gás de Combustível (L / min)	1,8
Taxa de fluxo de gás de apoio (L / min)	15
Potássio	
Comprimento de onda (nm)	766,5
Corrente da lâmpada baixa (mA)	10
Vazão de Gás de Combustível (L / min)	2,0
Taxa de fluxo de gás de apoio (L / min)	15,0
Magnésio	
Comprimento de onda (nm)	285,2
Corrente da lâmpada baixa (mA)	8
Vazão de Gás de Combustível (L / min)	1,8
Taxa de fluxo de gás de apoio (L / min)	15,0
Sódio	
Comprimento de onda (nm)	589,0
Corrente da lâmpada baixa (mA)	12
Vazão de Gás de Combustível (L / min)	1,8
Taxa de fluxo de gás de apoio (L / min)	15,0
Zinco	
Comprimento de onda (nm)	213,9
Corrente da lâmpada baixa (mA)	8
Vazão de Gás de Combustível (L / min)	2,0
Taxa de fluxo de gás de apoio (L / min)	15,0
Ferro	
Comprimento de onda (nm)	248,3
Corrente da lâmpada baixa (mA)	12
Vazão de Gás de Combustível (L / min)	2,2
Taxa de fluxo de gás de apoio (L / min)	15,0
Manganês	
Comprimento de onda (nm)	279,5
Corrente da lâmpada baixa (mA)	10
Vazão de Gás de Combustível (L / min)	2,0
Taxa de fluxo de gás de apoio (L / min)	15,0

Fonte: Elaborado pela autora.

Para verificação do cumprimento das exigências no que diz respeito às condições higiênico-sanitárias dos produtos, foram realizadas análises microbiológicas em amostras do leite, do morango, da semente de chia e dos iogurtes.

Sendo as análises microbiológicas as descritas abaixo:

- **Contagem de Coliformes totais a 30/35°C:** pela metodologia do Número Mais Provável (NMP), de acordo com (APHA, 2001);
- **Contagem de Coliformes termotolerantes a 45°C:** pela metodologia do Número Mais Provável (NMP), de acordo com (APHA, 2001);
- **Contagem de Bolores e leveduras:** por plaqueamento em superfície, de acordo com (APHA, 2001);
- **Contagem de aeróbios mesófilos:** por plaqueamento em superfície, de acordo com (APHA, 2001);
- **Pesquisa de *Salmonella sp*:** em 25mL/g, de acordo com (ISO 6579, 2002).

A adequação dos iogurtes perante ao regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados (BRASIL, 2007) sobre as dosagens mínimas exigidas de bactérias lácticas e de bifidobactérias, foi verificada por meio da determinação de células viáveis destas bactérias.

- **Contagem de bactérias lácticas totais:** foi utilizado o meio De Man, Rogosa e Sharp (MRS). A inoculação foi realizada por profundidade e em seguida as placas de Petri foram incubadas invertidas em aerobiose a 37°C por 72 horas (SILVA et al., 2010).

- **Contagem de *Bifidobacterium sp*:** utilizou-se meio De Man, Rogosa e Sharp (MRS) adicionado de 0,2% cloreto de lítio e 0,05% de cisteína. A inoculação realizada foi por profundidade e em seguida as placas foram invertidas e incubadas em jarras contendo gerador de anaerobiose Anaerobac (Probac) a 37°C por 72 horas (HANSEN, 1999).

4.7 ANÁLISE SENSORIAL

Este estudo seguiu os padrões éticos estabelecidos, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul (CEP/UFFS) sob parecer nº 2.256.737. Todos os avaliadores assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido antes de sua participação na avaliação sensorial.

Foram recrutados 101 provadores não-treinados, maiores de 18 anos, de ambos os sexos, constituídos por servidores públicos e discentes da UFFS/*Campus* Laranjeiras do Sul/PR para realizarem teste de aceitação dos iogurtes. A seleção se deu através da aceitabilidade do produto e disponibilidade de tempo dos provadores para a realização das análises.

Em cabines individuais, no laboratório de Análise Sensorial da UFFS - *Campus* Laranjeiras do Sul/PR, foi aplicado teste da Escala Hedônica de 09 pontos, onde 01

correspondia a “desgostei muitíssimo” e 09 a “gostei muitíssimo”, segundo Dutcosky (2013) para avaliar quatro atributos dos iogurtes: sabor, aroma, viscosidade e aspecto geral.

Os resultados foram coletados mediante preenchimento, por parte dos julgadores, de fichas de avaliação, sendo que cada provador recebeu uma ficha de avaliação durante a análise sensorial para ser completada com as notas referentes a cada atributo de cada amostra.

Para cada provador foi realizado o seguinte procedimento: em copos plásticos de 50mL codificados com 3 diferentes números de forma aleatória foram colocados 15 a 20mL de iogurte, em temperatura de refrigeração ($8 \pm 2^\circ\text{C}$) e servidos juntamente com um copo plástico contendo cerca de 100mL de água, para lavagem do palato entre uma amostra e outra, à temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$).

Após análise dos dados obtidos na análise sensorial, calculou-se o índice de aceitabilidade (IA) pela equação descrita por Castro et al. (2007), onde:

$$IA = \frac{\text{Nota média obtida pelo produto}}{\text{Nota máxima atribuída ao produto}} \times 100 \quad (7)$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

5.1.1 Composição Físico-química da Matéria-prima

Os resultados da caracterização físico-química das matérias-primas utilizadas na produção dos iogurtes podem ser visualizados na Tabela 10.

Tabela 10 - Caracterização das matérias-primas utilizadas na produção dos iogurtes.

Análise	Produto		
	Leite	Morango	Chia
Proteína (g/100g)	3,19 (3,02;3,36)*	0,63 (0,21;1,05)	20,36 (19,60;21,12)
Lipídios (g/100g)	4,00 (4,00;4,00)	0,04 (0,00;0,08)	29,84 (29,59;30,09)
Umidade (g/100g)	-	91,88 (91,08;92,68)	7,38 (7,18;7,58)
Cinzas (g/100g)	0,81 (0,71;0,91)	0,39 (0,38;0,40)	4,27 (4,10;4,44)
Carboidratos (g/100g)	5,05 (4,30;5,80)	7,06 (5,97;8,15)	38,14 (37,28;39,00)
Fibra Alimentar (g/100g) ⁽¹⁾	< 0,50	2,94	43,59
Acidez	16,83 °Dornic (16,11;17,55)	0,78 g de ácido cítrico/100g (0,73;0,83)	1,39 g/100g (1,17;1,61)
pH	6,67 (6,65;6,69)	3,7 (3,56;3,84)	6,39 (5,94;6,84)
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	-	7,07 (6,78;7,36)	-
Crioscopia (°H)	-0,540 (-0,540;-0,540)	-	-
Densidade (g/mL)	1,033 (1,033;1,033)	-	-
Extrato seco total (g/100g)	13,06 (12,35;13,77)	-	-
Extrato seco desengordurado (g/100g)	9,06 (8,35;9,77)	-	-

*Médias das triplicatas. () Intervalo de confiança das médias ao nível de 5% de significância.

⁽¹⁾ Ensaio não realizado em triplicata.

Fonte: Elaborado pela autora.

Pode-se observar na Tabela 10 que o leite utilizado na fabricação dos iogurtes apresentou acidez, crioscopia, densidade, teor de lipídios, proteína e extrato seco desengordurado em conformidade com a Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2011).

Na Tabela 10 pode-se observar ainda que o morango utilizado como matéria-prima na fabricação dos iogurtes apresentou teores de proteína, de umidade, de cinzas, de carboidratos, de fibra alimentar, próximos aos encontrados por USDA (2010), 0,67%; 90,95%; 0,40; 7,68% e 2,0%, respectivamente. O morango apresentou ainda pH; acidez e sólidos solúveis totais, próximos aos 3,46; 0,72% de ácido cítrico e 7,90 °Brix encontrado por Antunes et al. (2010). Contudo, apresentou teor de lipídios de 0,04%, abaixo do 0,30% relatado por Giampieri et al. (2012).

A semente de chia utilizada como matéria-prima apresentou, conforme observado na Tabela 10, teores semelhantes aos 22,07% de proteína, 7,82% de umidade, 5,08 de cinzas, encontrados no trabalho de caracterização nutricional e funcional da farinha de chia realizado por Ferreira (2013). Porém, foi detectado teor de lipídios de 29,84% e de fibra alimentar de 43,59%, valores maiores de 22,12% de lipídios e 27,96% de fibra alimentar encontrado por Ferreira (2013). Por meio destes resultados, relatados na Tabela 10, é possível confirmar que a semente de chia é um alimento rico em proteínas, lipídios e fibra alimentar.

Conforme observado por Lovato et al. (2017) a composição de um alimento pode variar em função das variedades, sendo influenciado ainda por condições climáticas e sistemas de cultivos utilizados na produção, isso justifica a diferença do teor de lipídios do morango e do teor de lipídios e de fibra alimentar da semente de chia utilizados na produção dos iogurtes quando comparados com valores encontrados em outras pesquisas.

Segundo Ewerling (2018) a composição centesimal (proteína, lipídios, umidade, cinzas e carboidratos) de um alimento expressa, de forma básica, o seu valor nutritivo. O teor de lipídios expressa a quantidade de lipídios totais do produto, contudo, para identificar os seus compostos, como os ácidos graxos, são necessárias outras análises específicas. O mesmo ocorre com o teor de cinzas, que expressa a quantidade total de minerais presentes no alimento. Entretanto, para identificação de quais minerais estão presentes, são necessárias análises específicas.

5.1.2 Perfil de Ácidos Graxos da Matéria-prima

O perfil de ácidos graxos, em porcentagem relativa, das matérias-primas utilizadas na produção dos iogurtes estão descritos na Tabela 11. O leite apresentou 68,45% de ácidos graxos saturados, sendo 3,36% de ácido láurico (C12), 11,88% de ácido mirístico (C14), 32,27% de ácido palmítico (C16) e 10,93% de ácido esteárico (C18), valores semelhantes aos 68%; 3,0%; 10,4%; 32,1% e 12,0%, respectivamente, encontrado por Medeiros (2002) e aos 72,13%; 3,36%; 11,43%; 32,87% e 10,33%, respectivamente, encontrado por Eifert et al. (2006).

Foi encontrado no leite 27,72% de ácidos graxos monoinsaturados, sendo 22,47% ácido oleico (C:18:1n9c). Medeiros (2002), encontrou valor semelhante de 27% de ácidos graxos monoinsaturados em seu estudo. Foi detectado ainda no leite 3,85% de ácidos graxos poli-insaturados, sendo 1,88% de ácido linoleico (C:18:2n6c, ômega-6), 0,38% de ácido α -linolênico (C:18:3n3, ômega-3). Medeiros (2002), encontrou valor de 4,1% de ácidos poli-insaturados em leite de vaca Holandesa em época de chuva e de 2,7% em época de seca, confirmando que a

época do ano, a alimentação, bem como a raça influenciam na composição dos ácidos graxos do leite.

Tabela 11 - Perfil dos ácidos graxos das matérias-primas utilizadas na produção dos iogurtes

Ácidos graxos	Produto		
	Leite	Morango	Chia
Total Ácidos graxos saturados	68,45 (67,99;68,91) ^{(1)*}	39,73 (39,62;39,84)	10,89 (10,44;11,34)
Ácido láurico (C12)	3,36 (3,12;3,60)	1,00 (0,98;1,02)	-
Ácido mirístico (C14)	11,88 (11,70;12,05)	3,97 (3,92;4,03)	0,06 (0,03;0,09)
Ácido palmítico (C16)	32,27 (31,47;33,07)	24,16 (24,02;24,30)	6,86 (6,77;6,94)
Ácido esteárico (C18)	10,93 (10,81;11,06)	7,20 (7,13;7,26)	3,55 (3,50;3,60)
Total Ácidos graxos monoinsaturados	27,72 (27,49;27,94)	21,52 (21,45;21,59)	6,50 (6,24;6,76)
Ácido oleico (C:18:1n9c)	22,47 (22,27;22,67)	20,10 (20,00;20,20)	6,23 (6,18;6,28)
Total Ácidos graxos poli-insaturados	3,85 (3,72;3,99)	38,75 (38,65;38,85)	82,61 (81,89;83,33)
Ácido linoleico (C:18:2n6c, ômega-6)	1,88 (1,37;2,39)	20,22 (20,13;20,30)	17,81 (17,72;17,89)
Ácido α -linolênico (C:18:3n3, ômega-3)	0,38 (0,36;0,40)	18,53 (18,46;18,61)	64,34 (63,39;65,30)
Ácido Linoleico Conjugado (CLA_9c11t)	0,94 (0,92;0,95)	-	-

*Médias das triplicatas. () Intervalo de confiança das médias ao nível de 5% de significância.

⁽¹⁾ Porcentagem relativa dos ácidos graxos.

Fonte: Elaborado pela autora.

Quanto ao teor do ácido linoleico conjugado (CLA_9c11t), o leite apresentou teor de 0,94%, o que corresponde a um total de 37,6mg/100g de leite. Fuke et al. (2014), relatou valor de 20,8mg/100g de leite, valor inferior a este estudo. A existência de uma ampla faixa de variação nos níveis de CLA, pode ser atribuída a fatores como espécie, idade, raça, estágio de lactação e alimentação do animal (COLLOMB et al., 2006). Contudo, mesmo havendo esta variação de teor, o leite e os derivados lácteos são uma das maiores fontes de CLA.

Na Tabela 11 também está apresentado o perfil dos ácidos graxos do morango utilizado na produção dos iogurtes, 39,73% dos ácidos graxos do morango são saturados, sendo 1% ácido láurico (C12), 3,97% ácido mirístico (C14), 24,16% ácido palmítico (C16), 7,20% ácido esteárico (C18). Barros et al. (2010) encontraram em seu estudo caracterizando morangos, 20,32% de ácidos graxos saturados, sendo 0,65% de ácido láurico, 1,34% de ácido mirístico, 8,20% de ácido palmítico, 4,00% de ácido esteárico, valores inferiores aos encontrados neste estudo. Encontraram também 21,39% de ácidos graxos monoinsaturados, sendo 21,01% ácido oleico, valores próximos ao deste estudo, porém, detectaram 58,28% de ácidos graxos poli-insaturados, sendo 21,50% ácido linoleico e 36,51% de ácido α -linolênico valores superiores aos encontrados no morango utilizados na fabricação dos iogurtes.

O percentual de ácidos graxos saturados da semente de chia quantificados foi de 10,89%, sendo os majoritários os ácidos palmítico (16:0) e esteárico (18:0) com 6,86% e 3,55%, correspondendo a 2,05g/100g e 0,82g/100g de chia, respectivamente. Resultados superiores aos relatados por Ganzaroli (2014) de 1,89g/100g e 0,76g/100g de chia, respectivamente. Para os ácidos graxos monoinsaturados o percentual foi de 6,50%, com destaque para o ácido oleico (18:1n-9) com 6,23%, ou seja, 1,86g/100g de chia, valor superior ao encontrado por Ganzaroli (2014) de 1,55g/100g de chia. Contudo, a maior concentração foi de ácidos graxos poli-insaturados, com 82,61%, sendo os mais abundantes o ácido α -linolênico (18:3n-3) 19,20g/100g de chia e o ácido linoleico (18:2n-6) 5,31g/100g de chia, valores maiores também aos 15,27g/100g e 5,20g/100g relatados por Ganzaroli (2014).

A composição de ácidos graxos de morangos e sementes de chia pode variar em função da variedade, sendo influenciada ainda por condições climáticas e sistemas de cultivos, o que explica a variação da composição encontrada do morango e da semente de chia utilizados na produção dos iogurtes em relação aos valores encontrados em outros estudos.

Comparando o perfil dos ácidos graxos das matérias-primas utilizadas na produção dos iogurtes, podemos observar que o leite foi que apresentou maior percentual de ácidos graxos saturados, com 68,45%, contra 39,73% do morango e apenas 10,89% da chia, apresentou também maior teor de ácidos graxos monoinsaturados, com 27,72%, enquanto que o morango apresentou 21,52% e a chia apenas 6,50%, contudo, é importante ressaltar que o leite e o morango apresentaram apenas 4,00% e 0,04% de lipídios, respectivamente, enquanto que a chia apresentou 29,84% de lipídios, sendo estes compostos por 82,61% de ácidos graxos poli-insaturados, constituídos de 64,34% de ácido α -linolênico, sendo este reconhecidamente um ácido graxo muito importante à nossa saúde.

5.1.3 Teor de Minerais da Matéria-prima

Os resultados dos teores dos minerais encontrados nas matérias-primas utilizadas na produção dos iogurtes estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 - Teor mineral das matérias-primas utilizadas na produção dos iogurtes

Mineral	Produto		
	Leite	Morango	Chia
Cálcio (mg/100g)	109,82 (103,3;116,3)*	13,27 (8,40;18,15)	796,7 (671,6;921,7)
Cobre (mg/100g)	0,04 (0,01;0,07)	0,03 (0,00;0,06)	6,31 (3,41;9,22)
Potássio (mg/100g)	137,07 (117,9;156,2)	154,99 (142,75;167,24)	451,6 (276,5;626,5)
Magnésio (mg/100g)	9,27 (5,70;12,84)	12,24 (7,63;16,86)	834,2 (553,2;1115,1)
Sódio (mg/100g)	52,04 (40,5;63,6)	0,81 (0,41;1,22)	72,37 (39,90;104,84)
Zinco (mg/100g)	0,55 (0,22;0,88)	0,16 (0,05;0,26)	10,28 (4,28;16,29)
Ferro (mg/100g)	0,05 (0,01;0,08)	0,38 (0,28;0,48)	44,32 (25,08;63,57)
Manganês (mg/100g)	0,04 (0,01;0,08)	0,44 (0,10;0,77)	7,23 (4,43;10,03)

*Médias das triplicatas. () Intervalo de confiança das médias ao nível de 5% de significância.

Fonte: Elaborado pela autora.

O leite apresentou teores altos de cálcio, potássio, magnésio e sódio, valores semelhantes a 115 mg/100g; 140 mg/100g; 9,6 mg/100g e 51,5mg/100g de leite, respectivamente, encontrados por Speridião (2013), o que demonstra que o leite é uma boa fonte destes minerais.

No morango os minerais que apresentaram os maiores valores foram potássio, cálcio e magnésio. USDA (2010), encontrou valores semelhantes de 153 mg/100g; 16 mg/100g; e 13 mg/100g de morango, respectivamente.

A semente de chia é rica em minerais como: cálcio, potássio, magnésio e ferro, como pode ser observado na Tabela 12. Tosco (2004) encontrou os seguintes valores em seu estudo sobre a chia: 870mg de cálcio, 890mg de potássio, 466mg de magnésio, 20mg de sódio e 48,8mg de ferro por 100g de semente de chia, alguns minerais apresentaram teores diferentes dos apresentados nesta pesquisa, porém deve-se levar em conta o local, tipo de solo em que foi cultivada, época e condições de cultivo e manejo destas sementes que podem alterar sua composição.

Visto ao conteúdo mineral importante da chia, bem como de ácidos graxos poli-insaturados, proteína e fibra alimentar, estas sementes podem ser incluídas na classe dos alimentos funcionais, uma vez que é comprovadamente rica nutricionalmente e que os compostos presentes proporcionam benefícios a saúde, tais como diminuição de problemas de prisão de ventre, redução de risco de alguns tipos de câncer entre outros (TOMBINI, 2013).

5.1.4 Qualidade Microbiológica da Matéria-prima

As análises microbiológicas das matérias-primas foram realizadas anteriormente a produção dos iogurtes. Como pode ser observado na Tabela 13 o leite encontrava-se dentro dos

parâmetros exigidos pela Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2011), bem como o morango e a semente de chia encontram-se dentro dos padrões estabelecidos pela RDC 12 (BRASIL, 2001).

