



Universidade Federal de Ouro Preto
Escola de Nutrição
Colegiado de Ciência e Tecnologia de Alimentos



JEAN GUEDES
JÉSSICA GONZAGA DIAS

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE IOGURTE
CONCENTRADO SALGADO ADICIONADO DE
ESPECIARIAS DURANTE O ARMAZENAMENTO**

Ouro Preto
Agosto de 2016

JEAN GUEDES
JÉSSICA GONZAGA DIAS

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE IOGURTE
CONCENTRADO SALGADO ADICIONADO DE
ESPECIARIAS DURANTE O ARMAZENAMENTO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Aparecida Pimenta Pereira - Departamento de Alimentos.


Co-orientadora: Profa. Dra. Luciana Rodrigues da Cunha - Departamento de Alimentos.



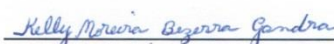
**Ata da Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado:
“ Avaliação da estabilidade de iogurte concentrado salgado adicionado de
especiarias durante o armazenamento”**

Aos 17 dias do mês de Agosto de 2016, no Auditório da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, reuniu-se a Banca Examinadora do Trabalho de Conclusão de Curso da estudante **Jéssica Gonzaga Dias** orientada pela **Profª. Patrícia Aparecida Pimenta Pereira**. A defesa iniciou-se pela apresentação oral feita pela estudante, seguida da arguição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por APROVAR a estudante.

Membros da Banca Examinadora:


Profª. Patrícia Aparecida Pimenta Pereira
Presidente (DEALI/ENUT/UFOP)


Profª. Luciana Rodrigues da Cunha
Examinadora (DEALI/ENUT/UFOP)


Profª. Kelly Moreira Bezerra Gandra
Examinadora (DEALI/ENUT/UFOP)



**Ata da Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado:
“Avaliação da estabilidade de iogurte concentrado salgado adicionado de
especiarias durante o armazenamento”**

Aos 17 dias do mês de Agosto de 2016, no Auditório da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, reuniu-se a Banca Examinadora do Trabalho de Conclusão de Curso do estudante **Jean Guedes** orientado pela **Profª. Patrícia Aparecida Pimenta Pereira**. A defesa iniciou-se pela apresentação oral feita pelo estudante, seguida da arguição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por APROVAR o estudante.

Membros da Banca Examinadora:

Profª. Patrícia Aparecida Pimenta Pereira
Presidente (DEALI/ENUT/UFOP)

Profª. Luciana Rodrigues da Cunha
Examinadora (DEALI/ENUT/UFOP)

Profª. Kelly Moreira Bezerra Gandra
Examinadora (DEALI/ENUT/UFOP)

Às nossas famílias por
todo o apoio dado

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por guiar-me em todos os momentos e dar-me força para vencer os percalços da vida.

A orientadora Dra. Patrícia Aparecida Pimenta Pereira pela oportunidade e confiança do projeto.

A todos os professores do Departamento de Alimentos, pelos ensinamentos e dedicação durante todo o curso, em especial a co-orientadora Dra. Luciana Rodrigues da Cunha e Kelly Moreira Bezerra Gandra, pela contribuição e auxílio para realização deste trabalho.

Aos técnicos de laboratório por toda dedicação, apoio, e paciência nos ajudando na realização das análises.

Aos meus pais Lourdes e Pedrinho e irmãos Pedro Paulo, Gustavo e Karla pelo amor, incentivo, cumplicidade, confiança e apoio incondicional.

A minha família, em especial Gogoia e Tia Tita por todo amor e dedicação e, também a minha família de coração, em especial Regina, Carlos, Cristina, Chico, Iara, Emília e Vó Maria.

A meu noivo, Vinícius, por todo amor, carinho e paciência.

Aos amigos e amigas do CTA e NECEBE, em especial, Aninha, Amanda, Cristielli, Flávia, Gabi, Jean, Jerusa, Joyce, Miriam, Naty, Rafa e Viviane pela ajuda e boas risadas.

A Bárbara e Vitória, por me apresentarem a oportunidade de dar continuidade a este trabalho.

Obrigada a todos que contribuíram para que esse momento se tornasse realidade.

Jéssica Dias

AGRADECIMENTOS

A minha mãe e família, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

A esta universidade, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a visão de um horizonte superior.

A minha orientadora Profa. Dra. Patrícia Aparecida Pimenta Pereira, e co-orientadora Profa. Dra. Luciana Rodrigues da Cunha, pelo suporte no pouco tempo que lhes coube, pelas suas correções e incentivos.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

Jean Guedes

Sumário

RESUMO	9
1. INTRODUÇÃO	10
2. MATERIAIS E MÉTODOS	12
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4. CONCLUSÃO	26
5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	27

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE IOGURTE CONCENTRADO SALGADO ADICIONADO DE ESPECIARIAS DURANTE O ARMAZENAMENTO¹

RESUMO

Atualmente, nota-se uma grande demanda por produtos que tragam benefícios para a saúde, com sabores diferenciados e acima de tudo, seguros para o consumo, sendo uma tendência de mercado e, como indústria de laticínios é uma das líderes de tecnologia da indústria de alimentos, o objetivo deste trabalho foi avaliar a estabilidade dos compostos bioativos do iogurte concentrado salgado adicionado de especiarias durante o armazenamento e verificar a sua estabilidade física, físico-química e microbiológica em relação ao iogurte concentrado salgado sem adição de especiaria ao longo de 28 dias de armazenamento. Para isso, realizou-se duas etapas. Na primeira etapa avaliaram-se os iogurtes concentrados salgados sem e com adição de orégano quanto as características físicas (sinérese), físico-químicas (cinzas, umidade, lipídios, proteínas, acidez, pH) e microbiológicas (contagem total de bactérias lácticas, coliformes totais e termotolerantes e fungos e leveduras) durante o armazenamento com a finalidade de verificar a influência do orégano nestes parâmetros. Já a segunda etapa, avaliou-se a estabilidade dos compostos bioativos (compostos fenólicos totais, atividade antioxidante –ABTS e DPPH) no iogurte concentrado salgado adicionado de orégano durante o armazenamento. Por meio deste estudo foi possível concluir que os aspectos físico (sinérese) e alguns parâmetros físico-químicos dos iogurtes concentrados salgados foram influenciados pela adição de orégano, e que ambos (com e sem adição de orégano), houveram alterações durante o armazenamento. Apesar de estar dentro dos valores exigidos pela legislação, este estudo demonstrou que a adição de orégano influencia negativamente a sobrevivência das bactérias lácticas, inibindo-as, durante o armazenamento refrigerado do iogurte, causando redução de viabilidade de 1 ciclo log após 28º dia com a adição de 0,25% de orégano ao produto. Os iogurtes concentrados salgados com e sem adição de orégano apresentaram contagens de coliformes dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira. Já relação a enumeração de fungos e leveduras, esta encontra-se fora dos padrões estabelecidos pela legislação. Os iogurtes concentrados salgados adicionados de orégano apresentaram aumento dos teores de compostos bioativos ao longo do armazenamento, sendo uma alternativa interessante para o mercado de produtos lácteos. Contudo, seriam necessários estudos posteriores para diminuir a contagem de fungos e leveduras até o limite permitido pela legislação.

Palavras-chave: Labneh, estabilidade, orégano

¹ Artigo de acordo com as normas da revista Food Science and Technology

35 1. INTRODUÇÃO

36

37 O leite fermentado é produzido em diferentes países do mundo, por meio da fermentação
38 bacteriana do leite. Geralmente, as bactérias utilizadas para a elaboração são *Lactobacillus delbrueckii*
39 subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* (Jiang et al., 1997; Akalin et al., 2007; Serafeimidou et
40 al., 2012). Onde o *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* libera os peptídeos e aminoácidos da
41 proteína do leite estimulando o crescimento do *Streptococcus thermophilus* que por sua vez produz o
42 ácido fórmico ou CO₂ que estimula o crescimento do *L. bulgaricus*. Todo esse processo ocorre em uma
43 relação simbiótica proporcionando as características do iogurte (Martins, 2006).

44 A popularidade do iogurte é devido a várias alegações de saúde e valores terapêuticos, além de
45 seu sabor que desempenha um importante papel no aumento da demanda dos consumidores
46 (Serafeimidou et al., 2012).

47 O iogurte concentrado é produzido em vários países com distintos nomes, como labneh
48 (Oriente), skyr (Islandia), shrikhand (Índia) e iogurte grego (Grécia e outros países). O iogurte
49 concentrado pode ser considerado como um produto intermediário entre os leites fermentados
50 tradicionais e os queijos não maturados com alto teor de umidade, como queijo quark, boursin e petit
51 suisse (Ramos et al., 2009).

52 De acordo com os padrões libaneses, o iogurte concentrado é definido como um alimento
53 semissólido, derivado do iogurte pela retirada de parte de sua água e de seus compostos hidrosolúveis
54 (Lebanese Standards, 1965; Mohameed et al., 2004). Normalmente, o iogurte concentrado pode ser
55 preparado com um teor de sólidos de 22,0 % (peso seco) ou de 40,0 % (peso seco). O primeiro é
56 preparado para ser consumido dentro de duas semanas e, normalmente, é armazenado sob refrigeração;
57 o outro é armazenado em óleo vegetal em temperatura ambiente e pode ser consumido dentro de dois
58 anos (Keceli et al., 1999; Mohameed et al., 2004).

59 No Oriente Médio, o labneh é produzido a partir do iogurte tradicional. Contudo diferencia-se
60 devido ao processo de dessoragem realizado em sacos de pano, como fronhas, em pequenas escalas e a
61 nível industrial por centrifugação. O produto é embalado em recipientes de plástico, devendo ser mantida
62 a uma temperatura entre 5 a 7 °C, para comercialização (Al-Kadamany et al., 2002).

63 No Brasil, Instrução Normativa nº 46 regulamenta o padrão de identidade e qualidade de leites
64 fermentados, no entanto, não especifica normas para a produção de iogurtes concentrados (Brasil, 2007).

