

**Desenvolvimento e caracterização de bebidas produzidas à base de castanha de caju  
(Anacardium occidentale L.)**

**Development and characterization of cashew nut drinks (Anacardium occidentale L.)**

**Desarrollo y caracterización de bebidas de anacardo (Anacardium occidentale L.)**

Recebido: 10/09/2019 | Revisado: 16/09/2019 | Aceito: 28/09/2019 | Publicado: 04/10/2019

**Andressa Queiroz Firmo**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9970-7449>

Unifacisa – Centro Universitário, Brasil

E-mail: [andressaqfirmo@gmail.com](mailto:andressaqfirmo@gmail.com)

**Mayana Morais de Sousa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4193-9041>

Unifacisa – Centro Universitário, Brasil

E-mail: [mayanamorais26@gmail.com](mailto:mayanamorais26@gmail.com)

**Mayra da Silva Cavalcanti**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1269-5324>

Unifacisa – Centro Universitário, Brasil

E-mail: [mayra.cavalcanti@maisunifacisa.com.br](mailto:mayra.cavalcanti@maisunifacisa.com.br)

**Resumo**

O presente trabalho buscou desenvolver e caracterizar quanto aos parâmetros físico-químicos e microbiológicos bebidas à base de extrato aquoso de castanha de caju e avaliar as alterações decorrentes de suas composições. Três formulações foram feitas com e sem adição de frutooligossacarídeo sendo: L1 (bebida controle), contendo a cultura convencional *starter* composta por *Streptococcus thermophilus* e o *Lactobacillus delbrüeckii, subsp. Bulgaricus*; L2 (bebida probiótica) a partir das culturas *starter* e *L. acidophilus*; e L3 (bebida simbiótica) contendo as culturas *starter*, *L. acidophilus* e o frutooligossacarídeo. Os produtos obtidos foram armazenados à 5°C e avaliados quanto às variáveis físico-químicas (pH, acidez, lipídeos, umidade, cinzas, °brix, sinérese e extrato seco total) e microbiológicas (bactérias lácticas, viabilidade do probiótico, presença de bolores, leveduras, coliformes totais e fecais). As formulações atenderam, em sua maioria, aos padrões físico-químicos e microbiológicos da Instrução Normativa nº46/2007, exceto pelo valor de acidez inferior ao preconizado e teor de micro-organismos benéficos na formulação L2. A bebida simbiótica mostrou-se viável por

apresentar características adequadas, proposta pela legislação vigente que a classifica como alimento funcional de acordo com sua contagem de probióticos viáveis e por ser isenta de lactose torna-se um excelente substituto para a população que não pode consumir o produto convencional lácteo. Entretanto, outros estudos deverão ser realizados para melhor caracterização e adequação dos produtos.

**Palavras-chave:** Alimento funcional; Probióticos; Tecnologia de alimentos; Viabilidade microbiana.

### **Abstract**

The present study aimed to develop and characterize as to the physicochemical and microbiological parameters drinks based on aqueous extract of cashews and to evaluate the changes resulting from their compositions. Three formulations were made with and without added fructooligosaccharide: L1 (control drink), containing the conventional starter culture composed of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii*, subsp. *Bulgaricus*; L2 (probiotic drink) from starter and *L. acidophilus* cultures; and L3 (symbiotic drink) containing starter cultures, *L. acidophilus* and fructooligosaccharide. The obtained products were stored at 5°C and evaluated for the physicochemical (pH, acidity, lipids, humidity, ashes, °brix, syneresis and total dry extract) and microbiological variables (lactic bacteria, probiotic viability, presence of mold, yeast, total and fecal coliforms). Most of the formulations met the physicochemical and microbiological standards of Normative Instruction No. 46/2007, except for the lower than recommended acidity value and beneficial microorganism content in the L2 formulation. The symbiotic drink proved to be viable because it has adequate characteristics, proposed by the current legislation that classifies it as a functional food according to its count of viable probiotics and because it is lactose free it becomes an excellent substitute for the population that cannot consume the food. conventional dairy product. However, further studies should be performed to better characterize and adapt the products.

**Keywords:** Functional food; Probiotics; Food Technology; Microbial viability.

### **Resumen**

El presente trabajo tuvo como objetivo desarrollar y caracterizar los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de las bebidas a base de extracto acuoso de anacardos y evaluar los cambios resultantes de sus composiciones. Se hicieron tres formulaciones con y sin fructooligosacárido añadido: L1 (bebida de control), que contiene el cultivo iniciador convencional compuesto por *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii*, subsp.