Tabela 13 - Qualidade microbiológica das matérias-primas utilizadas na produção dos iogurtes

Análise	Produto					
	Leite	Limite legislação	Morango	Limite legislação	Chia	Limite legislação
Contagem de coliformes totais (NMP/mL; NMP/g)	<0,3	4	<3,0	-	<3,0	-
Contagem de coliformes termotolerantes (NMP/mL; NMP/g)	<0,3	2	<3,0	2×10^3	<3,0	10^2
Contagem de bolores e leveduras (UFC/mL; UFC/g)	-	-	< 10^2	-	< 10^2	-
Contagem de aeróbios mesófilos (UFC/mL)	$2,0 \times 10$	$8,0 \times 10^8$	-	-	-	-
Pesquisa de <i>Salmonella sp</i>	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

Fonte: Elaborado pela autora.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS IOGURTES PRODUZIDOS COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MORANGO E CHIA

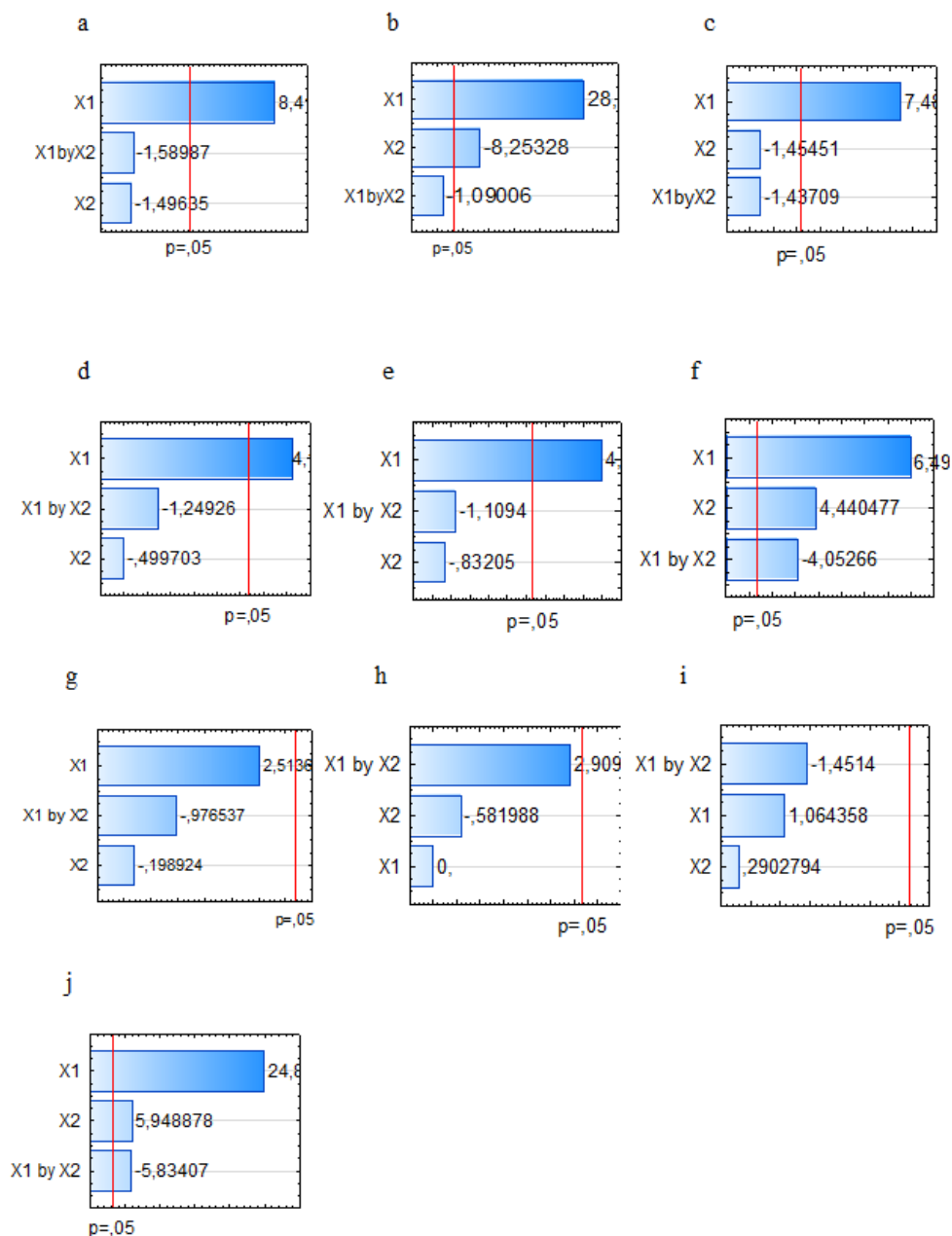
Por meio do delineamento composto central (DCC), foi possível estudar os efeitos de cada variável independente: concentração de chia e concentração de morango, sob a composição centesimal, de nutrientes, das propriedades físico-químicas, do teor de minerais, do perfil de ácidos graxos e ainda sob a aceitação dos consumidores perante a análise sensorial dos iogurtes.

5.2.1 Composição Físico-Química dos Iogurtes

A composição físico-química dos iogurtes produzidos com diferentes concentrações de morango e chia foi analisada. Por meio dos gráficos de Pareto da Figura 6 pode-se observar que a concentração de chia foi a única variável estudada que teve efeito positivo significativo ($p < 0,05$) perante o teor de proteína, extrato seco total, extrato seco desengordurado e teor de cinzas (mineral fixo), indicando, desta maneira, que quanto maior a concentração de chia adicionada, maiores são os teores destes compostos no iogurte. Com relação a acidez, o pH e o

teor de carboidratos dos iogurtes tanto a concentração de chia como a concentração de morango foram consideradas estatisticamente não significantes ($p < 0,05$), ou seja, a concentração de chia e a concentração de morango não interferem no teor de carboidratos, na acidez e pH dos iogurtes. Para o teor de lipídios a concentração de chia apresentou efeito positivo significativo ($p < 0,05$), ou seja, quanto maior a adição de chia no iogurte, maior seu teor de lipídios, enquanto que a concentração de morango apresentou efeito negativo significativo, quanto menor sua adição no iogurte, maior o teor de lipídios. Para o teor de fibra alimentar e para a viscosidade dos iogurtes foi observado efeito positivo significativo ($p < 0,05$) da concentração de chia e também da concentração de morango, quanto maiores as concentrações de qualquer uma das variáveis, maiores serão, portanto, a fibra alimentar e a viscosidade do iogurte.

Figura 6 – Gráficos de Pareto para as variáveis: (a) Proteína, (b) Lipídios, (c) Extrato Seco Total, (d) Extrato Seco Desengordurado, (e) Cinzas, (f) Fibra Alimentar, (g) Carboidrato, (h) Acidez, (i) pH, (j) Viscosidade.



X1 – Concentração de chia; X2 – Concentração de morango.

Fonte: Elaborado pela autora.

Os dados obtidos para as variáveis proteína, lipídios, fibra alimentar e viscosidade foram ajustados ao modelo linear de superfície de resposta DCC descrito na Equação 8, Equação 9, Equação 10 e Equação 11, respectivamente:

$$\text{Proteína} = 4,26 + 0,45X_1 \quad (8)$$

$$\text{Lipídios} = 5,37 + 0,91X_1 - 0,26X_2 \quad (9)$$

$$\text{Fibra alimentar} = 2,58 + 0,84X_1 + 0,57X_2 \quad (10)$$

$$\text{Viscosidade} = 2965,48 + 972,83X_1 + 233,16X_2 \quad (11)$$

Sendo que X_1 é a concentração de chia (%) e X_2 é a concentração de morango (%).

Os resultados do teste de significância e ANOVA do modelo de equações de regressão estão apresentados na Tabela 14. Os valores de F calculado são maiores que os valores de F tabelado, mostrando que os modelos são válidos.

Tabela 14 – Resultados da ANOVA para avaliação do teor de proteína, lipídios, fibra alimentar e viscosidade.

Fator	Soma dos quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado médio	F-valor	p-valor	R ²
A						
X1	0,81	1	0,81	70,85	0,01	
ANOVA						
Modelo	0,80	1	0,80	32,79 (6,61)*		0,86
Erro	0,12	5	0,02			
Total das somas dos quadrados	0,93	6				
B						
X1	3,31	1	3,31	803,24	0,0001	
X2	0,28	1	0,28	68,12	0,0037	
X1X2	0,00	1	0,00	1,19	0,3554	
ANOVA						
Modelo	3,60	3	1,20	290,85 (9,28)*		0,99
Erro	0,01	3	0,00			
Total das somas dos quadrados	3,61	6				
C						
X1	2,81	1	2,81	42,20	0,01	
X2	1,31	1	1,31	19,72	0,02	
X1X2	1,09	1	1,09	16,42	0,03	
ANOVA						
Modelo	5,21	3	1,74	26,11 (9,28)*		0,96
Erro	0,20	3	0,07			
Total das somas dos quadrados	5,41	6				
D						
X1	3785631,75	1	3785631,75	616,06	0,0001	
X2	217463,67	1	217463,67	35,39	0,0095	
X1X2	209150,73	1	209150,73	34,04	0,0100	
ANOVA						
Modelo	4212246,15	3	1404082,05	228,49 (9,28)*		0,99
Erro	18434,78	3	6144,93			
Total das somas dos quadrados	4230680,92	6				

A - Teor de proteína; B - Teor de lipídios; C - Teor de fibra alimentar; D - Viscosidade

X1 – Concentração de chia; X2 – Concentração de morango

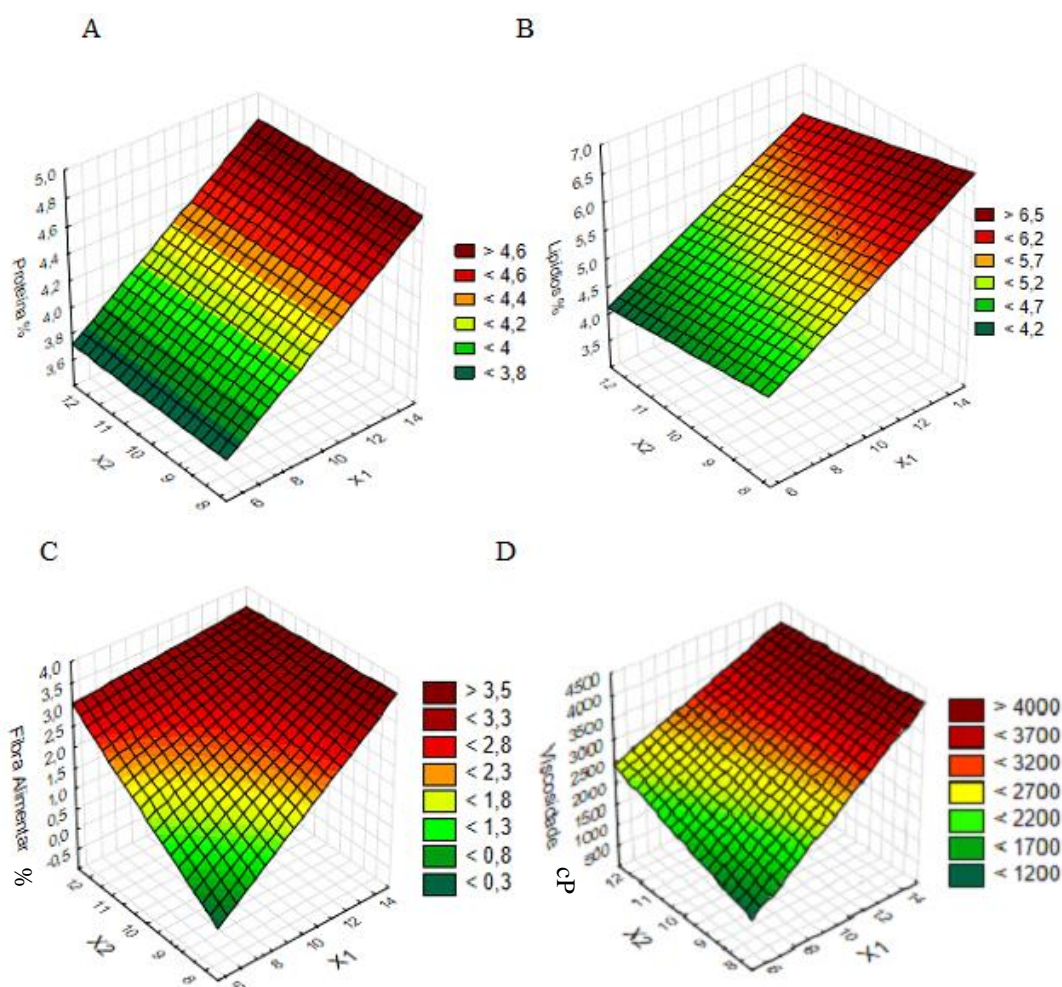
* Valor de F tabelado a 5% de significância.

Fonte: Elaborado pela autora.

A correlação linear (R^2) foi utilizada para avaliar a precisão da equação da regressão linear. Os modelos apresentaram valor de R^2 de 0,86 Equação 8; 0,99 Equação 9; 0,96 Equação 10 e 0,99 Equação 11, demonstrando que os valores observados e previstos estavam em boa concordância.

Nos gráficos da Figura 7 são apresentadas as superfícies de resposta e observa-se que o maior teor de proteína foi obtido usando maior concentração de chia, enquanto que a concentração de morango neste nutriente não provocou alterações significativas ($p < 0,05$). Com relação ao teor de lipídios é possível observar que seu maior teor foi usando maior concentração de chia e menor concentração de morango. Observa-se ainda, por meio dos gráficos da Figura 7, que quanto maior a concentração de chia e de morango utilizadas, maior foi a viscosidade e o teor de fibra alimentar do iogurte probiótico.

Figura 7 – Superfícies de resposta do teor de proteína bruta (A), lipídios (B), fibra alimentar (C) e viscosidade (D) no planejamento DCC aplicado para o iogurte probiótico.



X1: Concentração de chia. X2: Concentração de morango.

Fonte: Elaborado pela autora.

A Tabela 15 apresenta as médias dos resultados dos ensaios físico-químicos realizados nos iogurtes em cinco tempos (1, 9, 16, 26 e 35 dias de armazenamento), sendo que em cada tempo foi realizado ensaios em triplicata.

Tabela 15 - Médias dos resultados dos ensaios físico-químicos realizados nos iogurtes

Análises	Iogurtes					
	Controle: 0%X1; 26%X2	6%X1; 8%X2	14%X1; 8%X2	6%X1; 12%X2	14%X1; 12%X2	10%X1; 10%X2
Proteína (g/100g)	2,6 (2,54;2,66) ^{e*}	3,85 (3,80;3,90) ^d	5,04 (4,89;5,19) ^a	3,8 (3,74;3,86) ^d	4,58 (4,45;4,71) ^b	4,15 (4,05;4,25) ^c
Lipídios (g/100g)	2,72 (2,68;2,76) ^f	4,68 (4,59;4,77) ^d	6,59 (6,50;6,68) ^a	4,24 (4,22;4,26) ^e	5,94 (5,89;5,99) ^b	5,41 (5,32;5,50) ^c
Extrato seco total (g/100g)	14,59 (14,52;14,66) ^e	19,22 (19,11;19,33) ^d	24,17 (24,01;24,33) ^a	19,05 (18,95;19,15) ^d	22,87 (22,78;22,94) ^b	20,88 (20,63;21,13) ^c
Extrato seco desengordurado (g/100g)	11,87 (11,77;11,97) ^e	14,54 (14,40;14,68) ^d	17,58 (17,40;17,76) ^a	14,81 (14,70;14,92) ^d	16,93 (16,84;17,02) ^b	15,47 (15,23;15,69) ^c
Cinzas (g/100g)	0,68 (0,67;0,69) ^e	0,88 (0,87;0,89) ^d	1,09 (1,08;1,10) ^a	0,89 (0,88;0,90) ^d	1,02 (1,01;1,03) ^b	0,96 (0,95;0,97) ^c
Carboidratos (g/100g)	8,59 (8,45;8,73) ^c	9,81 (9,70;9,92) ^b	11,45 (11,17;11,73) ^a	10,12 (10,01;10,23) ^b	11,33 (11,19;11,47) ^a	10,35 (10,07;10,63) ^b
Viscosidade (cp)	1014 (1004,2;1023,9) ^e	1574,67 (1561,7;1587,7) ^d	3977,67 (3965,7;3989,6) ^a	2498,33 (2485,3;2511,4) ^c	3986,67 (3976,1;3997,3) ^a	2907 (2891,5;2922,5) ^b
Fibra alimentar (g/100g) ⁽¹⁾	<0,50	<0,50	3,22	2,69	3,32	2,77

*Médias dos resultados dos ensaios realizados em cada tempo em triplicata. () Intervalo de confiança das médias ao nível de 5% de significância. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

X1 – Chia; X2 - Morango

(1) Ensaio não realizado em triplicata.

Fonte: Elaborado pela autora.

Não houveram diferenças significativas ($<0,05$) nos resultados dos ensaios realizados nos diferentes tempos, ou seja, o tempo não teve efeito sobre estas variáveis, contudo, é possível verificar diferença significativa ($p < 0,05$) dos resultados comparando os iogurtes com diferentes concentrações de morango e chia. Para todos os parâmetros analisados, os iogurtes adicionados de chia diferiram estatisticamente do iogurte controle, sem adição de chia. O teor de proteína, extrato seco total, extrato seco desengordurado e cinzas foram maiores nos iogurtes com concentração de 14% de chia, diferindo das demais formulações. Isso se deve ao fato da semente de chia ser rica nestes compostos, como proteína e cinzas. A formulação contendo 14% de chia e 8% de morango apresentou teor de proteína de 5,04%, de extrato seco total de 24,17%, de extrato seco desengordurado de 17,58% e de cinzas de 1,09 contra 2,6% de proteína, 14,59%

de extrato seco total, 11,87% de extrato seco desengordurado e 0,68% de cinzas da amostra controle (0% de chia; 26% de morango).

A adição de 6% de chia aumentou cerca de 30% o teor de cinzas e 47% o teor de proteínas, a adição de 10% ocasionou aumento de 41% de cinzas e 60% de proteína, por sua vez a adição de 14% de chia resultou em aumento de 55% de cinzas e 85% de proteína. Importante considerar ainda que uma porção de 100g das formulações contendo 14% de chia é capaz de fornecer 6% dos valores diários de referência (VDR) de proteína (BRASIL, 2003).

A formulação com 14% de chia e 8% de morango apresentou o maior conteúdo de lipídios, diferindo estatisticamente das demais formulações, inclusive da amostra controle que apresentou apenas 2,72% de lipídios. Pode-se observar a tendência de redução do teor de lipídios com a adição de morango e aumento com adição de semente de chia, devido ao teor baixo de lipídios do morango e alto da chia.

Zerbielli (2014) em seu estudo com bebida láctea fermentada com cultura probiótica adicionada de semente de chia, encontrou 4,03% de proteína, 3,87% de lipídios e 0,80% de cinzas, na formulação adicionada de 5% de chia com 14 dias de armazenamento a 4°C.

Conforme a legislação brasileira, o iogurte deve possuir teor mínimo de proteína de 2,9% e o iogurte integral deve possuir de 3,0 a 5,9% de gordura, porém é aceitável valores menores para iogurtes adicionados de frutas e açúcares (BRASIL, 2007). Dessa forma, todas as formulações estão adequadas quanto ao teor de proteína, até mesmo a formulação controle, que apresentou 2,6% de proteína, o que é justificável pela adição de morango. Com relação ao teor de lipídios, a formulação controle apresentou 2,72%, também justificável pela adição de morango. Contudo, o iogurte com 14% de chia e 8% de morango, apresentou 6,59%, acima do estipulado pela legislação. Porém está dentro do recomendado pelo Codex Alimentarius Commission (2010) de que o iogurte deve ter um teor proteico mínimo de 2,7% e um teor máximo de gordura de 15%.

O maior teor de carboidratos foi verificado nas formulações com 14% de chia, variando de 11,33 a 11,45%, sem diferir estatisticamente entre si, mas diferindo das demais, o que se deve ao fato de a semente de chia ser rica em carboidratos. As formulações contendo 6% e 10% de chia não diferiram entre si. A formulação controle apresentou apenas 8,59% de carboidratos.

As formulações de maior viscosidade foram as com 14% de chia, apresentando viscosidade de 3977,67 a 3986,67cP, não diferindo entre si, mas diferindo das demais formulações, incluindo a controle, com 1014cP de viscosidade. Tanto o morango quanto a chia aumentaram a viscosidade, embora a adição de chia nos iogurtes teve efeito maior nesse aumento.

Não foi possível comparar os resultados de fibra alimentar pela ANOVA e teste de Tukey, pois este ensaio não foi realizado em triplicata por falta de recursos. Contudo, é possível perceber que a adição de morango e principalmente de chia aumentaram o seu conteúdo nas formulações. As formulações contendo 14% de chia obtiveram teor de fibra alimentar de 3,22 a 3,32%, contra 2,77% da formulação contendo 10% de chia e 10% de morango. Segundo a Anvisa (2012), para ser considerado fonte de fibra alimentar, o alimento deve possuir no mínimo 3g/100g do produto, assim os iogurtes com 14% de chia podem ser classificados como fontes de fibra alimentar, sendo que uma porção de 100g desses iogurtes é capaz de fornecer 13% dos valores diários de referência (VDR) de fibra alimentar (BRASIL, 2003).

Na Tabela 16 estão apresentadas as médias das triplicatas de acidez das diferentes formulações nos dias 1, 9, 16, 26 e 35 de armazenamento dos iogurtes. No 1º dia de armazenamento dos iogurtes pode-se observar na Tabela 16 que os iogurtes não diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) entre si com relação a acidez, que variou de 0,87 a 0,92g de ácido láctico/100g. Nos demais tempos de armazenamento observa-se que a acidez foi maior nas formulações com maior concentração de chia, sendo que apenas no 9º e no 16º dia de armazenamento os iogurtes contendo 6% de chia não diferiram da amostra controle. Nos demais tempos, assim como as demais formulações diferiram estatisticamente da controle.

Tabela 16 – Acidez média dos iogurtes nos tempos 1, 9, 16, 26 e 35 dias de armazenamento.

