



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

RAÍSSA SANT'ANA BUENO

**CULTURA MISTA DE KEFIR NO DESENVOLVIMENTO DE
BEBIDA FERMENTADA NÃO ALCOÓLICA DE PITAIA
(*Hylocereus polyrhizus*)**

Londrina
2018

RAÍSSA SANT'ANA BUENO

**CULTURA MISTA DE KEFIR NO DESENVOLVIMENTO DE
BEBIDA FERMENTADA NÃO ALCOÓLICA DE PITAIA
(*Hylocereus polyrhizus*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Wilma Aparecida Spinosa.

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Karla Bigetti Guergoletto.

Londrina
2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

B928c Bueno, Raíssa Sant'Ana.
Cultura mista de Kefir no desenvolvimento de bebida fermentada não alcoólica de pitaia (*Hylocereus polyrhizus* / Raíssa Sant'Ana Bueno. - Londrina, 2018.
84 f.: il.

Orientador: Wilma Aparecida Spinosa.

Coorientador: Karla Bigetti Guergoletto.

Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2018.

Inclui bibliografia.

1. Bebidas fermentadas - Teses. 2. Pitaia - Teses. 3. Antioxidantes - Teses. 4. Suco de maçã - Teses. I. Spinosa, Wilma Aparecida. II. Guergoletto, Karla Bigetti. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.

CDU 663.1

RAÍSSA SANT'ANA BUENO

**CULTURA MISTA DE KEFIR NO DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA
FERMENTADA NÃO ALCOÓLICA DE PITAIA (*Hylocereus
polyrhizus*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, nível mestrado, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Wilma Aparecida
Spinosa
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Neusa Fátima Seibel
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPR

Prof^a. Dr^a. Joice Sifuentes dos Santos
Universidade Norte do Paraná - UNOPAR

Londrina, 18 de abril de 2018.

À minha família e ao meu namorado, pelo
amor incondicional, carinho, incentivo,
compreensão e por sempre me apoiarem em
minhas decisões.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus por sempre me dar força e coragem para buscar meus objetivos e enfrentar todos os desafios, por me conceder sabedoria na escolha dos melhores caminhos e não me deixar desistir mesmo nos momentos mais difíceis.

À Prof^a. Dr^a. Wilma Aparecida Spinosa e à Prof^a. Dr^a. Karla Bigetti Guergoletto pela amizade, orientação, confiança e por transmitirem todos os seus conhecimentos em prol do meu desenvolvimento pessoal e profissional. Minha admiração, respeito e gratidão.

Aos membros da banca examinadora, pela disponibilidade de participar e pelas contribuições acerca desta dissertação.

Aos docentes do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos pelos ensinamentos e pela dedicação em suas disciplinas e no dia-a-dia, sempre dispostos a sanar dúvidas, e aos técnicos dos laboratórios pelo auxílio durante a rotina nos laboratórios.

Ao laboratório de Desenvolvimento de Instrumentação e Automação Analítica (DIA – UEL), e em especial à Prof^a. Dr^a. Suzana Lucy Nixdorf, Lycio Watanabe e Tiago Madeira pelo auxílio com as análises cromatográficas.

Ao Laboratório Multiusuário de Análise de Materiais e Moléculas (LAMM – UEL/FINEP) pelas análises de espectrometria de massas.

Ao produtor Ivan Freitas Junior (Sítio Rancho Verde, Assis/SP) pelo fornecimento da matéria-prima.

À Universidade Estadual de Londrina, pela infraestrutura e facilidades proporcionadas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro que foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

À toda minha família e em especial à minha mãe Genir pelo amor e carinho, pelo exemplo de força e por me dar a oportunidade de estudar e seguir uma profissão.

Ao meu namorado pelo amor, carinho, apoio e compreensão diários, por estar sempre presente mesmo à distância me incentivando e fortalecendo.

À todas as amigas feitas durante o período do mestrado, em

especial aos que participaram quase que diariamente da minha rotina tornando meus dias mais alegres e divertidos: Jéssica, Isadora, Jamile, Camila, Fernanda, Carolina, Rebeca, Ana Clara, José Renato, Daniel e Matheus.

A todos que, de alguma forma, contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

*“Toda conquista começa com
a decisão de tentar.”
(Gail Devers)*

BUENO, Raíssa Sant'Ana. **Cultura mista de Kefir no desenvolvimento de bebida fermentada não alcoólica de pitaia (*Hylocereus polyrhizus*)**. 2018. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

RESUMO

A pitaia é uma fruta exótica que tem ganhado espaço no mercado brasileiro pelas suas características sensoriais e suas propriedades nutracêuticas, e algumas pesquisas relatam a presença de compostos bioativos relacionados à atividade antioxidante. O desperdício pós-colheita de frutas gera prejuízos que podem ser minimizados através do desenvolvimento de novos produtos e processamentos, sendo a fermentação um deles. Diversos produtos fermentados do tipo conservas, derivados lácteos e bebidas alcoólicas e não alcoólicas representam uma parcela da oferta de produtos no mercado de alimentos e bebidas. Uma alternativa para a produção de bebidas fermentadas não alcoólicas é o uso da cultura mista de kefir, constituída por bactérias lácticas, acéticas e leveduras que fermentam leite, água açucarada ou sucos de frutas resultando em bebidas com sabor ácido, refrescante, ligeiramente carbonatada, de baixo teor alcoólico e acético. Visando diversificar o consumo de pitaia (*Hylocereus polyrhizus*), diminuir suas perdas pós-colheita e agregar valor ao fruto, o objetivo do trabalho foi caracterizar os frutos de pitaia e utilizá-los, juntamente com suco integral de maçã, para desenvolver bebidas não alcoólicas fermentadas por cultura mista de kefir, caracterizando-as e avaliando sua aceitação sensorial e sua estabilidade ao armazenamento sob temperatura de refrigeração (7°C) durante 28 dias. A caracterização da pitaia mostrou que esta pode ser considerada uma fruta de baixo valor energético, com alto conteúdo de água e fibras e com elevada atividade antioxidante. A produção das formulações FC (controle – água e açúcar mascavo), F1 (água, açúcar mascavo e polpa de pitaia) e F2 (água, açúcar mascavo, polpa de pitaia e suco integral de maçã) ocorreu em duas etapas de fermentação, à 25°C, durante 24 horas cada uma. Todas as formulações apresentaram teor alcoólico inferior à 0,5% e foram classificadas como não alcoólicas. A adição de polpa de pitaia em F1 e de polpa de pitaia e suco integral de maçã em F2 aumentou significativamente o teor de sólidos solúveis totais, a acidez, o teor alcoólico, o teor de fenólicos totais e a atividade antioxidante, e aportou fibra alimentar total. A adição de suco integral de maçã aumentou significativamente o teor de fenólicos totais e atividade antioxidante em F2, mas não influenciou nas notas de aceitação sensorial, tendo os avaliadores aceitado igualmente as formulações F1 e F2 em todos os atributos. Durante os 28 dias de armazenamento das formulações F1 e F2, em ambas houve redução de sólidos solúveis totais e pH, e aumento na acidez e no teor alcoólico, demonstrando que a temperatura de 7°C não foi suficiente para inibir totalmente a fermentação.

Palavras-chave: Atividade antioxidante. Caracterização. Sensorial. Maçã. Armazenamento.

BUENO, Raíssa Sant'Ana. **Mixed culture of kefir in the development of nonalcoholic fermented beverage of pitaia (*Hylocereus polyrhizus*)**. 2018. 84 p. Dissertation (Master's degree in Food Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

ABSTRACT

Pitaia is an exotic fruit that has gained space in the Brazilian market due to its sensorial characteristics and its nutraceutical properties, and some studies report the presence of bioactive compounds related to the antioxidant activity. The post-harvest waste of fruits generates losses that can be minimized through the development of new products and processes, with fermentation being one of them. Several fermented products of the canned type, dairy products and alcoholic and non-alcoholic beverages represent a portion of the product supply in the food and beverage market. An alternative for the production of non-alcoholic fermented beverages is the use of the mixed culture of kefir, consisting of lactic and acetic bacteria and yeast that ferment milk, sugary water or fruit juices resulting in acidic, refreshing, slightly carbonated, low alcohol and acetic. In order to diversify the consumption of pitaia (*Hylocereus polyrhizus*), to reduce its post-harvest losses and to add value to the fruit, the objective of the work was to characterize the fruits of pitaia and to use them, together with whole apple juice, to develop non-alcoholic beverages fermented by mixed culture of kefir, characterizing them and evaluating their sensory acceptance and their stability to storage under refrigeration temperature (7°C) for 28 days. The characterization of the pitaia showed that this can be considered a fruit of low energetic value, with high content of water and fibers and with high antioxidant activity. The production of the FC (control – water and brown sugar), F1 (water, brown sugar and pitaia pulp) and F2 (water, brown sugar, pitaia pulp and whole apple juice) formulations occurred in two fermentation steps at 25°C for 24 hours each. All formulations had an alcohol content lower than 0.5% and were classified as non-alcoholic. The addition of pitaia pulp in F1 and pitaia pulp and whole apple juice in F2 significantly increased the total soluble solids content, acidity, alcohol content, total phenolic content and antioxidant activity, and provided dietary fiber total. The addition of whole apple juice significantly increased the total phenolic content and antioxidant activity in F2, but did not influence the sensory acceptance scores, and the evaluators also accepted the F1 and F2 formulations in all attributes. During the 28 days of storage of the formulations F1 and F2, in both there was a reduction of total soluble solids and pH, and increase in acidity and alcohol content, demonstrating that the temperature of 7°C was not enough to totally inhibit the fermentation.

Keywords: Antioxidant activity. Characterization. Sensory. Apple. Storage.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Planta de pitaia (A) Pitaia de casca vermelha; (B) Pitaia de casca amarela.....22
- Figura 2.** Pitaias (A) *Hylocereus undatus*: casca vermelha e polpa branca; (B) *Hylocereus costarricensis*: casca vermelha e polpa vermelha; (C) *Selenicereus megalanthus*: casca amarela e polpa branca.....23
- Figura 3.** Grãos de kefir cultivados em (A) leite e (B) água e açúcar.....35
- Figura 4.** Fluxograma de produção de kefir de água36

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Características físico-químicas de <i>Hylocereus</i> sp. encontradas na literatura	26
---	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Composição centesimal de polpa de pitaia (<i>Hylocereus polyrhizus</i>).....	51
Tabela 2. Parâmetros físico-químicos de polpa de pitaia (<i>Hylocereus polyrhizus</i>).....	52
Tabela 3. Perfil de açúcares e ácidos orgânicos presentes em polpa de pitaia (<i>Hylocereus polyrhizus</i>).....	53
Tabela 4. Teor de fenólicos totais e atividade antioxidante em polpa de pitaia (<i>Hylocereus polyrhizus</i>).....	53

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos das formulações FC (água e açúcar mascavo), F1 (água, açúcar mascavo e polpa de pitaia) e F2 (água, açúcar mascavo, polpa de pitaia e suco integral de maçã).....	66
Tabela 2. Análise comparativa de aceitação sensorial entre as formulações F1 (água, açúcar mascavo e polpa de pitaia) e F2 (água, açúcar mascavo, polpa de pitaia e suco integral de maçã).....	69
Tabela 3. Parâmetros físico-químicos das formulações F1 (água, açúcar mascavo e polpa de pitaia) e F2 (água, açúcar mascavo, polpa de pitaia e suco integral de maçã) armazenadas sob refrigeração (7°C) durante 28 dias	71
Tabela 4. Teor alcoólico, fenólicos totais e atividade antioxidante das formulações F1 (água, açúcar mascavo e polpa de pitaia) e F2 (água, açúcar mascavo, polpa de pitaia e suco integral de maçã) armazenadas sob refrigeração (7°C) durante 28 dias	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid
ADP	Adenosina difosfato
ATP	Adenosina trifosfato
BOD	Demanda bioquímica de oxigênio
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DPPH	Radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EAG	Equivalente em ácido gálico
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FAT	Fibra alimentar total
FRAP	Poder antioxidante de redução do ferro
SST	Sólidos solúveis totais
UV	Radiação ultravioleta

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL.....	16
2.	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo geral.....	17
2.2	Objetivos específicos.....	18
3.	REFERÊNCIAS.....	18
CAPÍTULO 1 – Revisão Bibliográfica.....		22
1.1	Pitaia.....	22
1.2	Radicais livres e estresse oxidativo	27
1.3	Antioxidantes	28
1.4	Fermentação	31
1.5	Bebidas não alcoólicas.....	33
1.5.1	Bebidas não alcoólicas fermentadas.....	33
1.6	Cultura mista de kefir	35
2.	Referências	38
CAPÍTULO 2 – Caracterização físico-química, perfil de açúcares e ácidos orgânicos, fenólicos totais e atividade antioxidante de pitaia		46
1.	Introdução	47
2.	Material e Métodos	48
2.1	Matéria-prima	48
2.2	Metodologia científica.....	49
3.	Resultados e Discussão	50
4.	Conclusão.....	54
5.	Referências	54
CAPÍTULO 3 – Aceitação, caracterização e estudo da estabilidade ao armazenamento sob refrigeração de bebidas não alcoólicas de pitaia e maçã fermentadas por cultura mista de kefir.....		58
1.	Introdução	59

2.	Material e Métodos	61
2.1	Material	61
2.2	Métodos	62
2.2.1	Formulação das bebidas	62
2.2.2	Análises físico-químicas	62
2.2.3	Análises microbiológicas	64
2.2.4	Análise de aceitação sensorial	64
2.2.5	Análise estatística	65
3.	Resultados e Discussão	65
3.1	Análises físico-químicas	65
3.2	Análise de aceitação sensorial	68
3.3	Estabilidade ao armazenamento sob refrigeração (7°C)	69
4.	Conclusão	74
5.	Referências	74
	CONCLUSÃO GERAL	78
	ANEXOS	79
	ANEXO 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO NA FORMA DE CONVITE PARA OS AVALIADORES	79
	ANEXO 2 – FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL	81
	ANEXO 3 – CROMATOGRAMAS	82
	ANEXO 4 – INFORMAÇÕES: SUCO INTEGRAL DE MAÇÃ	84

1. INTRODUÇÃO GERAL

Ao longo dos anos, um número crescente de relatórios tem confirmado que o consumo de frutas e vegetais frescos podem proteger contra algumas doenças crônicas causadas pelo estresse oxidativo, tais como doenças cardiovasculares (REDDY & KATAN, 2004; VOKO et al., 2003) e diferentes tipos de câncer (FRYDOONFAR et al., 2003; HAKIMUDDIN et al., 2004; LARSSON et al., 2004). Isto é atribuído principalmente aos seus constituintes antioxidantes, especialmente vitamina C, carotenoides, compostos fenólicos, flavonoides, taninos e antocianidinas, que são conhecidos por possuir a capacidade de eliminar os radicais livres e inibir a peroxidação (SIMIRGIOTIS & SCHMEDA-HIRSCHMANN, 2010).

Dentre as frutas atualmente em expansão no mercado, encontram-se as diversas espécies de pitaiá. A espécie *Hylocereus undatus* passou a ser cultivada no Brasil na década de 1990 na região de Catanduva, Estado de São Paulo, e na década de 2000 outras espécies do mesmo gênero foram introduzidas, como *Hylocereus polyrhizus* e a chamada pitaiá nativa do Brasil ou pitaiá do Cerrado, *Selenicereus setaceus* (NUNES et al., 2014). Embora estejam em expansão no mercado mundial de frutas exóticas, com qualidade nutricional e sensorial, no Brasil a maioria dos estudos estão relacionados aos aspectos agrônômicos.

O desperdício de frutas e vegetais pós-colheita gera prejuízos (DIAS et al., 2003), e para evitá-los ou minimizá-los há a necessidade de desenvolver novos produtos e processamentos. Uma opção é a fermentação, um método usado para conservação de alimentos desde períodos em que técnicas de refrigeração não eram disponíveis. Diversos produtos fermentados do tipo conservas, derivados lácteos e bebidas alcoólicas e não alcoólicas representam uma parcela da oferta de produtos no mercado de alimentos e bebidas (KATZ, 2003; CIA, 2012).

O processo de fermentação agrega características sensoriais e/ou funcionais ao produto final e que são bem aceitas pelo consumidor. Apesar da conservação do alimento fermentado ser importante do ponto de vista econômico, o fator de prevalência no consumo é a qualidade sensorial. Estes produtos podem ter características ácidas, alcoólicas ou lácticas (KATZ, 2003; CIA, 2012). Os produtos da fermentação láctica e alcoólica estão presentes em alimentos triviais do público consumidor, como iogurte, pão, cerveja e vinho. Já o ácido acético produzido na fermentação acética é principalmente segmentado no vinagre. Este tem um consumo,

no Brasil, considerado pequeno quando comparado com outros países (KATZ, 2003; KATZ, 2012; MCGEE, 2004).

O consumo de bebidas não alcoólicas tem aumentado no Brasil de acordo com os dados do último relatório lançado pela Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas Não Alcoólicas (ABIR). Estes dados indicam que entre os anos de 2010 e 2016 houve um crescimento de 4,7% no consumo per capita de bebidas não alcoólicas e que o volume de produção destas bebidas cresceu 13,7% neste mesmo período (ABIR, 2016). Estas bebidas, cuja graduação alcoólica não deve ultrapassar 0,5% (v.v⁻¹) à 20°C de álcool etílico, são regulamentadas pela legislação brasileira através do decreto nº 6.871, de 4 de junho 2009, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2009).

A cultura mista de kefir é uma opção para a produção de bebidas não alcoólicas. É constituída de bactérias lácticas, leveduras e algumas bactérias acéticas que produzem baixo teor de álcool durante a fermentação. Pode ser inoculada em leite, água açucarada ou sucos de frutas, pois estes contêm água, açúcar, proteínas, aminoácidos, vitaminas e minerais que, juntos, são um meio adequado e rico para o crescimento e desenvolvimento dos microrganismos presentes na cultura mista de kefir. Além disso, a fermentação destes substratos faz com que as bebidas de kefir apresentem sabor ácido, refrescante, ligeiramente carbonatado, com baixo teor alcoólico e acético (JIANZHONG et al., 2009; ÖZDEMIR et al., 2015; MARSH et al., 2013; RANDAZZO et al., 2016).

Frente a isso, e visando diversificar o consumo de pitaiia (*Hylocereus polyrhizus*), diminuir suas perdas pós-colheita e agregar valor ao fruto, o objetivo do trabalho foi caracterizar os frutos de pitaiia (*Hylocereus polyrhizus*) e utilizá-las para desenvolver bebidas não alcoólicas fermentadas por cultura mista de kefir, caracterizando-as e avaliando sua aceitação sensorial e sua estabilidade ao armazenamento sob temperatura de refrigeração (7°C) durante 28 dias.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Caracterizar a polpa de pitaiia, desenvolver e caracterizar bebidas não alcoólicas fermentadas por cultura mista de kefir a partir de polpa de pitaiia e suco integral de maçã, e avaliar a estabilidade destas bebidas armazenadas

sob temperatura de refrigeração (7°C).

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar a polpa de pitaia quanto à sua composição centesimal (umidade, cinzas, proteínas, lipídios, carboidratos e fibra alimentar total), seu valor energético e seus parâmetros físico-químicos (teor de sólidos solúveis totais, pH, acidez total titulável, perfil de açúcares e ácidos orgânicos, teor de fenólicos totais e atividade antioxidante);
- Desenvolver e caracterizar bebidas não alcoólicas fermentadas por cultura mista de kefir a partir de polpa de pitaia e suco integral de maçã quanto ao teor de sólidos solúveis totais, pH, acidez total titulável, fibra alimentar total, perfil de açúcares e ácidos orgânicos, teor alcoólico, teor de fenólicos totais e atividade antioxidante;
- Avaliar a aceitação sensorial das bebidas;
- Avaliar a estabilidade das bebidas armazenadas sob temperatura de refrigeração (7°C) durante 28 dias em relação ao teor de sólidos solúveis totais, pH, acidez total titulável, teor alcoólico, teor de fenólicos totais e atividade antioxidante.