Bulgaricus L2 (bebida probiótica) de cultivos iniciadores y *L. acidophilus*; y L3 (bebida simbiótica) que contiene cultivos iniciadores, *L. acidophilus* y fructooligosacárido. Los productos obtenidos fueron almacenados a 5°C y evaluados para determinar su fisicoquímica (pH, acidez, lípidos, humedad, cenizas, °brix, sinéresis y extracto seco total) y variables microbiológicas (bacterias lácticas, viabilidad probiótica, presencia de moho, levadura, coliformes totales y fecales). La mayoría de las formulaciones cumplieron con los estándares fisicoquímicos y microbiológicos de la Instrucción Normativa No. 46/2007, excepto por el valor de acidez más bajo que el recomendado y el contenido de microorganismos beneficiosos en la formulación L2. La bebida simbiótica demostró ser viable porque tiene características adecuadas, propuestas por la legislación actual que lo clasifica como un alimento funcional de acuerdo con su conteo de probióticos viables y porque no contiene lactosa, se convierte en un excelente sustituto de la población que no puede consumir el alimento. Producto lácteo convencional. Sin embargo, se deben realizar más estudios para caracterizar y adaptar mejor los productos.

**Palabras clave:** Alimentos funcionales; Probióticos; Tecnología de alimentos; Viabilidad microbiana.

## 1. Introdução

As necessidades nutricionais, de desenvolvimento e crescimento de toda forma de vida são supridas através da alimentação. No entanto, decorrente do aparecimento de diversas patologias associadas aos hábitos alimentares e estilo de vida, aumentou nos últimos anos a procura por alimentos que sobrepõe a sua função primordial, auxiliando na prevenção e combate de patologias, os chamados alimentos funcionais (Sousa et al., 2013; Melo et al., 2016; Oliveira et al., 2016).

No Brasil, o ramo de alimentos funcionais lucra em média US\$ 10 bilhões ao ano, com estimativas de crescimento por todo o mundo (Padilha et al., 2017). Os produtos funcionais contendo probióticos e prebióticos têm sido alvo de novas pesquisas em virtude do surgimento de indivíduos mais críticos e conscientes sobre suas escolhas alimentares, impactando no investimento da indústria alimentícia em formulações contendo compostos bioativos (Rolim, 2015; Villalva et al., 2017).

O probiótico é um micro-organismo vivo que, quando consumido em quantidades suficientes pelo hospedeiro, tem a capacidade de modular a atividade metabólica, melhorar a composição da microbiota intestinal, aumentar a resposta imunológica e promover benefícios

à saúde auxiliando em várias condições médicas como intolerância à lactose, câncer, alergias, infecções, hiperlipidemias e assimilação do colesterol (Yerlikaya, 2014; Costa et al., 2017). Já os prebióticos são ingredientes que produzem estimulação seletiva de crescimento e/ou atividade de um ou de um número de gêneros/espécies de microrganismos na microbiota intestinal conferindo benefícios para a saúde do hospedeiro (Corzo et al., 2015)

Os micro-organismos mais utilizados no mercado são as bactérias ácido-lácticas do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e os prebióticos mais empregados em produtos alimentícios são a inulina e o frutooligossacarídeo (FOS) (Rolim, 2015; Villalva et al., 2017). A utilização conjunta dos probióticos e prebióticos têm mostrado melhor viabilidade em comparação ao seu uso isolado, à essa associação dá-se o nome de simbióticos-(Chaiyasut et al., 2017).

Os produtos lácteos, por serem ricos em nutrientes e possuírem adequadas características sensoriais, têm sido a primeira opção da indústria alimentícia para o uso dos simbióticos. No entanto, o aumento dos casos de má digestão, alergias alimentares e atividade inadequada de lactase têm levado a procura por alimentos isentos de leite em sua formulação, observando-se assim que os alimentos não lácteos vêm ganhando espaço no mercado (Granato, Masson, & Ribeiro, 2012; Misselwitz et al., 2017).

O extrato aquoso obtido pelo processamento de espécies vegetais, vem sendo utilizado em substituição ao leite, por ser rico nutricionalmente e possuir boas características sensoriais (Pretti, 2010). Dentre os vegetais, a castanha de caju (*Anacardium occidentale L.*) torna-se uma ótima alternativa para utilização na produção de extrato aquoso, por ser um fruto repleto de nutrientes, nativo do Brasil e típico de regiões tropicais (Sancho et al., 2007; Queiroz et al., 2011).

Diante do exposto, o presente estudo se propõe a desenvolver e caracterizar bebidas fermentadas nas formulações controle (cultura *starter*), probiótica (*starter* e *lactobacillus acidophilus*) e simbiótica (cultura *starter* e láctica e o frutooligossacarídeo), a base de extrato aquoso proveniente da amêndoa *Anacardium occidentale L.* e avaliar se a modificação nas formulações decorrente do acréscimo de prebiótico influenciou na viabilidade da bactéria probiótica.

## 2. Metodologia

Trata-se de um estudo de caráter experimental, com definição das formas de controle e de observação dos resultados (Gil, 2002). A elaboração das bebidas fermentadas foi realizada

no Laboratório de Técnica Dietética, as análises físico-químicas no Laboratório de Bromatologia e as análises microbiológicas no Laboratório de Microbiologia e Imunologia, todos localizados na Unifacisa – Centro Universitário em Campina Grande, Paraíba.