65 As características físico-químicas do iogurte estão relacionadas à sua acidez, que se altera
66 durante o armazenamento, em função da acidez inicial e da temperatura de estocagem (Salji & Ismail,
67 1983). No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) indica valor entre 0,6
68 e 1,5 g de ácido láctico/100 g como aceitável para o iogurte ser comercializado (Brasil, 2000).

69 Já em relação às alterações microbiológicas, deve-se levar em conta a contaminação por fungos
70 e leveduras, que podem causar alterações nas características sensoriais, devido à capacidade de produzir

71 enzimas hidrolíticas (Xavier et al., 2006). O MAPA determina limites (contagem máxima de 200 UFC
72 de bolores e leveduras/g de produto) para contagem de fungos e leveduras em iogurte que devem ser
73 observados para que o produto possa ser comercializado. Outra análise comumente empregada é a
74 contagem de coliformes totais e termotolerantes. Segundo Franco & Landgrad (2003), número elevado
75 de coliformes totais em alimentos processados indica processamento inadequado, recontaminação pós-
76 processamento e/ou proliferação microbiana. Já a contagem de coliformes termotolerantes fornece, além
77 das informações sobre as condições higiênicas do produto, também indicação da eventual presença de
78 micro-organismos enteropatogênicos. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), em sua
79 Resolução nº 12, de 2001, determina que a contagem de coliformes termotolerantes em iogurte no
80 comércio varejista não deve ser superior a 10 NMP/mL (Brasil, 2001).

81 O desenvolvimento de novos produtos é uma atividade de fundamental importância para a
82 sobrevivência da maioria das empresas. A renovação contínua de seus produtos é uma política
83 generalizada no âmbito empresarial, sendo um quesito necessário o lançamento de produtos. Durante o
84 desenvolvimento de um novo produto é indispensável o aperfeiçoamento de parâmetros como forma,
85 cor, aparência, sabor, odor, textura, consistência e interação com diferentes compostos, com a finalidade
86 de se produzir um alimento com qualidade e boa aceitabilidade (Barboza, 2003).

87 Nas últimas décadas, vêm ocorrendo mudanças nos hábitos alimentares da população, havendo
88 uma crescente demanda por parte do consumidor por alimentos mais saudáveis, reconhecidos como
89 promotores de saúde e de bem-estar pessoal. Devido a isto, a indústria alimentícia busca explorar a
90 relação entre determinados ingredientes que apresentem maior vida de prateleira, com redução de fatores
91 de risco para doenças específicas (Grizard et al, 2001; Izzo & Niness, 2001; Carvalho et al, 2006)

92 Del Ré e Jorge (2012) fizeram uma revisão bibliográfica sobre os benefícios da utilização de
93 especiarias como antioxidantes naturais, tais como o alecrim, manjericão, orégano, sálvia e tomilho, e
94 concluem que a adição de especiarias, de diferentes tipos e formas, pode retardar a deterioração
95 oxidativa em vários sistemas, além de possível suplemento alimentício e farmacêutico. Segundo os
96 autores, a atividade antioxidante das especiarias, está relacionada, principalmente, com a presença de
97 compostos fenólicos, como os flavonoides e terpenóides, e para as mesmas elas atuarem como
98 moduladoras da promoção da saúde, não depende apenas dos fatores fotoquímicos, mas também da
99 forma de preparo e da quantidade consumida. Os autores

100 Ervas e especiarias são amplamente utilizadas na culinária devido à capacidade de dar sabor e
101 aroma aos alimentos, além de agregar um potencial de aplicação nos produtos alimentícios, como a de
102 retardar a oxidação de lipídica, processo responsável por uma das maiores causas de degradação dos
103 alimentos, comprometendo a qualidade nutricional e sensorial (Shimano, 2012).

104 Nos últimos anos as pesquisas têm tentado explicar os benefícios dos antioxidantes nas
105 enfermidades cardiovasculares, em numerosos tipos de câncer, na AIDS, e inclusive em outros

106 processos diretamente associados ao envelhecimento, como o das cataratas, doença de Alzheimer e
107 outras alterações do sistema nervoso (Shan et al., 2007)

108 Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar a estabilidade dos compostos bioativos do iogurte
109 concentrado salgado adicionado de especiarias durante o armazenamento e verificar a sua estabilidade
110 física, físico-química e microbiológica em relação ao iogurte concentrado salgado sem adição de
111 especiaria durante o armazenamento.

112

113 **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

114

115 **2.1 Materiais**

116 Os materiais utilizados neste trabalho foram: Leite UHT, orégano desidratado, sacarose, cloreto
117 de sódio (NaCl), cultura liofilizada para iogurte (YC-X11, DVS, YoFlex®).

118

119 **2.2 Métodos**

120 **2.2.1 Delineamento experimental**

121 A realização do projeto consistiu em duas etapas. Na primeira etapa avaliaram-se os iogurtes
122 concentrados salgados sem e com adição de orégano quanto às características físicas, físico-químicas e
123 microbiológicas ao longo de 28 dias de armazenamento com a finalidade de verificar a influência do
124 orégano nestes parâmetros. Já a segunda etapa, avaliou-se a estabilidade dos compostos bioativos no
125 iogurte concentrado salgado adicionado de orégano durante o armazenamento.

126 Realizou-se em ambas as etapas um delineamento inteiramente casualizado (DIC) para a
127 avaliação da estabilidade dos iogurtes concentrados salgados durante 5 tempos (0, 7, 14, 21 e 28 dias)
128 sob temperatura de refrigeração (7 °C).

129

130 **2.2.2 Elaboração dos iogurtes concentrados salgados**

131 Foram elaborados iogurtes concentrados salgados sem e com adição de orégano.

132 Previamente, foram adicionados ao leite 2,0 % de sacarose. A mistura foi submetida a
133 tratamento térmico de 90,0 °C durante 10 minutos.

134 Posteriormente, o leite foi resfriado até 45,0 °C e fez-se a inoculação da cultura liofilizada para
135 iogurte (YC-X11), o qual foi mantido a esta temperatura em estufa até acidez de 0,53 (g ácido
136 láctico/100g). Em seguida, o leite fermentado foi resfriado a aproximadamente 25,0 °C e maturado
137 durante 18 horas em câmara fria a 7,0 °C. A massa base foi quebrada até completa homogeneização, e
138 a partir dessa massa base fizeram-se dois produtos, sendo um adicionado de 1,0 % de sal e 0,25 %
139 orégano e outro com 1,0 % de sal. O processo de dessoragem ocorreu por 18 horas, em fronthas de
140 algodão, previamente sanitizadas, e em câmara fria a 7,0 °C.

141 Os produtos foram armazenados em recipientes plásticos de 140,0 mL e estocados sob
142 refrigeração a 7,0 °C.

143

144 **2.2.3 Avaliação da estabilidade física, físico-química e microbiológica dos iogurtes concentrados** 145 **salgados com e sem adição de orégano durante o armazenamento.**

146 Para verificar a estabilidade física, físico-química e microbiológica dos iogurtes concentrados
147 salgados com e sem adição de orégano foram realizadas as seguintes análises:

148

- 149 • Avaliação física

150 Foi realizado, em triplicata, a sinérese das diferentes amostras de iogurte a qual foi determinada
151 por centrifugação segundo metodologia proposta por Jauregui, Regenstein & Baker (1981) com
152 modificações de Beuschel et. al (1992). Pesou-se 5,0 g das amostras as quais foram centrifugadas a 2500
153 rpm por 20 minutos (Daiki, 80-2B CENTRIFUGUE). O sobrenadante foi coletado, pesado e o índice de
154 sinérese foi calculado de acordo com a seguinte equação:

155

$$156 \text{ Sinérese}(\%) = \frac{\text{Sobrenadante (g)}}{\text{Iogurte (g)}} \times 100 \%$$

157

- 158 • Avaliação físico-química

159 Foram realizadas as análises de cinzas, umidade, lipídios, proteínas, acidez e pH, em triplicata
160 (IAL, 2005; AOAC, 2000).

161

- 162 • Avaliação microbiológica

163 O iogurte concentrado salgado com e sem adição de orégano foram analisados para a contagem
164 total de bactérias lácticas, coliformes totais e termotolerantes e fungos e leveduras. Pesou-se 25,0 g do
165 iogurte concentrado salgado e transferiu-se para sacos estéreis para homogeneização. Posteriormente,
166 225 mL de solução estéril de água peptonada 0,1 % foram adicionados e a mistura levada ao Stomacher
167 (Marconi MA440, Brasil) por 60 segundos. Após homogeneização, alíquotas foram retiradas para
168 realização de diluições seriadas e posterior plaqueamento em meios específicos para cada micro-
169 organismo. Cada contagem foi realizada em duplicata.

170 - Determinação de Coliformes Totais e Termotolerantes

171 A determinação de Coliformes Totais e Termotolerantes foi realizada pela Técnica do Número
172 Mais Provável (NMP) feita de acordo com a Instrução Normativa N° 62, de 26 de Agosto de 2003 do
173 Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2003). Inicialmente, 1 mL das diluições
174 (10^{-1} , 10^{-2}) foram transferidos para tubos de concentração simples (série de três) contendo 9 mL de
175 Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST Difco, TM) com tubos de Durhan invertidos, e 10 mL do

176 homogenato (diluição 10^{-1}) foram transferidos para tubos de concentração dupla (série de 3) contendo
177 10 mL de LST, sendo posteriormente, incubados a 37°C por 24/48 horas. Os tubos negativos foram
178 novamente incubados por 24 horas e aqueles que apresentaram formação de gás no Caldo LST, foram
179 repicados para tubos contendo 10 mL de Caldo verde brilhante 2% (VB, HiMedia) contendo tubos de
180 Durham invertidos para o crescimento de coliformes totais. Procedeu-se confirmação a 37°C por 24/48
181 horas. Após a confirmação positiva (formação de gás e turvação), realizou-se outro teste para a
182 confirmação de Coliformes a 45°C, sendo transferida uma alçada do Caldo VB para o Caldo
183 *Escherichia coli* (EC, HiMedia). Os tubos foram incubados a 45°C em banho-maria por 24/48 horas.
184 A positividade do teste foi observada pela produção de gás no interior dos tubos de Durham. Os
185 resultados foram analisados em tabela do Número Mais Provável (NMP).