Iogurtes	Acidez (g ácido láctico/100g)				
	Tempo (dias de armazenamento)				
	1	9	16	26	35
Controle:	0,91 ^{abA}	0,95 ^{aC}	0,94 ^{aC}	0,87 ^{bF}	0,86 ^{bC}
0% X1; 26% X2	(0,82;1,00)*	(0,94;0,96)	(0,92;0,96)	(0,82;0,92)	(0,84;0,88)
6% X1; 8% X2	0,93 ^{cA}	0,99 ^{cBC}	1,09 ^{bB}	1,08 ^{bD}	1,25 ^{aB}
	(0,82;1,04)	(0,93;1,05)	(1,07;1,11)	(1,07;1,09)	(1,22;1,28)
14% X1; 8% X2	0,88 ^{cA}	1,01 ^{cB}	1,15 ^{bA}	1,24 ^{bA}	1,39 ^{aA}
	(0,68;1,08)	(0,96;1,06)	(1,14;1,16)	(1,23;1,25)	(1,19;1,59)
6% X1; 12% X2	0,87 ^{cA}	0,89 ^{cD}	0,98 ^{bC}	1,04 ^{bE}	1,32 ^{aAB}
	(0,78;0,96)	(0,89;0,89)	(0,98;0,98)	(1,02;1,06)	(1,23;1,41)
14% X1; 12% X2	0,92 ^{dA}	1,07 ^{cA}	1,15 ^{bA}	1,18 ^{bB}	1,4 ^{aA}
	(0,81;1,03)	(1,04;1,10)	(1,06;1,24)	(1,16;1,20)	(1,39;1,41)
10% X1; 10% X2	0,92 ^{dA}	1,06 ^{cA}	1,16 ^{bA}	1,13 ^{bcC}	1,38 ^{aA}
	(0,76;1,08)	(1,02;1,10)	(1,13;1,19)	(1,12;1,14)	(1,33;1,43)

*Médias dos resultados dos ensaios em triplicata. () Intervalo de confiança das médias ao nível de 5% de significância. Médias seguidas por letras iguais minúsculas na mesma linha e letras iguais maiúsculas na mesma coluna indicam não haver diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

X1 – Chia; X2 – Morango

Fonte: Elaborado pela autora.

Durante todo o armazenamento, de 35 dias, os iogurtes permaneceram dentro do padrão exigido pela legislação brasileira de acidez entre 0,6 e 1,5g de ácido láctico/100g (BRASIL,

2007). Embora aos 35 dias de armazenamento seja possível verificar um aumento significativo da acidez de todas as formulações, exceto a controle, diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) da acidez apresentada em outros tempos.

Santos; Cruz; Almeida (2017), obtiveram acidez de 0,74% de ácido láctico em sua amostra controle e 0,75% de ácido láctico nas amostras de iogurtes adicionadas de 2 e 3% de semente de chia, valores inferiores aos encontrados por este trabalho. Já Zerbielli (2014), em seu estudo com bebida láctea adicionada de 3% de chia, verificou evolução da acidez de 0,69 para 1,45% de ácido láctico durante os 14 dias de estocagem a 4°C.

Na Tabela 17 estão apresentados os valores de pH das diferentes formulações nos 5 diferentes tempos de armazenamento dos iogurtes. No 1º dia de armazenamento os iogurtes não diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) entre si com relação ao pH, mas no decorrer dos dias de armazenamento, observa-se que o pH foi maior nas amostras contendo mais chia. É possível observar a redução do pH a partir do 26º dia de armazenamento, se acentuando no 35º dia.

Tabela 17 – pH médio dos iogurtes nos tempos 1, 9, 16, 26 e 35 dias de armazenamento.

Iogurtes	pH				
	Tempo (dias de armazenamento)				
	1	9	16	26	35
Controle:	4,77 ^{aA}	4,03 ^{cB}	4,84 ^{aB}	4,66 ^{abC}	4,52 ^{bC}
0% X1; 26% X2	(4,65;4,89)	(4,02;4,04)	(4,47;5,21)	(4,52;4,80)	(4,42;4,62)
6% X1; 8% X2	4,73 ^{abA}	4,67 ^{abA}	4,86 ^{aB}	4,58 ^{bC}	4,63 ^{abB}
	(4,49;4,97)	(4,25;5,09)	(4,71;5,01)	(4,52;4,64)	(4,54;4,72)
14% X1; 8% X2	4,86 ^{bA}	4,91 ^{bA}	5,09 ^{aA}	4,86 ^{bA}	4,76 ^{bA}
	(4,61;5,11)	(4,79;5,03)	(4,94;5,24)	(4,81;4,91)	(4,72;4,80)
6% X1; 12% X2	4,82 ^{abA}	4,63 ^{bA}	4,96 ^{aAB}	4,76 ^{abB}	4,6 ^{bB}
	(4,62;5,02)	(4,02;5,24)	(4,94;4,98)	(4,67;4,85)	(4,54;4,66)
14% X1; 12% X2	4,8 ^{bA}	4,85 ^{bA}	5,08 ^{aA}	4,75 ^{bB}	4,78 ^{bA}
	(4,62;4,98)	(4,55;5,15)	(5,00;5,16)	(4,70;4,80)	(4,77;4,79)
10% X1; 10% X2	4,87 ^{bA}	4,71 ^{bcA}	5,12 ^{aA}	4,65 ^{cC}	4,57 ^{cBC}
	(4,64;5,10)	(4,37;5,05)	(4,97;5,27)	(4,64;4,66)	(4,51;4,63)

*Médias dos resultados dos ensaios em triplicata. () Intervalo de confiança das médias ao nível de 5% de significância. Médias seguidas por letras iguais minúsculas na mesma linha e letras iguais maiúsculas na mesma coluna indicam não haver diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

X1 – Chia; X2 – Morango

Fonte: Elaborado pela autora.

Pode-se observar que durante o armazenamento dos iogurtes a acidez, como esperado, teve aumento em contrapartida do pH que tendeu a reduzir, devido à conversão da lactose em ácido láctico pela fermentação das bactérias lácticas presentes. O iogurte está sujeito a alterações em seus componentes durante o armazenamento, devendo ser avaliado periodicamente, por meio de análises de pH e acidez, bem como de análises microbiológicas para determinar o grau de segurança para o consumo humano (SANTOS; CRUZ; ALMEIDA, 2017).

Santos; Cruz; Almeida (2017), encontraram aos 28 dias de estocagem do iogurte controle e dos iogurtes adicionados de 2 e 3% de chia, valores de pH 3,99; 3,92; e 3,81, respectivamente. Zerbielli (2014) encontrou em bebida láctea adicionada de 3% de chia recém preparada pH de 4,59, após 7 dias pH de 4,35 e após 14 dias de armazenamento pH de 4,15 e para a bebida láctea adicionada de 5% de chia recém preparada pH de 4,58, após 7 dias pH de 4,38 e após 14 dias pH de 4,19. Os valores de pH deste estudo apresentaram-se superiores, o que pode ser devido a maior concentração de chia adicionada.

5.2.2 Teor de Minerais dos Iogurtes

Foi realizado análise do teor de minerais nos iogurtes contendo diferentes concentrações de morango e chia. Na Figura 8 representada por gráficos de Pareto pode-se observar que a variável independente de concentração de chia teve efeito positivo significativo ($p < 0,05$) sob os teores de: cálcio, potássio, zinco, sódio, ferro e manganês, enquanto que a variável concentração de morango não teve efeito significativo. Dessa forma, o aumento na concentração de chia no iogurte aumentou os teores desses minerais. Para os teores de cobre e magnésio observa-se nos gráficos o efeito positivo significativo da concentração de chia e da concentração de morango, sendo, portanto, que o aumento na concentração de qualquer uma destas variáveis aumenta o teor destes minerais no iogurte.

Os dados obtidos para as variáveis cálcio, potássio, cobre e magnésio foram ajustados ao modelo linear de superfície de resposta DCC descrito na Equação 12, Equação 13, Equação 14 e Equação 15, respectivamente:

$$\text{Cálcio} = 203,00 + 34,67X_1 \quad (12)$$

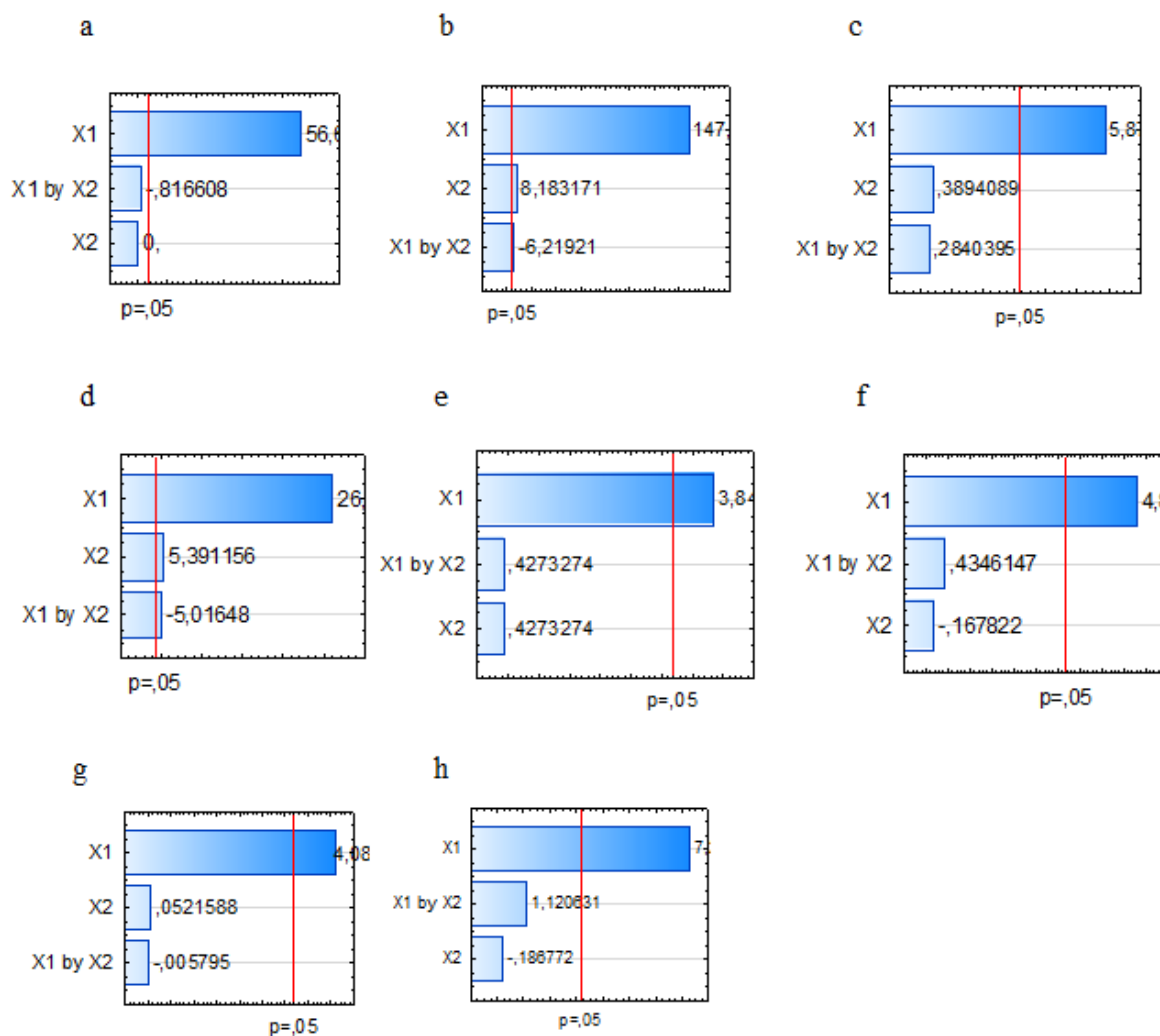
$$\text{Potássio} = 169,75 + 6,41X_1 \quad (13)$$

$$\text{Cobre} = 1,99 + 1,13X_1 + 0,063X_2 \quad (14)$$

$$\text{Magnésio} = 26,45 + 3,13X_1 + 0,65X_2 \quad (15)$$

Sendo que X_1 é a concentração de chia (%) e X_2 é a concentração de morango (%).

Figura 8 – Gráficos de Pareto para os teores de minerais: (a) Cálcio, (b) Cobre, (c) Potássio, (d) Magnésio, (e) Zinco, (f) Sódio, (g) Ferro, (h) Manganês.



X1 – Concentração de chia; X2 – Concentração de morango.

Fonte: Elaborado pela autora.

Os resultados do teste de significância e ANOVA do modelo de equações de regressão são apresentados na Tabela 18. Os valores de F calculado são maiores que os valores de F tabelado, mostrando que os modelos são válidos.

Tabela 18 – Resultados da ANOVA para o teor de cálcio, potássio, cobre e magnésio

Fator	Soma dos quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado médio	F-valor	p-valor	R ²
A						
X1	4808,036	1	4808,036	3206,232	0,000012	
X2	0,000	1	0,000	0,000	1,000000	
X1X2	1,000	1	1,000	0,667	0,473967	
ANOVA						
Modelo	4809,0	3	1603,012	1068,97 (9,27)*		0,99
Erro	4,499	3	1,49959			
Total das somas dos quadrados	4813,534	6				
B						
X1	164,3524	1	164,3524	53,35879	0,000753	
ANOVA						
Modelo	164,4	1	164,3524	53,36 (6,61)*		0,91
Erro	15,4007	5	3,080137			
Total das somas dos quadrados	179,7531	6				
C						
X1	164,3524	1	164,3524	463,3561	0,002151	
X2	0,7225	1	0,7225	2,0369	0,289666	
X1X2	0,3844	1	0,3844	1,0837	0,407180	
ANOVA						
Modelo	5,1	3	1,7	60,71 (9,277)*		0,98
Erro	0,084	3	0,028			
Total das somas dos quadrados	5,193743	6				
D						
X1	39,25023	1	39,25023	680,2465	0,001467	
X2	1,67703	1	1,67703	29,0646	0,032727	
X1X2	1,45203	1	1,45203	25,1651	0,037516	
ANOVA						
Modelo	42,4	3	14,13333	51,52 (9,28)*		0,98
Erro	0,823	3	0,274333			
Total das somas dos quadrados	43,20234	6				

A - Teor de cálcio; B - Teor de potássio; C - Teor de cobre; D – Teor de magnésio

X1 – Concentração de chia; X2 – Concentração de morango

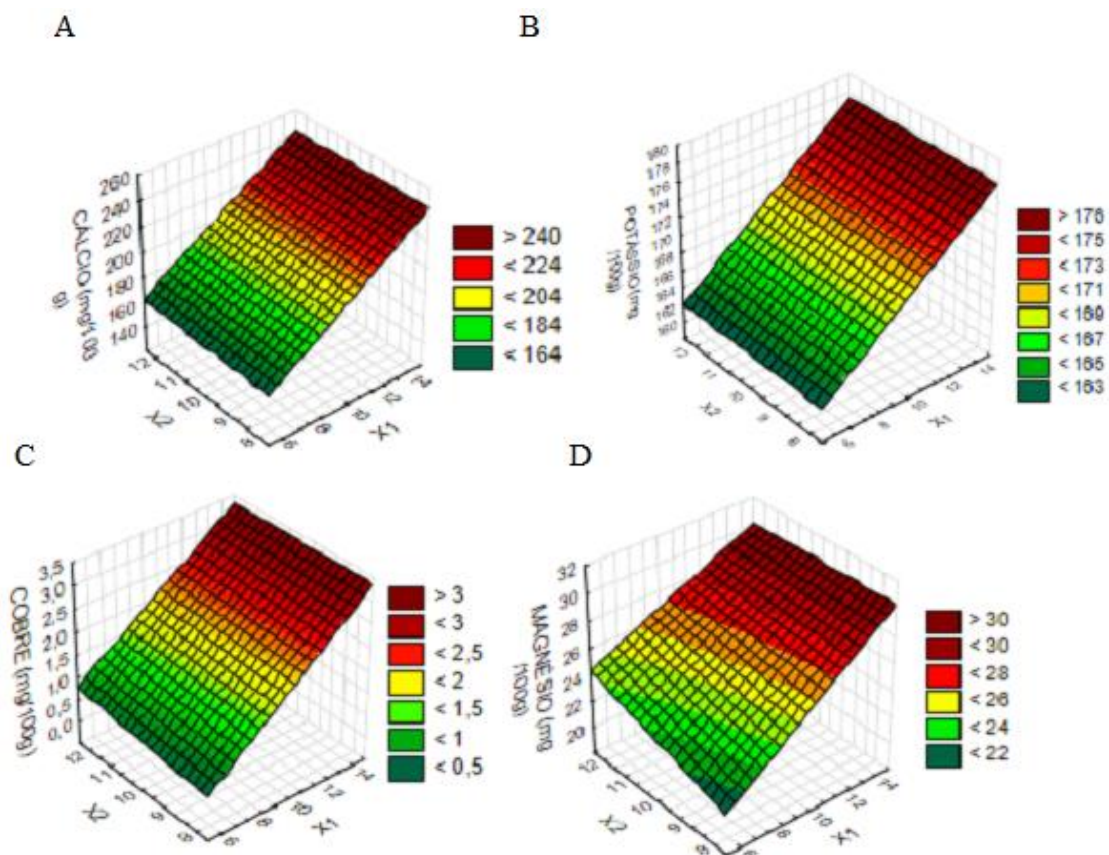
* Valor de F tabelado a 5% de significância.

Fonte: Elaborado pela autora.

A correlação linear (R^2) foi utilizada para avaliar a precisão da equação de regressão. Os modelos apresentaram valor de R^2 de 0,99 Equação 12; 0,91 Equação 13; 0,98 Equação 14 e 0,98 Equação 15, demonstrando boa concordância dos valores observados e previstos.

Observando os gráficos da Figura 9 verifica-se que o maior teor de cálcio e de potássio foi obtido usando maior concentração de chia e, que por outro lado, a concentração de morango não interferiu significativamente no teor destes minerais. Para os minerais cobre e magnésio foi observado que seus maiores teores foram utilizando concentração maior de chia e também de morango.

Figura 9 – Superfícies de resposta do teor de cálcio (A), potássio (B), cobre (C) e magnésio (D) no planejamento DCC aplicado para o iogurte probiótico.



X1: Concentração de chia. X2: Concentração de morango.

Fonte: Elaborado pela autora.

Os teores de minerais das diferentes formulações dos iogurtes estão apresentados na Tabela 19.

Tabela 19 - Teor médio dos minerais dos iogurtes

Minerais	Iogurtes					
	Controle: 0% X1; 26% X2	6% X1; 8% X2	14% X1; 8% X2	6% X1; 12% X2	14% X1; 12% X2	10% X1; 10% X2
Cálcio (mg/100g)	118,33 (88,7;147,9) d*	168,33 (146,6;190,0)) c	238,67 (219,37;257, 96) a	169,33 (156,58;182,0 8) c	237,67 (223,54;251, 79) a	202,33 (194,74;209,92) b
Cobre (mg/100g)	0,39 (0,11;0,67) b	0,85 (0,7;1,0) b	3,20 (0,84;5,56) a	1,07 (0,40;1,73) b	3,23 (0,82;5,63) a	1,85 (0,03;3,67) ab
Potássio (mg/100g)	153,96 (129,97;177,96) a	164,43 (81,2;247,6) a	176,63 (131,51;221, 75) a	164,66 (127,89;201,4 3) a	178,10 (135,88;220, 31) a	168,11 (147,69;188,54) a
Magnésio (mg/100g)	7,21 (4,36;10,06) b	22,34 (11,80;32,87)) a	29,81 (23,42;36,19)) a	24,84 (16,12;33,56) a	29,90 (18,95;40,85)) a	26,00 (21,25;30,76) a
Sódio (mg/100g)	141,67 (128,29;155,06) a	83,81 (36,21;131,4 1) b	93,97 (79,50;108,4 4) b	82,41 (76,65;88,16) b	94,59 (75,74;113,4 5) b	85,78 (61,31;110,25) b
Zinco (mg/100g)	0,92 (0,62;1,22) b	1,17 (0,70;1,64) ab	1,29 (0,83;1,75) ab	1,17 (0,90;1,45) ab	1,32 (1,10;1,53) a	1,21 (1,06;1,36) ab
Ferro (mg/100g)	0,27 (0,08;0,47) c	3,76 (1,58;5,94) b	7,29 (5,50;9,08) a	3,81 (0,73;6,89) b	7,33 (3,32;11,34) a	4,4 (2,12;6,67) b
Manganês (mg/100g)	0,32 (0,09;0,55) c	0,49 (0,15;0,84) bc	0,82 (0,59;1,06) a	0,42 (0,15;0,68) c	0,87 (0,54;1,21) a	0,71 (0,46;0,95) ab

*Médias dos resultados dos ensaios realizados em triplicata. () Intervalo de confiança das médias ao nível de 5% de significância. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

X1 – Chia; X2 – Morango

Fonte: Elaborado pela autora.