3. REFERÊNCIAS

ABIR. Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de bebidas não alcoólicas. **Volume de produção e consumo per-capita do mercado brasileiro de bebidas não alcoólicas dos anos de 2010 a 2016. 2016.** Disponível em:

<<https://abir.org.br/o-setor/dados/x-todas-as-bebidas-nao-alcoolicas/>> Acesso em: 04/02/2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 6.871 de 4 de junho de 2009. Regulamenta a lei nº 8.918 de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a padronização e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, p. 20-29, 2009.

CIA, The Culinary Institute of America. **The professional chef.** 9ª ed. New York: John Wiley & Sons, 2012.

- DIAS, D. R.; SCHWAN, R. F.; LIMA, L. C. O. Metodologia para elaboração de fermentado de cajá (*Spondias mombin* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 342-350, 2003.
- FRYDOONFAR, H. R.; MCGRATH, D. R.; SPIGELMAN, A. D. The variable effect on proliferation of a colon cancer cell line by the citrus fruit flavonoid Naringenin. **Colorectal Disease**, v. 5, p. 149–152, 2003.
- HAKIMUDDIN, F.; PALIYATH, G.; MECKLING, K. Selective cytotoxicity of a red grape wine flavonoid fraction against MCF-7 cells. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 85, p. 65–79, 2004.
- JIANZHONG, Z.; XIAOLI, L.; HANHU, J.; MINGSHENG, D. Analysis of the microflora in Tibetan Kefir grains using denaturing gradient gel electrophoresis. **Food Microbiology**, v. 26, n. 8, p. 770-775, 2009.
- KATZ, S. E. **The art of fermentation: an in-depth exploration of essential concepts and processes from around the world**. Burlington: Chelsea Green Publishing, 2012.
- KATZ, S. E. **Wild fermentation: the flavor, nutrition, and craft of live-culture foods**. Burlington: Chelsea Green Publishing, 2003.
- LARSSON, S. C.; HOLMBERG, L.; WOLK, A. Fruit and vegetable consumption in relation to ovarian cancer incidence: the Swedish mammography cohort. **British Journal of Cancer**, v. 90, p. 2167–2170, 2004.
- MARSH, A. J.; O’SULLIVAN, O.; HILL, C.; ROSS, R. P.; COTTER, P. D. Sequence-based analysis of the microbial composition of water kefir from multiple sources. **FEMS Microbiololy Letters**, v. 348, n. 1, p. 79-85, 2013.
- MCGEE, H. **On food and cooking: the Science na lore of the kitchen**. New York: Scribner, 2004. 896p.
- NUNES, E. N.; SOUSA, A. S. B.; LUCENA, C. M.; SILVA, S. M.; LUCENA, R. F. P.; ALVES, C. A. B.; ALVES, R. E. Pitaia (*Hylocereus* sp.): uma revisão para o Brasil. **Gaia Scientia**, v. 8, n. 1, p. 90-98, 2014.

ÖZDEMİR, N.; KÖK-TAS, T.; GUZEL-SEYDIM, Z. Effect of *Gluconacetobacter* spp. on Kefir grains and Kefir quality. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, n.1, p. 99-106, 2015.

RANDAZZO, W.; CORONA, O.; GUARCELLO, R.; FRANCESCA, N.; GERMANÀ, M. A.; ERTEN, H.; MOSCHETTI, G.; SETTANNI, L. Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. **Food Microbiology**, v. 54, p. 40-51, 2016.

REDDY, K. S.; KATAN, M. B. Diet, nutrition and the prevention of hypertension and cardiovascular diseases. **Public Health Nutrition**, v. 7, p. 167–186, 2004.

SIMIRGIOTIS, M. J.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Determination of phenolic composition and antioxidant activity in fruits, rhizomes and leaves of the white strawberry (*Fragaria chiloensis* spp. *chiloensis form chiloensis*) using HPLC-DAD–ESI-MS and free radical quenching techniques. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 545–553, 2010.

VOKO, Z.; HOLLANDER, M.; HOFMAN, A.; KOUDSTAAL, P. J.; BRETELER, M. M. B. Dietary antioxidants and the risk of ischemic stroke: The Rotterdam Study. **Neurology**, v. 61, p. 1273–1275, 2003.

A dissertação apresenta-se na forma de 3 capítulos distintos, descritos abaixo, seguidos da conclusão geral e anexos:

1 – Revisão Bibliográfica: Pitaia; Radicais livres e estresse oxidativo; Antioxidantes; Fermentação; Bebidas não alcoólicas; Bebidas não alcoólicas fermentadas; Cultura mista de kefir;

2 – Artigo: Caracterização físico-química, perfil de açúcares e ácidos orgânicos, fenólicos totais e atividade antioxidante de pitaia;

3 – Artigo: Aceitação, caracterização e estudo da estabilidade ao armazenamento sob refrigeração de bebidas não alcoólicas de pitaia e maçã fermentadas por cultura mista de kefir.

CAPÍTULO 1 – Revisão Bibliográfica

1.1 Pitaia

A pitaia, pitaya, pitahaya ou fruta-do-dragão, como também é conhecida, é uma planta originária da América Latina e deriva das plantas epífitas trepadeiras pertencentes à família Cactaceae (STINTZING et al., 2002). Encontram-se distribuídas pela Costa Rica, Venezuela, Panamá, Uruguai, Brasil, Colômbia, México, Estados Unidos, Israel, Malásia e Tailândia (CANTO, 1993; ORTIZ-HERNÁNDEZ & CARRILLO-SALAZAR, 2012).

A etimologia do termo pitaia, segundo a enciclopédia britânica, originou-se da palavra pitahaya, o que reportou uma civilização pré-colombiana que habitava algumas ilhas da América Central, os Tainos, e tem por significado “fruta escamosa” (NUNES et al., 2014), podendo apresentar casca de coloração vermelha ou amarela (Figura 1).

Figura 1. Planta de pitaia (A) Pitaia de casca vermelha; (B) Pitaia de casca amarela.



Fonte: A - <http://lilliverdi.blogspot.com.br/2012/05/plantio-de-pitaya-video.html>;

B - <http://antoniolst.net/html/Pitaya.html>

Na América Central e do Sul, "pitaya" e "pitahaya" têm o mesmo significado. No entanto, no México, o termo "pitahaya" é usado para frutas de cactos epífitos como o *Hylocereus*, enquanto "pitaya" é usado para frutas de cactos semelhantes a colunas (ORTIZ-HERNÁNDEZ & CARRILLO-SALAZAR, 2012).

As plantas da família Cactaceae são capazes de tolerar calor e frio extremos, períodos de estiagem e solos pobres em nutrientes. Esta característica se deve ao fato de apresentarem, em sua estrutura, modificação do caule para

armazenamento de água, redução ou ausência de folhas, superfícies recobertas com ceras naturais e abertura noturna dos estômatos para a absorção de dióxido de carbono (metabolismo CAM), que permite que as mesmas tolerem as mais diferentes condições (NUNES et al., 2014).

As espécies de pitaias do gênero *Hylocereus* apresentam diversos tipos de polimorfismo relacionados à flor, caule e fruto. Estas características podem ser tão contrastantes que dificultam a identificação taxonômica (ORTIZ-HERNÁNDEZ & CARRILLO-SALAZAR, 2012).

Há autores que consideram a existência de 14 espécies de *Hylocereus*: nove delas foram registradas no México, mas somente quatro são amplamente encontradas no país (*Hylocereus undatus*, *H. purpussi*, *H. triangularis*, *H. ocamponis*). Na Nicarágua é possível encontrar *H. costarricensis* e, na Colômbia e Peru, *H. megalanthus* (também conhecida como *Selenicereus megalanthus*) (ORTIZ-HERNÁNDEZ & CARRILLO-SALAZAR, 2012).

Há três espécies de pitaias de valor comercial no mundo: a de casca vermelha e polpa branca, *H. undatus*, a de casca vermelha e polpa vermelha, *H. costarricensis*, e a de casca amarela, com espinhos e polpa branca, *Selenicereus megalanthus* (MENEZES et al., 2015) (Figura 2). A polpa, delicada e succulenta, apresenta grande número de sementes pequenas e macias (NERD et al., 1999).

Figura 2. Pitaias (A) *Hylocereus undatus*: casca vermelha e polpa branca; (B) *Hylocereus costarricensis*: casca vermelha e polpa vermelha; (C) *Selenicereus megalanthus*: casca amarela e polpa branca.



Fonte: A - <http://pr.olx.com.br/regiao-de-curitiba-e-paranagua/jardinagem-e-construcao/muda-de-pitaya-vermelha-76168139>

B - <http://dicasdieta.com.br/beneficios-da-pitaya/>

C - <http://www1.folha.uol.com.br/revista/rf0912200705.htm>

No México e na América Central, diversas espécies de *Hylocereus* são cultivadas em pomares familiares utilizando tecnologia básica, enquanto que

países como Israel, Malásia, Tailândia e Estados Unidos utilizam tecnologia avançada resultando em altos rendimentos. Em Israel chega-se a colher 40 toneladas de frutos por hectare de plantação (ORTIZ-HERNÁNDEZ & CARRILLO-SALAZAR, 2012).

A demanda por frutas exóticas por parte dos consumidores tem aumentado, movimentando este mercado até então desconhecido e/ou pouco cultivado no Brasil, como é o caso da pitaia (ANDRADE et al., 2008).

Do ponto de vista nutricional, a pitaia (*Hylocereus* sp.) é rica em vitaminas e fibras que auxiliam no processo digestivo, previnem o câncer de cólon, o diabetes, neutralizam substâncias tóxicas e ajudam a reduzir os níveis de colesterol e a hipertensão arterial. Em Taiwan, os diabéticos utilizavam a fruta como um substituto alimentar do arroz e como fonte de fibra dietética (NUNES et al., 2014; ZAINOLDIN & BABA, 2009). Destaca-se também pelo seu sabor e pela textura da polpa com sua grande quantidade de sementes, lembrando o kiwi (*Actinidia deliciosa*), e pelas especulações sobre seu conteúdo de compostos bioativos, sobretudo pigmentos e compostos fenólicos (NUNES et al., 2014).

A partir da polpa e da casca da pitaia pode-se extrair pectina e pigmentos naturais utilizando tecnologias domésticas ou industriais. Dentre os pigmentos encontram-se as betalaínas, localizadas principalmente nos vacúolos das plantas, e que se dividem em dois grupos distintos: betacianinas e betaxantinas (ORTIZ-HERNÁNDEZ & CARRILLO-SALAZAR, 2012; WYBRANIEC et al., 2007; CAI et al., 2005). Sua cor vermelho-violeta pode ser atribuída às betacianinas (WU et al., 2006). Segundo Tenore et al. (2012), as betacianinas são 10 vezes mais abundantes na casca do que na polpa, entretanto as frações polifenólicas de ambas as partes foram capazes de inibir a presença de potenciais patógenos, leveduras e fungos, além de apresentar efeitos benéficos através do consumo diário. Similarmente, Wu et al. (2006) demonstraram que tanto a polpa quanto a casca da pitaia são ricas em polifenóis com capacidade antioxidante, entretanto a casca apresenta maior capacidade de inibir células cancerígenas do tipo melanomas.

Wu et al. (2006) encontraram um teor de flavonoides de 7,21mg de equivalentes de catequina em 100g de polpa de pitaia vermelha (*H. polyrhizus*) e 0,77mg de equivalentes de catequina por grama de extrato da polpa. O autor não encontrou antocianinas na pitaia vermelha. Charoensiri et al. (2009) analisaram polpas de pitaia branca (*H. undatus*) e encontraram 1,4mg.100g⁻¹ de beta-caroteno,

3,4 μ g.100g⁻¹ de licopeno e 0,26mg.100g⁻¹ de vitamina E. Wichienchot et al. (2010) encontraram teores de glicose de 353g.kg⁻¹ e 401g.kg⁻¹ em polpas de *H. undatus* e *H. polyrhizus*, respectivamente, e teores de frutose de 238g.kg⁻¹ e 158g.kg⁻¹, respectivamente.

Durante o período pré-hispânico, no México, a espécie *H. undatus* era usada como alimento devido à suas propriedades terapêuticas diuréticas, contra doenças cardíacas, desinfetante de feridas e na cura da disenteria. O fruto era consumido cru ou como matéria-prima para a produção de vinhos, sucos, geleias, iogurtes, compotas, conservas e outras sobremesas (ORTIZ-HERNÁNDEZ & CARRILLO-SALAZAR, 2012).

Zainoldin & Baba (2009) avaliaram os efeitos da adição de polpa de *H. undatus* e *H. polyrhizus* em iogurte e concluíram que favoreceu para o aumento da taxa de fermentação e, conseqüentemente, do teor de ácido láctico, além do aumento da atividade antioxidante e do teor de fenólicos totais.

O teor de sólidos solúveis nas espécies de *Hylocereus* tem uma distribuição não homogênea, sendo o núcleo a parte mais rica em açúcares. Os sólidos solúveis consistem principalmente de açúcares redutores, mais especificamente glicose e frutose, com conteúdo variando entre 30 e 55g.L⁻¹, e 4 e 20g.L⁻¹, respectivamente, dependendo da variedade e da cultivar, conforme mostrado na Tabela 1 (VAILLANT et al., 2005; LE BELLEC, 2003; STINTZING et al., 2003).

De acordo com estudo feito por Wichienchot et al. (2010), as polpas das espécies *H. undatus* e *H. polyrhizus* apresentaram, respectivamente, 8,6 e 9,0% de oligossacarídeos com potencial prebiótico. O peso molecular dos oligossacarídeos encontrados na pitáia estava no mesmo intervalo de alguns prebióticos comerciais como frutooligossacarídeo sintetizado a partir de sacarose, oligofrutose derivada da hidrólise enzimática da inulina e oligossacarídeo obtido da extração do grão de soja.

As sementes da pitáia contêm um nível elevado de lipídeos funcionais como, por exemplo, oleico, linoleico e linolênico, e que podem ser utilizadas como uma nova fonte de óleo essencial (LIM et al., 2010), sendo comparativamente superior aos óleos de gergelim (*Sesamun indicum*) e canola (*Brassica napu*) (ARIFFIN et al., 2009).

Tabela 1. Características físico-químicas de *Hylocereus* sp. encontradas na literatura
*pitaia de casca vermelha e polpa branca **pitaia de casca vermelha e polpa vermelha

	Vaillant et al. (2005)	Le Bellec (2003)	Stintzing et al. (2003)
pH	4,3 - 4,7**	Não determinado	4,6* / 4,4**
Matéria seca (%)	11,6 - 12,0**	Não determinado	Não determinado
Acidez total titulável (g.L ⁻¹)	2,4 - 3,0**	Não determinado	3,3* / 3,4**
Sólidos solúveis (°Brix)	7,1 - 10,7**	Não determinado	9,4* / 10,7**
Proteínas (%)	Não determinado	1,20* / 1,25**	Não determinado
Lipídios (%)	Não determinado	1,17* / 1,43**	Não determinado
Glicose (g.L ⁻¹)	30,0 - 54,0**	Não determinado	46,6* / 55,4**
Frutose (g.L ⁻¹)	4,0 - 7,0**	Não determinado	18,4* / 19,2**
Potássio (mg.L ⁻¹)	Não determinado	Não determinado	3995,0* / 3284,0**
Sódio (mg.L ⁻¹)	Não determinado	Não determinado	33,0* / 733,0**
Magnésio (mg.L ⁻¹)	Não determinado	Não determinado	265,5* / 312,5*
Cálcio (mg.L ⁻¹)	Não determinado	Não determinado	30,6* / 23,2**
Energia (kcal.100 g ⁻¹)	Não determinado	37,9* / 41,7**	Não determinado

Fonte: Vaillant et al. (2005); Le Bellec (2003); Stintzing et al. (2003).

Os frutos são não-climatéricos (ZEE et al., 2004), assim devem estar no estágio ótimo de amadurecimento comestível à época da colheita e, para que apresentem maior qualidade, devem ser deixados na planta até atingirem a composição desejável (CHITARRA & CHITARRA, 2005). O amadurecimento do fruto da pitaia de casca vermelha se inicia com uma coloração vermelha e termina com a queda do fruto. Para evitar esta queda, os produtores colhem em um estágio intermediário (YAH et al., 2008).

Em estudo de análise sensorial, Yah et al. (2008) relataram que a pitaia tem maior aceitabilidade quando colhida entre 29 e 31 dias após a antese (abertura das flores) e apresenta uma vida útil de 1, 2 e 3 semanas quando armazenada em temperaturas de 20, 14 e 6°C, respectivamente (NERD et al., 1999).

As espécies do gênero *Hylocereus* são fonte potencial na área de alimentos, medicina e produção industrial. Podem ser processadas por congelamento,

concentração, desidratação, fermentação, tratamento térmico ou conservação química. Apesar de apresentar tal potencial, se faz necessário realizar pesquisas tanto sobre seu comportamento sob diversas condições climáticas quanto sobre sua fisiologia e o efeito do nitrogênio e outros nutrientes na fotossíntese líquida e no seu crescimento, para entender melhor as doenças e o controle de pragas durante a propagação das plantas, a produção dos frutos e a vida dos frutos pós-colheita (ORTIZ-HERNÁNDEZ & CARRILLO-SALAZAR, 2012).

1.2 Radicais livres e estresse oxidativo

O termo radical livre refere-se a qualquer átomo ou molécula que possui um ou mais elétrons desemparelhados nos orbitais externos. Isto o torna altamente reativo, podendo reduzir ou oxidar qualquer composto que esteja próximo de sua órbita para tornar-se estável. Desta maneira, apresenta uma função oxidante ou redutora de elétrons para poder estabilizar-se (SHAMI & MOREIRA, 2004).

Há muitos radicais livres conhecidos como, por exemplo, hidroxila (OH^\bullet), oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$), monóxido de nitrogênio (NO^\bullet), dióxido de nitrogênio (NO_2^\bullet), e superóxido (O_2^\bullet). Este último pode ser considerado o mais comum e abundante nas células (SALVADOR & HENRIQUES, 2004).

Os radicais livres são produzidos continuamente durante os processos metabólicos (no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana) ou através de fontes exógenas (radiações gama e ultravioleta, medicamentos, dieta, cigarro e poluentes ambientais) e atuam como mediadores realizando a transferência de elétrons nas reações bioquímicas (BIANCHI & ANTUNES, 1999; SHAMI & MOREIRA, 2004).

Estas reações são comuns em sistemas biológicos e alimentícios. Uma pequena quantidade de radicais livres é necessária para a manutenção da vida, entretanto sua produção excessiva pode causar diversos danos nas células. Nos alimentos ela pode ser tanto benéfica quanto deletéria, neste último caso pode causar a degradação de lipídeos, vitaminas e pigmentos, resultando na perda de valor nutricional e desenvolvimento de sabor indesejável (SHAMI & MOREIRA, 2004; DAMORADAN et al., 2010).

O aumento na velocidade de produção de radicais livres, a diminuição nos níveis de enzimas antioxidantes ou uma combinação de ambas as condições

resulta num processo de estresse oxidativo. Este processo está ligado ao aparecimento de doenças como arterosclerose, diabetes, mal de Alzheimer, câncer, desordens neurológicas, envelhecimento, entre outras (SALVADOR & HENRIQUES, 2004).