186 - Contagem total de Fungos e Leveduras

187 A enumeração de fungos e leveduras foi realizada conforme a Instrução Normativa 62
188 (BRASIL, 2003), em ágar batata dextrose (ágar BDA), acidificado com ácido tartárico 10,0 %, por meio
189 do plaqueamento em superfície. As placas foram incubadas a 25,0 °C por 5 dias, sendo realizado
190 posteriormente, a contagem em contador de colônias, considerando o limite de 15 a 150 colônias,. Os
191 resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama dos iogurtes
192 concentrados.

193 - Contagem total de bactérias Lácticas

194 A contagem total de bactérias lácticas foi realizada por meio de plaqueamento em profundidade
195 em ágar MRS (Man Rogosa & Sharpe, 1960). As placas foram incubadas à 37,0 °C por 48 horas. Após
196 o período de incubação, realizou-se a contagem em contador de colônias e os resultados foram expressos
197 em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama dos iogurtes concentrados.

198 - Padrões de Referência para Análise

199 No Brasil, até o presente momento, não há uma legislação específica para iogurte concentrado,
200 dessa forma, os padrões microbiológicos adotados foram baseados na Instrução Normativa nº 46, de 23
201 de Outubro de 2007, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2007)
202 que estabelece um Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade para Leites Fermentados. De acordo
203 com esse Regulamento, recomenda-se uma contagem mínima equivalente a 10^7 UFC de bactérias
204 lácticas/g de produto, contagem máxima de 200 UFC de bolores e leveduras/g de produto e limites
205 máximos de 10^2 NMP/g e 10 NMP/g de produto de coliformes totais e termotolerantes, respectivamente.

206

207 **2.2.4 Avaliação da estabilidade dos compostos bioativos no iogurte concentrado salgado** 208 **adicionado de orégano durante o armazenamento.**

209 Foi realizada a avaliação dos compostos bioativos no iogurte concentrado salgado adicionado
210 de orégano uma vez que estudos mostram que o orégano tem ganhado o interesse de muitos grupos de
211 pesquisa como um potente antioxidante, principalmente para sistemas lipídicos. Assim, foram

212 determinados, em triplicata, os teores de compostos fenólicos totais, pelo método Folin-Ciocalteu
213 (Waterhouse, 2002) e a capacidade antioxidante pelos métodos de ABTS e de DPPH (Rufino et al.,
214 2007).

215

216 **2.2.4.1 Obtenção dos extratos das amostras**

217 Os extratos foram obtidos dos iogurtes concentrados salgados adicionados de orégano.

218 Para a obtenção do extrato foi adaptado o método desenvolvido por Larrauri et al (1997). Foram
219 pesadas 25,0 g de amostras em erlemeyers e sequentemente procedeu-se a extração pela adição de com
220 40,0 mL de metanol/água (50:50, v/v). A mistura foi mantida por 1 hora em agitador com rotação de
221 200 rpm a 25,0 °C, e em ambiente refrigerado (8,0 °C) por mais 30 minutos. O sobrenadante foi
222 recuperado. Em seguida, foi adicionado 40,0 mL de acetona/água (70:30, v/v) ao resíduo. Após extração
223 por 60 minutos com rotação de 200 rpm a 25°C foram mantidos em ambiente refrigerado (8,0 °C) por
224 30 minutos e o sobrenadante recuperado. Os extratos obtidos foram transferidos para um balão
225 volumétrico de 100,0 mL e adicionou-se água destilada até aferir o seu volume. O preparo do extrato
226 foi realizado ao abrigo de luz, e armazenados à temperatura de -20,0 °C.

227

228 **2.2.4.2 Compostos fenólicos totais**

229 A quantificação dos compostos fenólicos totais dos iogurtes concentrados salgados adicionados
230 de orégano armazenados foi realizada de acordo com o método adaptado de Folin-Ciocalteu
231 (Waterhouse, 2002). Adicionou-se ao abrigo de luz 0,5 mL da solução dos extratos em tubos de ensaio,
232 em seguida, foram adicionados 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu 10,0 % (v/v) e 2,0 mL da solução
233 de carbonato de sódio 4,0 % (p/v) e homogeneizou-se. Manteve-os em repouso por 120 minutos, após
234 foi realizada a leitura em espectrofotômetro, a absorvância de 750,0 nm, tendo o etanol absoluto como
235 branco, tudo ao abrigo de luz.

236 A determinação do teor de fenólicos totais foi realizada por meio da interpolação da absorvância
237 das amostras contra a curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (5, 10, 15, 20, 30 e
238 40 µg/mL). Os resultados foram expressos em µg de ácido gálico equivalente (GAE)/ g de labneh.

239

240

241

242 **2.2.4.3 Avaliação da atividade antioxidante pelo método ABTS**

243 A atividade antioxidante dos iogurtes concentrados salgados adicionados de orégano foram
244 avaliadas de acordo com o método descrito por Rufino et al. (2007a). Adicionou-se 30,0 µL da solução
245 dos extratos em tubos de ensaio, em seguida, foram adicionados 3,0 mL do reagente de radical ABTS.
246 Após homogeneização, os tubos foram mantidos em repouso por 6 minutos, sendo posteriormente

247 realizada leitura em espectrofotômetro, a absorvância de 734,0 nm. Etanol absoluto como branco. Todo
248 o experimento foi realizado ao abrigo da luz.

249 A determinação do teor de antioxidante foi realizada por meio da interpolação da absorvância
250 das amostras contra a curva de calibração construída com padrões de trolox (100, 500, 1000, 1500 e
251 2000 μM). Os resultados da atividade antioxidante foram expressos em $\mu\text{mol/g}$ de labneh.

252

253 **2.2.4.4 Avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH**

254 A atividade antioxidante dos iogurtes concentrados salgados adicionados de orégano foram
255 avaliadas conforme metodologia descrita por Rufino, et al. (2007b), com a utilização do DPPH (2,2-
256 difenil-1-picrilhidrazila). Alíquotas de 0,1 mL dos extratos foram adicionadas a 3,9 mL da solução de
257 DPPH (0,06 mM), e mantidas à temperatura ambiente, ao abrigo da luz, por 120 minutos. A leitura da
258 absorvância foi determinada a 515,0 nm em espectrofotômetro. A curva padrão foi preparada com
259 soluções de DPPH em diferentes concentrações (10 μM , 20 μM , 30 μM , 40 μM , 50 μM e 60 μM). Os
260 resultados foram expressos em EC_{50} (g de labneh/g DPPH).

261

262 **2.2.5 Avaliação dos resultados**

263 Foram realizados testes de médias (Tukey) e análise de regressão a 5,0 % de significância em
264 software sisvar (Ferreira, 2000) para avaliar a estabilidade dos compostos bioativos do iogurte
265 concentrado salgado adicionado de especiarias durante o armazenamento e verificar a sua estabilidade
266 física, físico-química e microbiológica em relação ao iogurte concentrado salgado sem adição de
267 especiaria durante o armazenamento.

268

269 **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

270

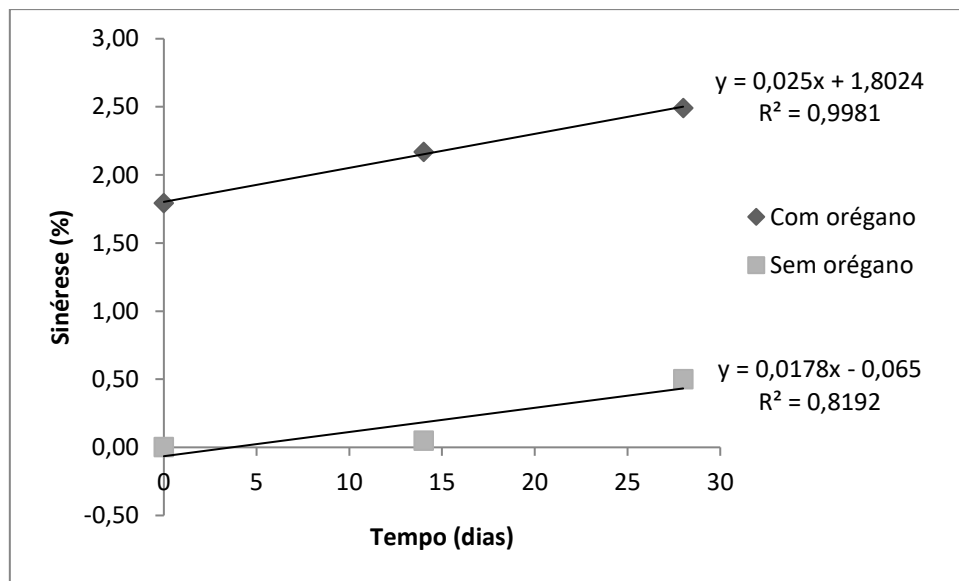
271 **3.1 Avaliações da estabilidade física, físico-química e microbiológica dos iogurtes concentrados** 272 **salgados com e sem adição de orégano durante o armazenamento.**

273

274 Avaliação física

275 A sinérese do iogurte apresenta um papel importante na qualidade do produto e aceitação pelo
276 consumidor, uma vez que mede a separação do soro durante o seu armazenamento (Castilho, et. al,
277 2006). A Figura 1 apresenta os resultados de sinérese durante o armazenamento dos iogurtes
278 concentrados salgados com e sem adição de orégano.