O conteúdo dos minerais aumentou consideravelmente com a adição de chia, devido a riqueza destes minerais presentes nesta semente, exceto para o mineral sódio que apresentou redução. O maior teor de cálcio foi detectado nas amostras contendo 14% de chia, variando de 237,67 a 238,67mg/100g, sendo que as mesmas não diferiram entre si, mas diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) das demais formulações, incluindo a formulação controle, que apresentou 118,33mg/100g. O maior teor de cobre (3,20 a 3,23mg/100g) foi verificado nas amostras contendo maior concentração de chia, que não diferiram entre si e nem da amostra com 10% de chia. Os iogurtes contendo 6 e 10% de chia não diferiram entre si e nem entre o iogurte controle, que apresentou 0,39mg/100g de cobre. A formulação contendo 14% de chia e 12% de morango apresentou maior teor de potássio (178,10mg/100g). Contudo, nenhum iogurte diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) neste mineral. O teor de magnésio variou de 22,34 a 29,90mg/100g nos iogurtes com adições de chia, contudo não houve diferença significativa entre estas formulações, mas houve entre elas e a amostra controle, que apresentou teor de apenas 7,21mg/100g de magnésio. A formulação controle, sem adição de chia, apresentou maior teor de sódio, com 141,67mg/100g, diferindo significativamente das demais

formulações, que apresentaram redução deste mineral. O maior teor de zinco (1,32mg/100g) foi encontrado no iogurte com 14% de chia e 12% de morango, esta formulação não diferiu, com relação a este mineral, das demais formulações com adição de chia, mas diferiu significativamente da amostra controle, que apresentou 0,92mg/100g de zinco. A adição de chia aumentou o teor de ferro nos iogurtes, o maior teor deste mineral foi encontrado nas amostras com 14% de chia, variando de 7,29 a 7,33mg/100g, que diferiram estatisticamente das demais formulações, incluindo a controle que apresentou teor de apenas 0,27mg/100g. A adição de chia nos iogurtes também aumentou o teor de manganês, embora as formulações contendo 6% de chia não diferiram entre si e entre a amostra controle, que apresentou teor de 0,32mg/100g. O teor deste mineral variou de 0,82 a 0,87mg/100g nas amostras com 14% de chia.

Bastiani (2009), em seu estudo utilizando iogurte adicionado de concentrado protéico de soro de leite e farinha de linhaça, encontrou na formulação contendo farinha com 3% de linhaça, 40,07mg/100g de sódio; 1,15mg/100 de potássio; 94,55mg/100 de cálcio; 17,89mg/100 de magnésio; 0,39mg/100 de zinco; 0,14mg/100 de ferro e 0,08mg/100 de manganês. Valores inferiores aos encontrados nos iogurtes adicionados com diferentes concentrações de morango e chia, exceto para o teor de magnésio da amostra controle, que apresentou teor de 7,21mg/100g. Isso provavelmente ocorreu principalmente devido a adição de produtos diferenciados nos iogurtes, bem como em quantidades distintas, sem falar nas possíveis diferenças tecnológicas de fabricação.

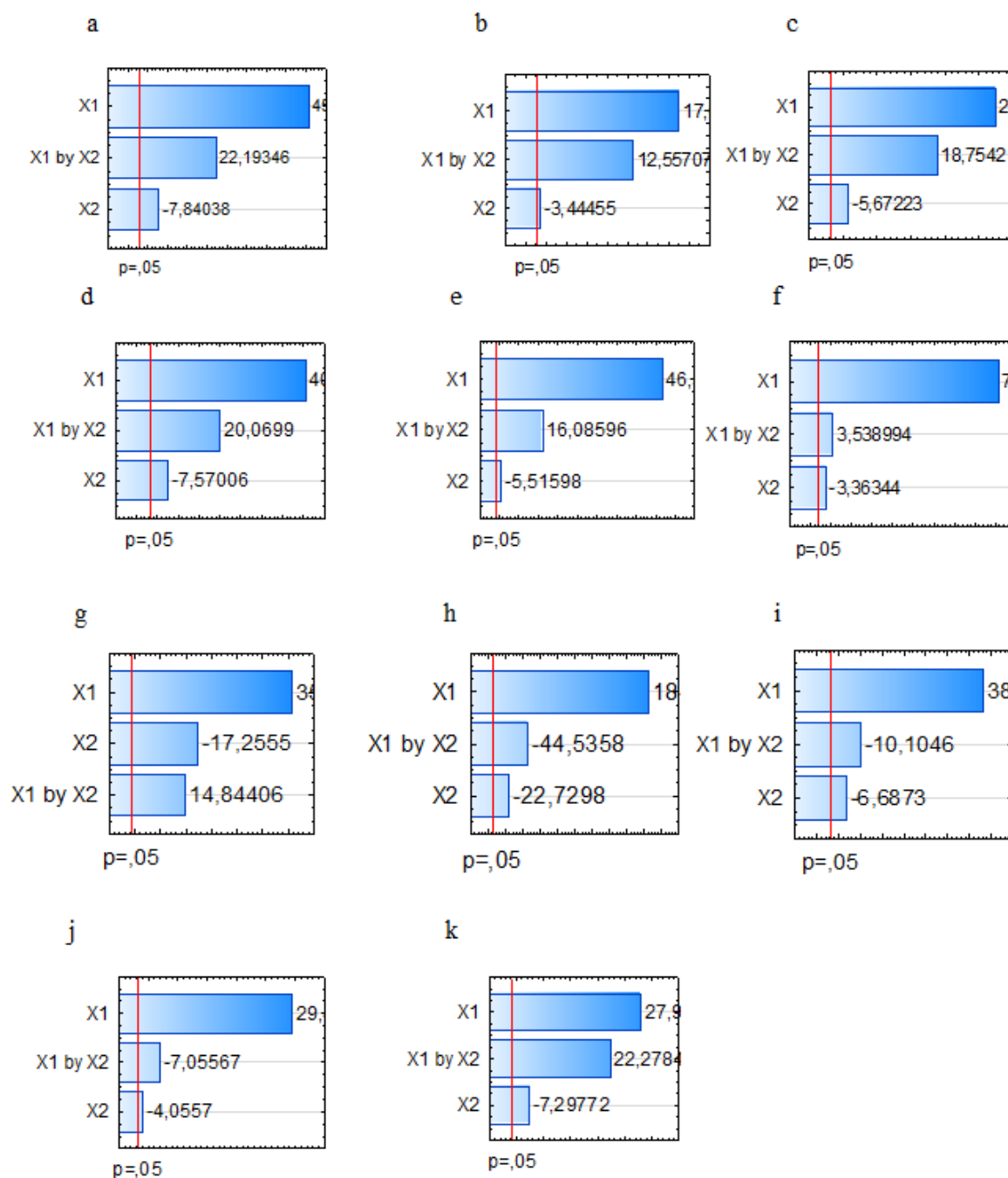
Ainda, segundo Bastiani (2009), a grande variação observada nos teores de minerais em lácteos pode ser devido as características genéticas, estágio de lactação, alimentação do animal e condições ambientais, bem como de outras substâncias alimentícias adicionadas aos produtos.

Conforme a RDC nº 54 da Anvisa (BRASIL, 2012) para um produto ser considerado fonte de minerais, precisa suprir no mínimo 15% da Ingestão Diária Recomendada (IDR) por 100g do produto e para ser considerado fonte de alto conteúdo precisa suprir no mínimo 30% da IDR por 100g do produto. Todos os iogurtes produzidos foram classificados como fontes de alto conteúdo de cobre. Os iogurtes com adição de 6% de chia foram classificados como fontes de ferro e manganês, enquanto que os iogurtes adicionados de 10 e 14% de chia foram considerados fontes de alto conteúdo destes mesmos minerais, devido ao teor, em 100g do produto, suprir mais que 30% da IDR. Todos os iogurtes adicionados de chia foram classificados como fontes de cálcio e zinco (BRASIL, 2003; OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006).

5.2.3 Perfil de Ácidos Graxos dos Iogurtes

Foi realizada análise do perfil de ácidos graxos em amostras dos iogurtes contendo diferentes concentrações de morango e chia. Observa-se na Figura 10 que o teor dos ácidos graxos: saturados, monoinsaturados e poli-insaturados, bem como seus majoritários encontrados nos iogurtes foram afetados positivamente ($<0,05$) pela concentração de chia e afetados negativamente pela concentração de morango, o que indica que quanto maior a adição de chia e menor a adição de morango no iogurte maior o teor dos ácidos graxos.

Figura 10 – Gráfico de Pareto para o perfil de ácidos graxos (a) Total ácidos graxos saturados, (b) Ácido láurico, (c) Ácido mirístico, (d) Ácido palmítico, (e) Ácido esteárico, (f) Total ácidos graxos monoinsaturados, (g) Ácido oleico, (h) Total ácidos graxos poli-insaturados, (i) Ácido linoleico, (j) Ácido α -linolênico, (k) Ácido linoleico conjugado (CLA).



X1 – Concentração de chia; X2 – Concentração de morango

Fonte: Elaborado pela autora.

Os dados obtidos para os teores dos ácidos graxos foram ajustados ao modelo linear de superfície de resposta DCC descrito nas Equação 16 - Soma dos ácidos graxos saturados, Equação 17 - Ácido Láurico, Equação 18 - Ácido mirístico, Equação 19 - Ácido palmítico, Equação 20 - Ácido esteárico, Equação 21 - Soma dos ácidos graxos monoinsaturados, Equação 22 - Ácido oleico, Equação 23 - Soma dos ácidos graxos poli-insaturados, Equação 24 - Ácido linoleico, Equação 25 - Ácido α -linolênico, Equação 26 - Ácido linoleico conjugado (CLA):

$$\text{Ácidos graxos saturados} = 3,03 + 0,52X_1 - 0,09X_2 \quad (16)$$

$$\text{Ácido Láurico} = 0,13 + 0,02X_1 - 0,004X_2 \quad (17)$$

$$\text{Ácido mirístico} = 0,48 + 0,08X_1 - 0,02X_2 \quad (18)$$

$$\text{Ácido palmítico} = 1,48 + 0,26X_1 - 0,05X_2 \quad (19)$$

$$\text{Ácido esteárico} = 0,55 + 0,10X_1 - 0,01X_2 \quad (20)$$

$$\text{Ácidos graxos monoinsaturados} = 1,20 + 0,19X_1 - 0,08X_2 \quad (21)$$

$$\text{Ácido oleico} = 0,99 + 0,15X_1 - 0,07X_2 \quad (22)$$

$$\text{Ácidos graxos poli - insaturados} = 1,18 + 0,47X_1 - 0,06X_2 \quad (23)$$

$$\text{Ácido linoleico} = 0,29 + 0,10X_1 - 0,02X_2 \quad (24)$$

$$\text{Ácido } \alpha \text{ - linolênico} = 0,81 + 0,37X_1 - 0,05X_2 \quad (25)$$

$$\text{Ácido linoleico conjugado (CLA)} = 0,04 + 0,0006X_1 - 0,001X_2 \quad (26)$$

Sendo que X_1 é a concentração de chia (%) e X_2 é a concentração de morango (%).

Os resultados do teste de significância e ANOVA do modelo de equações de regressão são apresentados na Tabela 20. Os valores de F calculado são maiores que os valores de F tabelado, mostrando que os modelos são válidos.

Tabela 20 – Resultados da ANOVA para avaliação do perfil dos ácidos graxos

Fator	Soma dos quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado médio	F-valor	p-valor	R ²
A						
X1	1,071	1	1,07	2070,15	0,00002	
X2	0,032	1	0,03	61,47	0,00432	
X1X2	0,255	1	0,25	492,55	0,00020	
ANOVA						
Modelo	1,4	3	0,45	874,73 (9,28)*		0,99
Erro	0,002	3	0,00052			
Total das somas dos quadrados	1,36	6				
B						
X1	0,0015	1	0,001	290,64	0,0004	
X2	0,000061	1	0,000061	11,86	0,041	
X1X2	0,00081	1	0,00081	157,68	0,0011	
ANOVA						
Modelo	0,0024	3	0,00079	153,39 (9,28)*		0,99
Erro	0,000015	3	5,14E-06			
Total das somas dos quadrados	0,0024	6				
C						
X1	0,024	1	0,024	747,072	0,0001	
X2	0,001	1	0,001	32,174	0,011	
X1X2	0,011	1	0,011	351,720	0,0003	
ANOVA						
Modelo	0,0	3	0,012	376,99 (9,28)*		0,99
Erro	0,000096	3	3,2E-05			
Total das somas dos quadrados	0,04	6				
D						
X1	0,268	1	0,268	1633,60	0,000033	
X2	0,009	1	0,009	57,306	0,005	
X1X2	0,066	1	0,066	402,80	0,00027	
ANOVA						
Modelo	0,3	3	0,11	697,90 (9,28)*		0,99
Erro	0,0005	3	0,0002			
Total das somas dos quadrados	0,34	6				
E						
X1	0,039	1	0,039	2170,43	0,0005	
X2	0,0005	1	0,001	30,43	0,031	
X1X2	0,0047	1	0,005	258,76	0,004	
ANOVA						
Modelo	0,044	3	0,01	116,87 (9,28)*		0,99
Erro	0,0004	3	0,0001			
Total das somas dos quadrados	0,044790	6				
F						
X1	0,14	1	0,14	57,17	0,00	
X2	0,03	1	0,03	11,31	0,04	
X1X2	0,03	1	0,03	12,52	0,04	
ANOVA						
Modelo	0,2	3	0,06	27,00 (9,28)*		0,96
Erro	0,007	3	0,002			
Total das somas dos quadrados	0,20	6				

(Continuação)

Fator	Soma dos quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado médio	F-valor	p-valor	R ²
G						
X1	0,09	1	0,09	1282,79	0,001	
X2	0,02	1	0,02	297,75	0,003	
X1X2	0,02	1	0,02	220,35	0,005	
ANOVA						
Modelo	0,1	3	0,041	23,23 (9,28)*		
Erro	0,005	3	0,002			
Total das somas dos quadrados	0,13	6				
H						
X1	0,90	1	0,90	34016,68	0,00003	
X2	0,01	1	0,01	516,64	0,0019	
X1X2	0,05	1	0,05	1983,44	0,0005	
ANOVA						
Modelo	1,0	3	0,32	158,20 (9,28)*		0,99
Erro	0,006	3	0,002			
Total das somas dos quadrados	0,970788	6				
I						
X1	0,038	1	0,038	1464,38	0,000039	
X2	0,001	1	0,001	44,72	0,0068	
X1X2	0,003	1	0,003	102,10	0,002	
ANOVA						
Modelo	0,04	3	0,014	537,07 (9,28)*		0,99
Erro	0,000079	3	0,00003			
Total das somas dos quadrados	0,042	6				
J						
X1	0,535	1	0,535	864,62	0,000086	
X2	0,010	1	0,010	16,45	0,027	
X1X2	0,031	1	0,031	49,78	0,006	
ANOVA						
Modelo	0,6	3	0,19	310,28 (9,28)*		0,99
Erro	0,002	3	0,00062			
Total das somas dos quadrados	0,58	6				
K						
X1	0,00015	1	0,00015	780,44	0,001	
X2	0,00001	1	0,000010	53,26	0,018	
X1X2	0,00009	1	0,000094	496,33	0,002	
ANOVA						
Modelo	0,00025	3	8,3E-05	50 (9,28)*		0,98
Erro	0,00001	3	1,7E-06			
Total das somas dos quadrados	0,00026	6				

A – Soma dos ácidos graxos saturados; B – Ácido láurico; C – Ácido mirístico; D – Ácido palmítico; E – Ácido esteárico; F – Soma dos ácidos graxos monoinsaturados; G – Ácido oleico; H – Soma dos ácidos graxos poli-insaturados; I – Ácido linoleico; H – Ácido α -linolênico; K – Ácido linoleico conjugado (CLA).

X1 – Concentração de chia; X2 – Concentração de morango

* Valor de F tabelado a 5% de significância

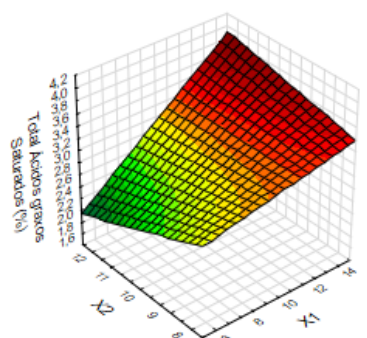
Fonte: Elaborado pela autora.

Os modelos apresentaram valor de R^2 entre 0,96 e 0,99, demonstrando que os valores observados e previstos estavam em boa concordância. Os resíduos entre os valores observados e previstos fornecem uma avaliação do modelo.

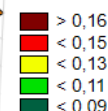
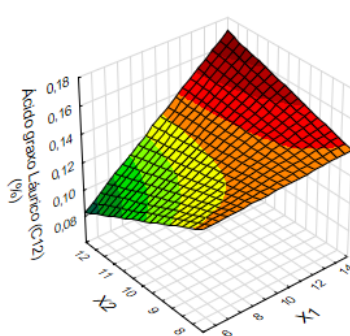
Na Figura 11 são apresentados os gráficos de superfície de resposta do perfil dos ácidos graxos do iogurte. Maiores teores dos ácidos graxos foram observados no iogurte probiótico quando foram utilizadas maiores concentrações de chia e menores concentrações de morango.

Figura 11 – Superfícies de resposta da Soma dos ácidos graxos saturados (A), Ácido láurico (B), Ácido mirístico (C), Ácido palmítico (D), Ácido esteárico (E), Soma dos ácidos graxos monoinsaturados (F), Ácido oleico (G), Soma dos ácidos graxos poli-insaturados (H), Ácido linoleico (I), Ácido α -linolênico (J), Ácido linoleico conjugado (CLA) (K).

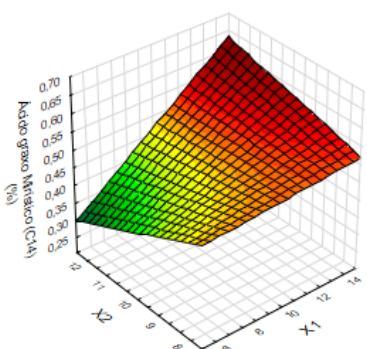
A



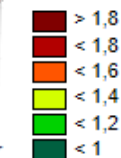
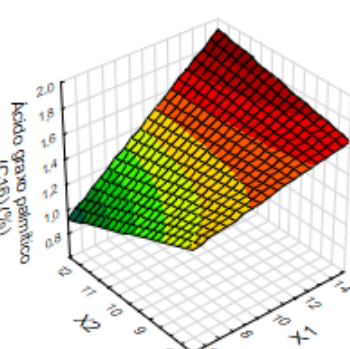
B



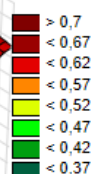
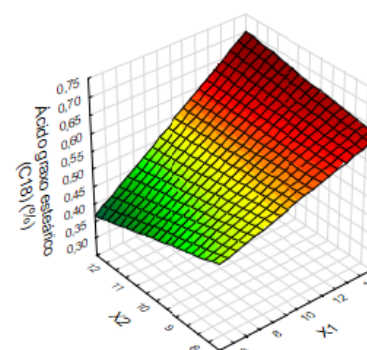
C



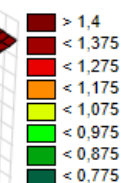
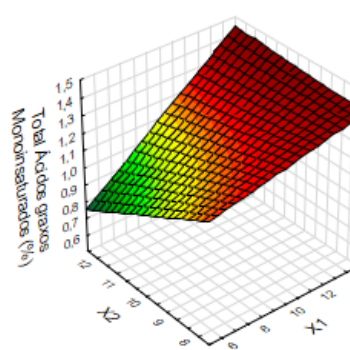
D



E

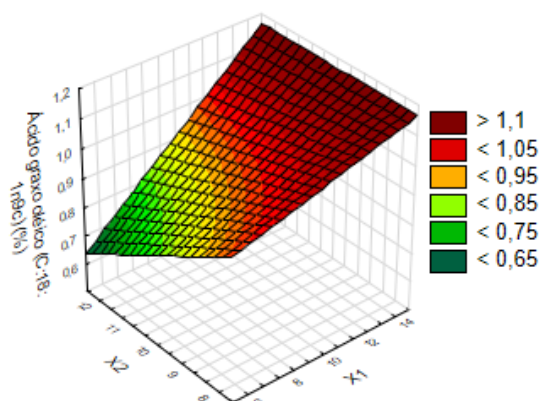


F

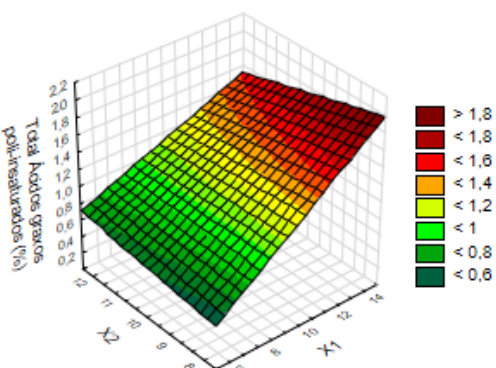


(Continuação)

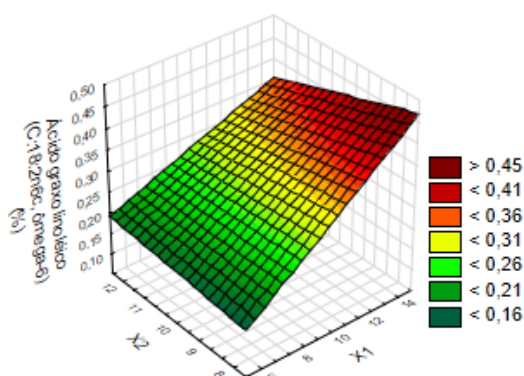
G



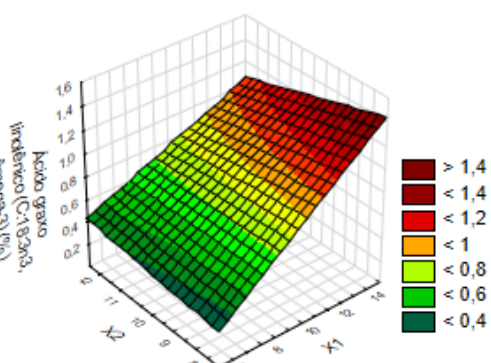
H



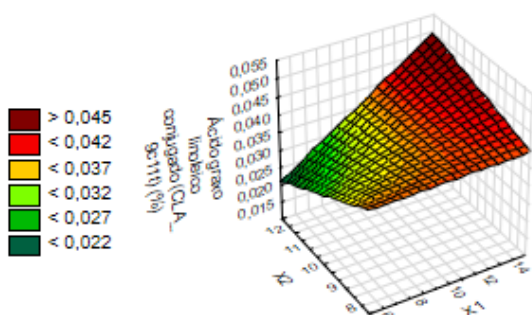
I



J



K



X1: Concentração de chia. X2: Concentração de morango.