As amêndoas foram adquiridas na feira central do município de Campina Grande – PB. No preparo das bebidas fermentadas utilizaram-se a cultura convencional *starter* composta por *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrüeckii, subsp. Bulgaricus* (Christian Hansen<sup>®</sup>, Valinhos, Minas Gerais, Brasil) e o açúcar refinado (UNIÃO<sup>®</sup>). Para a formulação probiótica houve o acréscimo do *Lactobacillus acidophilus* (Christian Hansen<sup>®</sup>, Valinhos, Minas Gerais, Brasil), e para o preparo da bebida simbiótica além deste micro-organismo adicionou-se o frutooligosacarídeo (Raftilose P95 - Beneo<sup>®</sup>).

O extrato aquoso foi elaborado segundo procedimento proposto por Moraes (2009), com algumas modificações. As amostras da castanha de caju foram homogeneizadas com água mineral na proporção 1:6 (p/v) com auxílio de um liquidificador industrial a velocidade de 1700 rpm por 3 minutos. O extrato produzido foi coado em peneira, para separação da borra, em seguida acrescido à sacarose e levado novamente ao liquidificador por 1 minuto. O líquido obtido passou por pasteurização a 72°C± 2°C durante vinte minutos em banho-maria.

Foram elaboradas três formulações, a saber: formulação L1, que corresponde à bebida controle composta pela cultura *starter* e a sacarose; formulação L2, bebida probiótica contendo a cultura *starter*, o *Lactobacillus acidophilus* e a sacarose; e a formulação L3 – bebida simbiótica elaborada com a cultura *starter*, o *Lactobacillus acidophilus*, o frutooligosacarídeo e a sacarose (Tabela 1).

**Tabela 1** - Formulações das bebidas fermentadas a base de extrato de castanha de caju.

Formulação	<i>L. acidophilus</i>	Frutooligosacarídeo (%)	Sacarose (%)
L1	ausente	0	10
L2	presente	0	10
L3	presente	5	10

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

Em seguida a pasteurização, o extrato aquoso foi resfriado em banho de gelo até a temperatura de inoculação (entre 42°C e 45°C). Após atingir a temperatura, foi acrescido a cultura *starter* composta por *Streptococcus thermophilus* e o *Lactobacillus delbrüeckii, subsp.*

*bulgaricus* para iniciar o processo de fermentação conjuntamente com o cultivo de *Lactobacillus acidophilus*. O volume do micro-organismo utilizado seguiu as recomendações do fabricante contidas no rótulo. A fermentação foi conduzida em estufa (48°C) até atingir o pH 4,5. Em seguida, as bebidas foram acondicionadas em recipientes de vidro com capacidade de 250ml, o produto resfriado a 12°C e armazenado a 5°C, no dia posterior foi homogeneizado com auxílio de uma espátula para rompimento do coágulo.

As amostras foram separadas e estocadas em quantidades iguais para a realização das análises físico-químicas (umidade, cinzas, pH, acidez titulável, sólidos solúveis totais, lipídeo, sinérese e extrato seco total) e microbiológicas (viabilidade celular das bactérias ácido-láticas, coliformes totais, coliformes termotolerantes, bolores e leveduras), utilizando as metodologias propostas pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), Brasil (2003), Folch, Lees & Stanley (1957), Silva et al., (2013), por AOAC (2012) e Vinderola & Reinheimer (1999).

Para a avaliação dos resultados referentes às análises físico-químicas foi aplicado a Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey, utilizando o nível de significância de 5% para comparação das médias. Para o cálculo destes dados, foi utilizado o programa *Statistics Analy Systems*, versão 8.12 (SAS, 1999).

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1 Análises físico-químicas

Os percentuais de umidade encontrados na tabela 2 foram elevados em todas as amostras, resultado de sua base de extrato aquoso produzido na proporção 1:6 (castanha de caju: água). Houve diferença significativa entre as formulações, principalmente em relação a L3, estando relacionada à maior quantidade de carboidratos, no caso ao prebiótico empregado em 5% na elaboração. O estudo feito por Borges (2014), na elaboração de bebida fermentada produzida com extrato aquoso de soja, castanha-do-brasil e açúcar verificou-se um produto com  $78,58 \pm 0,46$  de umidade, resultados próximos ao encontrado nesse estudo nas elaborações L1 e L2 ( $78,11 \pm 0,27$  e  $79,85 \pm 0,66$ ).