279



280
 281 **Figura 1** Resultados da sinérese (%) durante o armazenamento dos iogurtes concentrados salgados com
 282 e sem adição de orégano
 283

284 Observa-se que a sinérese dos produtos foi influenciada pelo tempo e pela adição de orégano
 285 (Figura 1), aumentando ao longo do tempo de armazenamento nos dois tratamentos, sendo que o iogurte
 286 concentrado salgado adicionado de orégano apresentou maior sinérese (28,6%) em relação ao sem
 287 orégano durante o armazenamento.

288 Não há na literatura relatos do efeito da adição de orégano em iogurtes, mas segundo Toledo
 289 (2013) *apud* Dannenberg (2013), em seus estudos adicionando, em iogurtes, ingredientes extraídos do
 290 maracujá, observou que a adição de poupa de maracujá acentua a sinérese devido à alteração do gel.

291 O aumento na sinérese da maioria dos produtos lácteos ocorre devido às mudanças da rede do
 292 gel, produzidas por forças atrativas entre as partículas de caseína, que podem levar a ligações
 293 intermoleculares adicionais e, conseqüentemente, a contração do gel e expulsão de água, causado por
 294 desprendimento espontâneo de água do gel, acompanhado de redução de volume. Além disso, a sinérese
 295 é favorecida por mudanças na temperatura, aumento da acidez, pH e fatores mecânicos (LIMA et. al,
 296 2011).

297 Aichinger et. al (2003) também afirma que a sinérese ao longo do armazenamento é causada
 298 pela instabilidade e contração da rede de gel que pode ser observada devido ao rearranjo de ligações
 299 entre agregados de proteínas. O processo de dessoragem, utilizado no iogurte concentrado salgado, foi
 300 o mesmo para as duas formulações, porém a adição de orégano pode influenciar nas ligações entre esses
 301 agregados de proteína e ocasionar novas interações que prejudicam a retenção de água.

302

303 Avaliação físico-química

304 Os valores médios e os desvios padrão de pH das diferentes formulações dos iogurtes
 305 concentrados salgados com e sem adição de orégano estão apresentados na Tabela 1.

306
307
308

Tabela 1 Avaliação do pH durante o armazenamento dos iogurtes concentrados salgados com e sem adição de orégano

Tratamentos	Tempo (dias)				
	0	7	14	21	28
Com orégano	4,22 ±0,01 Ab	4,24 ±0,02 Aab	4,26 ±0,03 Aab	4,27 ± 0,01Aa	4,29 ± 0,01Aa
Sem orégano	4,13 ±0,05 Ba	4,13 ±0,01 Ba	4,15 ±0,01 Ba	4,18 ± 0,01Ba	4,17 ± 0,01Ba

309 Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo
310 teste de Tukey a 5% de probabilidade

311
312 Observa-se que, em geral, o pH dos iogurtes concentrados salgados com e sem adição de
313 orégano variaram de 4,13 a 4,29 (Tabela 1). Este valores estão de acordo com os valores de pH ideal
314 para iogurtes afirmados por Souza (1991), que encontram-se na faixa de 4,0 a 4,4. Nesta faixa de pH o
315 produto não é sem sabor nem excessivamente ácido ou amargo. As amostras de iogurte concentrado
316 salgado com orégano apresentaram valores de pH (4,22 a 4,29) maiores que os sem adição de orégano
317 (4,13 a 4,18), o que pode ser influenciado pela adição do orégano, uma vez que, o pH do orégano que
318 apresenta valor médio em torno de 6,0 (dados não publicados).

319 Na Tabela 2 estão apresentados os valores médios e os desvios padrão da acidez (% ácido láctico)
320 das diferentes formulações dos iogurtes concentrados salgados com e sem adição de orégano.

321
322 **Tabela 2** Avaliação da acidez (% ácido láctico) durante o armazenamento dos iogurtes concentrados
323 salgados com e sem adição de orégano

Tratamentos	Tempo (dias)				
	0	7	14	21	28
Com orégano	0,94 ±0,20Ab	0,94 ±0,00Ab	1,01 ±0,07Bb	1,99 ±0,42Aa	1,43 ±0,54Bab
Sem orégano	1,02 ±0,14Ab	0,94 ±0,00Ab	1,52 ±0,35Aab	1,97 ±0,19Aa	1,98 ±0,23Aa

324 Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo
325 teste de Tukey a 5% de probabilidade

326
327 A acidez variou de 0,94 % a 1,99 % (Tabela 2). Apesar de não existir legislação específica para
328 iogurtes concentrados, a legislação brasileira para iogurte, em vigor, preconiza acidez (g de ácido
329 láctico/100g) de 0,6 a 2,0% (Brasil, 2007). Desta forma, os produtos do presente estudo encontram-se
330 coerentes com a legislação.

331 Observa-se que nos iogurtes concentrados salgados adicionados de orégano houve pequena
332 variação da acidez ao longo do tempo. Já em relação àqueles sem orégano, houve aumento da acidez ao
333 longo do tempo, indicando, assim, que o orégano tem efeito protetor na acidez.

334 Segundo Brandão (1995), a acidez em iogurtes tende a aumentar ao longo do tempo de
335 armazenamento, principalmente devido à conversão da lactose em ácido láctico pelas bactérias lácticas
336 presentes. Porém, outros fatores também podem causar variação na acidez, entre eles, estão o
337 processamento inadequado e a ausência de controle da temperatura durante o armazenamento. De acordo
338 com o mesmo autor, a acidez é um importante fator na característica de iogurtes, devido ao sabor
339 peculiar, porém seu excesso pode se tornar defeito e prejudicar o sabor além de favorecer a contração
340 do coágulo devido à redução da hidratação das proteínas, ocasionando o dessoramento do produto. Além
341 disso, iogurtes com baixa acidez também favorece a separação do soro, uma vez que, não há formação
342 adequada do gel, o que pode ser verificado pelo aumento da sinérese.

343 Os valores médios e os desvios padrão do teor de cinzas das diferentes formulações dos iogurtes
344 concentrados salgados com e sem adição de orégano estão apresentados na Tabela 3.

345

346 **Tabela 3** Avaliação dos teores de cinzas (%) durante o armazenamento dos iogurtes concentrados
347 salgados com e sem adição de orégano

Tratamentos	Tempo (dias)				
	0	7	14	21	28
Com orégano	1,57 ±0,00Aa	1,53 ±0,00Aa	1,54 ±0,00Aa	1,53 ±0,00Aa	1,54 ±0,00Aa
Sem orégano	1,50 ±0,00Aa	1,51 ±0,00Aa	1,52 ±0,00Aa	1,46 ±0,00Aa	1,53 ±0,00Aa

348 Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo
349 teste de Tukey a 5% de probabilidade

350

351 O teor de cinzas não sofreu variações significativas ao longo do período de armazenamento nos
352 dois tipos de iogurtes concentrados salgados produzidos ($p > 0,05$).

353 O teor de cinzas de um alimento representa o conteúdo mineral que se conserva após a queima
354 da matéria orgânica de uma amostra (Aldrigue et al., 2002). Os minerais encontrados em maior
355 quantidade em produtos lácteos são cálcio, magnésio, fósforo e potássio (Park & Colatto, 2006). Em
356 estudo, Rodas et al. (2001) encontrou valores de cinzas, para iogurte de frutas entre 0,65 e 0,77.

357 Os valores obtidos são comparáveis aos relatados segundo Serhan et. al (2016), que compararam
358 labneh (iogurte concentrado) produzido com leite de vaca e de cabra e suas misturas, encontrando
359 variações no conteúdo de cinzas de 1,03% e 1,38% ($p \leq 0,05$), sendo que na formulação contendo 100%
360 de leite de vaca obteve teor de cinzas de 1,16%. De acordo com Park et al. (2007), a concentração de
361 minerais depende da raça, dieta, animal individual, estágio de lactação, e estado de saúde do úbere.

362 Em relação aos resultados de lipídios (Tabela 4), observou-se que ao longo do tempo de
 363 armazenamento os teores variaram para os dois produtos produzidos.

364

365 **Tabela 4** Avaliação de lipídios (%) durante o armazenamento dos iogurtes concentrados salgados com
 366 e sem adição de orégano

Tratamentos	Tempo (dias)				
	0	7	14	21	28
Com orégano	7,06 ±0,05Aa	6,12 ±0,11Abc	6,50 ±0,09Ab	6,07 ±0,12Bc	6,50 ±0,22Ab
Sem orégano	5,84 ±0,35Bb	6,30 ±0,48Aa	6,54 ±0,11Aa	6,68 ±0,09Aa	6,52 ±0,20 Aa

367 Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo
 368 teste de Tukey a 5% de probabilidade

369

370 Os valores de lipídeos são variável de acordo com o teor de gordura do leite, ingredientes e
 371 ainda pelo processo, como mostrado experimentalmente por Ozer et. al (1999), onde a preparação de
 372 labneh utilizando um saco de pano tinham o maior teor de proteína e gordura, uma vez que os sacos de
 373 pano permite, principalmente, a separação de lactose e minerais no soro.

374 As médias e os desvios padrão dos teores de proteínas dos dois tratamentos estão na Tabela 5.

375

376 **Tabela 5** Avaliação de proteína (%) durante o armazenamento dos iogurtes concentrados salgados com
 377 e sem adição de orégano

Tratamentos	Tempo (dias)				
	0	7	14	21	28
Com orégano	8,05 ±0,04Bc	8,58 ±0,14Bb	8,64 ±0,23Bb	9,65 ±0,19Ba	8,74 ±0,10Ab
Sem orégano	8,95 ±0,21Ab	9,21 ±0,20Ab	9,02 ±0,38Ab	10,02 ±0,11Aa	8,74 ±0,10Ab

378 Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo
 379 teste de Tukey a 5% de probabilidade

380

381 Observa-se que, pequena variação do teor de proteína ao longo do tempo para os dois
 382 tratamentos. Esta variação pode ser devido a erros experimentais.

383 A Tabela 6 apresenta os valores médios e os desvios padrão de umidade obtidos para os iogurtes
 384 concentrados salgados com e sem adição de orégano.

