

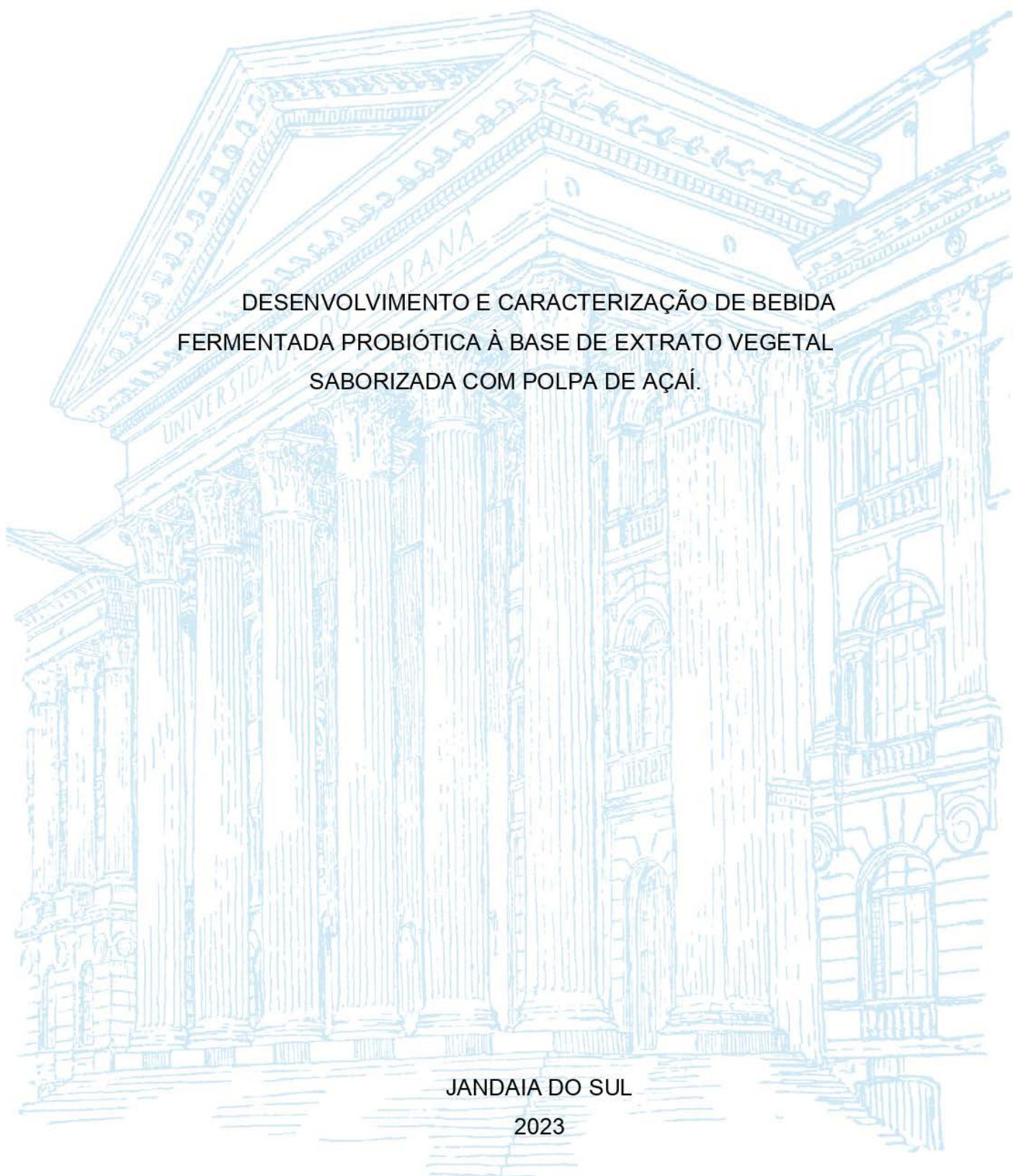
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JOANNA TAMASHIRO UJLAKI

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA
FERMENTADA PROBIÓTICA À BASE DE EXTRATO VEGETAL
SABORIZADA COM POLPA DE AÇAÍ.