Fonte: Elaborado pela autora.

O perfil de ácidos graxos dos iogurtes produzidos está apresentado na Tabela 21.

Tabela 21 – Perfil dos ácidos graxos dos iogurtes

Ácidos graxos	Iogurtes					
	Controle: 0% X1; 26% X2	6% X1; 8% X2	14% X1; 8% X2	6% X1; 12% X2	14% X1; 12% X2	10% X1; 10% X2
Total Ácidos graxos	88,02	60,98	51,49	51,42	62,15	56,18
	(87,69;88,34)	(59,72;62,24)	(49,81;53,17)	(31,39;71,44)	(46,70;77,60)	(54,56;57,80)
Saturados (%)	a^{*(1)}	b	b	b	b	b
Ácido graxo Láurico (C12) (%)	4,31 (4,16;4,46) a	2,76 (2,61;2,91) b	2,12 (2,10;2,13) c	2,20 (1,11;3,28) bc	2,68 (1,98;3,38) bc	2,45 (2,33;2,56) bc
Ácido graxo Mirístico (C14) (%)	15,36 (14,71;16,01) a	10,13 (9,81;10,45) b	7,95 (7,73;8,16) c	7,96 (4,09;11,82) c	9,99 (7,61;12,36) bc	9,03 (8,86;9,20) bc
Ácido graxo palmítico (C16) (%)	42,48 (40,77;44,19) a	29,76 (29,59;29,92) bc	25,16 (24,22;26,09) cd	24,60 (16,09;33,10) d	30,38 (23,32;37,44) b	27,39 (27,17;27,61) bcd
Ácido graxo esteárico (C18) (%)	14,44 (13,52;15,36) a	10,71 (10,64;10,78) b	9,60 (9,18;10,02) b	9,70 (6,63;12,76) b	11,32 (8,72;13,91) b	9,96 (9,94;9,97) b
Total Ácidos graxos Monoinsaturados (%)	9,32	24,75	20,62	19,43	22,84	22,80
	(6,11;12,53)	(22,87;26,63)	(20,58;20,65)	(12,10;26,76)	(18,46;27,22)	(22,74;22,86)
	c	a	ab	b	ab	ab
Ácido graxo oleico (C:18:1n9c) (%)	2,63 (1,42;3,84) d	20,35 (18,83;21,87) a	17,13 (17,06;17,20) bc	16,27 (11,16;21,37) c	18,52 (17,24;19,79) abc	18,88 (18,78;18,98) ab
Total Ácidos graxos poli-insaturados (%)	4,89	14,44	28,22	18,68	25,26	21,20
	(4,54;5,24) f	(13,93;14,94)	(26,60;29,84)	(18,09;19,27)	(21,71;28,81)	(19,52;22,88)
	f	e	a	d	b	c
Ácido graxo linoleico (C:18:2n6c, ômega-6) (%)	2,48 (2,29;2,66) e	4,07 (4,00;4,14) d	6,67 (6,35;6,99) a	4,9 3 (3,99;5,86) c	5,90 (4,38;7,42) ab	5,36 (4,92;5,79) bc
Ácido graxo linolênico (C:18:3n3, ômega-3) (%)	0,40 (0,31;0,48) f	9,03 (8,31;9,75) e	20,26 (18,68;21,83) a	11,79 (11,15;12,42) d	17,66 (16,52;18,79) b	14,64 (13,27;16,01) c
Ácido graxo linoleico conjugado 0,89 CLA_9c11t (%)	1,29 (1,22;1,35) a	0,79 (0,77;0,81) b	0,60 (0,58;0,62) c	0,57 (0,30;0,84) c	0,77 (0,62;0,92) b	0,71 (0,69;0,72) bc

*Médias dos resultados dos ensaios realizados em triplicata. () Intervalo de confiança das médias ao nível de 5% de significância. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

⁽¹⁾ Porcentagem relativa dos ácidos graxos.

X1 – Chia; X2 - Morango

Fonte: Elaborado pela autora.

A adição de semente de chia nos iogurtes reduziu o teor de ácidos graxos saturados. O percentual de ácidos graxos saturados no iogurte controle foi de 88,02%, diferindo das demais formulações contendo chia, que apresentaram variação de 51,42 e 62,15%. O percentual dos ácidos graxos láurico, mirístico, palmítico e esteárico também foi maior no iogurte controle, que diferiu estatisticamente das demais amostras com diferentes concentrações de chia e de morango.

Milani; Vargas; Nörnberg (2016), em seu estudo do perfil de ácidos graxos de iogurtes produzidos com diferentes culturas bacterianas, encontraram os seguintes percentuais de ácidos graxos no iogurte padrão contendo probiótico: 66,62% de ácidos graxos saturados, valor inferior ao iogurte controle, mas superior aos iogurtes com adição de chia; 1,97% de ácido láurico, percentual inferior a de todos os iogurtes deste estudo; 8,70% de ácido mirístico e 27,55% de ácido palmítico, valores mais aproximados do iogurte com 10% de chia e 10% de morango, mas bem inferiores a amostra controle; 15,31% ácido esteárico, valor semelhante ao iogurte controle, mas superior aos iogurtes com adição de chia.

O percentual de ácidos graxos monoinsaturados variou de 19,43 a 24,75% entre as amostras contendo diferentes concentrações de morango e chia, diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) do iogurte controle, que apresentou apenas 9,32%. O ácido graxo monoinsaturado majoritário encontrado foi o ácido oleico que também aumentou nos iogurtes com diferentes adições de chia e morango, variando de 16,27 a 20,35% e diferindo da amostra controle, que apresentou teor de 2,63%.

Milani; Vargas; Nörnberg (2016), relataram percentual de 24,10% de ácido oleico em sua pesquisa, valor superior ao encontrado nos iogurtes deste estudo, principalmente ao percentual de 2,63% encontrado na amostra controle.

Todas as formulações contendo chia diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) do iogurte controle com relação ao percentual de ácidos graxos poli-insaturados, bem como de seus majoritários: ácido linoleico e ácido α -linolênico. Confirmando que a adição de chia aumentou o teor destes importantes ácidos graxos no iogurte, enquanto que o morango tendeu a reduzir o teor destes. Na formulação contendo 14% de chia e 8% de morango, foi detectado o maior percentual de ácidos graxos poli-insaturados (28,22%), de ácido linoleico (6,67%) e de ácido α -linolênico (20,26%).

No estudo realizado por Milani; Vargas; Nörnberg (2016), foi encontrado percentual de 1,71% ácido linoleico; 0,33% ácido α -linolênico, valores inferiores aos percentuais dos iogurtes deste estudo, principalmente dos iogurtes adicionados de chia.

Segundo a Anvisa (BRASIL, 2012), para o alimento ser considerado fonte de ômega 3 deve possuir no mínimo 0,3g por 100g do produto e para ser considerado de alto conteúdo, deve apresentar mínimo de 0,6g por 100g do produto. As formulações contendo 6% de chia podem ser consideradas fontes de ômega 3, por apresentarem teor de ômega 3 de 9,03% (equivalente a 0,42g/100g) e 11,79% (equivalente a 0,50 g/100g). Enquanto que os iogurtes contendo 10% e 14% de chia podem ser classificados como fonte de alto conteúdo de ômega 3, pois apresentaram 0,79, 1,33 e 1,05 g/100g, respectivamente.

Geralmente as recomendações de ingestão de ácidos graxos n-3, para se manter uma boa saúde, são de pelo menos 0,2-0,65 g/dia (VERBEKE et al., 2005), 100g dos iogurtes produzidos adicionados de chia podem suprir essa necessidade.

O iogurte controle apresentou maior teor de ácido linoleico conjugado (CLA), com 1,19%, diferindo estatisticamente das demais formulações contendo diferentes concentrações de morango e chia.

Milani; Vargas; Nörnberg (2016), encontraram 0,89% de ácido linoleico conjugado (CLA) valor inferior ao encontrado no iogurte controle, mas superior ao encontrado nos demais iogurtes adicionados de chia.

O perfil de ácidos graxos do iogurte está diretamente relacionado com a matéria-prima utilizada na sua fabricação. Porém, as cepas bacterianas utilizadas na fermentação também devem ser levadas em consideração, pois sua atividade metabólica interage com o meio durante o crescimento, convertendo determinados componentes em produtos do seu metabolismo, dessa forma a composição química do alimento é alterada. As atividades de cada cultura iniciadora, têm sido estudadas como fatores que podem influenciar o teor de CLA dos produtos lácteos fermentados (MILANI; VARGAS; NÖRNBERG, 2016).

Em pesquisa com leite de búfala para produção de dahi probiótico utilizando *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei*, Yadav; Jain; Sinha (2007), observaram aumento significativo do teor de CLA durante a fermentação, o qual se manteve constante por até 10 dias de armazenamento. Enquanto que Milani; Vargas; Nörnberg (2016), utilizando a cultura padrão iniciadora de iogurte e Bifidobacteria relataram que o teor de CLA não apresentou aumento significativo do leite para o iogurte.

O leite utilizado na produção dos iogurtes apresentou percentual de 0,94% de CLA, considerando que o iogurte controle apresentou 1,29%, pode-se considerar que a cultura iniciadora do iogurte (*Lactobacillus desbrueckii subsp. Bulgaricus* e *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*) juntamente com a cultura probiótica (*Bifidobacterium lactis*) utilizadas na produção dos iogurtes aumentou o teor de CLA neste iogurte, contudo, o mesmo não ocorreu nos iogurtes adicionados de chia que, ao contrário, o percentual de CLA teve redução. Dessa forma, pode-se dizer que a chia pode ter interferido na produção de CLA.

Na Tabela 22 são apresentados os índices de aterogenicidade e de trombogenicidade, além da razão n-6/n-3, da razão entre ácidos graxos poli-insaturados/ácidos graxos saturados e da razão entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos da matéria-prima utilizada na produção dos iogurtes e dos iogurtes produzidos.

Tabela 22 - Índices de qualidade nutricional da fração lipídica das matérias-primas utilizadas na fabricação dos iogurtes e dos iogurtes produzidos.

Produto	IA	IT	n-6/n-3	AGPI/AGS	HH
Leite	2,77	3,41	4,94	0,06	0,56
Morango	0,64	0,45	1,09	0,98	2,09
Chia	0,08	0,05	0,28	7,59	12,77
Controle:					
0% X1; 26% X2	8,87	9,95	6,20	0,06	0,10
6% X1; 8% X2	1,93	1,16	0,45	0,24	0,84
14% X1; 8% X2	1,24	0,55	0,33	0,55	1,33
6% X1; 12% X2	1,62	0,85	0,42	0,36	1,01
14% X1; 12% X2	1,57	0,73	0,33	0,41	1,04
10% X1; 10% X2	1,54	0,76	0,37	0,38	1,07

IA: Índice de Aterogenicidade; IT: Índice de Trombogenicidade; n6: ácidos graxos ômega 6; n3: ácidos graxos ômega 3; AGPI: ácidos graxos poli-insaturados; AGS: ácidos graxos saturados; HH: razões entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos

X1 – Chia; X2 - Morango.

Fonte: Elaborado pela autora.

Segundo Tonial et al. (2010) quanto menores os índices de aterogenicidade e de trombogenicidade, maior a quantidade de ácidos graxos antiaterogênicos presentes e, dessa forma, maior é o potencial de prevenção de doenças coronarianas do alimento, pois estes índices indicam o potencial de estímulo à agregação plaquetária.

Portanto, a redução destes índices reflete em um alimento com valor nutritivo mais adequado para a saúde humana. A formulação controle apresentou IA (8,87) e IT (9,95) superiores ao do leite utilizado na sua fabricação, cujo entre os produtos utilizados na fabricação é o que tem os índices mais altos, IA (2,77) e IT (3,41), contra IA (0,64) e IT (0,45) do morango e IA (0,08) e IT (0,05) da semente de chia.

Contudo, devido a chia ter índices baixos, a sua adição reduziu bastante os índices nos iogurtes, sendo os menores detectados no iogurte com 14% de chia e 8% de morango, com IA de 1,24 e IT de 0,55.

Milani; Vargas; Nörnberg (2016), relataram IA de 2,23 e IT de 3,31, no leite que utilizaram para fabricação de iogurte. Valores semelhantes ao encontrado por este estudo. Os mesmos pesquisadores encontraram valores de IA 2,23 e IT 3,41 no iogurte probiótico fermentado por *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium sp*, valores inferiores ao da formulação controle, mas superiores aos demais iogurtes adicionados de chia.

Muitas pesquisas sugeriram que é necessário que haja um equilíbrio na ingestão entre os ácidos linoleico e α -linolênico. A proporção adequada de ácido linoleico para ácido α -

linolênico na dieta é importante porque os dois ácidos graxos competem pelas mesmas enzimas dessaturases. Assim, uma alta proporção de ácido linoleico em relação ao ácido α -linolênico pode inibir a conversão do ácido α -linolênico em ácido docosahexaenóico, enquanto uma baixa proporção inibirá a dessaturação do ácido linoleico em ácido araquidônico (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006).

Os poucos dados disponíveis sugerem que a proporção de ácido linoleico para α -linolênico abaixo de 5:1 podem estar associadas a um crescimento deficiente em lactentes. Com base em algumas pesquisas, a proporção do ácido linoleico para α -ácido α -linolênico ou o total de ácidos graxos n-6 para n-3 de 5:1–10:1, 5:1–15:1 e 6:1–16:1 têm sido recomendados para fórmulas infantis. E para adultos a recomendação é de uma proporção de 5:1 a 10:1 (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006).

A proporção de ácido linoleico em relação ao α -ácido α -linolênico encontrado na chia foi de 0,28:1, relação considerada baixa, que se deve ao fato de apesar de possuir quase 18% de sua fração lipídica formada pelo ácido linoleico, mais de 64% é formado por α -ácido α -linolênico. Milani; Vargas; Nörnberg (2016) encontraram relação de 4:1 no leite utilizado na produção de iogurte, valor semelhante ao encontrado de quase 5:1. O morango por sua vez apresentou relação de 1:1.

Milani; Vargas; Nörnberg (2016) também encontraram relação de 5,4:1 em iogurte probiótico, valor semelhante à da formulação controle, que apresentou relação de 6:1, mas superior aos demais iogurtes adicionados de chia, que apresentaram relações inferiores a 0,5:1. O que se deve a chia por possuir um alto teor de α -ácido α -linolênico.

Sabe-se que as dietas ocidentais são deficientes nos ácidos graxos n-3 e possuem quantidades excessivas de n-6, ficando a proporção de n-6:n-3 entre 10:1 a 20:1, podendo ser um dos fatores responsáveis por promover câncer, doenças cardiovasculares, inflamatórias e autoimunes e que pode ser reduzido com o aumento da quantidade de n-3. Os iogurtes adicionados de chia podem promover esse aumento da ingestão de n-3, uma vez que a proporção entre n-6:n-3 se mostrou baixa, devido ao alto teor de α -ácido α -linolênico (SIMOPOULOS, 2011).

Os ácidos graxos saturados possuem a característica de elevar os níveis do colesterol LDL e de reduzir os níveis do HDL, o que contribui para a elevação dos riscos de doença coronariana. Porém, estes ácidos não apresentam o mesmo efeito hipercolesterolêmico, sendo que os que apresentam maior poder hipercolesterolêmico ou aterogênico são os ácidos mirístico (14:0), palmítico (16:0) e láurico (12:0), em ordem decrescente de atividade. Enquanto que o

ácido esteárico (18:0), apesar de saturado, parece não possuir efeito sobre as lipoproteínas sanguíneas (MICHALSKI; JANUEL, 2006).

Dessa forma, o índice HH está relacionado com as razões entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (HH) e quanto maior esta razão, mais adequado nutricionalmente é o alimento com relação a sua fração lipídica, ao contrário do IA e do IT que devem ser baixos. Outro índice utilizado para avaliar o valor nutricional da fração lipídica de um alimento é a razão entre ácidos graxos poli-insaturados/saturados, que também deve ser alta (AGPI/AGS) (DIBBERN, 2014).

Novack (2014), em seu estudo sobre o efeito da sazonalidade e do tratamento térmico no perfil de ácidos graxos do leite, encontrou em leite pasteurizado índice de HH de 0,70 e da razão entre AGPI/AGS de 0,05, valores semelhantes ao encontrado no leite utilizado na fabricação dos iogurtes de 0,56 e 0,06, respectivamente. O morango apresentou índice de HH de 2,09 e relação entre AGPI/AGS de 0,98, enquanto que a semente de chia apresentou 12,77 e 7,59, respectivamente.

Dibbern (2014) em sua pesquisa sobre o perfil de ácidos graxos de iogurte de leite de caprinos encontrou em seu iogurte valor de HH de 0,71, valor superior ao iogurte controle, mas inferior as demais formulações contendo chia, o mesmo autor encontrou relação entre AGPI/AGS de 0,04, valor semelhante a amostra controle, mas inferior as demais formulações contendo chia. O aumento do índice de HH e da relação entre AGPI/AGS nos iogurtes adicionados de chia, ocorreu devido ao alto índice de HH e da ótima relação de AGPI/AGS dessa semente.

5.2.4 Análise Microbiológica dos Iogurtes

Os iogurtes foram analisados quanto a contaminação microbiológica nos dias 1, 9, 16, 26 e 35 dias de armazenamento. Os resultados apresentados na Tabela 23 demonstram que os iogurtes se mantiveram dentro dos padrões microbiológicos exigidos pelo regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados (BRASIL, 2007), de 10^2 NMP/g para coliformes totais, 10 NMP/g para coliformes termotolerantes e $2,0 \times 10^2$ UFC/g para bolores e leveduras, durante todo o armazenamento de 35 dias.

Tabela 23 - Média da contagem de coliformes totais, termotolerantes e de bolores e leveduras nos tempos 1, 9, 16, 26 e 35 dias de armazenamento dos iogurtes.

Iogurtes	Contagem de Coliformes totais (NMP/g)					Contagem de Coliformes termotolerantes (NMP/g)					Contagem de Bolores e leveduras (UFC/g)				
	Tempo (dias)					Tempo (dias)					Tempo (dias)				
	1	9	16	26	35	1	9	16	26	35	1	9	16	26	35
Controle	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²
0% X1; 26% X2	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²
6% X1; 8% X2	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²
14% X1; 8% X2	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²
6% X1; 12% X2	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²
14% X1; 12% X2	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²
10% X1; 10% X2	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²	<10 ²

X1 – Chia; X2 – Morango

Fonte: Elaborado pela autora.

5.2.5 Contagem de Bactérias Lácticas e de Bifidobactérias dos Iogurtes

A adequação dos iogurtes perante o regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados (BRASIL, 2007), que estabelece que os iogurtes devem conter no mínimo 10⁷ UFC/g de bactérias lácticas, e no caso de conter bifidobactérias, que a contagem seja de no mínimo 10⁶ UFC/g durante o período de validade, foi verificada por meio da determinação de células viáveis destas bactérias.

Os iogurtes foram analisados quanto a contagem de bactérias lácticas totais e contagem de bifidobactérias nos tempos 1, 9, 16, 26 e 35 dias de armazenamento. Os resultados estão apresentados na Tabela 24 e na Tabela 25, respectivamente. Observa-se que durante todo o armazenamento os iogurtes com diferentes concentrações de morango e chia apresentaram quantidades adequadas de bactérias lácticas e bifidobactérias.

Tabela 24 - Média da contagem de bactérias lácteas nos tempos 1, 9, 16, 26 e 35 dias de armazenamento dos iogurtes.