1.3 Antioxidantes

Os compostos antioxidantes podem ser definidos como qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações em um meio com substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato. Podem ser enzimáticos ou não-enzimáticos e encontram-se localizados no organismo, seja dentro das células ou na circulação sanguínea, e nos alimentos (SHAMI & MOREIRA, 2004).

No sistema enzimático estão presentes as enzimas antioxidantes superóxido-dismutase, glutathiona-peroxidase e as catalases, que são capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem os radicais livres. No sistema não-enzimático destacam-se alguns minerais (cobre, manganês, zinco, selênio e ferro), vitaminas (A, C e E), carotenoides (beta-caroteno, licopeno e luteína), bioflavonoides (genisteína e quercetina) e taninos (catequinas), que interagem com as espécies radicalares e são consumidas durante a reação (SHAMI & MOREIRA, 2004; MOREIRA & MANCINI-FILHO, 2004).

Os antioxidantes podem ser classificados em primários e secundários. Os primários, que incluem os compostos fenólicos, atuam interrompendo a reação através da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis e/ou reagindo com os radicais livres. Os secundários atuam retardando a etapa de iniciação da auto-oxidação por diferentes mecanismos que incluem complexação de metais, como é o caso do ácido cítrico e do EDTA; sequestro de oxigênio, como é o caso do ácido ascórbico e do sulfito; decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radical, absorção da radiação ultravioleta ou desativação de oxigênio singleto (BERTOLDI, 2006; ANGELO & JORGE, 2007).

Os compostos fenólicos compreendem uma grande classe de metabólitos secundários de plantas e são derivados de reações de defesa contra agressões do ambiente. Vão desde compostos de estrutura simples, como os ácidos fenólicos, até polifenóis mais complexos, como os flavonoides, somando mais de

8.000 estruturas fenólicas conhecidas. Ocorrem principalmente na forma conjugada, com um ou mais resíduos de açúcares ligados à hidroxila, sendo a glicose o resíduo de açúcar mais comum presente, mas também são encontrados ácidos orgânicos, aminas orgânicas, lipídios e outros fenóis. Por possuírem inúmeras atividades biológicas, vem sendo estudados por contribuírem na manutenção de uma vida saudável associada a uma dieta de consumo de frutas e vegetais (CHEYNIER, 2012; BRAVO, 1998).

Na família dos compostos fenólicos largamente distribuídos na natureza e que são encontrados geralmente em todo reino vegetal tem-se os flavonoides (antocianinas, flavonóis e seus derivados), ácidos fenólicos (ácidos benzóico, cinâmico e seus derivados) e cumarinas (ANGELO & JORGE, 2007).

O maior grupo de fenóis de plantas, os flavonoides, são compostos de baixo peso molecular que geralmente ocorrem ligados a moléculas de açúcar. Os flavonoides estão divididos em antocianinas, que são moléculas de pigmento vermelho, azul e roxo; e antoxantinas, que incluem flavonóis, flavonas, flavanóis e isoflavonas, que são moléculas incolores ou variam de brancas a amarelas (KING & YOUNG, 1999).

Os flavonóis são os flavonoides mais amplamente distribuídos e são representados por diversos compostos, dentre eles a quercetina, o kaempferol e a miricetina, considerados os mais comuns. A quercetina é um constituinte fenólico principal das plantas e é considerado, quantitativamente, o flavonoide dietético mais importante (KING & YOUNG, 1999).

Os flavanóis dietéticos, como a catequina e a epicatequina, ocorrem na forma combinada ou como polímeros de tanino condensados em frutas, leguminosas e grãos. Os ácidos gálico e elágico podem formar polímeros hidrolisáveis que também dão origem aos taninos, e estes são encontrados em bagas e nozes. Os taninos são compostos de alto peso molecular que reagem com as proteínas da boca, causando uma adstringência (KING & YOUNG, 1999).

As isoflavonas são encontradas quase que exclusivamente na família das leguminosas e ocorrem em quantidades elevadas apenas na soja. São estáveis ao calor, ligeiramente solúveis em água e muito solúveis em álcool. As principais isoflavonas são a genisteína e daidzeína (KING & YOUNG, 1999).

Os ácidos fenólicos incluem os ácidos hidroxibenzoico e hidroxicinâmico. Os dois principais ácidos hidroxibenzoicos dietéticos são os ácidos elágico e gálico, que geralmente ocorrem como taninos. Já os principais ácidos hidroxicinâmicos da dieta são o cafeico e o ferúlico, que são sensíveis ao calor (KING & YOUNG, 1999).

Os flavonoides têm mostrado uma importante atividade antioxidante contra os radicais superóxido, hidroxila e peróxido lipídico, baseando-se principalmente nas propriedades redutoras de seus grupos hidroxil e na relação estrutural entre diferentes partes da sua estrutura química (BENAVENTE-GARCÍA, 2000).

A capacidade antioxidante de cada composto fenólico não é semelhante ou apresenta o mesmo grau de eficácia em relação a cada um dos radicais mencionados, ela depende dos diferentes mecanismos de ação de cada caso em particular e é determinada por uma combinação destes elementos estruturais. Portanto, compostos fenólicos presentes em maior concentração não são necessariamente os que possuem o maior poder antioxidante das amostras (BENAVENTE-GARCÍA, 2000).

Os compostos fenólicos possuem também efeitos antimicrobianos e os polifenóis apresentam diversas atividades biológicas como antioxidante, antienvhecimento, anticâncer, anti-inflamatória, antiesclerose, proteção cardiovascular, melhoria na função endotelial, bem como na inibição da angiogênese, e atividade de proliferação celular (DU et al., 2011; BOYER & LIU, 2004; HAN et al., 2007). Devido a isso, extratos de frutas e vegetais têm sido incorporados em várias formulações de alimentos, principalmente suplementos alimentares e filmes comestíveis, tanto pelas suas propriedades antioxidantes e sua eficácia contra alguns agentes patogênicos de origem alimentar, mas também como conservantes alimentares (DU et al., 2011; ELFALLEH et al., 2011).

Durante o processamento e armazenamento de alimentos, os compostos fenólicos das plantas são convertidos em uma variedade de produtos que contribuem para a qualidade do alimento, juntamente com os compostos originais da planta, caracterizando seu aroma e sabor (CHEYNIER, 2012).

A constante preocupação em proporcionar aos consumidores produtos de alta qualidade levou à adoção de medidas que permitem limitar o

fenômeno de oxidação durante o processamento e a armazenagem dos produtos alimentícios. Exemplos destas medidas são a escolha de processos que limitem as operações de arejamento, utilização de matérias-primas isentas de pró-oxidantes, adição de antioxidantes, armazenamento a baixas temperaturas e em atmosfera inerte, e utilização de embalagens impermeáveis e opacas que abrigam contra radiação UV (SILVA et al., 1999).

Existem vários métodos de avaliação da atividade antioxidante em alimentos, tais como DPPH e ABTS, cujo mecanismo de reação está em reduzir radicais, e FRAP, que mede a capacidade de redução do ferro (WU et al., 2006).

1.4 Fermentação

O processo fermentativo compreende um conjunto de reações enzimaticamente controladas que degradam uma molécula orgânica em compostos mais simples, liberando energia. O processo inicia-se com a ativação da glicose, que recebe em reações sucessivas dois fosfatos energéticos fornecidos por duas moléculas de ATP (adenosina trifosfato) que se transformam em ADP (adenosina difosfato). A glicose, por sua vez, se transforma em gliceraldeído 1,3-difosfato. Ao final, cada gliceraldeído é transformado em ácido pirúvico e o rendimento é de duas moléculas de ATP para cada molécula de glicose degradada (CORAZZA et al., 2001).

As fermentações alcoólica e láctica partem da degradação da glicose que, posteriormente, será convertida em etanol, com desprendimento de CO₂ pela ação de leveduras na fermentação alcoólica, e em ácido láctico, pela ação de bactérias lácticas na fermentação láctica. A fermentação acética se dá posteriormente à alcoólica, quando as bactérias acéticas presentes transformarão o etanol e o CO₂ produzidos em ácido acético e água (LEHNINGER, 2014).

O objetivo da fermentação é de transformar matérias-primas em produtos de alto valor agregado. Ao utilizar-se microrganismos para este fim, estes consumirão a matéria-prima como substrato a fim de promover seu crescimento e desenvolver suas atividades metabólicas. Desta forma, conhecer e identificar os microrganismos presentes é essencial para compreender o processo de fermentação (FARNWORTH, 2008).

O conhecimento a respeito dos microrganismos começou em 1680, quando Antony Van Leeuwenhock demonstrou a existência de microrganismos

através do uso de microscópios. Na metade do século 19, Louis Pasteur também contribuiu significativamente no entendimento do processo de fermentação, provando que existiam muitos tipos de fermentações e estabelecendo o papel dos microrganismos em cada uma delas (FARNWORTH, 2008).

A fermentação láctica é realizada pelas bactérias lácticas, que compreendem um grupo composto por vários gêneros como, por exemplo, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus* e *Paralactobacillus*. Estes gêneros apresentam algumas características em comum: são gram-positivos, geralmente imóveis, não produzem esporos, quase sempre catalase-negativo e anaeróbios aerotolerantes. Uma importante diferença dentre os subgrupos das bactérias lácticas são os produtos formados durante a fermentação dos carboidratos: enquanto um grupo, denominado “homofermentativo”, produz ácido láctico como único ou principal produto, o outro grupo, denominado “heterofermentativo”, produz etanol, CO₂ e lactato em quantidades equimolares (MADIGAN et al., 2014; JAY, 2005). Em geral, são mesofílicas, mas em situações específicas podem crescer em temperaturas baixas (5°C) ou altas (45°C). A maioria das linhagens cresce em pH 4-4,5. São pouco proteolíticas e lipolíticas e requerem aminoácidos pré-formados, purina, pirimidina e vitaminas do complexo B para seu crescimento (JAY, 2005).

As leveduras, responsáveis pela fermentação alcoólica, utilizam como fonte de carbono para seu desenvolvimento açúcares facilmente assimiláveis como glicose, frutose, manose, galactose, maltose, lactose hidrolisada, entre outros. A sacarose também pode ser utilizada pois será hidrolisada a glicose e frutose antes de ser transportada para o interior da célula. As leveduras possuem, predominantemente, as vitaminas do complexo B, constituindo assim uma excelente fonte destas vitaminas para a nutrição humana e animal. Na fermentação, as leveduras fornecem aminoácidos e vitaminas, alteram o pH, liberam etanol e produzem CO₂. São menos estudadas que as bactérias, apesar de fornecerem ambiente para o crescimento destas e produzirem metabólitos que contribuem para o sabor das bebidas (CARNEIRO, 2010).

O processo de fermentação de alimentos e bebidas datam desde a antiguidade até os dias atuais e apresenta importância tecnológica e sensorial.

Imagina-se que a arte da fermentação tenha se originado no subcontinente indiano, antes da civilização do Vale do Indo (FARNWORTH, 2008; RAY et al., 2016).

Evidências arqueológicas indicam que o processo de fermentação de alimentos foi descoberto acidentalmente há mais de mil anos e desconfia-se de que a primeira fermentação tenha ocorrido durante a estocagem de leite em excesso, resultando num produto fermentado no dia seguinte (FARNWORTH, 2005; FARNWORTH, 2008).

As transformações em um determinado alimento, resultantes da fermentação, ocorrem tanto na aparência quanto nas propriedades físico-químicas. Permitem a conservação dos alimentos durante a entressafra ou aumentam a vida de prateleira de produtos perecíveis. Atualmente, há mais de 5.000 tipos de alimentos fermentados que são consumidos em todo o mundo (RAY et al., 2016).

Depois da secagem, a fermentação é o mais antigo método de conservação dos alimentos. Este método se tornou popular com o desenvolver das civilizações não somente pelo seu poder de conservação, mas também por conceder aos alimentos uma variedade de sabores e outras sensações sensoriais. Aos poucos, as pessoas têm descoberto os valores nutricionais e terapêuticos de alimentos e bebidas fermentadas, tornando-as cada vez mais populares (FARNWORTH, 2008).

1.5 Bebidas não alcoólicas

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas Não Alcoólicas – ABIR, o mercado de bebidas não alcoólicas é categorizado em refrigerantes, sodas, refrescos, sucos, néctares, sucos tropicais, energéticos, isotônicos, água de coco, chás prontos para beber, preparado sólido para refresco, preparado líquido para refresco, bebida láctea e bebida à base de soja (ABIR, 2011).

Os dados do último relatório lançado pela ABIR referente ao consumo de bebidas não alcoólicas no Brasil entre os anos de 2010 e 2016, indicam que houve um crescimento de 4,7% no consumo per capita no decorrer destes 6 anos, e que o volume de produção destas cresceu 13,7% neste mesmo período (ABIR, 2016).

1.5.1 Bebidas não alcoólicas fermentadas

Durante a Idade Média, o desenvolvimento de alimentos e bebidas fermentadas dependia da disponibilidade de matéria-prima, das condições ambientais

e da preferência sensorial da população local. Ao longo do tempo, muitos destes produtos passaram a ser produzidos em larga escala na indústria (FARNWORTH, 2008).

A fermentação do leite, um dos procedimentos mais antigos empregados para a sua conservação, deixou de servir apenas como método de conservação e transformou-se numa maneira de ampliar a gama de produtos lácteos (BALLUS et al., 2010). Nesta gama encontram-se os queijos, leites fermentados, bebidas lácteas e iogurtes, sendo este último, sem dúvidas, o produto fermentado de leite mais conhecido e consumido no mundo (RANDAZZO et al., 2016).

Entretanto, tem sido observado um aumento na procura por bebidas funcionais de origem não láctea devido, principalmente, ao vegetarianismo, à intolerância à lactose e alergia à proteína do leite (DONGMO et al., 2016). Desta forma, produtos fermentados à base de cereais e frutas têm ganhado cada vez mais atenção.

A Turquia é um país que mantém tradicionais bebidas fermentadas não alcoólicas, como *Shalgam Juice*, que é uma bebida turva de coloração vermelha e suavemente ácida, amplamente consumida nas cidades de Adana, Hatay, Icel, Istanbul, Ankara e Izmir. Esta bebida é obtida pela fermentação de uma mistura de nabo, farinha de cenoura, sal e água. A *Hardalyie* é obtida pela fermentação de uvas e popular da região da Marmara, na Turquia. A *Boza*, uma bebida viscosa, de coloração amarelo pálido e sabor doce ou azedo, amplamente consumida na Turquia, Bulgária e em alguns outros países da Península Balcânica, é obtida pela fermentação de milho, trigo e farinha de arroz (ALTAY et al., 2013).

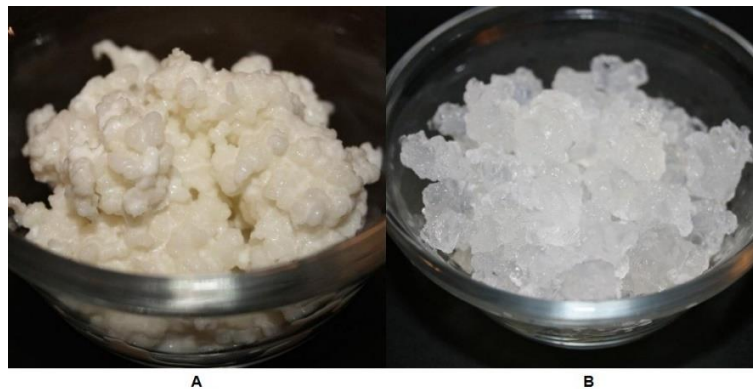
Outra bebida fermentada não alcoólica conhecida é o *Kombucha*, obtida pela fermentação de chá açucarado com uma cultura mista de leveduras e bactérias acéticas que formam uma película celulósica denominada “fungo do chá”. As leveduras fermentam o açúcar produzindo etanol, que é oxidado a ácido acético pelas bactérias acéticas, das quais as principais encontradas no *Kombucha* foram *K. xylinus*, *A. aceti*, *A. pasteurianus* e *G. oxydans*. Diversos gêneros de leveduras também foram identificados na bebida, tais como *Saccharomyces*, *Candida*, *Torulospora*, *Koleckera*, *Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Brettanomyces*, *Pichia*, *Mycotorula* e *Mycoderma* (GOMES et al., 2018).

Produtos a partir de suco de frutas fermentados por cultura mista de kefir também têm se mostrado uma ótima opção para o mercado de bebidas fermentadas não lácteas e com baixo teor alcoólico, como avaliou Randazzo et al. (2016) utilizando sucos de maçã, uva, kiwi, romã, pêra e marmelo.

1.6 Cultura mista de kefir

O grão de kefir é uma matriz polissacarídeo-proteína de forma irregular, apresenta textura viscosa e firme e sua cor varia de branca a amarela (Figura 3), com diâmetro entre 3 e 30 milímetros (MIGUEL et al., 2010).

Figura 3. Grãos de kefir cultivados em (A) leite e (B) água e açúcar.



Fonte: <http://emagrecerdevez.com/kefir-a-bebida-abencoada>

É constituído por uma cultura mista composta principalmente de bactérias lácticas (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* e *Streptococcus* spp.) e leveduras (*Kluyveromyces*, *Saccharomyces* e *Torula*), além de algumas bactérias acéticas (*Acetobacter* e *Gluconacetobacter*) (JIANZHONG et al., 2009; ÖZDEMIR et al., 2015; MARSH et al., 2013). Esta variedade de microrganismos encontrada no grão de kefir representa uma comunidade simbiótica (GORŠEK & TRAMŠEK, 2008).

A fermentação dos grãos de kefir resulta em uma bebida funcional denominada kefir (ÖZDEMIR et al., 2015), cujo nome origina-se da palavra turca “keyif” e significa “bons sentimentos” (OTLES & CAGINDI, 2003).

A aplicação da fermentação dos grãos de kefir para a produção desta bebida vem sendo empregada há séculos em muitos países, especialmente na Europa Oriental. Entretanto, muitos estudos indicam também um grande potencial de aplicação em panificação, produção de polissacarídeos e de outras bebidas

fermentadas a partir da mistura de soro de leite e extrato de uva passa (GORŠEK & TRAMŠEK, 2008).

O cultivo cuidadoso dos grãos faz com que eles se multipliquem, ocorrendo inicialmente um aumento de tamanho dos grãos e posteriormente uma subdivisão em novos grãos que mantém o mesmo equilíbrio microbiológico dos grãos de origem. O crescimento médio diário dos grãos é de 5% quando cultivados em leite e 45% quando cultivados em água (SANTOS et al., 2012). A Figura 4 mostra o fluxograma de produção do kefir de água.

Figura 4. Fluxograma de produção de kefir de água.



Fonte: Santos et al. (2012) – adaptado.

O leite ou a água com açúcar mascavo devem ser pasteurizados e resfriados à temperatura ambiente, para em seguida inocular, adicionando 5% de grãos de kefir no substrato de preferência (SANTOS et al., 2012).

Os grãos de kefir podem ser inoculados em diferentes tipos de leite: vaca, cabra e ovelha, sendo o primeiro o mais comumente usado. Os grãos promovem diferentes fermentações com produção de numerosos componentes como ácido láctico, ácido acético, CO₂, álcool e compostos aromáticos, que são responsáveis pelas características sensoriais particulares do kefir: efervescência, gosto ácido, amargo e refrescante (OTLES & CAGINDI, 2003).