**Tabela 2** – Análises físico-químicas das bebidas fermentadas a base de castanha de caju

VARIÁVEIS	FERMENTADO		
	L1	L2	L3
EST(g/100 g)	$21,89 \pm 0,27^b$	$20,81 \pm 0,39^c$	$25,61 \pm 0,28^a$

Umidade ( g/100 g)	78,11 ±0,27 <sup>b</sup>	79,85 ±0,66 <sup>a</sup>	74,39 ±0,28 <sup>c</sup>
Cinzas ( g/100 g)	0,48 ±0,01 <sup>b</sup>	0,48 ±0,01 <sup>b</sup>	0,97 ±0,01 <sup>a</sup>
SST (° Brix)	13,67 ±0,58	12,83 ±0,76	17,33 ±0,58
Acidez (g/100 g)	4,84 ±0,00 <sup>b</sup>	4,55 ±0,27 <sup>c</sup>	5,13 ±0,26 <sup>a</sup>
Gordura (g/100 g)	2,55 ±0,00 <sup>b</sup>	6,45 ±0,41 <sup>b</sup>	8,32 ±0,00 <sup>a</sup>
pH	4,47 ±0,04 <sup>a</sup>	4,31 ±0,07 <sup>b</sup>	4,42 ±0,01 <sup>ab</sup>
Sinérese	16,95 ±0,27 <sup>a</sup>	9,49 ±2,26 <sup>b</sup>	12,53 ±1,41 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup> Média ± desvio-padrão com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey (p<0,05) entre os tratamentos

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

As bebidas analisadas apresentaram pH de 4,31 a 4,47, indicando adequação para este tipo de produto, uma vez que esses valores estão dentro dos parâmetros para a cultura de *L. acidophilus* utilizada em duas das formulações. Em formulações lácteas como o iogurte, para garantir as características das bactérias e estabilidade do produto, esse pH deve estar na faixa de 3,6 a 4,2, ou mesmo atingir o pH final de 4,5 (Da Silva et al., 2012).

Características sensoriais como aroma, sabor, textura e estabilidade são influenciados pelo pH dos alimentos. Valores de pH inferiores a 4, por exemplo, podem interferir no teor proteico por conta da elevada acidez. Por outro lado, quando esse parâmetro se apresenta acima de 4,5 influência no palato e acelera o processo de deterioração, decorrente da não resistência contra bactérias patogênicas e deteriorantes, prejudicando a conservação do produto final (Brandão & Mendonça, 2015; Santos et al., 2017). Geralmente, em fermentados lácteos e não-lácteos o baixo pH das formulações é devido a produção de ácido lático e demais ácidos orgânicos após o processo de fermentação pelas culturas iniciadoras e bactérias ácido-láticas processo também visualizado nas formulações analisadas, mesmo estas sendo a base de uma oleaginosa (Brandão & Mendonça, 2015).

Segundo a Instrução Normativa nº 46 do Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento utilizado como parâmetro avaliativo nesse estudo, o leite fermentado ou cultivado deve apresentar acidez (gramas de ácido lático/100g do produto) em valor de 0,6 a 2,0, visto que no Brasil não existe legislação específica para os produtos analisados (Brasil, 2007). Por não se tratar de um produto lácteo, os teores diferem desse padrão de referência, decorrente da metabolização do ácido pelas bactérias a partir dos açúcares presentes no leite, entretanto as oleaginosas por apresentarem baixa quantidade de carboidratos em detrimento

do teor lipídico corroboram em uma amostra com menor acidez quando comparado aos lácteos tradicionais (Santos et al., 2017).

O percentual de ácido láctico encontrado no presente estudo variou de 0,45 a 0,51%, estando inferior à normativa para bebidas lácteas justamente por não se tratar de um produto lácteo (Brasil, 2007). Assim como verificado por Barbosa (2016) em algumas de suas elaborações de fermentados a base de extrato de soja e castanha-do-brasil, no qual os valores variaram de  $5,21 \pm 0,31$  a  $6,95 \pm 0,05$ .

O teor de sólidos solúveis totais (SST) de um alimento está relacionado à concentração de açúcares presentes no mesmo, foi observado então que a formulação simbiótica por apresentar 5% de fibra prebiótica apresentou valor mais elevado que os demais e conseqüentemente verificou-se acidez mais elevada quando comparada às demais, assim como verificado por Santos et al. (2017) ao elaborarem bebidas fermentadas a base de soja com diferentes concentrações de inulina apresentando 5,71(0%) e 6,76 (15%) de acidez. No estudo de Costa et al. (2017) ao produzirem extrato de arroz fermentado, uma vez que a formulação inicialmente apresentou teor de sólidos solúveis mais altos e possuíam uma baixa acidez, no entanto com o tempo de estocagem ocorreu uma redução do °Brix e acidez mais elevada, ao qual associaram essa inversão de valores a metabolização dos açúcares presentes pelos micro-organismos para a produção de ácidos.

Os teores de resíduo mineral fixo foram iguais nas formulações L1 e L2, no entanto obteve-se valor superior na formulação L3, essa diferença provavelmente aconteceu por ser a formulação com acréscimo de fibra prebiótica, caracterizando um produto com maior concentração de sólidos e menor teor de umidade em relação às demais. Os valores encontrados em L1 e L2 foram próximos aos descritos por Borges (2015) ao elaborar uma bebida fermentada de extrato de soja enriquecida com extrato de castanha-do-brasil ( $0,48 \pm 0,07$ ) e a pesquisa de Vieira (2017) ao elaborar três iogurtes de extrato hidrossolúvel da amêndoa de baru, no qual encontrou-se teores de  $0,49 \pm 0,05$  e  $0,48 \pm 0,04$  em duas das formulações e valores superiores a terceira formulação  $0,35 \pm 0,02$ .