JANDAIA DO SUL

2023



JOANNA TAMASHIRO UJLAKI

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA
PROBIÓTICA À BASE DE EXTRATO VEGETAL SABORIZADA COM POLPA
DE AÇAI.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Graduação em Engenharia de Alimentos, campus Jandaia do Sul, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Dirlei Diedrich Kieling

JANDAIA DO SUL

2023

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA JANDAIA DO SUL

Ujlaki, Joanna Tamashiro

Desenvolvimento e caracterização de bebida fermentada
probiótica à base de extrato vegetal saborizada com polpa de açaí. /
Joanna Tamashiro Ujlaki. – Jandaia do Sul, 2023.

1 recurso on-line : PDF.

Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Paraná,
Campus Jandaia do Sul, Graduação em Engenharia de Alimentos.
Orientadora: Profa. Dra. Dirlei Diedrich Kieling.

1. Probióticos. 2. Alimento funcional. 3. *Lactobacillus acidophilus*.
4. *Lactobacillus casei*. I. Kieling, Dirlei Diedrich. II. Universidade
Federal do Paraná. III. Título.

CDD: 664

Bibliotecário: César A. Galvão F. Conde - CRB-9/1747



PARECER Nº
PROCESSO Nº
INTERESSADO:

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
346/2023/UFPR/R/JA
23075.071163/2021-31
COORDENAÇÃO DO CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

JOANNA TAMASHIRO UJLAKI

"DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA PROBIÓTICA A BASE DE EXTRATO VEGETAL SABORIZADA COM POLPA DE AÇAÍ"

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos no curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, Aprovado pela seguinte banca examinadora:

Orientadora:

Dra. Dirlei Diedrich Kieling

Curso de Engenharia de Alimentos, UFPR

Dra. Luana Carolina Bosmuler Züge

Curso de Engenharia de Alimentos, UFPR

Dr. Daniel Angelo Longhi

Curso de Engenharia de Alimentos, UFPR

Jandaia do Sul, 29 de novembro de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **DIRLEI DIEDRICH KIELING, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 29/11/2023, às 10:45, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **LUANA CAROLINA BOSMULER ZUGE, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 29/11/2023, às 10:46, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **DANIEL ANGELO LONGHI, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 29/11/2023, às 10:46, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida [aqui](#) informando o código verificador **6198954** e o código CRC **3BEDD9E8**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado forças nos momentos mais difíceis.

Agradeço a minha mãe e aos meus avós, por todo apoio e incentivo ao longo desses 5 anos, por confiarem em mim e nunca ter deixado me faltar nada, independente da dificuldade.

Agradeço ao meu namorado José Mauricio da Cruz pelo zelo e compreensão comigo.

Meus sinceros agradecimentos à minha professora orientadora Prof^a. Dr^a. Dirlei Diedrich Kieling, pelo aprendizado, carinho e paciência.

Agradeço à Universidade Federal do Paraná, por proporcionar uma educação pública de qualidade, além da oportunidade em realizar um sonho.

Aos técnicos dos laboratórios Cássia e Marcelo, por todo auxílio e paciência.

As amigas que fiz no decorrer da graduação, sempre me ajudando e estando do meu lado.

A todos meus familiares pela motivação e confiança.

As professoras Dr^a. Luana, Dr^a. Leomara, Dr^a. Érika e professor Dr. Daniel.

E a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a execução deste trabalho.

Muito obrigada!

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA PROBIÓTICA À BASE DE EXTRATO VEGETAL SABORIZADA COM POLPA DE AÇAÍ.