385

386

387 **Tabela 6** Avaliação de umidade (%) durante o armazenamento dos iogurtes concentrados salgados com
 388 e sem adição de orégano

Tratamentos	Tempo (dias)				
	0	7	14	21	28
Com orégano	72,39 ±0,54Ba	75,41 ±0,27Aa	75,31 ±0,62Aa	74,57 ±0,13Aa	74,86 ±0,14Aa
Sem orégano	76,17 ±0,18Aa	75,41 ±0,13Aa	75,28 ±0,09Aa	74,52 ±0,30Aa	74,72 ±0,22Aa

389 Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo
390 teste de Tukey a 5% de probabilidade

391
392 Após análise dos dados, observou-se diferença significativa entre o teor de umidade dos dois
393 produtos somente no tempo zero ($p \leq 0,05$). Segundo Al-Kadamany et al. (2002), o labneh possui textura
394 suave, semelhante ao queijo cottage o qual, de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e
395 Qualidade de Queijos, possui teor de umidade acima de 55 % (Brasil, 1996), podendo, assim, considerar
396 o labneh como um produto de alta umidade, uma vez que, de acordo Sampaio et al. (2011) o labneh é
397 um produto intermediário entre leites fermentados e queijos não maturados com alto teor de umidade.

398
399 Avaliação microbiológica

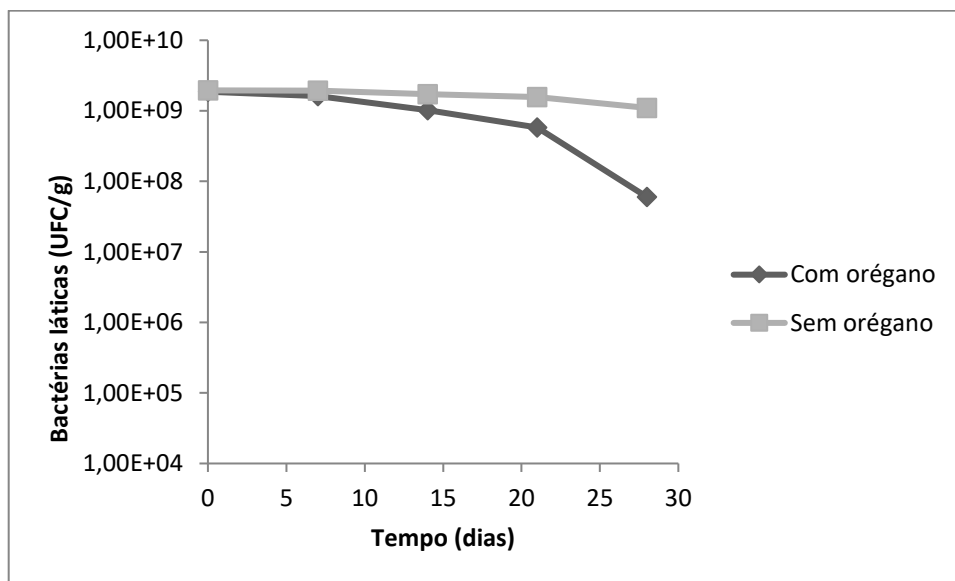
400 A Tabela 7 mostra os resultados dos iogurtes concentrados salgados com e sem adição de orégano
401 durante o armazenamento analisados quanto ao Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais. As
402 amostras apresentaram resultados negativos para pesquisa de coliformes totais (< 3 NMP/g), assim não
403 foram submetidas ao teste de termotolerantes ($< 0,3$ NMP/g).

404
405 **Tabela 7** Resultados da análise de coliformes totais (NMP/g) dos iogurtes concentrados salgados com
406 e sem adição de orégano durante o armazenamento

Tratamentos	Tempo (dias)				
	0	7	14	21	28
Com orégano	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Sem orégano	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3

407
408 Coliformes são um dos principais grupos de micro-organismos indicadores da qualidade
409 microbiológica em alimentos, formado por bactérias de família *Enterobacteriaceae*, as quais são Gram-
410 negativas, não formadoras de esporos e capazes de degradar a lactose com produção de gás a 35 - 37 °C
411 (coliformes totais, que indicam deficiência na higiene de forma geral) ou a 44,0 - 45,5 °C (coliformes
412 termotolerantes, que indicam contaminação do alimento por material de origem fecal) (Piazza, et. al,
413 2013 *apud* Franco & Landgraf, 2008). De acordo com a Tabela 7, todas as amostras estão incluídas entre
414 os limites previstos na legislação (Brasil, 2007) de 10^2 NMP/g e 10 NMP/g de produto de coliformes
415 totais e termotolerantes, respectivamente, diante disso os resultados de coliformes, confirma a utilização
416 de boas práticas de fabricação durante o processamento, tanto dos manipuladores quanto do ambiente.

417 Os valores médios (UFC/g) das contagens de bactérias lácticas estão apresentados na Figura 2.
418 A legislação (Brasil, 2007) determina que as bactérias lácticas (*Streptococcus salivarius subsp.*
419 *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*) devem estar viáveis, ativas e abundantes
420 no produto final durante seu prazo de validade, especificando contagem mínima equivalente a 10^7
421 UFC/g de produto. De acordo com a Figura 2, verifica-se que amostras encontram-se dentro dos padrões
422 estabelecidos, porém nota-se um decréscimo de 1 ciclo log para as amostras de iogurte concentrado
423 salgado com orégano, a partir dos tempos de 14 dias (contagem de 10^9 UFC/g), 21 dias (contagem de
424 10^8 UFC/g) e 28 dias (contagem de 10^7 UFC/g).
425



426
427 **Figura 2** Contagem bactérias lácticas durante o armazenamento dos iogurtes concentrados salgados com
428 e sem adição de orégano

429
430 O decréscimo da contagem nas amostras de iogurte concentrado com orégano pode ser
431 justificado pelo efeito antimicrobiano do orégano comprovados por diversos autores. Segundo Silva et.
432 al (2010) *apud* Rhayour et. al (2003), Nazer et. al (2005) e Silva et. al (2005), os principais componentes
433 antimicrobianos presentes no óleo essencial de orégano são o carvacrol e o timol com comprovado efeito
434 inibitório, a qual pode variar em função dos teores de timol e carvacrol.

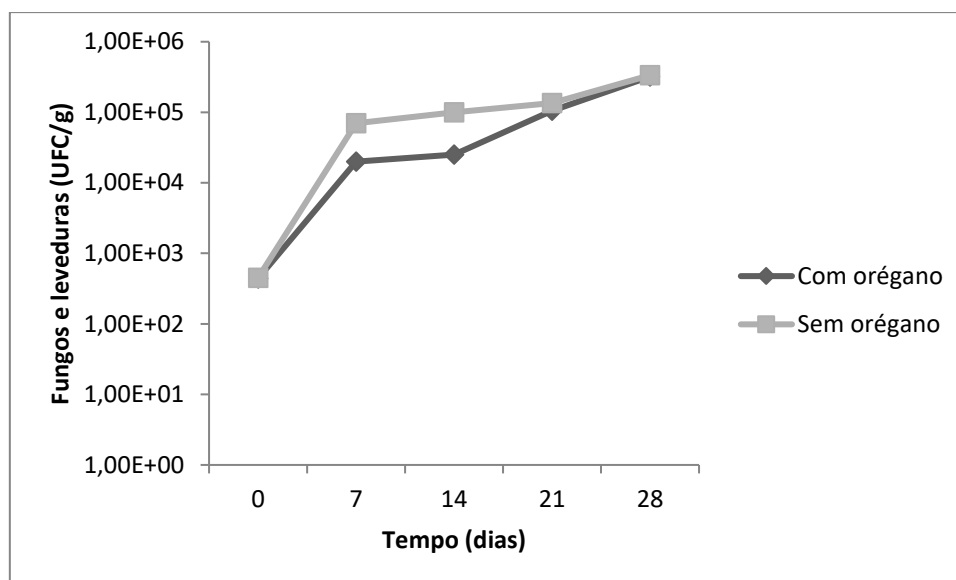
435 Sabe-se que as bactérias lácticas utilizadas na produção de iogurte são Gram positivas. Silva et
436 al. (2010), observaram que as bactérias gram negativas são mais sensíveis ao timol do que ao carvacrol,
437 entretanto, comprovaram que as bactérias Gram positivas são mais sensíveis à ação do óleo essencial de
438 orégano, independente do teor de timol ou carvacrol, do que as Gram negativas, justificando portanto,
439 o decréscimo da contagem desses micro-organismos nas amostras de iogurte concentrado salgado com
440 adição de orégano.

441 Apesar do decréscimo na contagem de bactérias lácticas ao longo do período de armazenamento,
442 os produtos ainda apresentaram-se de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação, o que é um

443 resultado interessante, uma vez que em estudos tem mostrado o efeito benéfico dessas bactérias para a
444 saúde humana (Malozi, s.d).

445 As contagens de fungos e leveduras encontradas para as amostras de iogurte concentrado
446 salgado com e sem adição de orégano estão apresentado na Figura 3. Os valores mais elevados foram,
447 de forma geral, encontrados no 28º dia, sendo que ao longo do tempo variou de $4,40 \times 10^2$ a $3,35 \times 10^5$
448 UFC/g. No entanto, nota-se um aumento discrepante da contagem no 14º dia da amostra com orégano
449 em relação a sem orégano. A legislação (Brasil, 2007) preconiza para iogurtes, contagem máxima de
450 200 UFC de fungos e leveduras/g de produto. Dessa maneira, verifica-se que a contagem está fora
451 do limite máximo estabelecido pela legislação. Contaminação esta, que pode estar relacionada ao
452 ambiente de processamento. Cabe ressaltar a importância, uma vez que fungos filamentosos e leveduras
453 são potenciais deterioradores de produtos lácteos (Souza, et al, 2011).