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 2 e a legislação para bebidas fermentadas ou cultivadas, as bebidas em questão são classificadas como parcialmente desnatada (L1) por apresentar matéria gorda inferior a 2,9g/100g do produto e com creme para as demais (L2 e L3) pelos valores superiores a 6,0g/ 100g (Brasil, 2007). Assim como verificado no extrato aquoso produzido por Morais (2009) com teor lipídico de  $6,20 \pm 1,46$ .

As bebidas L2 e L3 mostraram-se ricas em lipídios em comparação as bebidas fermentadas produzidas com 100% de extrato hidrossolúvel soja ( $1,73 \pm 1,73$ ) e mais próximas



as de 25:75% (extrato de soja/castanha-do-brasil) ( $6,37 \pm 0,49$ ) e 100% castanha-do-Brasil ( $8,04 \pm 8,04$ ) na pesquisa de Barbosa (2017).

A preparação, composição química, temperatura de incubação, pH e armazenamento influenciam no índice de sinérese de um produto, bem como tendem a diminuir à medida que aumenta a concentração de sólidos em um fermentado, assim podemos perceber na diferença entre a L1 ( $16,95 \pm 0,27$ ) e L3 ( $12,53 \pm 1,41$ ), devido a concentração de matéria sólida (EST) (Costa et al., 2017). No estudo de Canella (2016) ao elaborar uma bebida láctea foi verificado a sinérese de 1,59 a 2,19 e EST de 1,59 a 2,19 na bebida 1 (sem inulina) quando compara-se a bebida 2 (com inulina) com valores de 0,68 a 0,83 para sinérese e 20,78 a 21,25 de EST, assim como verificado no presente estudo.

### 3.2 Qualidade higiênico-sanitária

Na elaboração de um produto alimentício deve-se atenção às condições higiênico-sanitárias de sua produção, uma vez que a presença de micro-organismos indicadores em valores superiores a legislação sugere inadequadas condições de higiene na sua produção, a exemplo de falhas no processo, proliferação de micro-organismos, bem como matéria-prima contaminada (Lopes, 2012). Foram realizadas as análises visando à determinação de Número Mais Provável por mililitro (NMP/ml) de coliformes totais ( $35^{\circ}\text{C}$ ), coliformes termotolerantes ( $45^{\circ}\text{C}$ ) e contagem de bolores e leveduras (UFC), assim descritos na Tabela 3. Os valores encontrados foram comparados com o padrão da Instrução Normativa nº46 de 23 de outubro de 2007 para leite fermentado ou cultivado (Brasil, 2007).

**Tabela 3** – Qualidade higiênico-sanitária das bebidas fermentadas

Análise	Fermentado			Legislação *
	L1	L2	L3	
Bolores e Leveduras (UFC/mL)	Ausente	Ausente	Ausente	$< 10^2$
Coliformes a $35^{\circ}\text{C}$ (NMP/ml)	Ausente	Ausente	Ausente	$< 10^2$
Coliformes a $45^{\circ}\text{C}$ (NMP/mL)	Ausente	Ausente	Ausente	$< 10$

\*Brasil (2007)

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

As bactérias do tipo coliformes quando em quantidades excedentes ao preconizado pela legislação são indicativos de condições sanitárias inadequadas (Chaves et al., 2015). Segundo Damer et al. (2015) os alimentos podem ser contaminados por micro-organismos de

forma direta através da matéria prima utilizada ou indiretamente pelos manipuladores de alimentos. Sendo assim, torna-se essencial o controle de todo o processamento de um produto, desde a escolha dos ingredientes empregados até a higiene dos manipuladores e equipamentos.

Os resultados demonstraram que todas as três formulações foram negativas em NMP para coliformes a 35°C, indicando conformidade com a legislação vigente para leite fermentado (Brasil, 2007). Os produtos analisados por serem a base de água e apresentarem elementos que facilitam a proliferação de micro-organismos indesejáveis, tornam os produtos susceptíveis à proliferação desses, no entanto sua composição físico-química de elevada acidez e baixo pH após fermentação auxiliaram em um ambiente desfavorável ao seu crescimento, juntamente com a higienização adequada do ambiente, manipuladores e refrigeração adequada a 5°C durante período das análises (Brandão & Mendonça, 2015).

Ao desenvolver e caracterizar leite fermentado a base de amendoim, Pontes (2015) também verificou resultados negativos para o micro-organismo durante todo o período de estocagem. Por outro lado, Neves (2015) ao realizar análises em três formulações de leites fermentados com concentrações diferentes de farinha de casca de uva, encontrou valores inferiores a 3 NMP/g, os quais também não indicaram quantidades excedentes dessa bactéria, estando de acordo com a legislação.