Iogurtes	Contagem de bactérias lácticas totais (UFC/g)				
	Tempo (dias de armazenamento)				
	1	9	16	26	35
Controle:	8,50 ^{aA} *	8,61 ^{aA}	8,32 ^{bBC}	8,32 ^{bAB}	8,54 ^{aA}
0% X1; 26% X2	(8,43;8,57)	(8,37;8,85)	(8,30;8,33)	(8,22;8,42)	(8,49;8,59)
6% X1; 8% X2	8,51 ^{aA}	8,47 ^{aA}	8,48 ^{aA}	8,38 ^{bAB}	8,53 ^{aA}
	(8,46;8,57)	(8,33;8,61)	(8,44;8,51)	(8,28;8,48)	(8,51;8,55)
14% X1; 8% X2	8,35 ^{aB}	8,50 ^{aA}	8,40 ^{aABC}	8,25 ^{aB}	8,45 ^{aA}
	(8,23;8,48)	(7,88;9,12)	(8,29;8,51)	(8,18;8,32)	(8,42;8,49)
6% X1; 12% X2	8,34 ^{aB}	8,29 ^{aA}	8,35 ^{aBC}	8,31 ^{aAB}	8,40 ^{aA}
	(8,24;8,44)	(8,26;8,32)	(8,17;8,53)	(8,13;8,50)	(8,39;8,42)
14% X1; 12% X2	8,38 ^{aB}	8,46 ^{aA}	8,31 ^{aC}	8,44 ^{aA}	8,45 ^{aA}
	(8,25;8,50)	(8,20;8,72)	(8,24;8,39)	(8,32;8,55)	(8,41;8,48)
10% X1; 10% X2	8,38 ^{aB}	8,41 ^{aA}	8,44 ^{aAB}	8,35 ^{aAB}	7,57 ^{bB}
	(8,30;8,45)	(8,23;8,59)	(8,30;8,57)	(8,15;8,55)	(7,19;7,95)

*Médias dos resultados dos ensaios em triplicata expressos em log de UFC/g. () Intervalo de confiança das médias ao nível de 5% de significância. Médias seguidas por letras iguais minúsculas na mesma linha e letras iguais maiúsculas na mesma coluna indicam não haver diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

X1 – Chia; X2 - Morango

Fonte: Elaborado pela autora.

Verificou-se que a contagem de bactérias lácticas e de bifidobactérias permaneceram constantes durante o armazenamento dos iogurtes. Sendo que no 16° e 26° dia a amostra controle apresentou uma redução na contagem de bactérias lácticas, mas que aumentou no 35° dia. No 26° dia a formulação com 6% de chia e 8% de morango também apresentou uma redução na contagem destas bactérias, porém também teve aumento no 35° dia. No último dia de armazenamento (35° dia) nenhuma das formulações apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) com relação a contagem das bactérias lácticas do 1° dia de armazenamento, exceto o iogurte contendo 10% de chia e 10% de morango, que reduziu para 7,57 log de UFC/g.

Tabela 25 - Média da contagem de bifidobactérias nos tempos 1, 9, 16, 26 e 35 dias de armazenamento dos iogurtes.

Iogurtes	Contagem de bifidobactérias (UFC/g)				
	Tempo (dias de armazenamento)				
	1	9	16	26	35
Controle:	8,55 ^{a A*}	8,57 ^{a A}	8,27 ^{b B}	8,47 ^{a AB}	8,55 ^{a A}
0% X1; 26% X2	(8,48;8,62)	(8,32;8,82)	(8,00;8,53)	(8,33;8,62)	(8,50;8,60)
6% X1; 8% X2	8,40 ^{a BC}	8,48 ^{a A}	8,50 ^{a A}	8,40 ^{a AB}	8,51 ^{a AB}
	(8,30;8,50)	(8,20;8,75)	(8,37;8,62)	(8,22;8,58)	(8,39;8,64)
14% X1; 8% X2	8,36 ^{a BC}	7,66 ^{b A}	8,34 ^{a AB}	8,48 ^{a AB}	8,34 ^{a B}
	(8,23;8,49)	(6,58;8,75)	(8,10;8,58)	(8,35;8,61)	(7,97;8,70)
6% X1; 12% X2	8,42 ^{a B}	8,27 ^{b A}	8,26 ^{b B}	8,32 ^{ab B}	8,39 ^{ab AB}
	(8,27;8,57)	(8,13;8,41)	(8,19;8,32)	(8,13;8,50)	(8,35;8,42)
14% X1; 12% X2	8,30 ^{ab C}	7,77 ^{b A}	8,33 ^{ab AB}	8,48 ^{a AB}	8,42 ^{ab AB}
	(8,25;8,35)	(6,32;9,21)	(8,26;8,40)	(8,39;8,56)	(8,42;8,42)
10% X1; 10% X2	8,34 ^{ab BC}	7,73 ^{b A}	8,45 ^{a A}	8,50 ^{a A}	8,55 ^{a A}
	(8,30;8,37)	(6,45;9,02)	(8,40;8,50)	(8,35;8,65)	(8,42;8,67)

*Médias dos resultados dos ensaios em triplicata expressos em log de UFC/g. () Intervalo de confiança das médias ao nível de 5% de significância. Médias seguidas por letras iguais minúsculas na mesma linha e letras iguais maiúsculas na mesma coluna indicam não haver diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

X1 – Chia; X2 – Morango

Fonte: Elaborado pela autora.

Aos 16 dias de armazenamento verificou-se uma redução das bifidobactérias na amostra controle, que já no 26º dia aumentou novamente, se mantendo constante. Aos 9 dias de armazenamento, foi constatado redução das bifidobactérias nas seguintes formulações (14% chia; 8% morango), (6% chia; 12% morango), (14% chia; 12% morango) e (10% chia; 10% morango), mas que no decorrer do armazenamento se restabeleceu. No último dia de armazenamento (35º dia) nenhuma das formulações apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) com relação a contagem das bifidobactérias do 1º dia de armazenamento.

No 1º dia de armazenamento, verificou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre a amostra controle e as demais formulações contendo chia com relação a contagem de bactérias lácticas e de bifidobactérias, sendo observado maior contagem na amostra controle. Enquanto que no 9º dia não foi observado nenhuma diferença significativa entre todos os iogurtes.

No decorrer do período de armazenamento, com a ocorrência de reduções nas contagens das bactérias lácticas e probióticas de algumas formulações, resultou em diferença significativa entre os iogurtes, mas que não caracterizou influência da concentração de chia e nem mesmo da concentração de morango na sobrevivência destes microrganismos.

Portanto, apenas no 1º dia de armazenamento é possível verificar que a concentração de morango e a concentração de chia afetaram a sobrevivência das bactérias lácticas, enquanto que apenas a concentração de chia parece ter afetado a sobrevivência das bifidobactérias neste mesmo período, pois foi verificado maiores contagens nas formulações com menos chia, sendo

a de maior contagem encontrada a amostra controle. Nos demais dias a adição de chia nos iogurtes não afetou a sobrevivência das bifidobactérias, não sendo possível detectar se a semente de chia pode atuar como um prebiótico.

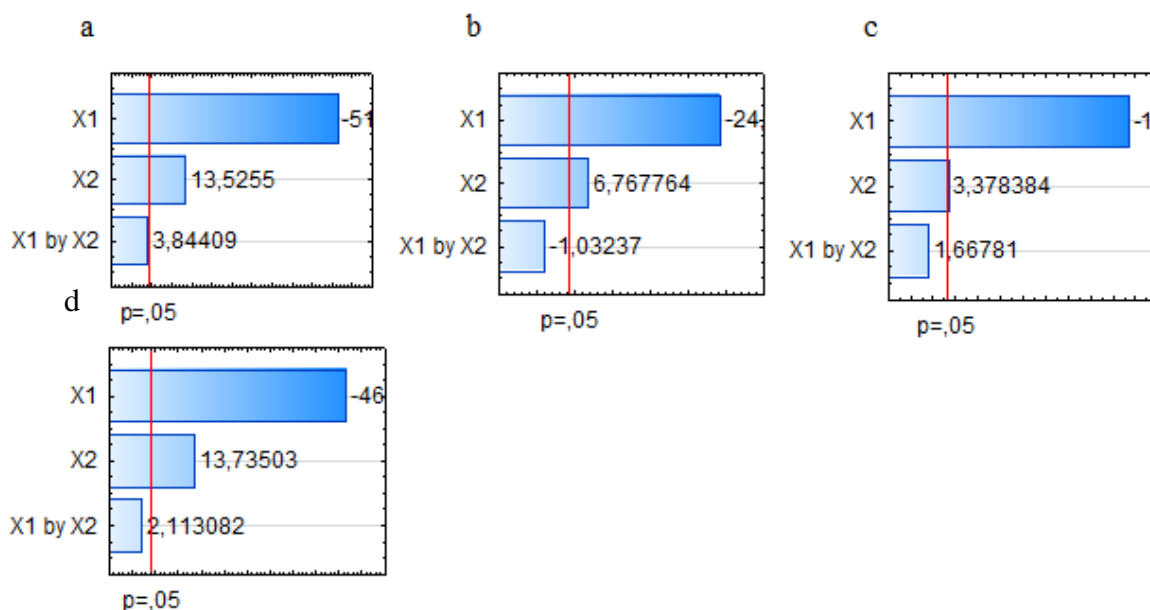
Zerbielli (2014) em sua pesquisa com bebida láctea probiótica, verificou que a contagem de bifidobactérias sofreu influência em relação a proporção de chia adicionada, quando comparado com a bebida controle e justificou tal comportamento à presença de fibra solúvel na chia adicionada. Contudo, com relação ao tempo de armazenamento, verificou uma redução significativa de praticamente 1 ciclo logaritmo por semana na contagem total destas bactérias. Até o final da segunda semana de estocagem, a bebida atendeu a legislação da Anvisa.

5.2.6 Análise Sensorial dos Iogurtes

Após verificar que todas as formulações estavam de acordo com os parâmetros microbiológicos exigidos pelo regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados (BRASIL, 2007), os iogurtes, estando com 5 dias de armazenamento, foram submetidos a análise sensorial de Escala Hedônica.

Para os atributos de sabor, aroma, textura e aspecto geral dos iogurtes avaliados por 101 provadores, observa-se na Figura 12 que a concentração de chia teve efeito negativo significativo ($<0,05$), enquanto que a concentração de morango teve efeito positivo significativo, demonstrando que os consumidores tendem a preferir iogurtes com concentrações menores de chia e maiores de morango com relação aos quatro atributos avaliados.

Figura 12 – Gráfico de Pareto da análise sensorial para os atributos (a) Sabor, (b) Aroma, (c) Textura, (d) Aspecto geral.



X1 – Concentração de chia; X2 – Concentração de morango.

Fonte: Elaborado pela autora.

Os dados obtidos para os atributos avaliados pela análise sensorial foram ajustados ao modelo linear de superfície de resposta DCC descrito na Equação 29 - Sabor, Equação 30 - Aroma, Equação 31 - Textura, Equação 32 - Aspecto geral:

$$\text{Sabor} = 5,70 - 0,90X_1 + 0,24X_2 \quad (29)$$

$$\text{Aroma} = 6,17 - 0,53X_1 + 0,15X_2 \quad (30)$$

$$\text{Textura} = 5,79 - 1,13X_1 + 0,20X_2 \quad (31)$$

$$\text{Aspecto geral} = 5,91 - 0,88X_1 + 0,26X_2 \quad (32)$$

Sendo que X_1 é a concentração de chia (%) e X_2 é a concentração de morango (%).

Os resultados do teste de significância e ANOVA do modelo de equações de regressão são apresentados na Tabela 26. Os valores de F calculado são maiores que os valores de F tabelado, mostrando que os modelos são válidos.

Tabela 26 – Resultados da ANOVA para os atributos avaliados por meio da análise sensorial.

Fator	Soma dos quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado médio	F-valor	p-valor	R ²
A						
X1	3,26	1	3,26	2641,64	0,0004	
X2	0,23	1	0,23	182,94	0,0054	
ANOVA						
Modelo	3,5	2	1,74	26,49 (6,94)*		0,93
Erro	0,26	4	0,066			
Total das somas dos quadrados	3,75	6				
B						
X1	1,11	1	1,11	585,80	0,0017	
X2	0,09	1	0,09	45,80	0,02	
ANOVA						
Modelo	1,2	2	0,6	63,16 (6,94)*		0,97
Erro	0,038	4	0,0095			
Total das somas dos quadrados	1,24	6				
C						
X1	5,13	1	5,13	375,28	0,0003	
X2	0,16	1	0,16	11,41	0,04	
X1X2	0,04	1	0,04	2,78	0,19	
ANOVA						
Modelo	5,3	3	1,77	129,83 (9,28)*		0,99
Erro	0,041	3	0,01			
Total das somas dos quadrados	5,37	6				
D						
X1	3,10	1	3,10	2161,12	0,0005	
X2	0,27	1	0,27	188,65	0,0053	
ANOVA						
Modelo	3,4	2	1,68	37,84 (6,94)*		0,95
Erro	0,18	4	0,04			
Total das somas dos quadrados	3,55	6				

A – Sabor; B – Aroma; C – Textura; D – Aspecto geral.

X1 – Concentração de chia; X2 – Concentração de morango

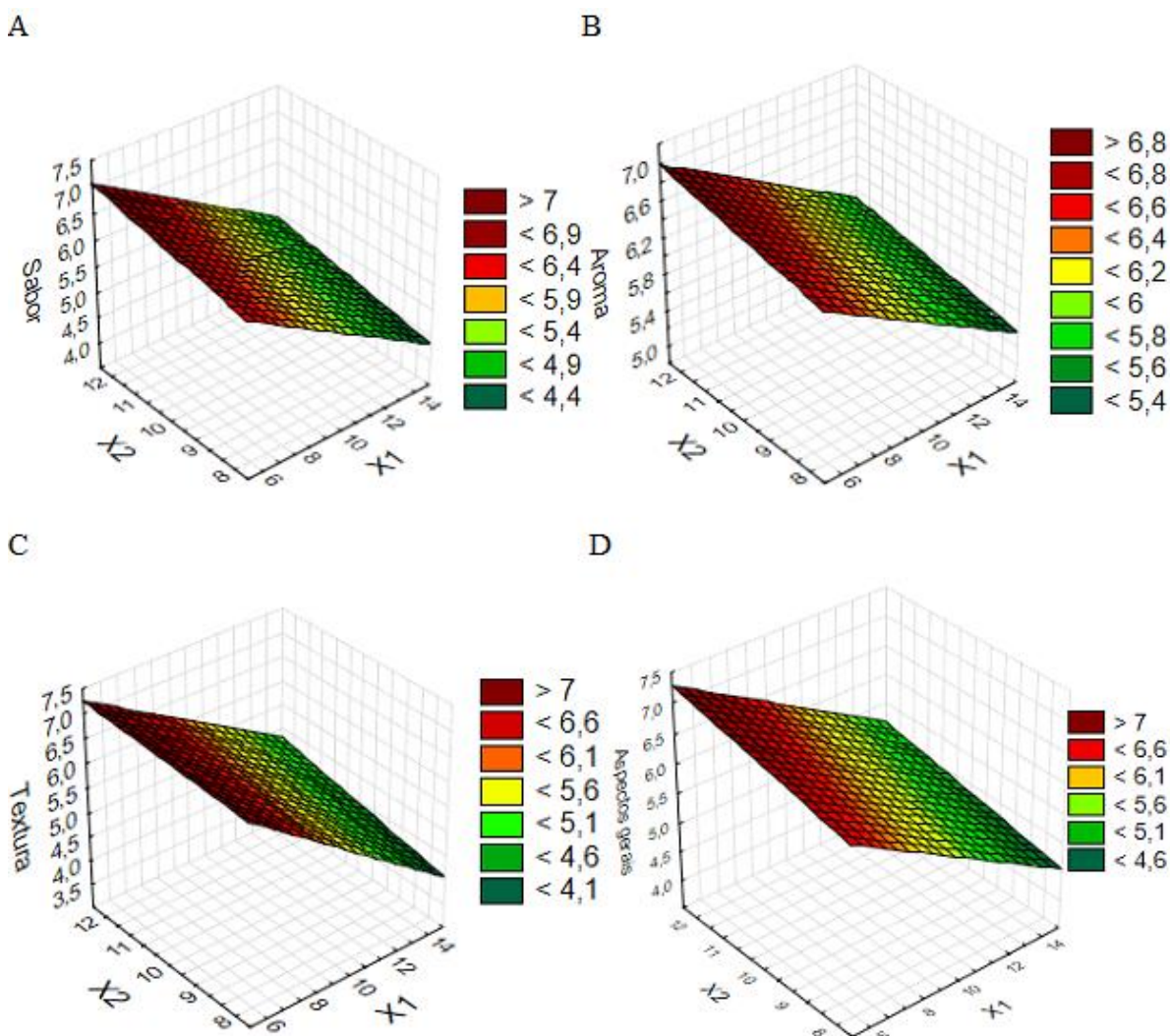
* Valor de F tabelado a 5% de significância.

Fonte: Elaborado pela autora.

Os modelos apresentaram valor de R² entre 0,93 e 0,99, demonstrando que os valores observados e previstos estavam em boa concordância. Os resíduos entre os valores observados e previstos fornecem uma avaliação do modelo.

Nos gráficos apresentados na Figura 13, observa-se que para os quatro atributos avaliados, pelos 101 provadores dos iogurtes durante análise sensorial realizada, houve maior aceitação quando menores concentrações de chia foram usadas e em contrapartida quando maiores concentrações de morango foram usadas.

Figura 13 – Superfícies de resposta dos atributos avaliados pela análise sensorial do iogurte: Sabor (A), Aroma (B), Textura (C) e Aspecto geral (D).



X1: Concentração de chia. X2: Concentração de morango.

Fonte: Elaborado pela autora.

Pode-se observar (Tabela 27) que a formulação controle, sem adição de chia, obteve maior aceitação em todos os atributos, tendo média de nota (7) referente a gostei regularmente, diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) dos demais iogurtes, exceto na avaliação dos atributos aroma e textura do iogurte com 6% de chia e 12% de morango.

Os iogurtes com adição de 6% de chia, obtiveram médias entre (6) gostei ligeiramente e (7) gostei regularmente, não diferindo significativamente entre si ($p < 0,05$), mas diferindo dos demais em quase todos os atributos. Para os atributos sabor e aspecto geral a formulação contendo 6% de chia e 8% de morango não diferiu da formulação contendo 10% de chia e 10% de morango.

Tabela 27 - Médias referentes aos atributos dos iogurtes, avaliados por meio de análise sensorial utilizando Escala Hedônica.

Iogurtes	Análise sensorial			
	Sabor	Aroma	Textura	Aspecto Geral
Controle:				
0%X1; 26%X2	7,37 (7,12;7,62)* ^a	7,33 (7,10;7,56) ^a	7,49 (7,24;7,74) ^a	7,6 (7,39;7,81) ^a
6%X1; 8%X2	6,27 (5,92;6,62) ^{bc}	6,47 (6,17;6,77) ^b	6,76 (6,42;7,10) ^b	6,44 (6,15;6,73) ^{bc}
14%X1; 8%X2	4,33 (3,97;4,69) ^d	5,46 (5,13;5,79) ^d	4,3 (3,91;4,69) ^d	4,6 (4,26;4,94) ^d
6%X1; 12%X2	6,61 (6,28;6,94) ^b	6,81 (6,55;7,07) ^{ab}	6,96 (6,65;7,27) ^{ab}	6,88 (6,58;7,18) ^b
14%X1; 12%X2	4,94 (4,60;5,28) ^d	5,71 (5,39;6,03) ^{cd}	4,89 (4,53;5,25) ^d	5,2 (4,88;5,52) ^d
10%X1; 10%X2	5,88 (5,57;6,19) ^c	6,23 (5,95;6,51) ^{bc}	5,81 (5,46;6,16) ^c	6,05 (5,74;6,36) ^c

*Médias de 101 avaliações. () Intervalo de confiança ao nível de 5% de significância. Escala Hedônica: (9) gostei muitíssimo; (8) gostei muito; (7) gostei regularmente; (6) gostei ligeiramente; (5) indiferente; (4) desgostei ligeiramente; (3) desgostei regularmente; (2) desgostei muito; (1) desgostei muitíssimo.

Para cada atributo, letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

X1 – Chia; X2 - Morango

Fonte: Elaborado pela autora.

Segundo Castro et al. (2007), para um produto ser considerado aceito sensorialmente deve apresentar um índice de aceitabilidade maior que 70%. A partir da avaliação deste índice de aceitabilidade (Tabela 28), verificou-se que foram considerados aceitos a formulação controle e os iogurtes adicionados de 6% de chia. Sendo que a formulação que apresentou maior índice de aceitabilidade foi a adicionada de 6% de chia e 12% de morango, apresentando média de 75,5.

Tabela 28 - Índice de aceitabilidade para as formulações de iogurtes, mediante os atributos avaliados.

Iogurtes	Índice de aceitabilidade				
	Sabor	Aroma	Textura	Aspecto Geral	Média
Controle:					
0%X1; 26%X2	82	81	83	84	82,5
6%X1; 8%X2	70	72	75	72	72,0
14%X1; 8%X2	54	68	54	58	58,5
6%X1; 12%X2	73	76	77	76	75,5
14%X1; 12%X2	55	68	54	58	58,8
10%X1; 10%X2	65	69	64	67	66,3

X1 – Chia; X2 – Morango

Fonte: Elaborado pela autora.