454



455

456 **Figura 3** Contagem fungos e leveduras durante o armazenamento dos iogurtes concentrados salgados
457 com e sem adição de orégano

458

459 Queiroga et al. (2009) encontrou contagens de fungos em amostras de queijos condimentados
460 que oscilaram entre 6,01 e 7,93 log UFC/g, e encontrou diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as
461 contagens de fungos detectadas para os queijos adicionados de 0,1 % e 1,0 % de orégano (5,95 a 7,36
462 log UFC/g).

463 Os baixos baixos de pH do iogurte podem contribuir para o crescimento de fungos e leveduras.
464 Percebeu-se também, durante as análises, maior crescimento de leveduras do que fungos. Comumente,
465 a deterioração por leveduras ocasiona “flavor” não característico no produto, perda de textura devido à
466 produção de gás e à dilatação e liberação de gás no recipiente (Fleet, 1992).

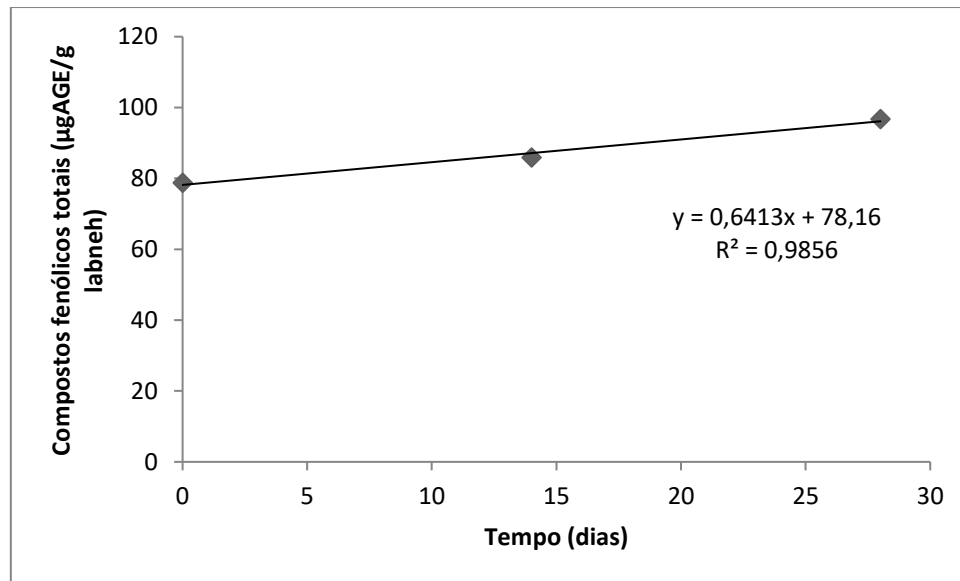
467

468 **3.2 Avaliação da estabilidade dos compostos bioativos no iogurte concentrado salgado adicionado**
469 **de orégano durante o armazenamento**

470 Os compostos bioativos dos iogurtes concentrados salgados adicionados de orégano
471 armazenados ao longo de 28 dias foram avaliados em relação à quantidade de compostos fenólicos totais
472 e a atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH.

473 Os resultados dos compostos fenólicos totais dos extratos do iogurte concentrado salgado
474 adicionado de orégano durante o armazenamento estão apresentados na Figura 4.

475



476

477 **Figura 4** Compostos fenólicos totais durante o armazenamento dos iogurtes concentrados salgados
478 adicionados de orégano

479

480 Conforme a Figura 4 verifica-se que houve aumento no teor de compostos fenólicos ao longo
481 do tempo, havendo variações entre os tempos analisados, com variação de 78,79 a 96,74 µgAGE/g
482 labneh.

483 Silva et. al (2010) explicam que a água, provavelmente, é o que mais influi na alteração dos
484 alimentos, inclusive nas suas propriedades, isto devido à interação entre a água e o meio em que se
485 encontra o produto onde envolve a estrutura física e a composição química dos diversos solutos. Infe-
486 se, assim que os compostos fenólicos provenientes do orégano são liberados progressivamente ao
487 iogurte concentrado salgado ao longo do tempo. Por se tratar da utilização do orégano desidratado ao
488 entrar em contato com alimento de alta umidade tende a se hidratar e liberar seus componentes. O que
489 pode ser verificado pela redução da viabilidade das bactérias lácticas, que demonstra o efeito
490 antimicrobiano do orégano.

491 Segundo Vasco et al. (2008), para frutas, pode-se classificá-las de acordo com seus teores de
492 compostos fenólicos totais em baixo (<1 mg GAE/ g), médio (1-5 mg GAE/ g) e alto (> 5 mg GAE / g)
493 teor. Mesmo não tendo esta classificação para iogurte, pode-se deduzir que, ainda que tenha aumento

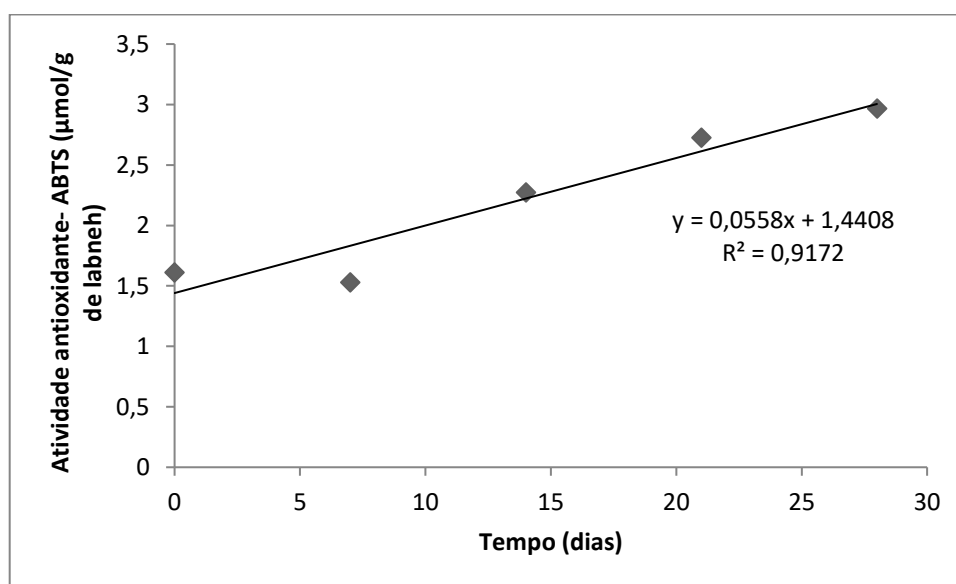
494 do teor destes compostos no iogurte concentrado salgado adicionado de orégano ao longo do tempo,
495 estes são pobres em compostos fenólicos totais. Isso pode ser devido à baixa concentração de orégano
496 que foi adicionado ao produto (0,25 %).

497 Bianchi & Antutes (1999) definem como antioxidantes, aqueles capazes de interceptar os
498 radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exteriores, impedindo assim que esses
499 radicais livres ataquem os lipídios, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poli-
500 insaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular, sendo
501 então de extrema importância a obtenção de antioxidantes na dieta, tais como as vitaminas C, E e A, os
502 flavonoides e carotenoides.

503 Para quantificar os compostos antioxidantes presentes no iogurte concentrado salgado
504 adicionado de orégano, foram feitas análise por dois métodos diferentes, DPPH e ABTS. Segundo
505 Brand-Williams et al. (1995), o método DPPH baseia-se na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-
506 picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo assim um decréscimo da absorvância a 515,0 nm. O outro
507 método de análise de antioxidante, que de acordo com Kuskoski et al., (2005), é um dos métodos mais
508 utilizado para medir a atividade antioxidante é ABTS, que avalia a atividade de compostos de natureza
509 hidrofílica e lipofílica, e ocorre através da captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido
510 sulfônico).

511 As Figuras 5 e 6 mostram resultados das atividades antioxidantes pelos métodos ABTS e DPPH,
512 respectivamente.

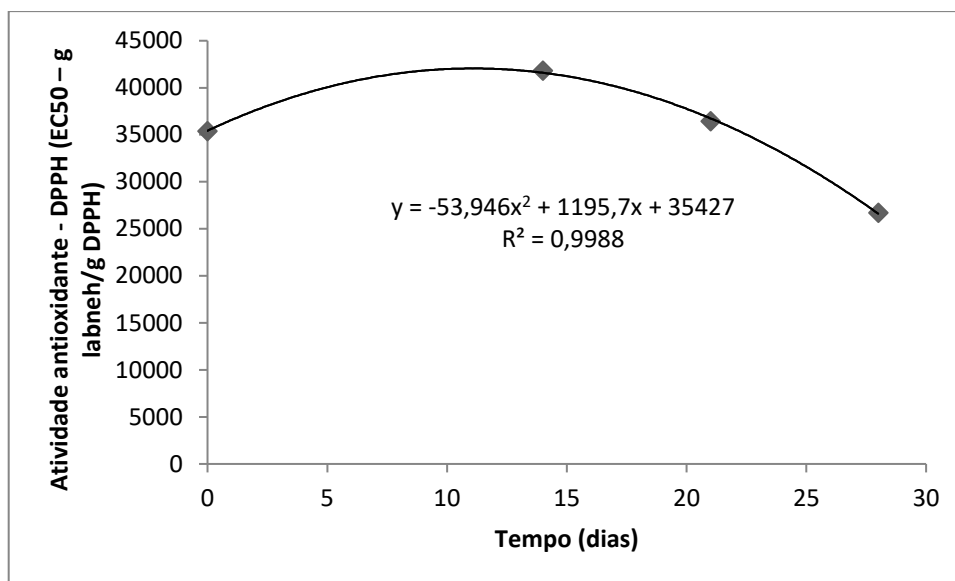
513



514

515 **Figura 5** Resultados da atividade antioxidante pelo método ABTS durante o armazenamento dos
516 iogurtes concentrados salgados adicionados de orégano

517



518

519 **Figura 6** Resultados da atividade antioxidante pelo método DPPH durante o armazenamento dos
 520 iogurtes concentrados salgados adicionados de orégano

521

522 Observa-se que, assim como o teor de compostos fenólicos totais, a atividade antioxidante pelos
 523 métodos ABTS e DPPH aumentaram ao longo do tempo de armazenamento. Isso pode ser em
 524 decorrência a liberação destes compostos pelo orégano ao longo do tempo devido à hidratação deste no
 525 produto.