Como o resultado do teste com o caldo verde bile brilhante (CLBVB) não detectou a presença dos coliformes totais, não foi necessário a etapa conseguinte para confirmação dos coliformes termotolerantes. Os resultados demonstraram condições de higiene e processamento adequadas de todas as formulações

Os fungos são encontrados no solo e água, sendo adaptáveis em uma diversidade de ambientes. Por se desenvolverem facilmente em alimentos, tornam-se excelentes contaminantes e sua presença indicação de más condições de higiene (Macedo et al., 2016). A verificação de bolores e leveduras em placas foi realizada em duplicata e os resultados expressos na Tabela 3. Segundo a legislação o limite máximo tolerável para a presença em leite fermentado é  $2,0 \times 10^2$ , indicando a adequação em todas as formulações, por ficarem isentas destes micro-organismos durante os dias de estocagem (Brasil, 2007). Como visto por Santos et al. (2017), ao desenvolverem uma bebida fermentada a base de soja saborizada com ameixa e suplementada com inulina resultados inferiores a  $10^2$  UFC/g.

### **3.3 Viabilidade Celular**

A contagem das bactérias utilizadas no processo de fermentação das três bebidas está expressa na Tabela 4. A Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005 regulamenta as bebidas lácteas, e estabelece o padrão mínimo de  $10^6$ UFC para as células viáveis em bebidas lácteas fermentadas no produto final (Brasil, 2005).

**Tabela 4** – Contagem de bactérias lácticas nos fermentados e padrão estabelecido pela legislação

Análise	Fermentado			Legislação *
	L1	L2	L3	
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (UFC/mL)	-	$2,5 \times 10^5$	$1,7 \times 10^7$	$> 10^6$
<i>Streptococcus thermophilus</i> (UFC/mL)	$1,75 \times 10^6$	$1,3 \times 10^7$	$5,5 \times 10^7$	$> 10^6$
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> (UFC/mL)	$2,5 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$> 10^6$

\*Brasil (2007)

Fonte: Dados da pesquisa, 2018.

A contagem de *S. thermophilus* mostrou-se dentro do estabelecido pela legislação (Brasil, 2007). Foi verificado que a elaboração simbiótica apresentou valores superiores às demais indicando que a adição do FOS auxiliou no crescimento dessa bactéria.

Com relação ao *L. bulgaricus* verificou-se que todas as formulações apresentaram os mesmos valores, no entanto inferiores a legislação. Como verificado por Gallina et al. (2011), ao qual relacionaram a contagem inferior quando em comparação com o *S. thermophilus* ao desequilíbrio dos micro-organismos na cultura em si ou durante o processo de fermentação, este último provavelmente decorrente do pH mais ácido ao iniciar o processo fermentativo.

A legislação brasileira para produtos funcionais, expressa que um produto probiótico para se enquadrar como alimento funcional deve apresentar até o prazo de validade a contagem de  $10^8$  e  $10^9$  UFC/ml ao dia, esse teor equivale ao consumo de 100g de um determinado produto com  $10^6$  e  $10^7$ UFC/ml (Brasil, 2005). Já para a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a quantidade mínima de micro-organismos probióticos deve ficar entre  $10^8$  e  $10^9$ UFC no produto pronto para garantia da eficácia (Brasil, 2008).

A contagem da cultura ácido-láctica indicou que a formulação L2 não pode ser descrita como probiótico, por apresentar valores inferiores ao preconizado, assim como verificado por Speck, Simon & Schrippe (2013) ao elaborar uma sobremesa fermentada produzida com soja e saborizada com cacau, no qual relacionaram ao valor de pH e acidez do produto, uma vez que essas bactérias desenvolvem-se em meio ácido.

Já a formulação L3 decorrente da adição da fibra prebiótica ocasionou na multiplicação do *L. acidophilus*, o qualificando como uma bebida simbiótica com características funcionais e diferença significativa quando relacionado à formulação L2, como visto por Gallina et al. (2011) ao elaborarem leites fermentados no qual a contagem do probiótico estava maior na elaboração T3 contendo FOS (6,20) quando compara-se a T2 (5,20).

#### **4. Considerações finais**

Pode-se concluir que a formulação simbiótica produzida a partir do extrato aquoso da amêndoa da castanha de caju pode ser utilizada como substituto para o produto convencional lácteo por apresentar características físico-químicas e microbiológicas de acordo com o preconizado. O extrato aquoso conjuntamente com a fibra prebiótica mostraram-se excelentes substratos para o crescimento da bactéria probiótica. A adição do FOS, além de ter auxiliado na contagem da bactéria ácido-láctica, aumentou o teor de sólidos totais, resultando na diminuição do índice de sinérese, além da insignificante modificação no pH, aumento da acidez, redução da umidade e aumento do teor de cinzas, melhorando a consistência e resistência a bactérias indesejáveis.