Quando os grãos são inoculados para fermentar suco de frutas, melaço ou solução açucarada, o produto obtido é chamado de kefir açucarado, kefir de água ou tibico. Os sucos de frutas contêm água, açúcar, proteínas, aminoácidos,

vitaminas e minerais que, juntos, são um meio adequado e rico para o crescimento e desenvolvimento dos microrganismos presentes nos grãos. Além disso, a fermentação destes substratos faz com que as bebidas de kefir apresentem sabor ácido, refrescante, ligeiramente carbonatado, com baixo teor alcoólico e acético (RANDAZZO et al., 2016).

A variação na composição da cultura mista dos grãos de kefir pode causar variações na composição e nas características sensoriais do produto final, o kefir. Detalhes como a origem dos grãos, a proporção de inoculação e/ou as técnicas de produção são fatores que podem influenciar nesta variação (ÖZDEMIR et al., 2015).

O kefir contém vitaminas do complexo B, K, minerais como cálcio, magnésio e fósforo, e aminoácidos essenciais que ajudam o corpo na regulação e manutenção das suas funções renais, hepáticas e do sistema nervoso, além de conter também proteínas completas e de fácil digestão. Os benefícios de seu consumo na dieta são inúmeros, tendo sido um objeto de estudo que apresentou atividade antitumoral e antimicrobiana *in vitro* contra uma ampla variedade de bactérias gram-negativas, gram-positivas e alguns fungos (OTLES & CAGINDI, 2003).

Um estudo sobre métodos de preservação dos grãos de kefir demonstrou que grãos armazenados à -20°C durante 120 dias apresentaram o mesmo perfil de microrganismos e produziram um kefir com as mesmas características reológicas, acidez e conteúdo de CO₂ do que um kefir produzido por grãos que não haviam sido congelados. Os grãos armazenados nestes mesmos 120 dias à 4°C e utilizados na inoculação de leite produziram um kefir de qualidade inferior. A liofilização dos grãos de kefir também tem sido uma opção de armazenamento desta cultura mista para seu posterior uso no processo industrial (FARNWORTH, 2008).

O kefir é considerado um produto probiótico e, além do seu valor nutricional, uma série de alegações de saúde tem sido feitas a respeito dele. Dentre elas, estão os efeitos antineoplásicos, imunomodulador e digestivo (MIGUEL et al., 2010). Um probiótico é definido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da Resolução RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002, como microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo (BRASIL, 2002).

No Brasil, os grãos de kefir são utilizados de maneira informal e caseira, inoculando-os em leite, água açucarada ou sucos (MIGUEL et al., 2010). Os grãos cultivados em leite são compostos por um complexo heteropolissacarídeo denominado kefirano, enquanto que os cultivados em água com açúcar mascavo são compostos por dextrano (ZANIRATI, 2012).

O país apresenta grande diversidade climática, com temperaturas frias no sul, médias no sudeste e quentes no norte e nordeste. Os grãos de kefir têm sido adaptados a estas áreas devido a um processo de propagação contínua, entretanto o impacto que o clima, o meio ambiente e os métodos de cultivo exercem sobre suas características permanece obscuro. Embora existam informações sobre grãos de kefir irlandeses, taiwaneses, russos, turcos e europeus, não há muitos relatos sobre a caracterização microbiana de grãos de kefir brasileiros (MIGUEL et al., 2010).

No Brasil, o kefir está regulamentado apenas à fermentação do leite, não havendo legislação para kefir de água. Segundo a Instrução Normativa nº 46 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), publicada em 23 de outubro de 2007, “kefir” é um leite fermentado cuja fermentação se realiza com cultivos ácido-láticos elaborados com grãos de kefir, *Lactobacillus kefiri* e espécies dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter*, com produção de ácido láctico, etanol e dióxido de carbono. Os grãos de kefir são constituídos por leveduras fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces marxianus*) e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces omnisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces exiguus*), *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* spp. e *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* (BRASIL, 2007).

2. Referências

ABIR. Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de bebidas não alcoólicas. **BNA Brasil Relatório 2011: consumo de todas as bebidas comerciais 2005-2010**. 2011. Disponível em: <<https://docslide.com.br/documents/relatorio-abir-2011.html>> Acesso em: 25/08/2016.

ABIR. Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de bebidas não alcoólicas. **Volume de produção e consumo per-capita do mercado brasileiro de bebidas não alcoólicas dos anos de 2010 a 2016**. 2016. Disponível em:

<<https://abir.org.br/o-setor/dados/x-todas-as-bebidas-nao-alcoolicas/>> Acesso em: 04/02/2018.

ALTAY, F.; KARBANCIOGLU-GÜLER, F.; DASKAYA-DIKMEN, C.; HEPERKAN, D. A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: Microbiota, fermentation process and quality characteristics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 167, p. 44-56, 2013.

ANDRADE, R. A.; MARTINS, A. B. G.; SILVA, M. T. H. Development of seedlings of red pitaya (*Hylocereus undatus* Haw) in different substrate volumes. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, supl., p. 697-700, 2008.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ARIFFIN, A. A.; BAKAR, J.; TAN, C. P.; RAHMAN, R. A. Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. **Food Chemistry**, v. 114, p. 561-564, 2009.

BALLUS, C. A.; KLAJN, V. M.; CUNHA, M. F.; OLIVEIRA, M. L.; FIORENTINI, A. M. Aspectos científicos e tecnológicos do emprego de culturas probióticas na elaboração de produtos lácteos fermentados: revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 85-96, 2010.

BENAVENTE-GARCÍA, O.; CASTILLO, J.; LORENTE, J.; ORTUÑO, A.; DEL RIO, J. A. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves. **Food Chemistry**, v. 68, p. 457-462, 2000.

BERTOLDI, M. C. **Atividade antioxidante in vitro da fração fenólica, das oleorresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*)**. 2006. 116p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123-130, 1999.

BOYER, J.; LIU, R. H. Apple phytochemicals and their health benefits. **Nutrition Journal**, v. 3, p. 1–15, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002. Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2007.

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

CAI, Y-Z.; SUN, M.; CORKE, H. Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae. **Food Science & Technology**, v. 16, p. 379-376, 2005.

CANTO, A. R.; ALBARADO, J. C. G.; SANTAROSA, M. G. G.; RAMOS, C. J.; GARCÍA, M. C. M.; HERNÁNDEZ, L. J. P.; LAZO, V. R.; MEDINA, L. R.; RODRÍGUEZ, R. R.; TORRES, E. T.; GARCÍA, S. V.; ELOÍSA, E. Z. El cultivo de pitahaya em Yucatán. **UACH y Gobierno del estado de Yucatán**, 1993.

CARNEIRO, R. P. **Desenvolvimento de uma cultura iniciadora para produção de kefir**. 2010. 143p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

CHAROENSIRI, R.; KONGKACHUICHAI, R.; SUKNICOM, S.; SUNGPUAG, P. Beta-carotene, lycopene, and alpha-tocopherol contents of selected Thai fruits. **Food Chemistry**, v. 113, p. 202-207, 2009.

CHEYNIER, V. Phenolic compounds: from plants to foods. **Phytochemistry Reviews**, v. 11, p. 153-177, 2012.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2ª ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

CORAZZA, M. L.; RODRIGUES, D. G.; NOZAKI, J. Preparação e caracterização do vinho de laranja. **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 449-452, 2001.

DAMORADAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. **Química de Alimentos de Fennema**. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p.

DONGMO, S. N.; PROCOPIO, S.; SACHER, B.; BECKER, T. Flavor of lactic acid fermented malt based beverages: Current status and perspectives. **Trends in Food Science & Technology**, v. 54, p. 37-51, 2016.

DU, W-X.; OLSEN, C. W.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; FRIEDMAN, M.; MCHUGH, T. H. Physical and antibacterial properties of edible films formulated with apple skin polyphenols. **Journal of Food Science**, v. 76, p. 149–155, 2011.

ELFALLEH, W.; TLILI, N.; NASRI, N.; YAHIA, Y.; HANNACHI, H.; CHAIRA, N.; YING, M.; FERCHICHI, A. Antioxidant capacities of phenolic compounds and tocopherols from Tunisian pomegranate (*Punica granatum*) fruits. **Journal of Food Science**, v. 76, p. 707–713, 2011.

FARNWORTH, E. R. **Handbook of Fermented Functional Foods**, 2ª ed. Ed. CRC Press, 2008.

FARNWORTH, E. R. Kefir – a complex probiotic. **Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods**, v. 2, p. 1-17, 2005.

GOMES, R. J.; BORGES, M. F.; ROSA, M. F.; CASTRO-GÓMEZ, R. J. H.; SPINOSA, W. A. Acetic acid bacteria in the food industry: systematics, characteristics and applications. **Food Technology and Biotechnology**, v. 56, n. 2, 2018.

GORŠEK, A.; TRAMŠEK, M. Kefir grains production – An approach for volume optimization of two-stage bioreactor system. **Biochemical Engineering Journal**, v. 42, p. 153-158, 2008.

HAN, X.; SHEN, T.; LOU, H. Dietary polyphenols and their biological significance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 8, p. 950–988, 2007.

JAY, J. M. **Microbiología de alimentos**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712p.

JIANZHONG, Z.; XIAOLI, L.; HANHU, J.; MINGSHENG, D. Analysis of the microflora in Tibetan kefir grains using denaturing gradient gel electrophoresis. **Food Microbiology**, v. 26, n. 8, p. 770-775, 2009.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, n. 2, p. 213–218, 1999.

LE BELLEC, F. La pitaya (*Hylocereus* sp.) en culture de diversification a l'île de la reunion. **Institut National d'horticulture**, France, 55p., 2003. Disponível em: <https://agritrop.cirad.fr/521479/1/document_521479.pdf> Acesso em: 22/08/2016.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger – Princípios de Bioquímica**. 6ª ed. São Paulo: Ed. Artmed, 2014. 1298p.

LIM, H. K.; TAN, C. P.; KARIM, R.; ARIFFIN, A. A.; BAKAR, J. Chemical composition and DSC thermal properties of two species of *Hylocereus* cacti seed oil: *Hylocereus undatus* and *Hylocereus polyrhizus*. **Food Chemistry**, v. 119, p. 1326-1331, 2010.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. **Brock Biology of Microorganisms**. 14ª ed. Boston: Pearson, 2014. 1032p.

MARSH, A. J.; O'SULLIVAN, O.; HILL, C.; ROSS, R. P.; COTTER, P. D. Sequence-based analysis of the microbial composition of water kefir from multiple sources. **FEMS Microbiololy Letters**, v. 348, n. 1, p. 79-85, 2013.

MENEZES, T. P.; RAMOS, J. D.; LIMA, L. C. O.; COSTA, A. C.; NASSUR, R. C. M. R.; RUFINI, J. C. M. Características físicas e físico-químicas de pitaia vermelha durante a maturação. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 631-644, 2015.

MIGUEL, M. G. C. P.; CARDOSO, P. G.; LAGO, L. A.; SCHWAN, R. F. Diversity of bacteria present in milk kefir grains using culture-dependent and culture-independent methods. **Food Research International**, v. 43, p. 1523-1528, 2010.

MOREIRA, A. V. B.; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 4, p. 411-424, 2004.

NERD, A.; GUTMAN, F.; MIZRAHI, Y. Ripening and postharvest behaviour of fruits of two *Hylocereus* species (Cactaceae). **Postharvest Biology and Technology**, v. 17, p. 39-45, 1999.

NUNES, E. N.; SOUSA, A. S. B.; LUCENA, C. M.; SILVA, S. M.; LUCENA, R. F. P.; ALVES, C. A. B.; ALVES, R. E. Pitaia (*Hylocereus* sp.): uma revisão para o Brasil. **Gaia Scientia**, v. 8, n. 1, p. 90-98, 2014.

ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y. D.; CARRILLO-SALAZAR, J. A. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a short review. **Comunicata Scientiae**, v. 3, n. 4, p. 220-237, 2012.

OTLES, S.; CAGINDI, O. Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 2, n. 2, p. 54-59, 2003.

ÖZDEMİR, N.; KÖK-TAS, T.; GUZEL-SEYDIM, Z. Effect of *Gluconacetobacter* spp. on kefir grains and kefir quality. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, n.1, p. 99-106, 2015.

RANDAZZO, W.; CORONA, O.; GUARCELLO, R.; FRANCESCA, N.; GERMANÀ, M. A.; ERTEN, H.; MOSCHETTI, G.; SETTANNI, L. Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. **Food Microbiology**, v. 54, p. 40-51, 2016.

RAY, M.; GHOSH, K.; SINGH, S.; MONDAL, K. C. Folk to functional: an explorative overview of rice-based fermented foods and beverages in India. **Journal of Ethnic Foods**, v. 3, p. 5-18, 2016.

SALVADOR, M.; HENRIQUES, J. A. P. **Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo**. 1ª ed. Canoas: Ed. da ULBRA, 2004. 204p.

SANTOS, F. L.; SILVA, E. O.; BARBOSA, A. O. SILVA, J. O. Kefir: uma nova fonte alimentar funcional? **Diálogos & Ciência**, v. 27, online, 2012. Disponível em: <http://www2.ufrb.edu.br/kefirdoreconcavo/images/22_03_12_artigo01.pdf> Acesso em: 18/02/2017.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 2, 2004.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

STINTZING, F. C.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose. **Food Chemistry**, v. 77, p. 101-106, 2002.

STINTZING, F. C.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. **European Food Research and Technology**, v. 216, n. 4, p. 303-331, 2003.

TENORE, G. C.; NOVELLINO, E.; BASILE, A. Nutraceutical potential and antioxidante benefits of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) extracts. **Journal of Functional Foods**, v. 4, p. 129-136, 2012.

VAILLANT, F.; PEREZ, A.; DAVILA, I.; DORNIER, M.; REYNES, M. Colorant and antioxidante properties of red-purple pitahaya (*Hylocereus* sp.). **Fuits**, v. 60, n.1, p. 3-12, 2005.

WICHIENCHOT, S.; JATUPORNPIPAT, M.; RASTALL, R. A. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. **Food Chemistry**, v. 120, p. 850-857, 2010.

WU, L-C.; HSU, H-W.; CHEN, Y-C.; CHIU, C-C.; LIN, Y-I.; HO, J. A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**, v. 95, p. 319-327, 2006.

WYBRANIEC, S.; NOWAK-WYDRA, B.; MITKA, K.; KOWALSKI, P.; MIZRAHI, Y. Minor betalains in fruits of *Hylocereus* species. **Phytochemistry**, v. 68, p. 251-259, 2007.

YAH, A. R. C.; PEREIRA, S. S.; VELOZ, C. S.; SAÑUDO, R. B.; DUCH, E. S. Cambios físicos, químicos y sensoriales en frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus*) durante su desarrollo. **Revista de Fitotecnia Mexicana**, v. 31, n. 1, p. 1-5, 2008.

ZAINOLDIN, K. H.; BABA, A. S. The effect of *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* on physicochemical, proteolysis, and antioxidant activity in yogurt. **International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering**, v. 3, n. 12, 2009.

ZANIRATI, D. F. **Caracterização de bactérias lácticas da microbiota de grãos de kefir cultivados em leite ou água com açúcar mascavo por metodologias**

dependentes e independentes de cultivo. 2012. 77p. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

ZEE, F.; YEN, C. R.; NISHINA, M. Pitaya: dragon fruit, strawberry pearl. **Fruits e Nuts**, v. 9, n. 2, p. 1-3, 2004.

CAPÍTULO 2 – Caracterização físico-química, perfil de açúcares e ácidos orgânicos, fenólicos totais e atividade antioxidante de pitaia

Resumo

Hylocereus polyrhizus é uma variedade de pitaia que está em grande expansão no mercado de frutas exóticas. No entanto, ainda são escassos os estudos de caracterização desta fruta. Assim, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a polpa de pitaia quanto à sua composição centesimal, valor energético, teor de sólidos solúveis totais, pH, acidez, perfil de açúcares e ácidos orgânicos, teor de fenólicos totais e atividade antioxidante. A polpa de pitaia apresentou 88,11% de umidade, 0,58% de cinzas, 0,58% de proteínas, 0,20% de lipídios, 8,00% de carboidratos, 2,53% de fibra alimentar total, valor energético de 36,12kcal.100g⁻¹, sólidos solúveis totais de 11,92°Brix, pH 4,90, acidez em ácido málico de 0,25g.100g⁻¹, 45,24g.L⁻¹ de glicose, 10,02g.L⁻¹ de frutose, 2,89g.L⁻¹ de ácido málico, 1,18g.L⁻¹ de ácido succínico, 0,33g.L⁻¹ de ácido cítrico, 0,03g.L⁻¹ de ácido láctico, teor de fenólicos totais de 149,32mgEAG.100g⁻¹ e atividade antioxidante de 10,15mMFe⁺².100g⁻¹. A pitaia pode ser considerada uma fruta de baixo valor energético e elevada atividade antioxidante, com alto conteúdo de água e fibras, características interessantes para consumo *in natura*. Além disso, apresenta teor de sólidos solúveis totais entre 8-14°Brix, podendo também ser aproveitada pela indústria de polpas e sucos.

Palavras-chave: *Hylocereus polyrhizus*, fruta, polpa, fibra alimentar total.

Abstract

Hylocereus polyrhizus is a variety of pitaia that is in great expansion in the exotic fruit market. However, the characterization studies of this fruit are still scarce. The objective of this work was to characterize the pitaia pulp in terms of its centesimal composition, energetic value, total soluble solids content, pH, acidity, sugars and organic acid content, total phenolic content and antioxidant activity. Pitaia pulp presented 88.11% moisture, 0.58% ash, 0.58% protein, 0.20% lipid, 8.00% carbohydrate, 2.53% total dietary fiber, energy value of 36,12kcal.100g⁻¹, total soluble solids of 11,92°Brix, pH 4.90, acidity in malic acid of 0.25g.100g⁻¹, 45,24g.L⁻¹ of glucose, 10.02g.L⁻¹ of fructose, 2.89g.L⁻¹ of malic acid, 1.18g.L⁻¹ of succinic acid, 0.33g.L⁻¹ of citric acid, 0.03g.L⁻¹ of lactic acid, total phenolic content of 149.32mgEAG.100g⁻¹ and antioxidant activity of

10,15mMFe⁺2.100g⁻¹. Pitaia can be considered a fruit of low energetic value and high antioxidant activity, with high content of water and fibers, interesting characteristics for in natura consumption. In addition, it has a total soluble solids content between 8-14°Brix and can also be used by the pulp and juice industry.

Keywords: *Hylocereus polyrhizus*, fruit, pulp, total dietary fiber.

1. Introdução

A pitaia é uma planta originária da América Latina e deriva das plantas epífitas trepadeiras pertencentes à família Cactaceae. São plantas de manejo simples e de baixo custo, capazes de tolerar calor e frio extremos, baixa disponibilidade hídrica, períodos de estiagem e solos pobres em nutrientes, podendo ser cultivadas em solos pedregosos, arenosos e maciços rochosos (JUNQUEIRA et al., 2010; NUNES et al., 2014).

Há diversas espécies denominadas “pitaia”, dentre as quais podem ser citadas a *Hylocereus undatus* (casca vermelha e polpa branca), *Hylocereus polyrhizus* (casca vermelha e polpa vermelha), *Selenicereus megalanthus* (casca amarela e polpa branca) e *Selenicereus setaceus* (casca vermelha e polpa branca, também conhecida como “pitaia do cerrado”). As espécies de pitaia apresentam diversos tipos de polimorfismo relacionados à flor, caule e fruto, e estas características podem ser tão contrastantes que dificultam a identificação taxonômica (JUNQUEIRA et al., 2010; ORTIZ-HERNÁNDEZ & CARRILLO-SALAZAR, 2012).