526 O orégano tem importante papel nesses resultados uma vez que são ricos em flavonoides,
 527 tocoferóis e derivados de ácidos fenólicos, e o óleo essencial é rico em compostos fenólicos, como o
 528 timol e o carvacrol, e o seu efeito antioxidante deve-se à presença destes compostos (Pereira, 2010).

529

530 4. CONCLUSÃO

531

532 Através deste estudo foi possível concluir que os aspectos físico (sinérese) e alguns aspectos
 533 físico-químicos dos iogurtes concentrados salgados foram influenciados pela adição de orégano, e que
 534 ambos (com e sem adição de orégano), houve alterações durante o armazenamento.

535 Apesar de estar dentro dos valores exigidos pela legislação, este estudo demonstrou que a adição
 536 de orégano influencia negativamente a sobrevivência das bactérias lácticas, inibindo-as, durante o
 537 armazenamento refrigerado do iogurte, causando a redução dessas bactérias lácticas após 28º dia com a
 538 adição de 0,25% de orégano ao produto. Os iogurtes concentrados salgados com e sem adição de orégano
 539 apresentaram contagens de coliformes dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira. Já
 540 relação à quantidade de fungos e leveduras, esta se encontra fora dos padrões estabelecidos pela
 541 legislação.

542 Os iogurtes concentrados salgados adicionados de orégano apresentaram aumento dos teores de
 543 compostos bioativos ao longo do armazenamento, sendo uma alternativa interessante para o mercado de

544 produtos lácteos. Contudo seriam necessários estudos posteriores para diminuir a contagem de fungos e
545 leveduras até o limite permitido pela legislação.

546

547 **5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA**

548 Aichinger, P. A.; Michel, M.; Servais, C.; Dillmann, M. L.; Rouvet, M.; D'amico, N.; Zink, R.;
549 Klostermeyer, H.; Horne, D. S. (2003). Fermentation of a skim milk concentrate with *Streptococcus*
550 *thermophilus* and chymosin: structure, viscoelasticity and syneresis of gels. *Colloids and Surfaces B:*
551 *Biointerfaces*, v. 31, n. 1, p. 243-255.

552 Akalin, A. S.; Tokusoglu, O.; Gonc, S.; Aycan, S. Occurrence of conjugated linoleic acid in probiotic
553 yogurts supplemented with fructooligosaccharide. *International Dairy Journal*, v.17, p.1089–1095,
554 2007.

555 Aldrigue, M. L.; Madruga, M. S.; Fioreze, R.; Lima, A. W. O.; Sousa, C. P. (2002). *Aspecto da ciência*
556 *e tecnologia de alimentos*. João Pessoa: Ed. UFPB, v. 1., 198p.

557 Al-Kadamany, E.; Toufeili, I.; Khattar, M.; Abou-Jawdeh, Y.; Harakeh, S.; Haddad, T. (2002).
558 Determination of shelf-life of concentrated yogurt (Labneh) produced by in-bag straining of set yogurt
559 using Hazard Analysis. *Journal of Dairy Science*, v.85, n.5, p.1023-1030.

560 Almeida-Doria, R.F., & Regitano-D'arce, Marisa A.B. (2000). Ação antioxidante de extratos etanólicos
561 de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e orégano (*Origanum vulgare* L.) em óleo de soja submetido à
562 termoxidação. *Food Science and Technology*, v.20, n. 2, p.197-203,.

563 Antunes, A. E. C.; Motta, E. M. P.; Antunes, A. J.(2003). Perfil de textura e capacidade de retenção de
564 água de géis ácidos de concentrado protéico de soro de leite. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 23,
565 p. 183-189.

566 A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemistry). *Official methods of analysis of the association*
567 *of analytical chemistry*. 17.ed. Washington, 2000.

568 Barboza, L. M. V.; Freitas, R. J. S.; Waszczynskyj, N. (2003) Desenvolvimento de produtos e análise
569 sensorial. *Brasil Alimentos*, v.18, p.34-35.

570 Beuschel, B. C.; Culbertson, J. D.; Partridge, J. A.; & Smith, D. M. (1992). Gelation and emulsification
571 properties of partially insolubilized whey protein concentrates. *Journal of Food Science*, v.57, n. 3, p.
572 605-609.

573 Bianchi, M. L. P; Antunes, L. M. G. (1999). Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Rev.*
574 *Nutr.*, Campinas.

575 Brand-Wiliams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate
576 antioxidant activity. *Food Science and Technology*, v.28, p.25-30.

577 BRASIL. (1996) Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria Nº 146 de 07
578 de março de 1996. *Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos*. Disponível em: <

579 <http://www.sfdk.com.br/imagens/lei/Portaria%20146%20-%20ANEXO%20I.htm>>. Acesso em: 27 jul.
580 2016.

581 BRASIL. (2001). Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Regulamento Técnico sobre
582 padrões microbiológicos para alimentos. Resolução-RDC nº12, de 02/01/01, *Diário Oficial da União*,
583 Brasília, 10 jan. Seção I, p. 45-53.

584 BRASIL (2000). Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária,
585 Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Padrões de identidade e qualidade de leites
586 fermentados. Resolução nº5, de 13/11/2000. *Diário Oficial da União*, Brasília, 27 nov. 2000. Seção I,
587 p. 9.

588 BRASIL (2003). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de
589 Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos
590 analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água.
591 *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 18 set. 2003, Seção 1, p. 14. Disponível em:
592 <[http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-](http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851)
593 [consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851](http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851)>. Acesso em: 06 de junho de 2015.

594 BRASIL (2007). Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária.
595 Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. *Instrução Normativa nº 46 de 23/10/2007*.
596 Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Brasília.

597 Carvalho P.G.B.; Machado C.M.M.; Moretti C.L.; Fonseca, M.E. N. (2006). Hortaliças como alimentos
598 funcionais. *Horticultura Brasileira*, v.24, p.397-404.

599 Castillo, M.; Lucey, J. A.; Wang, T.; & Payne, F. A. (2006) Effect of temperature and inoculum
600 concentration on gel microstructure, permeability and syneresis kinetics. *International Dairy Journal*,
601 16, p. 153-163.

602 Coelho, F. J. O.; Quevedo, P. S.; Menin, A.; Timm, C. D. (2009). Avaliação do prazo de validade do
603 iogurte. *Ciência Animal Brasileira*, v.10, n.4, p.1155-1160.

604 Corrêa, A. P. F.; Daroit, D. J.; Coelho, J.; Meira, S. M. M.; Lopes, F. C.; Segalin, J.; Risso, P.H.;
605 Brandelli, A. (2011). Antioxidant, antihypertensive and antimicrobial properties of ovine milk caseinate
606 hydrolyzed with a microbial protease. *J. Sci. Food Agr.*, v. 91, p. 2247–2254.

607 Del Ré, P. V.; Jorge, N. (2012). Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e
608 implicação na saúde. *Rev. Bras. Pl. Med.*, v.14, n.2, p.389-399.

609 Ferreira, D. F. (2000). *Programa Sisvar: versão 3,04*. Lavras: UFLA/DEX.

610 Fleet, Graham. Spoilage yeasts. *Critical reviews in biotechnology*, v. 12, n. 1-2, p. 1-44, 1992.

611 Franco, B. D. G. M.; Landgraf, M. (2003). *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu. 182 p.

612 Gauche, C. (2007). Polimerização de proteínas do soro de leite por transglutaminase e propriedades
613 físicas de iogurte elaborado após tratamento enzimático.

614 Gomes, A. M. P.; Malcata, F. X. Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: biological,
615 biochemical, technological and therapeutic properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food*
616 *Science & Technology*, v. 10, n. 4-5, p. 139-157, 1999.

617 Grizard, D.; Dalle, M.; Barthomeuf, C. (2001) Changes in insulin and corticosterone levels may partly
618 mediate the hypolipidemic effect of guar gum and low-molecular weight pectin in rats. *Nutrition*
619 *research*, v.13, p.275-285.

620 Grønnevik, H., Falstad, M., Narvhus, J. A. Microbiological and chemical properties of Norwegian kefir
621 during storage. *Int. Dairy J.*, v. 21, p. 601-606, 2011.

622 Gulluce M.; Karadayi M.; Guvenalp Z.; Ozbek H.; Arasoglu T.; Baris, O. (2012). Isolation of some
623 active compounds from *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* and determination of their genotoxic
624 potentials. *Food Chem.*, 130, pp. 248–253.

625 I.A.L. Instituto Adolfo Lutz. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos*
626 *químicos e físicos para análise de alimentos*. 2d., São Paulo, v.1, 2005, 533p.

627 Irigoyen, A.; Arana, I.; Castiella, M. et al. Microbiological, physicochemical and sensory characteristics
628 of kefir during storage. *Food. Chem.*, v.90, p.613-20, 2005.

629 Izzo, M.; Niness, K. (2001) Formulating nutrition bars with inulin and oligofructose. *Cereal Foods*
630 *World*, v.46, n.3, p. 102-106.

631 Jauregui, C. A.; Regenstein, J. M.; & Baker, R. C. (1981). A Simple Centrifugal Method for Measuring
632 Expressible Moisture, A Water-Binding Property of Muscle Foods. *Journal of Food Science*, v. 46, n.
633 4, p. 1271-1271.

634 Jiang, J.; Bjorck, L.; Fonden, R. Conjugated linoleic acid in Swedish dairy products with special
635 reference to the manufacture of hard cheese. *International Dairy Journal*, v.7, p.863–867, 1997.