A contagem de células viáveis do *L. acidophilus* obtidas nas formulações indicou que a formulação L2 não se enquadrou como probiótico. No entanto o valor não diverge muito ao preconizado, devendo-se provavelmente ao baixo teor de acidez, assim como verificado em outros estudos. Em relação a qualidade higiênico-sanitária, nenhuma das formulações apresentou algum indicador de más condições de higiene como coliformes totais, termotolerantes, bolores e leveduras, indicando produtos sem contaminação.

O desenvolvimento da pesquisa limita-se por não englobar todas as análises necessárias à caracterização e outros meios de viabilizar o micro-organismo probiótico. Análises futuras devem ser realizadas para uma avaliação detalhada de toda a sua composição centesimal, a fim de se verificar as concentrações de macronutrientes e micronutrientes, verificação dos quesitos sensoriais, bem como a utilização de outros micro-organismos probióticos e meios para viabilizar o *L. acidophilus* sem uso de fibras prebióticas.

#### **Referências**

Latimer, G. E., & Horwitz, W. (2012). Official methods of analysis. *Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International*, (19<sup>th</sup> ed.) Canada: AOAC.

Barbosa, M. L. S. (2017). *Fabricação de bebidas fermentadas a partir de extrato hidrossolúvel de soja (Glycine max) e de castanha-do-Brasil (Bertholletia excelsa)*. (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

Borges, R. M. (2015). *Produção de bebida fermentada a partir do extrato de soja (Glycine max) enriquecido com extrato de castanha-do-Brasil (Bertholletia excelsa)*. (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

Brandão, W. A. P. L. N., & de Mendonça, T. (2015). *Desenvolvimento, caracterização e otimização de bebida fermentada simbiótica de soja com farinha de banana verde*. (Tese de Doutorado). Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, PR, Brasil.

Brasil. (2005). Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*.

Brasil. (2003). Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2007). Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados.

Campos, D. C. D. S., Neves, L. T. B. C., Flach, A., Costa, L. A. M. A., & Sousa, B. O. D. (2017). Post-Acidification and evaluation of anthocyanins stability and antioxidant activity in açai fermented milk and yogurts (*Euterpe oleracea* Mart.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 39(5). e-871.

Canella, M. H. M. (2016). *Potencial da crioconcentração do soro de leite e seu emprego na elaboração de uma bebida láctea fermentada simbiótica*. (Dissertação de Mestrado) Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, SC, Brasil.

Chaiyasut, C., Pattananandecha, T., Sirilun, S., Suwannalert, P., Peerajan, S., & Sivamaruthi, B. S. (2017). Synbiotic preparation with Lactic acid bacteria and inulin as a functional food: In vivo evaluation of microbial activities, and preneoplastic aberrant crypt foci. *Food Science and Technology*, 37(2), 328-336.

Chaves, K. F., da Silva, N. B. N., Vieira, T. B., Mendes, A. C. G., Gravina, C. S., de Oliveira Martins, A. D., & Martins, M. L. (2015). Avaliação Microbiológica da Água Empregada em Laticínios da Região de Rio Pomba-MG. *Journal of Health Sciences*, 12(4), 5-8.

Corzo, N., Alonso, J. L., Azpiroz, F., Calvo, M. A., Cirici, M., Leis, R., ... & Rúperez, P. (2015). Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutrición Hospitalaria*, 31(1), 99-118.

Costa, K. K. F. D., Pertuzatti, P. B., Oliveira, T. F. D., Caliari, M., & Soares Junior, M. S. (2017). Syneresis and chemical characteristics of fermented rice extract with probiotic bacteria and waxy maize starch. *Food Science and Technology*, 37(4), 640-646.

Costa, M. P., Balthazar, C. F., Moreira, R. D. B. P., da Cruz, A. G., & Júnior, C. C. (2013). Leite fermentado: potencial alimento funcional. *Enciclopédia Biosfera*, 9 (16), 1387-1408.

Damer, J., Garcia, V., Gusmão, A., & Moresco, T. (2015). Qualidade higiênico-sanitária de sorvetes tipo italiano e de massa (artesanal e industrializado) comercializados na região noroeste do Rio Grande do Sul, Brasil. *DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde*, 10(4), 821-834.

Da Silva, L. C., Machado, T. B., Silveira, M. L. R., da Rosa, C. S., & Bertagnolli, S. M. M. (2012). Aspectos microbiológicos, pH e acidez de iogurtes de produção caseira comparados aos industrializados da região de Santa Maria-RS. *Disciplinarum Scientia/ Saúde*, 13(1), 111-120.

Fan, X., Felsovalyi, A., Sivo, S. A., & Keenan, S. C. (2002). SAS for Monte Carlo studies. *Proc. SAS Inst., Cary*, 87-89.

Folch, J., Lees, M., & Stanley, G. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of biological chemistry*, 226(1), 497-509.

Gallina, D. A., Silva, A. T., de Souza Trento, F. K. H., & Carusi, J. (2015). Caracterização de leites fermentados com e sem adição de probióticos e prebióticos e avaliação da viabilidade de bactérias lácticas e probióticas durante a vida-de-prateleira. *Journal of health sciences*, 13(4).