A polpa da pitaia é delicada e succulenta e apresenta grande número de sementes pequenas e macias que contêm um nível elevado de lipídeos funcionais e podem ser utilizadas como uma nova fonte de óleo essencial, sendo comparativamente superior aos óleos de gergelim (*Sesamun indicum*) e canola (*Brassica napu*) (ARIFFIN et al., 2009; LIM et al., 2010).

Segundo Silva et al. (2011), com a abertura comercial, o mercado mundial de frutas tem-se tornado mais competitivo e aberto a novidades, como as frutas exóticas, principalmente devido às divulgações da mídia sobre os benefícios do consumo de frutas, destacando-as como alimento saudável, balanceado, funcional e diversificado, com suas cores, formatos, aromas e sabores.

Do ponto de vista nutricional, a pitaia é rica em vitaminas (B1, B2, B3, C, E), betacaroteno, licopeno, polifenóis, potássio, magnésio e fibras que auxiliam no

processo digestivo, previnem o câncer de cólon, o diabetes, neutralizam substâncias tóxicas e ajudam a reduzir os níveis de colesterol e a hipertensão arterial. Em Taiwan, as pessoas portadoras de síndrome metabólica como o diabetes utilizavam a fruta como um substituto alimentar do arroz e como fonte de fibra dietética (ZAINOLDIN & BABA, 2009; ABREU et al., 2012; NUNES et al., 2014).

A coloração vermelho-violeta da pitáia de polpa vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) pode ser atribuída às betacianinas (WU et al., 2006), que são dez vezes mais abundantes na casca do que na polpa (TENORE et al., 2012). Entretanto, tanto a polpa quanto a casca da pitáia são ricas em polifenóis com capacidade antioxidante, sendo que a casca apresenta maior capacidade de inibir células cancerígenas do tipo melanomas (WU et al., 2006). As frações polifenólicas de ambas as partes também foram capazes de inibir a presença de potenciais patógenos, leveduras e fungos, além de apresentar efeitos benéficos através do consumo diário (TENORE et al., 2012).

O conhecimento dos parâmetros físico-químicos dos alimentos é de grande importância para a avaliação do potencial da matéria-prima a ser utilizada no preparo de alimentos, bem como para o conhecimento do seu valor nutricional (CHISTÉ et al., 2009). Embora os frutos de pitáia estejam em expansão no mercado mundial de frutas exóticas, com qualidade nutricional e sensorial, no Brasil a maioria dos estudos estão relacionados aos aspectos agrônômicos. Diante disso, o objetivo do trabalho foi caracterizar a polpa de pitáia (*Hylocereus polyrhizus*) em relação a composição centesimal e características físico-químicas, e avaliar o perfil de açúcares, ácidos orgânicos, teor de fenólicos totais e atividade antioxidante presentes nesta fruta para incentivar seu consumo *in natura* e processada no mercado nacional.

2. Material e Métodos

2.1 Matéria-prima

Os frutos de pitáia de casca vermelha e polpa vermelha da espécie *Hylocereus polyrhizus* foram adquiridos de produtor da cidade de Assis/SP (22°39'40"S, 50°23'58"W, altitude de 560m, clima subtropical úmido), na safra de dezembro 2016/abril 2017, colhidos 30 dias após a floração em janeiro/2017. Os frutos foram higienizados por imersão em solução aquosa de hipoclorito de sódio à 200mg.L⁻¹ durante 15 minutos e em seguida enxaguados em água corrente e secos à temperatura ambiente. As polpas foram separadas da casca manualmente e

homogeneizadas juntamente com as sementes em liquidificador industrial (BERMAR, BM43NR, Brasil), separadas em sacos de polietileno e congeladas à -18°C até o momento das análises.

2.2 Metodologia científica

As análises de composição centesimal foram realizadas de acordo com metodologias da AOAC (2012): umidade por secagem em estufa à 105°C até peso constante; cinzas por incineração em mufla à 550°C até peso constante; proteínas pelo método de Kjeldahl; lipídios pelo método de extração com éter de petróleo em aparelho de Soxhlet; e fibra alimentar total (FAT) pelo método enzimático-gravimétrico. A porcentagem de carboidratos foi calculada por diferença (100% menos as porcentagens de umidade, proteínas, lipídios, cinzas e fibra alimentar total) e o valor energético multiplicando os valores de proteínas, lipídios e carboidratos pelos fatores 4, 9 e 4kcal/g, respectivamente, segundo BRASIL (2003).

As análises de caracterização físico-química foram realizadas de acordo com metodologias da AOAC (2012): sólidos solúveis totais (SST) em refratômetro digital (Mettler Toledo, LiquiPhysics™ Excellence RM40, Brasil); pH em potenciômetro digital (GEHAKA, PG2000, Brasil); e acidez em ácido málico por titulometria com NaOH 0,1M até pH 8,2-8,4.

A identificação e quantificação dos açúcares glicose, frutose e sacarose foi realizada através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com água ultra-pura como fase móvel, utilizando cromatógrafo Shimadzu com bomba de alta pressão (LC-20AT), injetor automático (SIL-20AC HT) com volume de injeção ajustado para 20µL, detector por índice de refração (RID-10A), forno de coluna (CTO-20A) mantido à temperatura constante de 85°C, módulo de controle (CBM-20A) e coluna de troca iônica Aminex HPX-87P (7,8x300mm na forma iônica Pb^{+2} , Biorad, CA, EUA). A aquisição de dados e a integração dos picos cromatográficos foram realizados com o auxílio do software LC Solutions (PAULI et al., 2011).

A identificação e quantificação dos ácidos orgânicos málico, cítrico, lático e succínico foi realizada através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com solução tampão de fosfato de sódio 25mM, com pH ajustado para 2,4 na vazão de 1,0mL.min⁻¹, utilizando cromatógrafo Shimadzu com bomba de alta pressão (LC-20AT), injetor automático (SIL-20AC HT) com volume de injeção ajustado para

20µL, detector por índice de refração (RID-10A), detector de arranjo de fotodiodos (SPD-M20A), forno de coluna (CTO-20A) mantida à temperatura constante de 30°C, módulo de controle (CBM-20A) e coluna cromatográfica Shiseido CapCell Pak 5µ C18 MG (250x4,6mm). A detecção foi realizada simultaneamente nos detectores de índice de refração (RID-10A) e arranjo de fotodiodos (SPD-M20A), programado em comprimento de onda fixo de 215nm e no modo de varredura de 200 a 400nm. A aquisição e processamento dos dados foram realizados com o auxílio do software LC Solutions (REUTER, 2015).

O teor de fenólicos totais foi determinado segundo Swain & Hills (1959), a leitura realizada em espectrofotômetro (Thermo Scientific™, GENESYS 10S UV-Vis, Alemanha) a um comprimento de onda de 760nm e os resultados expressos em mgEAG.100g⁻¹. A atividade antioxidante foi determinada pelo método de redução do ferro (FRAP) segundo Benzie & Strain (1996), a leitura realizada em espectrofotômetro (Thermo Scientific™, GENESYS 10S UV-Vis, Alemanha) a um comprimento de onda de 595nm e os resultados expressos em mMFe⁺².100g⁻¹. O extrato para análise de fenólicos totais e atividade antioxidante foi preparado utilizando acetona 50% como solução extratora segundo método descrito por Wu et al. (2006).

As análises foram realizadas em triplicata e a partir dos dados obtidos foram determinados as médias e o desvio padrão por meio do programa estatístico Sisvar®.

3. Resultados e Discussão

Os resultados de composição centesimal estão apresentados na Tabela 1. Os valores obtidos para umidade e cinzas condizem com estudos realizados por Abreu et al. (2012) e Sato et al. (2014), que encontraram valores de 85,52 e 87,03% de umidade e 0,36 e 0,69% de cinzas, respectivamente. Desta maneira, a pitaita pode ser considerada uma fruta de alto conteúdo de água, estando acima de frutas comumente consumidas no Brasil como abacaxi (86,30%), maracujá (82,90%) e uva Itália (85,00%) (UNICAMP, 2011).

O teor de proteínas foi inferior à 1,12% encontrado por Sato et al. (2014) e 1,06% encontrado por Abreu et al. (2012), entretanto, segundo Le Bellec et al. (2006), o teor de proteínas em polpa de pitaita pode variar entre 0,3 e 1,5%

dependendo da metodologia aplicada ou devido à possíveis interferências das betalainas, pigmento nitrogenado responsável pela cor.

Tabela 1. Composição centesimal de polpa de pitáia (*Hylocereus polyrhizus*).

Determinações	Média
Umidade (%)	88,11 ± 0,14
Cinzas (%)	0,58 ± 0,01
Proteínas (%)	0,58 ± 0,05
Lipídios (%)	0,20 ± 0,01
FAT (%)	2,53 ± 0,14
Carboidratos (%)	8,00 ± 0,17
Valor energético (kcal.100g ⁻¹)	36,12 ± 0,59

FAT: fibra alimentar total.

O presente estudo encontrou teor de lipídios próximo ao teor de 0,21% encontrado por Sato et al. (2014). O teor de FAT foi superior ao encontrado por este mesmo autor, que obteve média de 1,92g.100g⁻¹, e superior também a frutas usualmente consumidas no Brasil como maçã Fuji (1,30g.100g⁻¹), mamão Papaia (1,00g.100g⁻¹), laranja pêra (0,80g.100g⁻¹), e banana nanica (1,90g.100g⁻¹) (UNICAMP, 2011). A Food and Drug Administration (FDA) recomenda o consumo de 25g de fibra alimentar total por dia em uma dieta de 2.000 calorias, portanto o consumo de 100g de pitáia *in natura* fornece cerca de 10% do recomendado. Os benefícios da ingestão de fibras estão relacionados à absorção da glicose, ao combate de doenças cardiovasculares, obesidade e doenças do cólon.

Na Tabela 2 encontram-se os resultados dos parâmetros físico-químicos analisados. O teor de SST encontrado neste estudo foi superior ao encontrado por Stintzing et al. (2003) e inferior ao encontrado por Lima et al. (2013), cujos valores foram de 10,70 e 13,90°Brix, respectivamente. Frutas maduras, em geral, apresentam teores de SST entre 8 e 14°Brix e podem ser consideradas frutas doces, uma vez que a medida de °Brix apresenta correlação positiva com o teor de açúcar. Teores elevados são vantajosos para a indústria de polpas e bebidas adoçadas, uma vez que dispensa ou reduz a necessidade de adição de açúcar durante o processamento, o que reduz consideravelmente o custo de processamento (AULENBANCH & WORHINGTON, 1974; CHITARRA & CHITARRA, 2005).

Tabela 2. Parâmetros físico-químicos de polpa de pitaia (*Hylocereus polyrhizus*).

Determinações	Média
SST (°Brix)	11,92 ± 0,06
pH	4,90 ± 0,08
Acidez em ác. málico (g.100g ⁻¹)	0,25 ± 0,01

SST: sólidos solúveis totais.

O pH está entre os valores encontrados por Vaillant et al. (2005) e Cordeiro et al. (2015), de 4,70 e 5,32, respectivamente. A pitaia pode ser classificada como um fruto de baixa acidez (pH>4,5), e frutos desta natureza requerem um maior cuidado pós-colheita, pois estão sujeitos à multiplicação microbiana tanto de espécies patogênicas quanto de espécies deteriorantes (FRAZIER & WESTHOFF, 1988).

Cordeiro et al. (2015) encontrou valor de acidez de 0,29g.100g⁻¹ em ácido málico, o ácido majoritário presente em pitaias, valor próximo ao obtido neste estudo.

A identificação e quantificação dos açúcares e ácidos orgânicos presentes na pitaia estão descritos na Tabela 3. A sacarose não foi detectada e, portanto, os açúcares presentes na pitaia se resumem a glicose e frutose e seus valores estão na mesma faixa dos valores encontrados por Stintzing et al. (2003) e Vaillant et al. (2005). Estes autores encontraram 55,40 e 45,00g.L⁻¹ para glicose e 19,20 e 4,00g.L⁻¹ para frutose, respectivamente. Pode-se perceber uma diferença entre os resultados destes autores, a qual se mostra ainda mais acentuada para a frutose, entretanto os teores de açúcares e ácidos orgânicos podem variar durante o processo de maturação devido à oxidação dos ácidos durante o processo de respiração ou até mesmo quando são convertidos em açúcares (CHITARRA & CHITARRA, 2005). Por este motivo também é possível identificar diferença entre os teores de ácido málico e cítrico, que foram maiores no estudo de Stintzing et al. (2003), e no teor de ácido láctico, que foi maior neste trabalho, além da presença de ácido succínico que não foi detectado por Stintzing et al. (2003). A presença de ácidos orgânicos é muito importante pois estão diretamente ligados ao sabor e aroma característicos das frutas.

Tabela 3. Perfil de açúcares e ácidos orgânicos presentes em polpa de pitáia (*Hylocereus polyrhizus*).

Determinações	Média
Sacarose (g.L ⁻¹)	ND
Glicose (g.L ⁻¹)	45,24 ± 0,48
Frutose (g.L ⁻¹)	10,02 ± 0,12
Ác. málico (g.L ⁻¹)	2,89 ± 0,15
Ác. succínico (g.L ⁻¹)	1,18 ± 0,05
Ác. cítrico (g.L ⁻¹)	0,33 ± 0,01
Ác. láctico (g.L ⁻¹)	0,03 ± 0,00

ND: não detectado.

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos para fenólicos totais e atividade antioxidante. Wu et al. (2006) e Abreu et al. (2012) analisaram o teor de fenólicos totais em pitáia e obtiveram valores de 42,40 e 124,55mgEAG.100g⁻¹, respectivamente. Esta diferença pode ser justificada pelo fato de a composição fenólica das frutas variar de acordo com fatores genéticos e ambientais, além de poder modificar-se por meio de reações de oxidação durante o processamento e armazenamento (ROBARDS et al., 1999). A pitáia deste estudo apresentou de uma a três vezes mais fenólicos totais quando comparada aos dois estudos citados, sendo também cerca de três vezes superior à banana (51mgEAG.100g⁻¹), cinco vezes superior ao mamão papaia (28mgEAG.100g⁻¹) e duas vezes superior à laranja (75mgEAG.100g⁻¹) analisados por Lim et al. (2007).

Tabela 4. Teor de fenólicos totais e atividade antioxidante em polpa de pitáia (*Hylocereus polyrhizus*).

Determinações	Média
Fenólicos totais (mgEAG.100g ⁻¹)	149,32 ± 2,82
Atividade antioxidante (mMFe ⁺² .100g ⁻¹)	10,15 ± 0,57

Vaillant et al. (2005) atribuíram a alta atividade antioxidante da pitáia vermelha ao seu alto conteúdo de compostos fenólicos e betacianinas. Na literatura são escassos os trabalhos de avaliação da atividade antioxidante em pitaias pelo método FRAP expressando os resultados em $\mu\text{M Fe}^{+2}$, entretanto pode-se afirmar que a atividade antioxidante da pitáia neste estudo foi cerca de seis vezes maior do que

em amora ($1,72\text{mMFe}^{+2}\cdot 100\text{g}^{-1}$), sete vezes maior do que em uva ($1,33\text{mMFe}^{+2}\cdot 100\text{g}^{-1}$), oitenta e quatro vezes maior do que em maçã ($0,12\text{mMFe}^{+2}\cdot 100\text{g}^{-1}$) e vinte vezes maior do que no kiwi ($0,50\text{mMFe}^{+2}\cdot 100\text{g}^{-1}$) de acordo com estudo realizado por Araya et al. (2006) também pelo método FRAP.

4. Conclusão

A pitáia de polpa vermelha (*Hylocereus polyrhizus*) apresenta características físico-químicas e nutricionais aceitáveis para o consumo *in natura*, destacando-se pelo seu alto teor de fibras e atividade antioxidante, e seu baixo valor energético. Por apresentar elevado teor de sólidos solúveis totais, também é uma alternativa promissora para a indústria de polpas e sucos, garantindo assim uma maior aplicabilidade da fruta e gerando alternativas para consumo e comercialização.

5. Referências

- ABREU, W. C.; LOPES, C. O.; PINTO, K. M.; OLIVEIRA, L. A.; CARVALHO, G. B. M.; BARCELO, M. F. P. Características físico-químicas e atividade antioxidante total de pitaias vermelha e branca. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.71, n.4, p.656-661, 2012.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists International. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 19^a ed. Arlington, 2012.
- ARAYA, L. H.; CLAVIJO, R. C.; HERRERA, C. Capacidade antioxidante de frutas y verduras cultivados en Chile. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.56, n.4, p.361-365, 2006.
- ARIFFIN, A. A.; BAKAR, J.; TAN, C. P.; RAHMAN, R. A. Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. **Food Chemistry**, v.114, p.561-564, 2009.
- AULENBACH, B. B.; WORTHINGTON, J. T. Sensory evaluation of muskmelon: Is soluble solids content a good quality index? **Hort-Science**, v.9, p.136–137, 1974.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v.239, p.70-76, 1996.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2003.

CHISTÉ, R. C.; FARIA, L. J. G.; LOPES, A. S.; MATTIETTO, R. A Características físicas e físico-químicas da casca de mangostão em três períodos da safra. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, n.2, p.416-422, 2009.

CHITARRA; M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2ª ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005.

CORDEIRO, M. H. M.; SILVA, J. M.; MIZOBUTSI, G. P.; MIZOBUTSI, E. H.; MOTA, W. F. Caracterização física, química e nutricional da pitaiá-rosa de polpa vermelha. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.37, n.1, p.20-26, 2015.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Food microbiology**. 4ª ed. Nova Iorque: McGraw-Hill, 1988. 539p.

JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FONSECA, K. G.; LIMA, C. A.; SANTOS, E. C. Variabilidade genética de acessos de pitaya com diferentes níveis de produção por meio de marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.3, p.840-846, 2010.

LE BELLEC, F.; VAILLANT, F.; IMBERT, E. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a new fruit crop, a market with a future. **Fruits**, v.61, n.4, p.237-250, 2006.

LIM, H. K.; TAN, C. P.; KARIM, R.; ARIFFIN, A. A.; BAKAR, J. Chemical composition and DSC thermal properties of two species of *Hylocereus* cacti seed oil: *Hylocereus undatus* and *Hylocereus polyrhizus*. **Food Chemistry**, v.119, p.1326-1331, 2010.

LIM, Y. Y.; LIM, T. T.; TEE, J. J. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. **Food Chemistry**, v.103, p.1003-1008, 2007.

LIMA, C. A.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; COHEN, K. O.; GUIMARÃES, T. G. Características físico-químicas, polifenóis e flavonoides amarelos em frutos de espécies de pitaias comerciais e nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, n.2, p.565-570, 2013.

NUNES, E. N.; SOUSA, A. S. B.; LUCENA, C. M.; SILVA, S. M.; LUCENA, R. F. P.; ALVES, C. A. B.; ALVES, R. E. Pitaia (*Hylocereus* sp.): uma revisão para o Brasil. **Gaia Scientia**, v.8, n.1, p.90-98, 2014.

ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y. D.; CARRILLO-SALAZAR, J. A. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a short review. **Comunicata Scientiae**, v.3, n.4, p.220-237, 2012.

PAULI, E. D.; CRISTIANO, V.; NIXDORF, S. L. Método para determinação de carboidratos empregado na triagem de adulterações do café. **Química Nova**, v.34, n.4, p.689–694, 2011.

REUTER, W. M. **Analysis of organic acids in fruit juices by HPLC and UV detection**. Perkin Elmer, 2015. Disponível em: <https://www.perkinelmer.com/CMSResources/Images/44-75518APP_Analysis-of-Organic-Acids-in-Fruit-Juices-by-HPLC-and-UV-Detection-012299_01.pdf> Acesso em: 10/09/2015.