As formulações com adição de 14% de chia, obtiveram médias inferiores em todos os atributos, variando de (4) desgostei ligeiramente e (5) indiferentes, não diferindo estatisticamente entre si, mas diferindo dos demais iogurtes, exceto para o atributo aroma da

formulação com 14% de chia e 12% de morango, com média de 5,71, que não diferiu do iogurte com 10% de chia e 10% de morango. Observa-se que as amostras com maior adição de chia, as mesmas que obtiveram maior viscosidade, foram as que receberam as notas mais baixas com relação a textura.

Zerbielli (2014) verificou que a aceitação sensorial de bebida láctea fermentada com cultura probiótica foi inversamente proporcional à concentração de chia adicionada. Na avaliação da aceitabilidade global realizada nas formulações de bebida láctea aromatizada com morango, adicionadas de 1, 3 e 5% de chia, aos 7 dias de armazenamento, obteve as médias 8,46, 8,15 e 7,72, respectivamente. Valores superiores aos obtidos para aos iogurtes com diferentes concentrações de morango e chia, contudo, além de ser necessário levar em consideração que os iogurtes receberam maiores concentrações de chia, também é necessário acrescentar que as bebidas lácteas foram adicionadas de aroma artificial e corante, o que pode ter melhorado seu aspecto perante os provadores, uma vez que as formulações de iogurtes ficaram limitadas aos 30% de ingredientes opcionais não lácteos permitidos pelo regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados (BRASIL, 2007) e consequentemente pelo delineamento composto central (DCC) aplicado ao experimento.

Santos; Cruz; Almeida (2017), em seu estudo com iogurtes adicionados com diferentes concentrações de chia, obtiveram as seguintes médias na análise sensorial da amostra controle (sem adição de chia), 6,82; 6,10; 6,96 e 6,80 referente aos atributos sabor, textura, aparência e impressão global, respectivamente. Médias inferiores aos encontrados para o iogurte controle deste estudo, o que pode ter ocorrido devido a adição de 26% de polpa de morango, ocasionando melhora em seus atributos sensoriais. Os mesmos pesquisadores, obtiveram na formulação contendo 3% de chia a média de 7,28 para o atributo sabor, valor superior ao dos iogurtes adicionados de 6, 10 e 14% de chia.

Para o atributo textura obtiveram a média de 6,24, nota inferior aos iogurtes com adição de 6% de chia. Quanto ao atributo impressão global, obtiveram o valor de 6,92, média semelhante ao atributo aspecto geral dos iogurtes adicionados com 6% de chia. Os autores não observaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre as formulações sem adição de chia, com adição de 2 e 3% de chia com relação ao sabor, textura e impressão global, identificaram diferença apenas com relação ao atributo aparência entre as amostras adicionadas de chia e a amostra controle.

A adição de chia nos iogurtes interferiu na aceitação dos provadores, isso mostra que quanto maior a adição de chia, menor será a aceitação sensorial do consumidor, contudo, deve-se levar em consideração a qualidade nutricional dos iogurtes adicionados de chia, por serem

melhorados com relação a quantidade de fibra alimentar, proteína, ácidos graxos poli-insaturados e minerais. Essa melhora nutricional obtida pela adição de chia pode resultar em um grande apelo das indústrias alimentícias para com o consumidor que busca alimentos saudáveis. Dessa forma, a produção de iogurte probiótico à base de morango e chia se mostra promissora, sendo necessário apenas encontrar um equilíbrio entre a concentração de chia que agrade sensorialmente e nutricionalmente os consumidores.

A formulação contendo 6% de chia e 12% de morango, amostra contendo chia mais bem aceita sensorialmente, recebendo notas que ficaram entre gostei ligeiramente e gostei regularmente e tendo índice de aceitabilidade maior que 70%, pode ser definida como o melhor iogurte para futuras reproduções industriais. Uma vez que 100g desse iogurte pode fornecer 3,8g de proteína, tendo aumento de 47% desse nutriente em relação a formulação controle e suprimindo mais de 5% da necessidade diária de proteína; 2,69g de fibra alimentar, suprimindo quase 11% da necessidade diária deste nutriente; 0,50g de ômega 3, sendo inclusive considerada fonte deste ácido graxo, bem como fonte de cálcio, ferro, manganês e zinco e fonte de alto conteúdo de cobre.

6 CONCLUSÕES

- A chia e o morango utilizados na fabricação dos iogurtes estavam de acordo com os padrões microbiológicos exigidos. O leite, além de estar microbiologicamente de acordo com os padrões exigidos, também apresentou teores nutricionais e químicos de acordo com a legislação específica.
- Os resultados das análises realizadas na semente de chia confirmou que esta apresenta alto valor nutritivo, contendo alto teor de proteína, cinzas, fibra alimentar, ácidos graxos poli-insaturados, em especial ômega-3 e importantes minerais, como cálcio, potássio, magnésio e ferro.
- A adição de chia nos iogurtes aumentou os teores dos compostos avaliados: proteína, lipídios totais, extrato seco total e desengordurado, cinzas, fibra alimentar, ácidos graxos poli-insaturados, em especial ômega-3, minerais (cálcio, cobre, potássio, magnésio, zinco, ferro e manganês).
- A adição de polpa de morango, juntamente com a adição de chia, aumentou o teor de fibra alimentar e o teor de cobre dos iogurtes. Enquanto que sua concentração era inversamente proporcional ao teor de lipídios e por consequência dos ácidos graxos.
- Os maiores teores de ácidos graxos saturados foram observados no iogurte controle, sem adição de chia. Enquanto que os maiores teores de ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados foram encontrados nos iogurtes com adição de chia.
- Os iogurtes se mantiveram dentro dos padrões microbiológicos e de contagens de bactérias lácticas e de bifidobactérias durante os 35 dias de armazenamento.
- A aceitação sensorial dos iogurtes foi proporcional a adição de morango e inversamente proporcional a adição de chia. Sendo a amostra controle a mais bem aceita.
- O iogurte contendo chia, mais bem avaliado, foi a formulação contendo 6% de chia e 12% de morango, tendo índice de aceitabilidade maior que 70% e não diferindo da amostra controle com relação ao aroma e a textura, podendo ser definida como o melhor iogurte para futuras reproduções industriais.
- Dessa forma, verifica-se que por meio da adição de polpa de morango e semente de chia na formulação do iogurte, foi possível obter um produto com propriedades funcionais e que pode ser aceito sensorialmente.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA BRASIL. **Mercado de alimentos funcionais cresce no mundo, diz presidente da Abiad.** Disponível em: <<http://memoria.ebc.com.br/agenciabrasil/noticia/2008-11-02/mercado-de-alimentosfuncionais-cresce-no-mundo-diz-presidente-da-abiad>>. Acesso em: 2 jun. 2018.

ALMEIDA, C. P. D. M. Efeito do fator de concentração nas características de iogurte com baixo teor de lactose obtido por ultrafiltração. **Dissertação - Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia**, 2008.

ALONSO, L.; CUESTA, E. P.; GILLILAND, S. E. Production of free conjugated linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* of human intestinal origin. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 6, p. 1941–1946, 2003.

AMATO, M. et al. Nutritional quality of seeds and leaf metabolites of Chia (*Salvia hispanica* L.) from Southern Italy. **European Food Research and Technology**, v. 241, n. 5, p. 615–625, 2015.

AMERICANS, D. G. FOR. United States Department of Agriculture. Dietary Guidelines for Americans. p. 78–79, 2010.

ANDERSON, B. M.; MA, D. W. L. Are all n-3 polyunsaturated fatty acids created equal? **Lipids in Health and Disease**, v. 8, p. 1–20, 2009.

ANTUNES, A. E. C. et al. Desenvolvimento de buttermilk probiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 83–90, mar. 2007.

ANTUNES, L. E. C. et al. Yield and quality of strawberry cultivars. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 222–226, 2010.

APHA. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. **American Public Health Association**, 2001.

ARAÚJO, W. M. C. ET AL. **Alquimia dos alimentos**. 2. ed. Brasília: [s.n.].

ARTERBURN, L.; HALL, E.; OKEN, H. Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 6(S), p. 1467S–1476S, 2006.

AYERZA, R.; COATES, W. Chia Seed (*Salvia hispanica* L.) as an ω -3 fatty acid source for broilers: influence on fatty acid composition, cholesterol and fat content of white and dark meats, growth performan ... chia seed (*Salvia hispanica* L.) as an ω -3 fatty acid source f. n. October 2016, p. 826–837, 2002.

AYERZA, R.; COATES, W. Ground chia seed and chia oil effects on plasma lipids and fatty acids in the rat. **Nutrition Research**, v. 25, n. 11, p. 995–1003, 2005.

BANNI, S. Conjugated linoleic acid metabolism. **Current Opinion in Lipidology**, v. 13, n. 3, p. 261–266, 2002.

BARROS, L. et al. Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 120, n. 1, p. 247–254, 2010.

BASTIANI, M. I. D. Iogurte adicionado de concentrado protéico de soro de leite e farinha de linhaça : desenvolvimento , qualidade nutricional e sensorial. p. 97, 2009.

BELURY, M. A. Inhibition of carcinogenesis by conjugated linoleic acid: potential mechanisms of action. **Journal of Nutrition**, v. 32, n. 10, p. 2995–2998, 2002.

BEZ, E. et al. Composição físico-química e aceitabilidade de iogurte de leite de cabra e de vaca com adição de uva itália desidratada. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 17, n. 4, p. 409–415, 2015.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911–917, 1959.

BRANDÃO, S. C. C. Novas gerações de produtos lácteos funcionais. **Rev. Indústria de Laticínios**, v. 1, p. 64–66, 2002.

BRASIL. Informe Técnico n. 23, de 17 de abril de 2007. Esclarecimentos sobre as avaliações de segurança do ácido linoleico conjugado (CLA). **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Gerência Geral de Alimentos. Gerência de Produtos Especiais.**, p. 1–10, 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução no 18, de 30 de abril de 1999. Regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília, 1999.

BRASIL. Resolução RDC no 12, de 02 de Janeiro de 2001. **Anvisa**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n.02, de 07 de janeiro de 2002. Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas Probióticas Isoladas com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. **Diário Oficial República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 09 de janeiro de 2002. Seção 1**, 2002.

BRASIL. Resolução RDC no 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. **Diário Oficial da União**. Brasília, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 46, de 23 de outubro de 2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **Diário Oficial da União**. Brasília, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no 62, de 29 de dezembro de 2011. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite Cru Refrigerado, do Leite Pasteurizado e da Coleta de Leite Cru. **Diário Oficial da União**. Brasília, 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. Resolução RDC no 54, de 12 de novembro de 2012. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. **Diário Oficial da União**, 2012.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA.** Alimentos Com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>>. Acesso em: 9 maio. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto no 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). **Diário Oficial da União**. Brasília, 2017.

BRESSON, J. L. et al. Scientific opinion of the panel on dietetic products nutrition and allergies on a request from the European Commission on the safety of ‘chia seed (*Salvia hispanica*) and ground whole chia seed’ as a food ingredient. **The EFSA Journal**, v. 996, p. 1–26, 2009.

BROUGHTON, K. S. et al. Reduced asthma symptoms with n-3 fatty acid ingestion are related to 5-series leukotriene. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, n. July, p. 1011–1017, 1997.

BRUNSER, O.; GOTTELAND, M. **Bioactive foods in promoting health: probiotics and prebiotics**. London: Elsevier, 2010.

BUCHER, H. C. et al. N-3 polyunsaturated fatty acids in coronary heart disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. **The American journal of medicine**, v. 112, n. 4, p. 298–304, 2002.

BURDGE, G. C.; CALDER, P. C. Dietary α -linolenic acid and health-related outcomes: a metabolic perspective. **Nutrition Research Reviews**, v. 19, n. 01, p. 26, 2006.

CALDER, P. C. Review Polyunsaturated fatty acids , inflammatory processes and inflammatory bowel diseases. p. 885–897, 2008.

CALDER, P. C. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: nutrition or pharmacology ? 2012.

CALDER, P. C. ; BURDGE, G. C. Fatty acids. In: NICOLAOU, A., KOKOTOS, G. (Ed.). . **Bioactive Lipids, The Oily Press**. water ed. Bridge: [s.n.]. p. 1–36.

CALDER, P. C.; YAQOOB, P. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and human health outcomes. **International Union of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 35, n. 3, p. 266–272, 2009.

CARDARELLI, H. . Desenvolvimento de queijo petit-suisse simbiótico. p. 149, 2006.

CASTRO, L. Í. A. DE et al. Quinoa (*Chenopodium Quinoa Willd*): Digestibilidade in Vitro, Desenvolvimento E Análise Sensorial De Preparações Destinadas. **Alimentos e Nutrição, Araraquara**, v. 18, n. 4, p. 413–419, 2007.

CATALANI, L. A. et al. Fibras alimentares. **Rev Bras Nutr Clin**, v. 18, n. 4, p. 78–182, 2003.

CHAMPAGNE, C. P.; GARDNER, N. J.; ROY, D. Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, n. 1, p. 61–84, 2005.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Codex standard for fermented milks**. Disponível em: <www.codexalimentarius.org/input/download/.../400/CXS_%0A243e.pdf%0A>. Acesso em: 28 mar. 2018.

COELHO, M. S.; SALAS-MELLADO, M. D. M. Effects of substituting chia (*Salvia hispanica* L .) fl our or seeds for wheat fl our on the quality of the bread. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, n. 2, p. 729–736, 2015.

COELHO, M. S.; SALAS-MELLADO, M. DE LAS M. Revisão : Composição química, propriedades funcionais e aplicações tecnológicas da semente de chia (*Salvia hispanica* L) em alimentos Review : Chemical composition, functional properties and technological applications. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 4, p. 259–268, 2014.

COGO, L. et al. Aspectos microbiológicos , pH e acidez de iogurtes de produção caseira comparados aos industrializados da região de Santa Maria – rs 1 homemade yogurt compared to industrialized ones in the region of santa maria , RS. p. 111–120, 2012.

COLLOMB, M. et al. Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 11, p. 1347–1361, 2006.

CORSINOVI, L. et al. Dietary lipids and their oxidized products in Alzheimer’s disease. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 55, n. SUPPL. 2, p. 161–172, 2011.

COSKUN, H.; ONDUL, E. Free fatty acid accumulation by mesophilic lactic acid bacteria in cold stored milk. **Journal of Microbiology**, v. 42, p. 133–138, 2004.

DAIRY GOODNESS. **The history of yogurt**. Disponível em: <<http://www.dairygoodness.ca/yogurt/the-history-of-yogurt>>. Acesso em: 27 mar. 2018.

DALL’ALBA, V.; AZEVEDO, M. J. DE. Papel das fibras alimentares sobre o controle glicêmico, perfil lipídico e pressão arterial em pacientes com diabetes melito tipo 2. **Revista HCPA**, v. 30, n. 4, p. 363–371, 2010.

DE MATTOS, L. L.; MARTINS, I. S. Consumo de fibras alimentares em população adulta. **Revista de Saude Publica**, v. 34, n. 1, p. 50–55, 2000.

DESHPANDE, G.; RAO, S.; PATOLE, S. Progress in the field of probiotics: Year 2011. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 27, n. 1, p. 13–18, 2011.

DIBBERN, L. S. Perfil de ácidos graxos e análise sensorial de carne e iogurte de leite de caprinos alimentados com óleos vegetais. 2014.

DO ESPÍRITO SANTO, A. P. et al. Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts. **International Journal of Food Microbiology**, v. 154, n. 3, p. 135–144, 2012.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 4. ed. Curitiba: Champagnat, 2013.

EIFERT, E. D. C. et al. Perfil de ácidos graxos do leite de vacas alimentadas com óleo de soja e monensina no início da lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 1, p. 219–228, 2006.

ESPÍRITO SANTO, A. P. DO et al. Açai pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 20, n. 6, p. 415–422, 2010.

EVANS, M. E.; BROWN, J. M.; MCINTOSH, M. K. Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, n. 9, p. 508–516, 2002.

EWERLING, M. **Farinha de chia (Salvia hispânica L.) parcialmente desengordurada como fonte de ácidos graxos para pães sem glúten**. [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2016.

EWERLING, M. Composição proximal e de ácidos graxos da farinha de chia parcialmente desengordurada. v. 10, n. 1, 2018.

FAO; WHO. **Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food**. Canadá, 2002.

FARNWORTH, E. R. et al. Growth of probiotic bacteria and bifidobacteria in a soy yogurt formulation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 116, n. 1, p. 174–181, 2007.

FERNÁNDEZ QUINTELA, A. et al. Acido Linoleico Conjugado Y Grasa Corporal. **Rev Esp Obes**, v. 2, n. May 2014, p. 71–79, 2004.

FERREIRA, C. L. L. F. **Produtos lácteos fermentados (aspectos bioquímicos e tecnológicos)**. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2005.

FERREIRA, T. R. B. **Caracterização nutricional e funcional da farinha de chia (Salvia hispânica) e sua aplicação no desenvolvimento de pães**. [s.l.] Universidade de São Paulo - USP, 2013.

FLORENCE, A. C. R. Perfil tecnológico de cepas de bifidobactéria em cultura pura e em co-cultura com. 2009.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. **A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues**. Disponível em: <<http://www.jbc.org/content/226/1/497.short>>. Acesso em: 1 jun. 2018.

FRANCO, B. D. G. M. et al. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.

FRANCO, L. C. **Mercado de produtos naturais movimentou US\$ 36,4 bilhões por ano no Brasil**. Disponível em:

<http://www.naturaltech.com.br/modulos/include/modulo_popupRelease.asp?release_%0AID=2020&idioma=1>. Acesso em: 1 jun. 2018.

FUKE, G. et al. Efficacy of conjugated linoleic acid (CLA) on human health. **Reget**, v. 18, p. 36–46, 2014.

GANZAROLI, J. F. Avaliação da composição centesimal e do perfil de ácidos graxos presentes nas sementes *Salvia hispânica* L. (CHIA). 2014.

GIAMPIERI, F. et al. The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. **Nutrition**, v. 28, n. 1, p. 9–19, 2012.

GISSI-HF INVESTIGATORS. Effect of rosuvastatin in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **The Lancet**, v. 372, n. 9645, p. 1231–1239, 2008.

GOHARA, A. K. et al. Chemometric methods applied to the mineral content increase in chocolate cakes containing chia and azuki. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 5, p. 771–776, 2013.

GOLDIN, B. R.; GORBACH, S. L. Clinical Indications for Probiotics: An Overview. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, n. s2, p. S96–S100, fev. 2008.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: Biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science and Technology**, v. 10, n. 4–5, p. 139–157, 1999.

GORISSEN, L. et al. Production of conjugated linoleic acid and conjugated linolenic acid isomers by *Bifidobacterium* species. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n. 6, p. 2257–2266, 2010.

HALVORSEN, B. L. et al. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. **The Journal of Nutrition**, v. 132, n. 3, p. 461–471, 2002.

HALVORSEN, B. L. et al. Content of redox-active compounds (ie, antioxidants) in foods consumed in the United States. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 84, n. 1, p. 95–135, 2006.

HANSEN, C. Method for counting probiotic bacteria. *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium* in milk products made with nutrish cultures. p. 5, 1999.

HARRIS, W. S. Extending the cardiovascular benefits of omega-3 fatty acids. **Current Atherosclerosis Reports**, v. 7, n. 5, p. 375–380, 2005.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, p. 475–476, 1973.

HAULY, M. C. D. O.; MOSCATTO, J. A. Inulina e Oligofrutoses: uma revisão sobre propriedades funcionais, efeito prebiótico e importância na indústria de alimentos. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 23, n. 1, p. 105–118, 2002.

HEINZE, V. M.; ACTIS, A. B. Dietary conjugated linoleic acid and long-chain n-3 fatty acids in mammary and prostate cancer protection: A review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 63, n. 1, p. 66–78, 2012.

HILL, C. et al. Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 11, n. 8, p. 506–514, 2014.

HOUSEKNECHT, K. L. et al. Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty fa/fa rat. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 244, n. 244, p. 678–682, 1998.

HUR, S. J.; PARK, G. B.; JOO, S. T. Biological activities of conjugated linoleic acid (CLA) and effects of CLA on animal products. **Livestock Science**, v. 110, n. 3, p. 221–229, 2007.

IKEDA, A. A. ; MORAES, A. .; MESQUISTA, G. Considerações sobre tendências e oportunidades dos alimentos funcionais. **Revista P&D Engenharia de Produção**, v. 8, n. 2, p. 40–56, 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físicos-químicos para análise de Alimentos**. 4. ed. São Paulo: Insitituo Adolfo Lutz, 2008.

ISO 6579. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs - Horizontal Methods for the Detection of Salmonella spp. **The International Organization for Standardization**, 2002.

JAMES, M. L.; CLELAND, L. G. Dietary n-3 fatty acids and therapy for rheumatoid arthritis. **Semin Arthritis Rheum**, v. 27, n. 2, p. 85–97, 1997.