Gil, A. C. (2002). Como elaborar projetos de pesquisa. 4.ed. São Paulo: Atlas.

Granato, D., Masson, M. L., & Ribeiro, J. C. B. (2012). Sensory acceptability and physical stability evaluation of a prebiotic soy-based dessert developed with passion fruit juice. *Food Science and Technology*, 32(1), 119-126.

Instituto Adolfo Lutz, I. A. L. (2008). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4.ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz.

Lopes, G. A. Z. (2012). *Caracterização química, física e sensorial de produtos à base de amendoim*. (Tese de Doutorado). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, SP, Brasil.

Macedo, S. F. et al. (2016). Análise microbiológica de presuntos fatiados comercializados na cidade de viçosa, MG. *ANAIS SIMPAC*, 6(1).

Morais, A. (2009). *Desenvolvimento, otimização e aceitabilidade de extrato hidrossolúvel da amêndoa da castanha de caju (Anacardium occidentale L.)* (Doctoral dissertation, Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza: UFC, 2009. 113p).

Misselwitz, B., Pohl, D., Frühauf, H., Fried, M., Vavricka, S. R., & Fox, M. (2013). Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment. *United European gastroenterology journal*, 1(3), 151-159.

Neves, J. E. (2015). *Leite fermentado acrescido de farinha de casca de uva: desenvolvimento, caracterização e aceitação sensorial*. (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR, Brasil.

Oliveira, L., Poínhos, R., Sousa, F., & Silveira, M. G. (2016). Construção e validação de um questionário para avaliação da percepção sobre alimentos funcionais. *Acta Portuguesa de Nutrição*, (7), 14-17.

Padilha, V. M., Andrade, S. A. C., Valencia, M. S., Stamford, T. L. M., & Salgado, S. M. (2017). Optimization of synbiotic yogurts with yacon pulp (*Smallanthus sonchifolius*) and assessment of the viability of lactic acid bacteria. *Food Science and Technology*, 37(2), 166-175.

Pontes, F. L. (2015). *Desenvolvimento biotecnológico do extrato aquoso de amendoim na elaboração de leite fermentado*. (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil.

Pretti, T. (2010). *Tecnologia para produção de extrato aquoso de amendoim e elaboração de produto fermentado*. (Dissertação de Mestrado). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, SP, Brasil.

Queiroz, C., da Silva, A. J. R., Lopes, M. L. M., Fialho, E., & Valente-Mesquita, V. L. (2011). Polyphenol oxidase activity, phenolic acid composition and browning in cashew apple (*Anacardium occidentale*, L.) after processing. *Food Chemistry*, 125(1), 128-132.

Rolim, P. M. (2015). Development of prebiotic food products and health benefits. *Food Science and Technology*, 35(1), 3-10.

Sancho, S. D. O., Maia, G. A., Figueiredo, R. W. D., Rodrigues, S., & Sousa, P. H. M. D. (2007). Physicochemical changes in cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) Juice processing. *Food Science and Technology*, 27(4), 878-882.



Santos, P. A. D., Leite, N. D., Martins, L. D. S. A., Lodete, A. R., & Motta, R. G. (2017). Bebida fermentada a base de soja com sabor de ameixa e suplementada com inulina em substituição ao iogurte tradicional. *Veterinária e Zootecnia*, 24(4), 724-733.

Silva N, Taniwaki MH, Junqueira VC, Silveira N, do Nascimento MS, RAR G. (2013). Microbiological examination methods of food and water: a laboratory manual. London, UK: Taylor & Francis Group.

Sousa, R. D. C. P., dos Santos, D. C., Neves, L. T. B. C., & Chagas, E. A. (2013). Tecnologia de bioprocesso para produção de alimentos funcionais. *Revista Agro@ mbiente On-line*, 7(3), 366-372.

Speck, A. L., Simon, C. E., & Schrippe, S. M. J. (2013). *Desenvolvimento de sobremesa de soja probiótica sabor cacau* (Trabalho de Conclusão de Curso). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, PR, Brasil.

Vieira, C. F. D. S. (2017). *Elaboração e caracterização de iogurte de extrato hidrossolúvel da amêndoa de baru (Dipterix Alata Vog.)*. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Palmas, TO, Brasil.

Villalva, F. J., Cravero Bruneri, A. P., Vinderola, G., Goncalvez De Oliveira, E., Paz, N. F., & Ramón, A. N. (2017). Formulation of a peach ice cream as potential symbiotic food. *Food Science and Technology*, 37(3), 456-461.

Vinderola, C. G., & Reinheimer, J. A. (1999). Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. *International Dairy Journal*, 9(8), 497-505.

Yerlikaya, O. (2014). Starter cultures used in probiotic dairy product preparation and popular probiotic dairy drinks. *Food Science and Technology*, 34(2), 221-229.

#### **Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

Andressa Queiroz Firmo – 50%

Mayra da Silva Cavalcanti – 30%

Mayana Morais de Sousa – 20%