ROBARDS, K.; PRENZLER, P. D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, v.66, p.401-436, 1999.

SATO, S. T. A.; RIBEIRO, S. C. A.; SATO, M. K.; SOUZA, J. N. S. Caracterização física e físico-química de pitayas vermelhas (*Hylocereus costaricensis*) produzidas em três municípios paraenses. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v.1, n.2, p.46-56, 2014.

SILVA, J. A. A.; GRIZOTTO, R. K.; MIGUEL, F. B.; BÁRBARO, I. M. Caracterização físico-química de frutos de clones de doviális (*Dovyalis abyssinica* Warb). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, p.466-472, 2011.

STINTZING, F. C.; SCHIEBER, A.; CARLE, R. Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. **European Food Research and Technology**, v.216, n.4, p.303-331, 2003.

SWAIN, T.; HILLS, W.E. The phenolic constituents of *Punnus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.19, p.63-68, 1959.

TENORE, G. C.; NOVELLINO, E.; BASILE, A. Nutraceutical potential and antioxidante benefits of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) extracts. **Journal of Functional Foods**, v.4, p.129-136, 2012.

UNICAMP - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. **Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO**. 4ª ed. rev. e ampl. Campinas:

UNICAMP/NEPA, 2011. 161 p. Disponível em:

<https://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada>

Acesso em: 23/08/2017.

VAILLANT, F.; PEREZ, A.; DAVILA, I.; DORNIER, M.; REYNES, M. Colorant and antioxidante properties of red-purple pitahaya (*Hylocereus* sp.). **Fuits**, v.60, n.1, p.3-12, 2005.

WU, L-C.; HSU, H-W.; CHEN, Y-C.; CHIU, C-C.; LIN, Y-I.; HO, J. A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**, v.95, p.319-327, 2006.

ZAINOLDIN, K. H.; BABA, A. S. The effect of *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* on physicochemical, proteolysis, and antioxidant activity in yogurt.

International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering, v.3, n.12, 2009.

CAPÍTULO 3 – Aceitação, caracterização e estudo da estabilidade ao armazenamento sob refrigeração de bebidas não alcoólicas de pitaia e maçã fermentadas por cultura mista de kefir.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi desenvolver, caracterizar e estudar a estabilidade ao armazenamento sob refrigeração de bebidas tipo kefir obtidas pela fermentação de polpa de pitaia e suco integral de maçã. A fermentação das formulações FC (água e açúcar mascavo), F1 (água, açúcar mascavo e polpa de pitaia) e F2 (água, açúcar mascavo, polpa de pitaia e suco integral de maçã) ocorreu em duas etapas, à 25°C, durante 24 horas cada uma, e o estudo da estabilidade foi realizado à temperatura de refrigeração (7°C) durante 28 dias com análises no tempo inicial e a cada 7 dias. A adição de polpa de pitaia em F1 e de polpa de pitaia e suco integral de maçã em F2 aumentou ($p \leq 0,05$) o teor de sólidos solúveis totais, a acidez, o teor alcoólico, o teor de fenólicos totais e a atividade antioxidante, e aportou fibra alimentar total. A adição de suco integral de maçã aumentou ($p \leq 0,05$) o teor de fenólicos totais e atividade antioxidante em F2, mas não influenciou nas notas de aceitação sensorial. A fermentação de polpa de pitaia, com ou sem adição de suco integral de maçã, pela cultura mista de kefir produziu uma bebida não alcoólica e aceita pelos avaliadores. Após 28 dias de estocagem, F1 e F2 apresentaram, respectivamente, redução de 6,3 e 5,3% no teor de sólidos solúveis totais, 9,2 e 5,3% no pH, 30% no teor de fenólicos totais, e aumento de 2,7 e 1,8 vezes na acidez e 2,5 e 1,9 vezes no teor alcoólico, demonstrando que a temperatura de 7°C não foi suficiente para inibir totalmente os microrganismos.

Palavras-chave: *Hylocereus polyrhizus*, fermentação, estocagem, atividade antioxidante, sensorial.

Abstract

The objective of this work was to develop, characterize and study the storage stability under refrigeration of kefir beverages obtained by the fermentation of pitaia pulp and whole apple juice. The fermentation of the FC (water and brown sugar), F1 (water, brown sugar and pitaia pulp) and F2 (water, brown sugar, pitaia pulp and whole apple juice) occurred in two steps at 25°C for 24 hours each, and the stability study was

performed at refrigeration temperature (7°C) for 28 days with analyzes at the initial time and every 7 days. The addition of pitaia pulp in F1 and pitaia pulp and whole apple juice in F2 increased ($p \leq 0.05$) the total soluble solids content, acidity, alcohol content, total phenolic content and activity antioxidant, and provided total dietary fiber. The addition of whole apple juice increased ($p \leq 0.05$) the total phenolic content and antioxidant activity in F2, but did not influence the sensory acceptance scores. The fermentation of pitaia pulp, with or without addition of whole apple juice, by the mixed culture of kefir produced a non-alcoholic beverage and accepted by the evaluators. After 28 days of storage, F1 and F2 presented, respectively, a reduction of 6.3 and 5.3% in the total soluble solids content, 9.2 and 5.3% in the pH, 30% in total phenolic content, and 2.7 and 1.8 fold increase in acidity and 2.5 and 1.9 times the alcohol content, demonstrating that the temperature of 7°C was not sufficient to totally inhibit the microorganisms.

Keywords: *Hylocereus polyrhizus*, fermentation, storage, antioxidant activity, sensory.

1. Introdução

A pitaia é uma fruta potencial na área alimentícia, medicinal e de produção industrial, podendo ser processada de diversas maneiras, dentre elas pela fermentação. É uma fruta pertencente à família Cactaceae que se encontra distribuída pela Costa Rica, Venezuela, Panamá, Uruguai, Brasil, Colômbia, México, Estados Unidos, Israel, Malásia e Tailândia. Acredita-se também que o Brasil seja um dos centros de origem desta planta (ORTIZ-HERNÁNDEZ & CARRILLO-SALAZAR, 2012; JUNQUEIRA et al., 2010). É rica em vitaminas e fibras que auxiliam no processo digestivo, previnem o câncer de cólon, o diabetes, neutralizam substâncias tóxicas e ajudam a reduzir os níveis de colesterol e a hipertensão arterial (LIM et al., 2010; WICHENCHOT et al., 2010; NUNES et al., 2014).

Dentre as diversas espécies de pitaia, a *Hylocereus polyrhizus* se destaca pela sua polpa vermelha que apresenta oligossacarídeos com potencial prebiótico, pelo seu sabor e textura devido à presença de grande quantidade de sementes com elevado nível de lipídeos funcionais, e pelas especulações sobre seu conteúdo de compostos bioativos, sobretudo pigmentos e compostos fenólicos (LIM et al., 2010; WICHENCHOT et al., 2010; NUNES et al., 2014).

A combinação de frutas para o desenvolvimento de bebidas mistas tem se sobressaído devido às características diferenciadas que apresentam, melhorando a aceitação sensorial dos produtos pela combinação de diferentes aromas e sabores, e incrementando sua composição quanto aos compostos de interesse para a saúde, em especial os nutrientes e a capacidade antioxidante (CARVALHO et al., 2017). A maçã é uma matéria-prima de interesse para a produção de bebidas mistas devido ao seu conteúdo de fenóis que influencia nestas características sensoriais, bem como na formação de certos aromas e na transparência das bebidas. Há estudos que somam mais de 50 compostos voláteis encontrados em maçã, dentre eles álcoois, ácidos, ésteres, cetonas, lactonas, aldeídos e outras moléculas complexas que resultam do metabolismo secundário de plantas (SIMÕES et al., 2009).

Tem sido observado um aumento na procura por bebidas funcionais de origem não láctea devido, principalmente, ao vegetarianismo, à intolerância à lactose e alergia à proteína do leite (DONGMO et al., 2016). Desta forma, produtos fermentados à base de cereais e frutas têm ganhado cada vez mais atenção, sendo também uma alternativa para o prolongamento da vida útil e aumento do valor agregado do alimento.

Uma alternativa para os produtos fermentados não lácteos é o kefir de água, produzido pela inoculação de grãos de kefir em diversos substratos. Os grãos de kefir são constituídos por uma cultura mista de microrganismos em simbiose, composta principalmente por bactérias lácticas (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* e *Streptococcus* spp.) e leveduras (*Kluyveromyces*, *Saccharomyces* e *Torula*), além de algumas bactérias acéticas (*Acetobacter* e *Gluconacetobacter*) (JIANZHONG et al., 2009; MARSH et al., 2013; ÖZDEMİR et al., 2015).

Os sucos de frutas são opções ideais para a produção de kefir de água pois são meios ricos em água, açúcar, proteínas, aminoácidos, vitaminas e minerais, que juntos fornecem um meio adequado para o desenvolvimento dos microrganismos presentes nos grãos. A fermentação destes substratos faz com que as bebidas de kefir apresentem sabor ácido, refrescante, ligeiramente carbonatado, com baixo teor alcoólico e acético (RANDAZZO et al., 2016).

O kefir de água contém vitaminas do complexo B, K, minerais como cálcio, magnésio e fósforo, e aminoácidos essenciais que ajudam o corpo na

regulação e manutenção das suas funções renais, hepáticas e do sistema nervoso, além de conter também proteínas completas e de fácil digestão. Os benefícios de seu consumo na dieta são inúmeros, tendo sido objeto de estudo no qual apresentou atividade antitumoral e antimicrobiana *in vitro* contra uma ampla variedade de bactérias gram-negativas, gram-positivas e alguns fungos (OTLES & CAGINDI, 2003).

Por ser uma bebida com microrganismos vivos que fermentam a temperaturas próximas de 25°C, o kefir de água possui uma curta vida de prateleira se comercializado à temperatura ambiente. Aliado a isso, os consumidores têm se tornado cada vez mais exigentes na busca de produtos com longa vida de prateleira, porém sem adição de conservantes. Surge, então, a necessidade de estudar métodos de conservação para prolongar a vida de prateleira do produto e, neste âmbito, a cadeia do frio se torna uma das alternativas.

Devido aos numerosos efeitos positivos do kefir, bem como dos vegetais e frutas na saúde humana, este trabalho teve como objetivo desenvolver, caracterizar e estudar a estabilidade ao armazenamento sob refrigeração de bebidas tipo kefir obtidas pela fermentação de polpa de pitaiá e suco integral de maçã a fim de obter novas opções de bebidas fermentadas não lácteas e não alcoólicas.

2. Material e Métodos

2.1 Material

Os frutos de pitaiá de casca vermelha e polpa vermelha da espécie *Hylocereus polyrhizus* foram adquiridos de produtor da cidade de Assis/SP (22°39'40"S, 50°23'58"W, altitude de 560m, clima subtropical úmido), na safra de dezembro 2016/abril 2017, colhidos 30 dias após a floração em janeiro/2017. Os frutos foram higienizados por imersão em solução aquosa de hipoclorito de sódio à 200mg.L⁻¹ durante 15 minutos e em seguida enxaguados em água corrente e secos à temperatura ambiente. As polpas foram separadas da casca manualmente e homogeneizadas juntamente com as sementes em liquidificador industrial (BERMAR, BM43NR, Brasil), separadas em sacos de polietileno e congeladas à -18°C até o momento da produção das bebidas.

O suco integral de maçã (do bemTM, Rio de Janeiro, Brasil), água mineral sem gás (Cristal Premium, Maringá, Brasil) e açúcar mascavo (Água do Cedro, Itambaraca, Brasil) foram adquiridos no comércio de Londrina/PR.

2.2 Métodos

2.2.1 Formulação das bebidas

Para a formulação das bebidas, utilizou-se solução açucarada ($6\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$) de água mineral sem gás e açúcar mascavo esterilizada em autoclave (121°C por 15 minutos), e polpa de pitaia e suco integral de maçã (do bem™) pasteurizados (65°C por 30 minutos).

A partir de testes preliminares foram escolhidas 2 formulações, acrescidas de uma formulação controle: FC, F1 e F2. A formulação controle (FC) continha somente água e açúcar mascavo na concentração de $6\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$; F1 continha $6\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ de açúcar mascavo e $25\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ de polpa de pitaia; e F2 continha $6\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ de açúcar mascavo, $25\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ de polpa de pitaia e $5\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ de suco integral de maçã com o objetivo de melhorar o aroma e o sabor da bebida. A fermentação foi realizada em duas etapas, conforme descrito abaixo.

Primeira etapa: os grãos de kefir foram inoculados na proporção de $5\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ à solução de água açucarada (previamente resfriada à temperatura ambiente) em frascos reagentes de vidro identificados como FC, F1 e F2, que foram mantidos à 25°C durante 24 horas em incubadora BOD (TECNAL®, Brasil). Ao final da primeira etapa, os grãos foram filtrados em peneiras e o líquido fermentado transferido para garrafas FC, F1 (contendo polpa de pitaia pasteurizada) e F2 (contendo polpa de pitaia e suco integral de maçã pasteurizados).

Segunda etapa: as garrafas foram mantidas à 25°C durante 24 horas em incubadora BOD (TECNAL®, Brasil). Esta etapa foi realizada em garrafas de vidro âmbar com tampa tipo *flip-top* para preservar a gaseificação natural produzida na segunda fermentação.

Ao final da segunda etapa, as garrafas foram armazenadas sob refrigeração (7°C) durante 28 dias para o estudo da estabilidade, com análises no tempo inicial e a cada 7 dias.

2.2.2 Análises físico-químicas

As análises foram realizadas de acordo com metodologias da AOAC (2012): sólidos solúveis totais (SST) em refratômetro digital (Mettler Toledo, LiquiPhysics™ Excellence RM40, Brasil), pH em potenciômetro digital (GEHAKA,

PG2000, Brasil), acidez em ácido málico por titulometria com NaOH 0,1 M até pH 8,2-8,4, e fibra alimentar total (FAT) pelo método enzimático-gravimétrico.

A identificação e quantificação dos açúcares glicose, frutose e sacarose foi realizada através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com água ultra-pura como fase móvel, utilizando cromatógrafo Shimadzu com bomba de alta pressão (LC-20AT), injetor automático (SIL-20AC HT) com volume de injeção ajustado para 20µL, detector por índice de refração (RID-10A), forno de coluna (CTO-20A) mantido à temperatura constante de 85°C, módulo de controle (CBM-20A) e coluna de troca iônica Aminex HPX-87P (7,8x300mm na forma iônica Pb⁺², Biorad, CA, EUA). A aquisição de dados e a integração dos picos cromatográficos foram realizados com o auxílio do software LC Solutions (PAULI, 2011).

A identificação e quantificação dos ácidos orgânicos láctico, succínico, acético, málico e cítrico foi realizada através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com solução tampão de fosfato de sódio 25mM, com pH ajustado para 2,4 na vazão de 1,0mL.min⁻¹, utilizando cromatógrafo Shimadzu com bomba de alta pressão (LC-20AT), injetor automático (SIL-20AC HT) com volume de injeção ajustado para 20µL, detector por índice de refração (RID-10A), detector de arranjo de fotodiodos (SPD-M20A), forno de coluna (CTO-20A) mantida à temperatura constante de 30°C, módulo de controle (CBM-20A) e coluna cromatográfica Shiseido CapCell Pak 5µ C18 MG (250x4,6mm). A detecção foi realizada simultaneamente nos detectores de índice de refração (RID-10A) e arranjo de fotodiodos (SPD-M20A), programado em comprimento de onda fixo de 215nm e no modo de varredura de 200 a 400nm. A aquisição e processamento dos dados foram realizados com o auxílio do software LC Solutions (REUTER, 2015).

Para a análise do teor alcoólico, as amostras foram diluídas em tubos Falcon na proporção 1:5 (v:v) em água ultrapura, agitados em vortex até completa homogeneização e centrifugadas em centrífuga (Eppendorf, Centrifuge 5804R, Alemanha) à 5.000rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi recolhido e analisado por Cromatografia Gasosa acoplado à Espectrometria de Massas em cromatógrafo GCMS (Shimadzu, QP2010 Plus, Japão) com amostrador automático de acordo com Bagewadi et al. (2016). GC-MS foi equipado com coluna capilar Rtx-5MS (dimensões 30mx0,25mm), intervalo de varredura de 0,5s e varredura de massas entre 40-500m/z. A temperatura da coluna foi mantida a 50°C durante 1 minuto e, em seguida,

foi aumentada a taxas de 20°C a cada minuto até atingir temperatura final de 280°C. A temperatura do injetor foi mantida a 250°C e utilizou-se hélio como gás de arraste, com volume de injeção de 1µL. O espectrômetro de massas foi operado com ionização por impacto de elétrons (70eV). Foi construída uma curva padrão utilizando etanol absoluto diluído em água ultrapura e os resultados foram expressos em mL.100mL⁻¹.

O teor de fenólicos totais foi determinado segundo Swain & Hills (1959), a leitura realizada em espectrofotômetro (Thermo Scientific™, GENESYS 10S UV-Vis, Alemanha) a um comprimento de onda de 760nm. Foi construída uma curva padrão utilizando ácido gálico e os resultados foram expressos em mgEAG.100mL⁻¹. A atividade antioxidante foi determinada pelo método de redução do ferro (FRAP) segundo Benzie & Strain (1996), a leitura realizada em espectrofotômetro (Thermo Scientific™, GENESYS 10S UV-Vis, Alemanha) a um comprimento de onda de 595nm. Foi construída uma curva padrão utilizando sulfato de ferro (II) e os resultados foram expressos em mMFe⁺².100mL⁻¹. O extrato para análise de fenólicos totais e atividade antioxidante foi preparado utilizando acetona 50% como solução extratora segundo método descrito por Wu et al. (2006).

2.2.3 Análises microbiológicas

As bebidas F1 e F2, que posteriormente seriam avaliadas sensorialmente, foram analisadas microbiologicamente para verificar se estavam dentro dos padrões microbiológicos para alimentos exigidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Foram realizadas análises de Coliformes a 45°C e *Salmonella* spp. segundo metodologia de Silva et al. (2010).

2.2.4 Análise de aceitação sensorial

A análise foi realizada após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (CEP) da Universidade Estadual de Londrina (nº do parecer: 1.748.247). As bebidas F1 e F2 foram submetidas à análise sensorial através de teste de aceitação por 100 avaliadores não treinados, dos quais 54% eram mulheres, 87% tinham idade entre 18 e 29 anos, 83% conheciam a pitaita mas somente 50% já haviam experimentado a fruta. Os avaliadores receberam as duas formulações, em ordem aleatória de apresentação, em taças de plástico codificadas contendo um volume aproximado de 50mL de cada bebida à temperatura de

refrigeração (7°C), e preencheram fichas de avaliação sensorial informando o quanto gostaram ou desgostaram de cada formulação numa escala hedônica que variava de 9 (gostei extremamente) a 1 (desgostei extremamente) em relação aos atributos cor, aroma, sabor e textura.

2.2.5 Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata e as médias foram submetidas à análise de variância e de comparação de médias utilizando o software Statistica 8.0. Para a comparação das médias, utilizou-se o teste t em nível de 5% de significância para a análise de aceitação sensorial e o teste de Tukey em nível de 5% de significância para as demais análises.