JIMÉNEZ-AGUILAR, D. M.; GRUSAK, M. A. Evaluation of minerals, phytochemical compounds and antioxidant activity of mexican, central american, and african green leafy vegetables. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 70, n. 4, p. 357–364, 2015.

JIMENEZ, M.; GARCÍA, H. S.; BERISTAIN, C. I. Spray-drying microencapsulation and oxidative stability of conjugated linoleic acid. **European Food Research and Technology**, v. 219, n. 6, p. 588–592, 2004.

JUSTO, M. B. et al. Desarrollo de pan integral con soya, chía, linaza y ácido fólico como alimento funcional para la mujer. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 57, n. 1, p. 2007, 2007.

KAILASAPATHY, K.; HARMSTORF, I.; PHILLIPS, M. Survival of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium animalis ssp. lactis in stirred fruit yogurts. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 7, p. 1317–1322, 2008.

KRIS-ETHERTON, P. M.; HARRIS, W. S.; APPEL, L. J. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. **Circulation**, v. 106, n. 21, p. 2747–2757, 2002.

KRITCHEVSKY, D. et al. Influence of Conjugated Linoleic Acid (CLA) on establishment and progression of atherosclerosis in rabbits. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, n. 4, p. 472S–477S, 2000.

KRITCHEVSKY, D. et al. Conjugated linoleic acid isomer effects in atherosclerosis: Growth and regression of lesions. **Lipids**, v. 39, n. 7, p. 611–616, 2004.

LAVIE, C. J. et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular diseases. **JAC**, v. 54, n. 7, p. 585–594, 2009.

LECLERCQ, I. A.; OLIVIER, M.-C.; LEGRY, V. Why and how meet n-3 PUFA dietary recommendations? **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2011, n. Figure 1, 2011.

LEDOUX, M. et al. Fatty acid composition of French butters, with special emphasis on conjugated linoleic acid (CLA) isomers. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, n. 5, p. 409–425, 2005.

LEE, E. et al. Effect of conjugated linoleic acid, μ -calpain inhibitor, on pathogenesis of Alzheimer's disease. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1831, n. 4, p. 709–718, 2013.

LEE, J. H. et al. Omega-3 fatty acids for cardioprotection. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 83, n. 3, p. 324–332, 2008.

LEE, J. S. et al. Optimization and oxidative stability of the microencapsulated conjugated linoleic acid. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 45, n. 4, p. 348–351, 2009.

LEITE, S. et al. Nutrição e cirurgia bariátrica. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 18, n. 4, p. 183–9, 2003.

LINSEISEN, J. et al. Dietary fat intake in the european prospective investigation into cancer and nutrition: Results from the 24-h dietary recalls. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 63, p. S61–S80, 2009.

LORGERIL, M. DE et al. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. **The Lancet**, v. 343, n. 8911, p. 1454–1459, 1994.

LORGERIL, M. DE; SALEN, P. New insights into the health effects of dietary saturated and omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids. p. 2–6, 2012.

LOVATO, F. et al. Composição centesimal e conteúdo mineral de diferentes cultivares de feijão biorfortificado (*Phaseolus vulgaris* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, n. 0, 2017.

LUCATTO, J. N. Produção e caracterização de iogurte simbiótico sabor banana, obtido a partir de leite de vaca e de Cabra, cultura probiótica e polpa de banana verde. p. 1–112, 2013.

MACREDMOND, R.; DORSCHIED, D. R. Conjugated linoleic acid (CLA): Is it time to supplement asthma therapy? **Pulmonary Pharmacology and Therapeutics**, v. 24, n. 5, p. 540–548, 2011.

MARTIN, C. A. et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: Importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutricao**, v. 19, n. 6, p. 761–770, 2006.

- MARTÍNEZ, M. L. et al. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: Study of processing parameters. **LWT - Food Science and Technology**, v. 47, n. 1, p. 78–82, 2012.
- MARTINS, O. A.; RUDGE, A. C.; MEIRA, D. R. Alteração do pH, ácido láctico e indicadores microbiológicos em diferentes marcas de iogurtes comercializadas na cidade de Botucatu, São Paulo, Brasil. **PUBVET**, v. 2, n. 19, 2008.
- MASSO-WELCH, P. A. et al. Inhibition of Angiogenesis by the Cancer Chemopreventive Agent Conjugated Linoleic Acid 1. p. 4383–4389, 2002.
- MAZOCHI, V. et al. Iogurte probiótico produzido com leite de cabra suplementado com *Bifidobacterium* spp. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 6, p. 1484–1490, 2010.
- MCKINLEY, M. The nutrition and health benefits of yoghurt. **International Journal of Dairy Technology**, v. 58, n. 1, p. 1–12, 2005.
- MEDEIROS, S. R. Ácido linoléico conjugado: Teores nos alimentos e seu uso no aumento da produção de leite com maior teor de proteína e perfil de ácidos graxos modificado. **Ciência Animal e Pastagens**, p. 98, 2002.
- MERCENIER, A.; LENOIR-WIJNKOOP, I.; SANDERS, M. E. **Physiological and functional properties of probiotics**. Bulletin of the International Dairy Federation, 2008.
- MICHALSKI, M. C.; JANUEL, C. Does homogenization affect the human health properties of cow's milk? **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 8, p. 423–437, 2006.
- MIGLIAVACCA, R. A. et al. Uso da cultura da chia como opção de rotação no Sistema Plantio Direto. **14o Encontro Nacional de Plantio Direto na Palha**, 2014.
- MIGLIAVACCA, R. A. ; SILVA, T. R. B. ; VASCONCELOS, A. L. S. O Cultivo da Chia no Brasil: Futuro e perspectivas. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 3, p. 161–179, 2014.
- MILANI, M. P.; VARGAS, D. P. DE; NÖRNBERG, J. L. Perfil de ácidos graxos de iogurte produzido com diferentes culturas bacterianas. **R. bras. Ci. Vet.**, v. 23, n. 1–2, p. 109–112, 2016.
- MILLER, R. O. Nitric-Perchloric acid wet digestion in a open vessel. In: KALRA, Y. P. (Ed.). **Handbook of Reference Methods for Plant Analysis**. Boca Raton: CRC Press, 1998. p. 287.
- MIRANDA, F. Guia técnica para el manejo del cultivo de chia (*Salvia hispánica*) en Nicaragua. **Central de Cooperativas de Servicios Multiples Exportacion e Importacion Del Norte (Cecoopsemein RL.)**, 2012.
- MOONEY, D.; MCCARTHY, C.; BELTON, O. Effects of conjugated linoleic acid isomers on monocyte, macrophage and foam cell phenotype in atherosclerosis. **Prostaglandins and Other Lipid Mediators**, v. 98, n. 3–4, p. 56–62, 2012.
- MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109–122, 2006.

MORTAZAVIAN, A. M.; SOHRABVANDI, S. **Probiotics and food probiotic products: based on dairy probiotic products**. Iran: Eta Publication, 2006.

MOTARD-BÉLANGER, A. et al. Study of the effect of trans fatty acids from ruminants on blood lipids and other risk factors for cardiovascular disease. **American journal of clinical nutrition**, v. 87, n. 3, p. 593–599, 2008.

MOZAFFARIAN, D. et al. Trans fatty acids and cardiovascular disease. p. 1601–1613, 2006.
NASSER, A. M. et al. Econômico-financeira utilizando a simulação de Monte Carlo : O caso de uma agroindústria produtora de iogurte orgânico situada no centro oeste de Minas Gerais. 2009.

NOVACK, M. M. E. Efeito da sazonalidade e do tratamento térmico industrial no perfil de ácidos graxos do leite e resposta biológica de ratos a diferentes fontes lipídicas. **Tese de Doutorado**, p. 0–144, 2014.

NUNES, M. C. N. et al. Physicochemical changes during strawberry development in the field compared with those that occur in harvested fruit during storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n. 2, p. 180–190, 2006.

O'SHEA, E. F. et al. Production of bioactive substances by intestinal bacteria as a basis for explaining probiotic mechanisms: Bacteriocins and conjugated linoleic acid. **International Journal of Food Microbiology**, v. 152, n. 3, p. 189–205, 2012.

OBSÉN, T. et al. Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases de novo lipid synthesis in human adipocytes. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, n. 6, p. 580–590, 2012.

OGAWA, J. et al. Production of conjugated fatty acids by lactic acid bacteria. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 100, n. 4, p. 355–364, 2005.

OLIVEIRA, R. P. DE S. et al. Growth and survival of mixed probiotics in nonfat fermented milk: The effect of inulin. **Chemical Engineering Transactions**, v. 24, p. 457–462, 2011.

OLIVEIRA, R. P. S. et al. Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotic survival and fatty acids profiles in nonfat symbiotic fermented milk. **International Journal of Food Microbiology**, v. 128, n. 3, p. 467–472, 2009.

OTTEN, J. J.; HELLWIG, J. P.; MEYERS, L. D. **Dietary reference intakes: the essential guide to nutrient requirements**. [s.l: s.n.].

OUWEHAND, A. C.; SALMINEN, S.; ISOLAURI, E. Probiotics: An overview of beneficial effects. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 82, n. 1–4, p. 279–289, 2002.

PADILHA, M. DO R. DE F. et al. Pesquisa de bactérias patogênicas em leite pasteurizado tipo C comercializado na cidade do Recife, Pernambuco, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 2, p. 167–171, abr. 2001.

PARIZA, M. W.; PARK, Y.; COOK, M. E. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. **Progress in Lipid Research**, v. 40, n. 4, p. 283–298, 2001.

PARK, Y.; PARIZA, M. W. Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). **Food Research International**, v. 40, n. 3, p. 311–323, 2007.

PASSOS, L. M. L.; PARK, Y. K. Frutooligossacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**, v. 33, n. 2, p. 385–390, 2003.

PATTERSON, E. et al. Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids. v. 2012, 2012.

PAVLOVIĆ, N.; STANKOV, K.; MIKOV, M. Probiotics—Interactions with bile acids and impact on cholesterol metabolism. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 168, n. 7, p. 1880–1895, 4 dez. 2012.

PEIRETTI, P. G.; GAI, F. Fatty acid and nutritive quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth. **Animal Feed Science and Technology**, v. 148, n. 2–4, p. 267–275, 2009.

PELLEGRINI, N. et al. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 9, p. 2812–2819, 2003.

PIERRE, A. S. et al. Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid induced cell death in human colon cancer cells through reactive oxygen species-mediated ER stress. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1831, n. 4, p. 759–768, 2013.

PIMENTEL, C. DE M.; FRANCKI, V.; GOLLUCKE, A. **Alimentos funcionais: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2005.

PROTEGGENTE, A. R. et al. The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. **Free Radical Research**, v. 36, n. 2, p. 217–233, 2002.

RAINER, L.; HEISS, C. J. Conjugated linoleic acid: Health implications and effects on body composition. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 104, n. 6, p. 963–968, 2004a.

RAINER, L.; HEISS, C. J. Conjugated linoleic acid: health implications and effects on body composition - A review. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 104, n. 6, p. 963–968, 2004b.

RAIZEL, R. et al. Effects of probiotics, prebiotics and synbiotics consumption on the human organism. **Revista Ciência & Saúde**, v. 4, n. 2, p. 66–74, 2011.

RANADHEERA, R. D. C. S.; BAINES, S. K.; ADAMS, M. C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, v. 43, n. 1, p. 1–7, 2010.

RAUD, C. Os alimentos funcionais: a nova fronteira da indústria alimentar análise das estratégias da Danone e da Nestlé no mercado brasileiro de iogurtes. **Revista de Sociologia e Política**, v. 16, n. 31, p. 85–100, 2008.

REID, G. et al. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 37, n. 2, p. 105–118, 2003.

REYES-CAUDILLO, E.; TECANTE, A.; VALDIVIA-LÓPEZ, M. A. Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. **Food Chemistry**, v. 107, n. 2, p. 656–663, 2008.

REYNOLDS, C. M.; ROCHE, H. M. Conjugated linoleic acid and inflammatory cell signalling. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 82, n. 4–6, p. 199–204, 2010.

RIJKERS, G. T. et al. Guidance for substantiating the evidence for beneficial effects of probiotics: current status and recommendations for future research. **The Journal of Nutrition**, v. 140, n. 3, p. 671S–676S, 1 mar. 2010.

ROBERFROID, M. Prebiotics : The Concept Revisited. **Journal of Nutrition**, v. 137, n. 3, p. 830S–837S, 2007.

RODRÍGUEZ-ALCALÁ, L. M. et al. Quantitative and qualitative determination of CLA produced by *Bifidobacterium* and lactic acid bacteria by combining spectrophotometric and Ag+-HPLC techniques. **Food Chemistry**, v. 125, n. 4, p. 1373–1378, 2011.

RUPFLIN, D. I. A. Caracterización de la semilla del chan (*Salvia hispânica* L.) y diseño de un producto funcional que la contiene como ingrediente. **Revista de la Universidad del Valle de Guatemala**, v. 1, p. 43–49, 2011.

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

SALES, R. L. DE et al. Mapa de preferência de sorvetes ricos em fibras. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 28, p. 27–31, 2008.

SALVADOR, F. C. et al. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado comercializado em apucarana-pr e região. p. 30–41, 2012.

SANT´ANA, L. S. Mecanismos bioquímicos envolvidos na digestão , absorção e metabolismo dos ácidos graxos ômega. 2004.

SANTO, A. P. DO E. et al. Influence of food matrices on probiotic viability: a review focusing on the fruity bases. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, p. 377–385, 2011.

SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R. J. B.; SANTOS-SILVA, F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. **Livestock Production Science**, v. 77, n. 2–3, p. 187–194, 2002.

SANTOS, M. V. DOS; CRUZ, R. G. DA; ALMEIDA, M. E. F. Desenvolvimento e avaliação sensorial de iogurte com sementes de chia. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n. 1, p. 01, 2017.

SCALZO, J. et al. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. **Nutrition**, v. 21, n. 2, p. 207–213, 2005.

SCHULKA, A. C.; COLLA, E. X. Alimentos funcionais e suas perspectivas no mercado. **Food Ingredients Brasil**, n. 30, p. 84–85, 2014.

SHAH, N. P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 11, p. 1262–1277, 2007.

SHINOTSUKA, C. R.; ALEXANDRE, M. R.; DAVID, C. M. N. Terapia nutricional enteral associada à pré, pró e simbióticos e colonização do trato gastrintestinal e vias aéreas inferiores de pacientes ventilados mecanicamente. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 20, n. 3, p. 241–248, 2008.

SHULAEV, V. et al. The genome of woodland strawberry (*Fragaria vesca*). **Nature Genetics**, v. 43, n. 2, p. 109–116, 2011.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010.

SILVEIRA RODRÍGUEZ, M. B.; MONEREO MEGÍAS, S.; MOLINA BAENA, B. Alimentos funcionales y nutrición óptima. ¿Cerca o lejos? **Revista Espanola de Salud Publica**, v. 77, n. 3, p. 317–331, 2003.

SIMOPOULOS, A. P. N-3 fatty acids and human health: Defining strategies for public policy. **Lipids**, v. 36, n. S1, p. S83–S89, 2001.

SIMOPOULOS, A. P. Evolutionary aspects of Diet: The omega-6/omega-3 ratio and the brain. **Molecular Neurobiology**, v. 44, n. 3, p. 203–215, 2011.

SINGH, P.; GANDHI, N. Milk preservatives and adulterants: processing, regulatory and safety issues. n. February, p. 37–41, 2015.

SMITH, S. C. et al. AHA/ACCF secondary prevention and risk reduction therapy for patients with coronary and other atherosclerotic vascular disease: 2011 update: A guideline from the American Heart Association and American College of Cardiology Foundation. **Circulation**, v. 124, n. 22, p. 2458–2473, 2011.

SOUZA, A. H. P. et al. Effect of the addition of chia's by-product on the composition of fatty acids in hamburgers through chemometric methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 5, p. 928–935, 2015.

SOUZA, F. S. et al. Prebióticos, probióticos e simbióticos na prevenção e tratamento das doenças alérgicas. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 28, n. 1, p. 86–97, 2010.

SPERIDIÃO, P. DA G. L. No Title. **Pediatria Moderna**, v. 49, n. 7, p. 283 à 288, 2013.

STANTON, C. et al. Animal feeding strategies for conjugated linoleic acid enrichment of milk. In: **Advances in Conjugated Linoleic Acid Research**. Champaign: [s.n.].

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yoghurt: science and technology**. 2. ed. Cambridge: Woodhead Pub Limited, 1999.

TAMINE, A. Y. et al. Production and maintenance of viability of probiotic micro-organisms in dairy products. In: TAMINE, A. Y. (Ed.). . **Probiotic dairy products**. Oxford: Blackwell, 2005. p. 39–72.

TANMAHASAMUT, P. et al. Conjugated linoleic acid blocks estrogen signaling in human breast cancer cells. **J. Nutr.**, v. 134, n. 3, p. 674–680, 2004.

TOLENTINO, R. G. et al. Contenido de ácidos grasos en semillas de chía (*Salvia hispanica* L .) cultivadas en cuatro estados de México Fatty acid content in chia (*Salvia hispanica* L .) seeds grown in four Mexican states. v. 19, n. 1, p. 199–207, 2014.

TOMBINI, J. Aproveitamento tecnológico da semente de chia (*Salvia Hispanica* L .) na formulação de barra alimentícia Pato Branco – PR. p. 1–36, 2013.

TONIAL, I. B. et al. Caracterização físico-química e perfil lipídico do salmão (*Salmo salar* L.). **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, p. 93–98, 2010.

TOSCO, G. **Os benefícios da chia em humanos e animais**. [s.l: s.n.]. v. 119

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção de qualidade do leite**. Santa Maria: UFSM, 2010.

TSIPLAKOU, E.; MOUNTZOURIS, K. C.; ZERVAS, G. Concentration of conjugated linoleic acid in grazing sheep and goat milk fat. **Livestock Science**, v. 103, n. 1–2, p. 74–84, 2006.

TULIPANI, S. et al. Folate content in different strawberry genotypes and folate status in healthy subjects after strawberry consumption. **BioFactors**, v. 34, n. 1, p. 47–55, 2008.

ULBRICHT, T. L. V.; SOUTHGATE, D. A. T. Coronary heart disease: seven dietary factors. **The Lancet**, v. 338, n. 8773, p. 985–992, 1991.

UNDURTI, N. DAS. Essential fatty acids: Biochemistry, physiology and pathology. **Biotechnology Journal**, v. 1, n. 4, p. 420–439, 2006.

USDA. **USDA Specifications for Yogurt, Nonfat Yogurt and Lowfat Yogurt. Dairy Programs. Agricultural Marketing Services**. Washington United States Department of Agriculture, 2001.

USDA. **Department of Agriculture, Agriculture Research Service. US national nutrient for standard references, release 23. Fruits and fruit juices**, 2010.

VAN NIEUWENHOVE, C. P. et al. Influence of bacteria used as adjunct culture and sunflower oil addition on conjugated linoleic acid content in buffalo cheese. **Food Research International**, v. 40, n. 5, p. 559–564, 2007.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Probiotics—From Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 7, p. 714–728, jul. 2008.

VERBEKE, W. et al. Consumer perception versus scientific evidence about health benefits and safety risks from fish consumption. **Public Health Nutrition**, v. 8, n. 04, p. 422–429, 2005.

VINDEROLA, C. G. et al. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microbiota in Argentinian Fresco Cheese. **Journal Dairy Science**, v. 83, p. 1905–1911, 2000.

WANDERLEY, K.; OLIVEIRA, I. Determinação da Presença de Micotoxinas em Sementes de Chia (*Salvia Hispanica*) e Quinoa (*Chenopodium Quinoa*) Comercializadas no Município Recife-PE. In: **Anais do 12o Congresso Latinoamericano de Microbiologia e Higiene de Alimentos - MICROAL 2014**. São Paulo: Editora Blucher, 2014. v. 1p. 1–2.

WANG, H. et al. Yogurt consumption is associated with better diet quality and metabolic profile in American men and women. **Nutrition Research**, v. 33, n. 1, p. 18–26, 2013.

WEBER, C. W. et al. The nutritional and chemical evaluation of chia seeds. **Ecology of Food and Nutrition**, v. 26, n. 2, p. 119–125, 1991.

WEERATHILAKE, W. A. D. V et al. The evolution, processing, varieties and health benefits of yogurt. **International Journal of Scientific and Research Publications**, v. 4, n. 1, p. 2250–3153, 2014.

WILLIAMS, N. T. Probiotics. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 67, n. 6, p. 449–458, 2010.

WILSON, M. **Microbial inhabitants of humans: their ecology and role in health and disease**. Cambridge: Cambridge University Press, 2005.

YADAV, H.; JAIN, S.; SINHA, P. R. Production of free fatty acids and conjugated linoleic acid in probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* during fermentation and storage. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 8, p. 1006–1010, 2007.

ZERBIELLI, K. M. Bebida láctea fermentada com cultura probiótica adicionada de semente de chia (*Salvia hispanica* L.). 2014.

ZLATANOS, A. S. S.; TOURIANIS, G. K. A. Change of fatty acid profile, including conjugated linoleic acid (CLA) content, during refrigerated storage of yogurt made of cow and sheep milk. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 31, n. 1, p. 24–30, 2013.