636 Keceli, T.; Robinson, R. K.; Gordon, M. H. (1992) The role of olive oil in the preservation of yogurt
637 cheese (labnehanbaris). *International Journal of Dairy Technology*, v.52, p.68–72.

638 Korhonen H.; Pihlanto A. (2006). Bioactive peptides: production and functionality. *International Dairy*
639 *Journal*, 16, pp. 945–960.

640 Kuskoski, E. M; Asuero, A. G; Troncoso, A. M; Mancini-Filho, J; Fett, R. (2005). Aplicação de diversos
641 métodos químicos para determinar atividade antioxidante em pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de*
642 *Alimentos*, v.25, n.4, p.726-732.

643 Larrauri, J.A.; Rupérez, P.; Saura-Calixto, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols
644 and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v.45,
645 p.1390-1393, 1997.

646 Lima S. C. G., Oliveira P. D., Júnior J. B. L., Rodrigues L. S., Neres L. S. (2011). Efeito da adição de
647 diferentes sólidos na textura, sinérese e característica sensorial de iogurte firme. *Revista do Instituto de*
648 *Laticínios Cândido Tostes*, v. 66, n. 383, p. 32-39

649 Lima, M.; Silva, R.; Silva, M.; Porto, A.; & Cavalcanti, M. (2014). Características Microbiológicas e
650 Antioxidantes de um Novo Alimento Funcional Probiótico: Leite de Ovelha Fermentado por Kefir. *XX*
651 *congresso Brasileiro de Engenharia Química. COBEQ: Florianópolis/SC.*

652 Magalhães, K. T., Pereira, G. V. M., Campos, C. R., Dragone, G., Schwan, R. F. (2011) Brazilian kefir:
653 structure, microbial communities and chemical composition. *Braz. J. Microbiol.*, v. 42, p. 693-702.

654 Martins, L. S. P. (2006). Monitoramento Da Produção De Ácidos Orgânicos Em Amostras De Leite
655 Fermentado Pelos Grãos De Kefir E Do Tibet Utilizando Técnicas Voltamétricas E Hplc (Doctoral
656 dissertation, Universidade de São Paulo).

657 Mohamedd H. A.; Abu-Jdayil, B.; Al-Shawabkeh, A. (2004) Effect of solids concentration on the
658 rheology of labneh (concentrated yogurt) produced from sheep milk. *Journal of Food Engineering*, v.61,
659 p.347-352.

660 Moslehisad M.; Ehsani M. R.; Salami M.; Mirdamadi S.; Ezzatpanah H.; Naslaji A. N.; Moosavi-
661 Movahedi A. A. (2013). The comparative assessment of ACE-inhibitory and antioxidant activities of
662 peptide fractions obtained from fermented camel and bovine milk by *Lactobacillus rhamnosus* PTCC
663 1637. *International Dairy Journal*. V. 29, p. 82–87.

664 Malozi. M.C (s.d). A importância da microbiota no sistema imunológico. *Pediatria Moderna*. Out 10,
665 v48, n10.

666 Man, J. C.; Rogosa, M.; Sharpe, M. E.(1960) A medium for the cultivation of
667 lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, v. 23, n. 1, p. 130-135.

668 Melo, A. E.; Filho, M. J.; Guerra, N. B; Maciel, G.R. (2003) Atividade antioxidante de extratos de
669 coentro (*Coriandrum sativum* L.). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 23, p. 195-199.

670 Moreira S. R.; Schwan R. F.; Carvalho E. P.; Ferreira C. (1999). Análise microbiológica e química de
671 iogurtes comercializados em Lavras – MG. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, SP, v. 19, n.
672 1.

673 Ozbek T.; Guelluece M.; Şahin F.; Oezkan H.; Sevsay S.; Baris O. (2008). Investigation of the
674 antimutagenic potentials of the methanol extract of *Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare* in the Eastern
675 Anatolia Region of Turkey. *Turk. J. Biol.*, 32, pp. 271–276.

676 Ozer B. H.; Stenning R. A.; Grandison A. S.; Robinson R. K. (1999). Rheology and microstructure of
677 Labneh (Concentrated yogurt). *J. Dairy Sci.*, 82, pp. 682-689.

678 Park Y. W.; Juárez M.; Ramos M.; Haenlein G. F. W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat
679 and sheep milk. *Small Rumin. Res.*, 68 (1–2), pp. 88–113.

680 Park, K. J.; Colato, G. (2006). Análises de Materiais Biológicos. Versão Digital. Universidade Estadual
681 de Campinas: Campinas.

682 Pereira, M. O. D. S. (2010). Estudo comparativo de métodos de avaliação da capacidade antioxidante
683 de compostos bioativos (Doctoral dissertation, ISA).

684 Piazza, A. C. S.; Rossi, A. P.; Bortoluzzi, G.(2013) Utilização de infusões de plantas condimentares
685 com atividade antimicrobiana na produção de queijo minas frescal. *Trabalho de Conclusão de Curso*
686 *(Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná*, 54 f.

687 Pitaro, S. P.; Fiorani, L. V.; Jorge, N. (2012) Potencial antioxidante dos extratos de manjeriço
688 (*Ocimum basilicum* Lamiaceae) e orégano (*Origanum vulgare* Lamiaceae) em óleo de soja. *Revista*
689 *Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.14, n.4, p.686-691.

690 Queiroga, R. C. R. E.; Guerra, I. C. D.; de Oliveira, C. E. V.; de Oliveira, M. E. G.; & de Souza, E. L.
691 (2009). Elaboração e caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de queijo “tipo minas
692 frescal” de leite de cabra condimentado. *Revista Ciência Agronômica*, 40(3), 363-372

693 Ramalho V. C.; Jorge N.. Antioxidantes Utilizados Em Óleos, Gorduras E Alimentos Gordurosos.
694 Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Biociências, Letras e Ciências
695 Exatas, Universidade Estadual Paulista. *Química Nova*. vol. 29, no. 4, 755-760, 2006.

696 Ramos, T. M.; Gajo, A. A.; Pinto, S. M.; Abreu, L. R.; Pinheiro, A. C. Perfil de textura de *Labneh*
697 (iogurte grego). *Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”*, v.64, n.369, p.8-12, 2009.

698 Rodas, M.A.B.; Rodrigues, R.M.M.S.; Sakuma, H.; Tavares, L.Z.; Sgarbi, C.R.; Lopes, W.C.C. (2001).
699 Caracterização físico-química, histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas.
700 *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 21, 3: 304-309.

701 Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Morais, S. M., Sampaio, C. G., Pérez-Jiménez, J., & Saura-
702 Calixto, F. D. (2007). Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas
703 pela captura do radical livre DPPH. *Comunicado Técnico*. Empresa Brasileira de Pesquisa
704 Agropecuária.

705 Salji, J. P; Ismail, A. A. Effect of initial acidity of plain yogurt on acidity changes during refrigerated
706 storage. *Journal of Food Science*, v.48, n.1, p.258-259, 1983.

707 Sampaio, A. P. A. M.; Lacerda, E. C. Q. L.; Junior, W. R. P.; Ferrão, S. P. B.; Fernandes, S. A. A.;
708 Dutra, V. S. (2011). Elaboração e caracterização físico-química de iogurte grego sabor cappuccino.
709 *Higiene Alimentar*, v. 25, 345-347.

710 Serafeimidou, A.; Zlatanov, S.; Laskaridis, K.; Sagredos, A. Chemical characteristics, fatty acid
711 composition and conjugated linoleic acid (CLA) content of traditional Greek yogurts. *Food Chemistry*,
712 v.134, p.1839-1846, 2012.

713 Serhan, M.; Mattar J.; Debs L. (2016) Concentrated yogurt (Labneh) made of a mixture of goats’ and
714 cows’ milk: Physicochemical, microbiological and sensory analysis. *Small Ruminant*. V.138, pag. 46-
715 52.

716 Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D., & Corke, H. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and
717 medicinal herb extracts. *International Journal of food microbiology*, v. 117(1), p.112-119. 2007.

718 Shimano, M.Y.H. (2012). *Ação antioxidante de extrato de especiarias e suas misturas binárias e*
719 *ternárias sobre a estabilidade oxidativa de óleo de soja* (Dissertação mestrado) – Escola Superior de
720 Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo.

721 Silva, A.; Almeida, F. D. A. C.; Alves, N. M. C.; Melo, K. S.; Gomes, J. P. (2010). Característica
722 higroscópica e termodinâmica do coentro desidratado. *Revista Ciência Agronômica*, v. 41, n. 2, p. 237-
723 244.

724 Silva, J. P. L.; Duarte-Almeida, J. M.; Perez, D. V.; Franco, B. D. G. M. (2010). Óleo essencial de
725 orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella Enteritidis*. *Ciênc. e*
726 *Tecnol. Aliment.*, 30(Supl 1), 136-41.

727 Souza, G. (1991). Fatores de qualidade de iogurte. *Coletânea do ITAL*, v. 21, n.1, p. 20-27.

728 Souza, E. L. D.; Costa, A. C. V. D.; Garcia, E. F.; Oliveira, M. E. G. D.; Souza, W. H. D., & Queiroga,
729 R. D. C. R. D. (2011). Quality of Coalho-like goat's milk cheese with added coumarou (*Amburana*
730 *cearensis* AC Smith). *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 14, n. 3, p. 220-225.

731 Toledo, N. M. V.(2013). *Aproveitamento de subprodutos da industrialização do maracujá para*
732 *elaboração de iogurte* (Tese de Doutorado). Universidade de São Paulo.

733 Vasco, C., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities
734 of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111, 816–823.

735 Xavier, L. S.; Lima, E. O.; Souza, E. L. (2006). Presença de leveduras em produtos lácteos: uma
736 abordagem especial para a significância de leveduras em queijos. *Higiene Alimentar*, v.20, n.139, p.61-
737 64.

738 Waterhouse, A. L. (2002) Polyphenolics: Determination of total phenolics. In: WROLSTAD, R. E.
739 *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 11, 111-118.