3. Resultados e Discussão

3.1 Análises físico-químicas

Os resultados obtidos para os parâmetros físico-químicos estão listados na Tabela 1. As três formulações diferiram entre si ($p \leq 0,05$) em relação ao teor de SST, pH e acidez. Esse comportamento era esperado, uma vez que a adição de fruta aporta açúcares e ácidos que irão influenciar diretamente nos sólidos solúveis e na acidez, respectivamente. Características semelhantes foram encontradas por Randazzo et al. (2016) em kefir de vários tipos de frutas cujo teor de SST variou entre 5,87 e 9,97°Brix, pH entre 3,48 e 4,11, e acidez entre 0,19 e 1,28g.100mL⁻¹. Corona et al. (2015) produziu kefir de melão e de morango com teor de SST (3,83 e 2,47°Brix) abaixo do encontrado neste trabalho e acidez acima (0,53 e 0,88g.100mL⁻¹). Concluiu-se que estes parâmetros físico-químicos das bebidas são muito particulares e variam de acordo com a fruta utilizada, não seguindo um padrão.

Tendo em vista que as frutas possuem um alto teor de fibras, as bebidas de frutas terão seu teor de fibra alimentar total (FAT) relacionado com a concentração de fruta contida nelas. De fato, somente as formulações F1 e F2, aquelas que receberam adição de frutas, apresentaram teor de FAT. No entanto, a quantidade de suco integral de maçã adicionado à F2 não foi suficiente para provocar uma mudança significativa no teor de FAT ($p > 0,05$) em relação à F1.

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos das formulações FC (água e açúcar mascavo), F1 (água, açúcar mascavo e polpa de pitaita) e F2 (água, açúcar mascavo, polpa de pitaita e suco integral de maçã).

	FC	F1	F2
SST (°Brix)	5,85 ± 0,04 ^c	8,61 ± 0,01 ^b	9,14 ± 0,01 ^a
pH	4,81 ± 0,02 ^a	4,26 ± 0,02 ^b	4,19 ± 0,03 ^c
Acidez em ác. málico (g.100mL ⁻¹)	0,04 ± 0,00 ^c	0,20 ± 0,01 ^b	0,25 ± 0,01 ^a
FAT (g.100mL ⁻¹)	ND	1,68 ± 0,14 ^a	1,85 ± 0,17 ^a
Sacarose (g.L ⁻¹)	38,23 ± 4,76 ^a	ND	ND
Glicose (g.L ⁻¹)	1,77 ± 0,15 ^b	29,17 ± 1,41 ^a	25,72 ± 0,87 ^a
Frutose (g.L ⁻¹)	2,78 ± 0,01 ^b	15,75 ± 0,88 ^a	15,12 ± 0,47 ^a
Ácido láctico (g.L ⁻¹)	0,15 ± 0,01 ^b	1,12 ± 0,07 ^a	1,05 ± 0,01 ^a
Ácido succínico (g.L ⁻¹)	ND	0,28 ± 0,02 ^a	0,26 ± 0,04 ^a
Ácido acético (g.L ⁻¹)	0,18 ± 0,03 ^a	0,24 ± 0,05 ^a	0,20 ± 0,03 ^a
Ácido málico (g.L ⁻¹)	ND	0,13 ± 0,01 ^a	0,16 ± 0,01 ^a
Ácido cítrico (g.L ⁻¹)	0,01 ± 0,00 ^c	0,06 ± 0,01 ^a	0,04 ± 0,00 ^b
Teor alcoólico (g.100mL ⁻¹)	0,03 ± 0,00 ^b	0,22 ± 0,04 ^a	0,25 ± 0,04 ^a
Fenólicos totais (mgEAG.100mL ⁻¹)	5,12 ± 0,64 ^c	42,08 ± 2,25 ^b	62,01 ± 0,72 ^a
Atividade antioxidante (mMFe ⁺² .100mL ⁻¹)	1,07 ± 0,02 ^c	2,49 ± 0,14 ^b	3,19 ± 0,15 ^a

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância.

ND: não detectado.

A Food and Drug Administration (FDA) recomenda o consumo de 25g de fibra alimentar total por dia em uma dieta de 2.000 calorias, portanto o consumo de 100mL das bebidas F1 ou F2 forneceria cerca de 7% da recomendação diária. A ingestão de fibras beneficia o aparelho digestivo agindo sobre a absorção da glicose, combatendo doenças cardiovasculares, obesidade e doenças do cólon.

As três formulações partiram da adição de 6% de açúcar mascavo, que foi totalmente hidrolisada à glicose e frutose durante a fermentação nas formulações F1 e F2, e parcialmente hidrolisada na formulação controle (FC). A

hidrólise, uma das etapas do processo de transformação da glicose em etanol e gás carbônico, ocorre pela atividade da enzima invertase presente nas leveduras (MAGALHÃES et al., 2010), e a hidrólise incompleta em FC indica que possivelmente o desenvolvimento das leveduras durante a fermentação nesta formulação tenha sido mais lento do que nas demais. As formulações F1 e F2, que foram adicionadas de frutas, possivelmente apresentaram maior disponibilidade de nutrientes como minerais e vitaminas, que são fatores que podem auxiliar na ação enzimática do metabolismo das leveduras, e por isso tiveram um melhor desempenho em relação à FC (WARD, 1991).

As formulações F1 e F2 não diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$) em relação à glicose e à frutose, mas diferiram de FC cuja concentração de glicose e frutose foi cerca de 15 e 5 vezes inferior, respectivamente. A frutose e a glicose estão naturalmente presentes nas frutas e, conseqüentemente, em seus sucos, o que justifica a maior concentração destes compostos nas formulações F1 e F2.

A síntese de ácidos é atribuída à ação microbiana na metabolização dos açúcares presentes na bebida. A glicólise produz o ácido pirúvico e a partir da sua decomposição podem ser formados ácidos como o lático, o succínico, o málico e o cítrico (HUTKINS, 2006). Já a formação do ácido acético se dá pela oxidação do etanol pelas bactérias heterofermentativas do gênero *Acetobacter*, pois possuem as enzimas álcool desidrogenase, que é capaz de converter o etanol em acetaldeído, e aldeído desidrogenase, que é capaz de transformar o acetaldeído em ácido acético (MAGALHÃES et al., 2010; GOMES et al., 2018).

Os ácidos lático e acético são produtos do metabolismo de bactérias lácticas e acéticas, respectivamente, portanto a presença destes ácidos em bebidas fermentadas pode caracterizar a presença destes microrganismos na fermentação. Randazzo et al. (2016) e Magalhães et al. (2010) já haviam reportado a presença destes ácidos em bebidas fermentadas por kefir com e sem frutas, que também foram detectadas nas três formulações deste estudo.

Com relação ao ácido lático, FC diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) de F1 e F2, que apresentaram teor cerca de 7 vezes maior, mas que, no entanto, não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre si. Nenhuma das três formulações diferiu significativamente entre si ($p > 0,05$) em relação ao ácido acético.

Segundo Puerari et al. (2012), os ácidos cítrico e málico são comumente encontrados em bebidas fermentadas com frutas e atuam como conservantes devido às suas propriedades antimicrobianas. O ácido málico foi detectado somente em F1 e F2 e não diferiu significativamente ($p > 0,05$) entre elas. Já o ácido cítrico foi detectado nas três formulações, diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) entre todas.

O etanol foi detectado nas três formulações, no entanto todas se enquadraram dentro da legislação brasileira como bebidas não alcoólicas pois apresentaram teor alcoólico abaixo de 0,5% (BRASIL, 2009). Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre F1 e F2, mas ambas diferiram de FC que foi pelo menos 7 vezes menor. Esta baixa produção de etanol em FC pode estar relacionada com o desenvolvimento mais lento das leveduras na fermentação, que são as principais responsáveis pela produção de etanol em kefir (MAGALHÃES et al., 2010).

Os compostos fenólicos compreendem uma grande classe de metabólitos secundários de plantas, possuem inúmeras atividades biológicas e têm sido estudados por contribuírem na manutenção de uma vida saudável associada a uma dieta de consumo de frutas e vegetais. Além disso, também possuem atividade antioxidante pois reagem com radicais livres, estabilizando-os (CHEYNIER, 2012). A adição de frutas nas bebidas contribuiu para o aumento tanto do teor de fenólicos totais quanto da atividade antioxidante nas formulações F1 e F2 frente à formulação controle (FC), e a adição de suco integral de maçã foi suficiente para aumentar significativamente ($p \leq 0,05$) o teor de fenólicos totais e a atividade antioxidante da formulação F2 em relação à F1.

3.2 Análise de aceitação sensorial

Ambas as formulações se enquadraram nos padrões microbiológicos exigidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), e os produtos estavam aptos para a realização da análise de aceitação sensorial.

As médias de todos os atributos estão apresentados na Tabela 2. Todos os atributos apresentaram médias acima de “gostei ligeiramente”, e nenhum dos atributos apresentou diferença significativa entre F1 e F2, mostrando que ainda que as duas formulações tenham apresentado diferença significativa no teor de SST, pH e acidez, que são características que impactam no dulçor e acidez da bebida, ambas foram igualmente aceitas pelos avaliadores.

Tabela 2. Análise comparativa de aceitação sensorial entre as formulações F1 (água, açúcar mascavo e polpa de pitáia) e F2 (água, açúcar mascavo, polpa de pitáia e suco integral de maçã).

	F1	F2
Cor	8,34 ± 0,95 ^a	8,35 ± 0,89 ^a
Aroma	6,04 ± 1,80 ^a	6,19 ± 1,60 ^a
Sabor	6,37 ± 2,06 ^a	6,55 ± 2,03 ^a
Textura	7,16 ± 1,64 ^a	7,17 ± 1,60 ^a

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste t em nível de 5% de significância.

Os atributos com maiores médias foram a cor, um vermelho-violeta que pode ser atribuído à presença de betacianinas na polpa da pitáia, com médias entre “gostei moderadamente” e “gostei extremamente”, e a textura, com médias entre “gostei regularmente” e “gostei moderadamente”.

Os atributos com menores médias foram o aroma e o sabor, ambos com médias entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Ainda que o suco integral de maçã tenha sido adicionado para melhorar o sabor e o aroma da bebida F2, não houve diferença significativa na aceitação desta em relação à formulação sem suco de maçã (F1). Desta forma, a produção da formulação F1 torna-se uma opção mais econômica frente à F2, tendo em vista que o suco integral de maçã é uma matéria-prima que encarece o produto.

Todos os atributos de ambas as formulações apresentaram média acima das obtidas por Randazzo et al. (2016) em avaliação sensorial de kefir de maçã, uva, kiwi, romã, marmelo e opúncia, quando foi avaliado o quesito de aceitação global de cada bebida cuja média máxima foi próxima de 5, referente a “não gostei, nem desgostei”, utilizando a mesma escala.

3.3 Estabilidade ao armazenamento sob refrigeração (7°C)

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados obtidos para SST, pH e acidez em ácido málico. No tempo inicial (0 dias), F2 apresentou maior teor de SST, menor pH e maior acidez em relação à F1. Este resultado é justificado pela presença de suco de maçã, que aporta açúcares e ácidos orgânicos impactando na doçura e acidez da bebida.

Durante os 28 dias de armazenamento sob refrigeração à 7°C, a queda no teor de SST foi gradativa para ambas as formulações, apresentando diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação ao primeiro e último dia de armazenamento. Esta queda foi mais acentuada em F1, com redução de 6,3%, e menor em F2, com 5,3%.

Ambas as formulações apresentaram redução do pH ao longo dos 28 dias, sendo a redução em F2 significativa ($p \leq 0,05$) somente entre 0 e 7 dias, mantendo-se constante até o 28º dia. Durante os 28 dias de armazenamento, ambas as formulações apresentaram pH abaixo de 4,5, característica importante pois garante estabilidade microbiológica ao produto frente à microrganismos patógenos e deteriorantes (FRAZIER & WESTHOFF, 1988). Em contrapartida, esta redução do pH pode afetar sensorialmente o produto. Em relação à acidez, esta foi crescente até o 14º dia para ambas as formulações, chegando a triplicar em F1 e duplicar em F2, mas voltando a decair no 21º dia e mantendo-se constante até o 28º dia, já que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre o 21 e 28º dia para nenhuma das formulações.

A redução da temperatura de produção/fermentação (25°C) para a temperatura de refrigeração (7°C) implica no retardo e/ou inibição da atividade metabólica dos microrganismos (MADIGAN et al., 2014). No caso da cultura mista de kefir, uma simbiose de microrganismos onde encontram-se diversos gêneros de bactérias lácticas, acéticas e leveduras, a redução da temperatura até 7°C não foi suficiente para inibir totalmente os microrganismos, permitindo que bactérias lácticas e acéticas prosseguissem com seu metabolismo de consumo de açúcares e produção de ácidos orgânicos, fato que justifica a redução de SST e pH, e aumento da acidez. Se faz necessário estudos com outros métodos de conservação para verificar qual se adequa mais a esse tipo de produto.

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos das formulações F1 (água, açúcar mascavo e polpa de pitáia) e F2 (água, açúcar mascavo, polpa de pitáia e suco integral de maçã) armazenadas sob refrigeração (7°C) durante 28 dias.

Dias	SST (°Brix)		pH		Acidez em ác. málico (g.100mL ⁻¹)	
	F1	F2	F1	F2	F1	F2
0	8,61±0,01 ^a	9,14±0,01 ^a	4,26±0,02 ^a	4,19±0,03 ^a	0,20±0,01 ^c	0,25±0,01 ^c
7	8,40±0,04 ^b	8,89±0,02 ^b	3,94±0,01 ^b	3,99±0,03 ^b	0,58±0,03 ^{ab}	0,46±0,02 ^b
14	8,35±0,04 ^b	8,78±0,03 ^c	3,94±0,02 ^b	3,94±0,01 ^b	0,62±0,02 ^a	0,66±0,03 ^a
21	8,20±0,08 ^c	8,76±0,04 ^c	3,92±0,05 ^{bc}	3,98±0,04 ^b	0,54±0,02 ^b	0,48±0,02 ^b
28	8,07±0,04 ^d	8,66±0,03 ^d	3,87±0,03 ^c	3,97±0,03 ^b	0,53±0,02 ^b	0,45±0,01 ^b

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância.

O teor alcoólico, fenólicos totais e a atividade antioxidante das bebidas estão descritos na Tabela 4. Para F1 e F2 observa-se um aumento de 2,5 e 1,9 vezes no teor alcoólico entre o primeiro e o último dia. O etanol é um produto do metabolismo de leveduras, sendo assim a temperatura de 7°C aliada ao pH de 4,0, ao qual favorece o crescimento destas espécies (MUNIZ et al., 2002), não foi suficiente para inibir as leveduras presentes na cultura mista de kefir. Desta forma, houve consumo de açúcares e produção de etanol até o 14º dia. Entre os dias 21 e 28 houve aumento de 52,8 e 67,9% para F1 e F2, respectivamente, e neste momento F1 deixa de se caracterizar como uma bebida não alcoólica segundo a legislação brasileira, uma vez que extrapola o limite de 0,5% de etanol.

Verificou-se uma redução de cerca de 30% no teor de fenólicos totais para ambas as formulações entre os tempos inicial e final. Os compostos fenólicos estão diretamente ligados à atividade antioxidante, portanto sua redução impactaria também na redução da atividade antioxidante. No entanto, este fato foi observado somente para F2 no mesmo intervalo de tempo, que sofreu redução de 12,5% em sua atividade antioxidante, enquanto F1 não apresentou diferença significativa entre o último e o primeiro dia de armazenamento. A redução no teor de fenólicos totais e na atividade antioxidante pode ser justificada pela degradação de moléculas bioativas que acarretam na perda de sua bioatividade, bem como pela própria reação entre os compostos antioxidantes e os radicais livres que porventura tenham sido formados no produto ao longo do período de armazenamento (RIBEIRO et al., 2014).

Tabela 4. Teor alcoólico, fenólicos totais e atividade antioxidante das formulações F1 (água, açúcar mascavo e polpa de pitaita) e F2 (água, açúcar mascavo, polpa de pitaita e suco integral de maçã) armazenadas sob refrigeração (7°C) durante 28 dias.

Dias	Teor alcoólico (mL.100mL ⁻¹)		Fenólicos totais (mgEAG.100mL ⁻¹)		Atividade antioxidante (mMFe ⁺² .100mL ⁻¹)	
	F1	F2	F1	F2	F1	F2
0	0,22±0,04 ^c	0,25±0,04 ^c	42,08±2,25 ^a	62,01±0,72 ^a	2,49±0,14 ^b	3,19±0,15 ^a
7	0,25±0,03 ^{bc}	0,26±0,05 ^{bc}	37,58±0,35 ^{ab}	44,27±1,18 ^c	2,89±0,03 ^a	3,19±0,11 ^a
14	0,42±0,06 ^{ab}	0,38±0,01 ^{ab}	38,00±0,57 ^{ab}	51,30±2,82 ^b	2,57±0,14 ^b	2,85±0,17 ^{ab}
21	0,36±0,05 ^{bc}	0,28±0,03 ^{bc}	33,74±2,62 ^{bc}	45,21±0,89 ^c	2,65±0,03 ^{ab}	2,96±0,15 ^{ab}
28	0,55±0,03 ^a	0,47±0,01 ^a	29,13±1,68 ^c	41,66±0,81 ^c	2,54±0,04 ^b	2,79±0,03 ^b

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância.

4. Conclusão

A adição de polpa de pitaiá em F1 e polpa de pitaiá e suco integral de maçã em F2 aumentou significativamente o teor de SST, a acidez, o teor alcoólico, o teor de fenólicos totais e a atividade antioxidante, além de aportar fibra alimentar total.

A adição de suco integral de maçã não influenciou nas notas da aceitação sensorial e ambas as formulações foram igualmente aceitas em todos os atributos.

A fermentação de polpa de pitaiá, com ou sem adição de suco integral de maçã, pela cultura mista de kefir produziu uma bebida não alcoólica e aceita pelos avaliadores, podendo ser uma alternativa potencial para essa matéria-prima.

A temperatura de refrigeração (7°C) foi insuficiente para inibir totalmente os microrganismos, permitindo que estes prosseguissem com seu metabolismo de consumo de açúcares e produção de álcool e ácidos orgânicos.

5. Referências

AOAC. Association of Official Analytical Chemists International. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 19^a ed. Arlington, 2012.

BAGEWADI, Z. K.; MULLA, S. I.; NINNEKAR, H. Z. Purification and characterization of endo β -1,4-D-glucanase from *Trichoderma harzianum* strain HZN11 and its application in production of bioethanol from sweet sorghum bagasse. **3 Biotech**, 6(101), 2016.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos Para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 6.871 de 4 de junho de 2009. Regulamenta a lei nº 8.918 de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a padronização e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 20-29, 2009.

CARVALHO, A. V.; MATTIETTO, R. A.; BECKMAN, J. C. Estudo da estabilidade de polpa de frutas tropicais mistas congeladas utilizadas na formulação de bebidas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, p. 1-9, 2017.

CHEYNIER, V. Phenolic compounds: from plants to foods. **Phytochemistry Reviews**, v. 11, p. 153-177, 2012.

CORONA, O.; RANDAZZO, W.; ALESSANDRO, M.; GUARCELLO, R.; NICOLA, F.; ERTEN, H.; MOSCHETTI, G.; SETTANNI, L. Characterization of kefir-like beverages produced from vegetables juices. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, p. 572-581, 2016.

DONGMO, S. N.; PROCOPIO, S.; SACHER, B.; BECKER, T. Flavor of lactic acid fermented malt based beverages: Current status and perspectives. **Trends in Food Science & Technology**, v. 54, p. 37-51, 2016.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Food microbiology**. 4^a ed. Nova Iorque: McGraw-Hill, 1988. 539p.

GOMES, R. J.; BORGES, M. F.; ROSA, M. F.; CASTRO-GÓMEZ, R. J. H.; SPINOSA, W. A. Acetic acid bacteria in the food industry: systematics, characteristics and applications. **Food Technology and Biotechnology**, v. 56, n. 2, 2018.

HUTKINS, R. W. **Microbiology and technology of fermented foods**. Iowa: Blackwell Publishing, 2006.

JIAZHONG, Z.; XIAOLI, L.; HANHU, J.; MINGSHENG, D. Analysis of the microflora in Tibetan Kefir grains using denaturing gradient gel electrophoresis. **Food Microbiology**, v. 26, n. 8, p. 770-775, 2009.

JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FONSECA, K. G.; LIMA, C. A.; SANTOS, E. C. Variabilidade genética de acessos de pitaya com diferentes níveis de produção por meio de marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 3, p. 840-846, 2010.

LIM, H. K.; TAN, C. P.; KARIM, R.; ARIFFIN, A. A.; BAKAR, J. Chemical composition and DSC thermal properties of two species of *Hylocereus* cacti seed oil: *Hylocereus undatus* and *Hylocereus polyrhizus*. **Food Chemistry**, v. 119, p. 1326-1331, 2010.

- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; STAHL, D. A. **Brock Biology of Microorganisms**. 14^a ed. Boston: Pearson, 2014. 1032p.
- MAGALHÃES, K. T.; PEREIRA, G. V. M.; DIAS, D. R.; SCHWAN, R. F. Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary Brazilian kefir. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, p. 1241-1250, 2010.
- MARSH, A. J.; O'SULLIVAN, O.; HILL, C.; ROSS, R. P.; COTTER, P. D. Sequence-based analysis of the microbial composition of water kefir from multiple sources. **FEMS Microbiology Letters**, v. 348, n.1, p. 79-85, 2013.
- MUNIZ, C. R.; BORGES, M. F.; ABREU, F. A. P.; NASSU, R. T.; FREITAS, C. A. S. Bebidas fermentadas a partir de frutos tropicais. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 309-322, 2002.
- NUNES, E. N.; SOUSA, A. S. B.; LUCENA, C. M.; SILVA, S. M.; LUCENA, R. F. P.; ALVES, C. A. B.; ALVES, R. E. Pitaia (*Hylocereus* sp.): uma revisão para o Brasil. **Gaia Scientia**, v. 8, n. 1, p. 90-98, 2014.
- ORTIZ-HERNÁNDEZ, Y. D.; CARRILLO-SALAZAR, J. A. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a short review. **Comunicata Scientiae**, v. 3, n. 4, p. 220-237, 2012.
- OTLES, S.; CAGINDI, O. Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 2, n. 2, p. 54-59, 2003.
- ÖZDEMİR, N.; KÖK-TAS, T.; GUZEL-SEYDIM, Z. Effect of *Gluconacetobacter* spp. on Kefir grains and Kefir quality. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, n. 1, p. 99-106, 2015.
- PAULI, E. D.; CRISTIANO, V.; NIXDORF, S. L. Método para determinação de carboidratos empregado na triagem de adulterações do café. **Química Nova**, v. 34, n. 4, p. 689-694, 2011.
- PUERARI, C.; MAGALHÃES, K. T.; SCHWAN, R. F. New cocoa pulp-based kefir beverages: microbiological, chemical composition and sensory analysis. **Food Research International**, v. 48, p. 634-640, 2012.
- RANDAZZO, W.; CORONA, O.; GUARCELLO, R.; FRANCESCA, N.; GERMANÀ, M. A.; ERTEN, H.; MOSCHETTI, G.; SETTANNI, L. Development of new non-dairy

beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. **Food Microbiology**, v. 54, p. 40-51, 2016.

REUTER, W. M. **Analysis of organic acids in fruit juices by HPLC and UV detection.** Perkin Elmer, 2015. Disponível em <https://www.perkinelmer.com/CMSResources/Images/44-75518APP_Analysis-of-Organic-Acids-in-Fruit-Juices-by-HPLC-and-UV-Detection-012299_01.pdf> Acesso em: 10/09/2015.

RIBEIRO, O. A. S.; BOARI, C. A.; FONSECA, C. M.; FIGUEIREDO, S. P.; NEUMANN, D.; ABREU, L. R. Bebida láctea fermentada formulada com *Camellia sinensis*. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 32, n. 2, p. 289-304, 2014.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.** 4ª ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010. 624p.

SIMÕES, D. R. S.; WASZCZYNSKYJ, N.; WOSIACKI, G. Aromas em maçã, suco e sidra: revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 153-172, 2009.

SWAIN, T.; HILLS, W. E. The phenolic constituents of *Punnus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 19, p. 63-68, 1959.

WARD, O. P. **Biología de la fermentación: principios, procesos y productos.** Zaragoza, Espanha: Ed. Acribia, 1991.

WICHENCHOT, S.; JATUPORNPIPAT, M.; RASTALL, R. A. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. **Food Chemistry**, v. 120, p. 850-857, 2010.

WU, L-C.; HSU, H-W.; CHEN, Y-C.; CHIU, C-C.; LIN, Y-I.; HO, J. A. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**, v. 95, p. 319-327, 2006.

CONCLUSÃO GERAL

Os dados obtidos na caracterização da polpa de pitaia (*Hylocereus polyrhizus*) demonstram que a fruta apresenta características físico-químicas e nutricionais relevantes para o consumo *in natura*, destacando-se pelo seu alto teor de fibras e atividade antioxidante, e seu baixo valor energético. Além do seu consumo *in natura*, também é uma alternativa para a indústria de polpas e sucos, pois apresenta elevado teor de sólidos solúveis totais.

A fermentação de polpa de pitaia, com ou sem adição de suco integral de maçã, pela cultura mista de kefir produz uma bebida não alcoólica aceita por avaliadores, podendo ser uma alternativa potencial para essa matéria-prima. A adição de polpa de pitaia e de suco integral de maçã aumenta a acidez e o teor de sólidos solúveis totais, fibra alimentar total, teor alcoólico, fenólicos totais e atividade antioxidante das bebidas.

O armazenamento à temperatura de refrigeração (7°C) não é suficiente para inibir totalmente os microrganismos, permitindo que estes prossigam com seu metabolismo e causem alterações nos parâmetros físico-químicos das formulações.

ANEXOS

ANEXO 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO NA FORMA DE CONVITE PARA OS AVALIADORES

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo(a) a participar da pesquisa “Cultura mista de Kefir no desenvolvimento de bebida fermentada não alcoólica de pitaia (*Hylocereus polyrhizus*)”, a ser realizada no “Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos/UEL, Londrina/PR”. O objetivo da pesquisa é desenvolver uma bebida não alcoólica a partir de polpa de pitaia fermentada por cultura mista. Sua participação como avaliador é muito importante e será solicitado que avalie as características de cor, aroma, sabor e textura em relação a amostra desta bebida. Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo o(a) senhor(a) recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos ainda que suas informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Informamos que o(a) senhor(a) não pagará e nem será remunerado por sua participação. A ingestão do produto formulado não traz riscos à saúde, uma vez que a cultura mista utilizada na fermentação é não patogênica e com boas práticas de produção a bebida obtida é considerada inócua. Poderá haver cansaço durante a análise sensorial. Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos contatar (Prof^a Wilma Aparecida Spinosa, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos/UEL, (43) 3371-4585, wilma.spinosa@uel.br, ou Raíssa Sant’Ana Bueno, (44) 99765-2819, raissasantanabueno@gmail.com), ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida, assinada e entregue ao(à) senhor(a).

Londrina, _____ de _____ de 2017.

Pesquisador Responsável

Raíssa Sant'Ana Bueno

Mestrado do curso de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Eu, _____ (**nome por extenso**),
tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo
em participar voluntariamente da pesquisa descrita acima.

Assinatura: _____

Data: _____

ANEXO 2 – FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL

Nome: _____ Data: _____

Você está recebendo uma amostra de bebida fermentada a partir de polpa de pitaiá. Por favor, anote o código da amostra e avalie-a em relação aos atributos cor, aroma, textura e sabor.

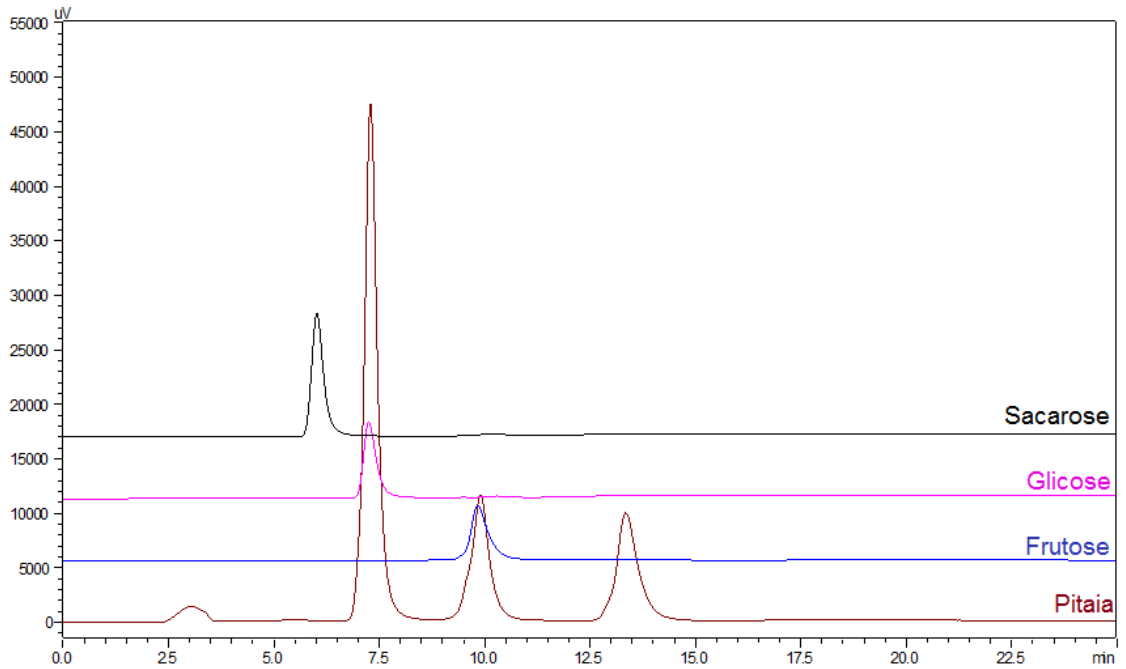
- (9) Gostei extremamente
- (8) Gostei moderadamente
- (7) Gostei regularmente
- (6) Gostei ligeiramente
- (5) Não gostei, nem desgostei
- (4) Desgostei ligeiramente
- (3) Desgostei regularmente
- (2) Desgostei moderadamente
- (1) Desgostei extremamente

Amostra	Cor	Aroma	Sabor	Textura

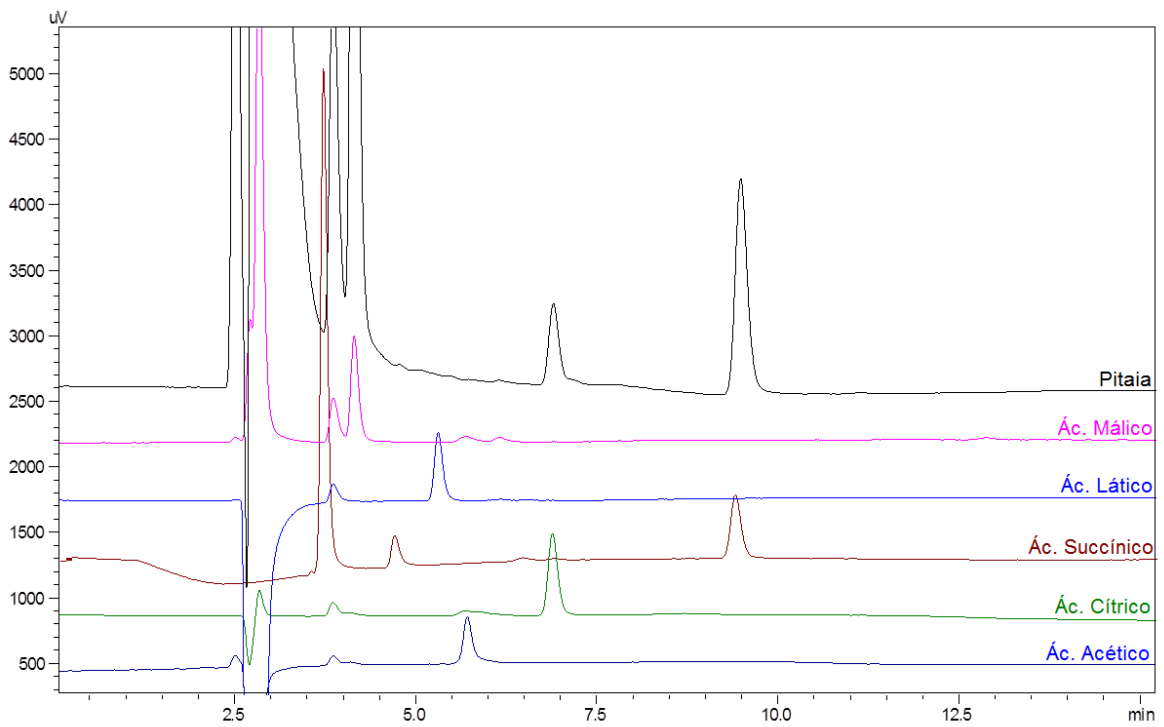
Comentários: _____

ANEXO 3 – CROMATOGRAMAS

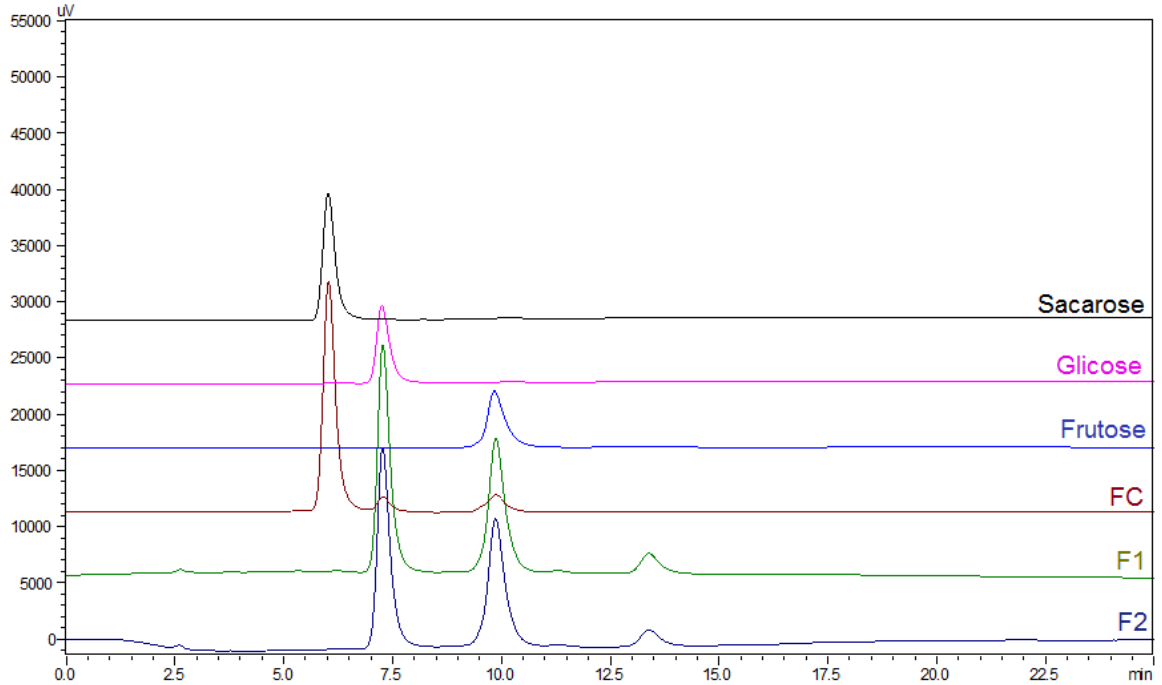
- cromatograma referente à análise de açúcares na pitaia



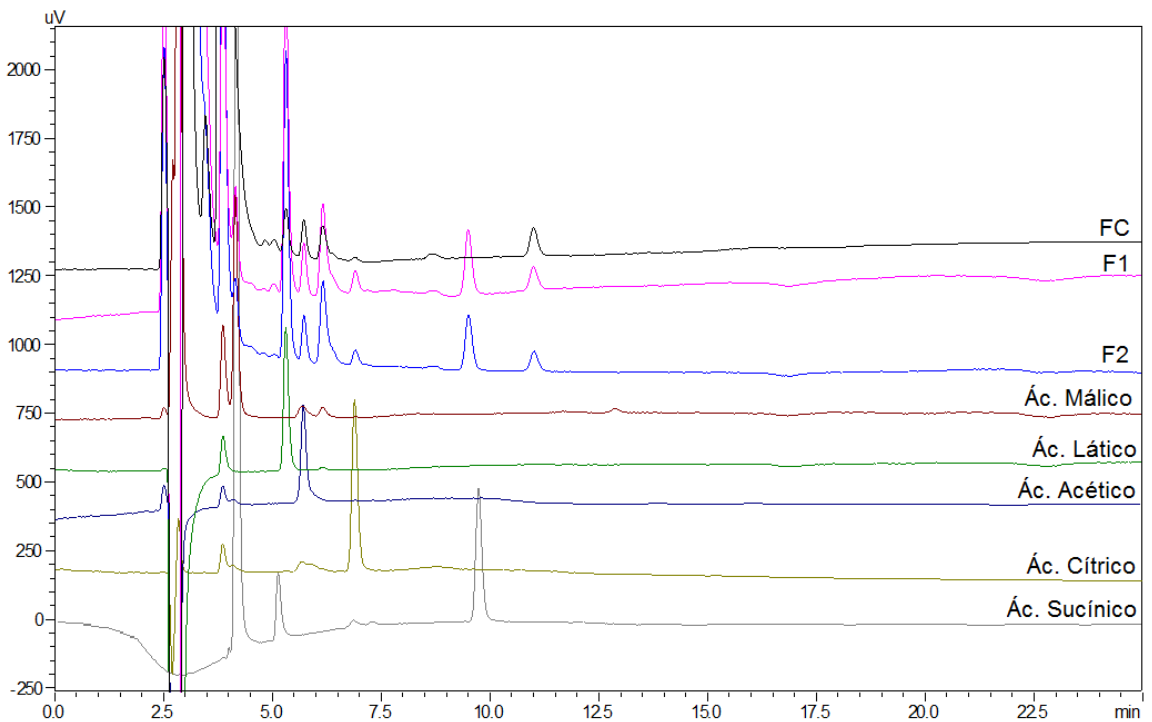
- cromatograma referente à análise de ácidos orgânicos na pitaia



- **cromatograma referente à análise de açúcares nas formulações FC, F1 e F2**



- **cromatograma referente à análise de ácidos orgânicos nas formulações FC, F1 e F2**



ANEXO 4 – INFORMAÇÕES: SUCO INTEGRAL DE MAÇÃ



Lote: 15077-3

Validade: 05/01/2018

Ingredientes: Suco de maçã integral.

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL		
Porção de 200ml (1 unidade)		
Quantidade por porção		% VD*
Valor energético	111kcal = 456kJ	6
Carboidratos	27g, dos quais:	9
Açúcares	22g	**
Proteínas	0,3g	0
Gorduras totais	0g	0
Gorduras saturadas	0g	**
Gorduras <i>trans</i>	0g	0
Fibra alimentar	0g	0
Sódio	0mg	0

* % Valores Diários de referência com base em uma dieta de 2.000kcal ou 8.400kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores, dependendo de suas necessidades energéticas.

** Valores Diários não estabelecidos.