Joanna Tamashiro Ujlaki; Dirlei Diedrich Kieling

RESUMO

Os alimentos funcionais são tradicionalmente aplicados de tecnologias de tal forma a trazer benefícios à saúde. Considerando a importância dos alimentos probióticos devido às suas propriedades funcionais para saúde, bem como a necessidade de pesquisas voltadas a encontrar fontes probióticas alternativas, não lácteas, o objetivo do presente estudo foi desenvolver e avaliar as características de uma bebida fermentada probiótica a base de extrato de aveia, saborizada com polpa de açaí. Ao todo foram desenvolvidas 6 formulações com extrato de aveia (10 e 15% m/v) e variações na cultura probiótica (*Lactobacillus casei* e *Lactobacillus acidophilus*), onde a relação do extrato de aveia e o probiótico utilizado nas formulações foi em F1 (10% e *L.casei*), F2 (15% e *L.casei*), F3 (10% e *L. acidophilus*), F4 (15% e *L. acidophilus*), F5 (10% e *L.casei* e *L. acidophilus*), e por fim, F6 (15% e *L.casei* e *L. acidophilus*), as mesmas foram desenvolvidas de modo que fosse possível avaliar a formulação que seria mais favorável ao desenvolvimento de uma bebida probiótica. Essas formulações foram sujeitas a análises físico-químicas como pH, acidez, cinzas, sólidos totais, sólidos solúveis, lipídios, proteínas e a contagem de Bactérias Ácido Lácticas (BAL). Dentre as 6 formulações foi escolhida a que apresentou melhor desempenho na contagem de BAL (F4), com $9,56 \pm 0,03 \log \text{ UFC/mL}$, para qual realizou-se as contagens de *Enterobacteriaceae*, *Bacillus cereus*, bolores e leveduras e análise de antocianinas na bebida pronta. Avaliou-se também a viabilidade do probiótico na F4 após 14 dias de armazenamento refrigerado. As bebidas apresentaram-se ácidas, com $\text{pH} < 4,5$, e teor de proteína próximo ao do leite (aproximadamente 2,9%). A F4 apresentou contagens de *Bacillus cereus* e bolores e leveduras acima dos limites estabelecidos, sendo necessário ajustes no processamento da bebida para alcançar padrões microbiológicos próprios para consumo. O teor de antocianinas foi de $158,64 \pm 9,45 \text{ mg cianidina-3-glucosídeo/L}$, evidenciando o potencial antioxidante da bebida com açaí. A bebida manteve seu potencial probiótico ao longo de 14 dias em refrigeração, apresentando ainda contagens satisfatórias de BAL após este período, sendo de $1,22 \pm 0,25 \times 10^7$.

Palavras-chave: Probióticos; Alimento funcional; *Lactobacillus acidophilus*; *Lactobacillus casei*.

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF A FERMENTED DRINK BASED ON VEGETABLE EXTRACT FLAVORED WITH AÇAÍ PULP.

Joanna Tamashiro Ujlaki; Dirlei Diedrich Kieling

ABSTRACT

Functional foods are traditionally modified in such a way as to provide health benefits. Considering the importance of probiotic foods due to their functional properties for health, as well as the need for external research to find alternative, non-dairy, probiotic sources, the objective of the present study was to develop and evaluate the characteristics of a fermented probiotic drink based on oat extract, flavored with açai pulp. In total, 6 formulations were developed with different proportions of oat extract (10 and 15% w/v) and variations in the probiotic culture (*Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*), where the relationship between the oat extract and the probiotic used in the formulations was in F1 (10% and *L.casei*), F2 (15% and *L.casei*), F3 (10% and *L.acidophilus*), F4 (15% and *L.acidophilus*), F5 (10% and *L.casei* and *L.acidophilus*) and finally, F6 (15% and *L.casei* and *L.acidophilus*), they were developed so that it was possible to evaluate the formulation that would be most favorable to the development of a probiotic drink. These formulations were subjected to physical-chemical analyzes such as pH, acidity, ash, total solids, lipids, proteins and the count of Lactic Acid Bacteria (LAB). Among the 6 formulations, the one that presented the best performance in the BAL count (F4) was chosen, with $9,56 \pm 0,03$ Log CFU/mL, for which counts of *Enterobacteriaceae*, *Bacillus cereus*, molds and yeasts and analysis of anthocyanins in the finished drink. The probiotic is also predicted to be present in F4 after 14 days of refrigerated storage. The drinks were acidic, with a pH < 4,5, and a protein content close to that of milk (approximately 2,9%). F4 presented counts of *Bacillus cereus* and molds and yeasts above the established limits, requiring adjustments in the processing of the drink to achieve microbiological standards suitable for consumption. The anthocyanin content was $158,64 \pm 9,45$ mg cyanidin-3-glucoside/L, demonstrating the antioxidant potential of the açai drink. The drink maintained its probiotic potential over 14 days in refrigeration, still presenting satisfactory BAL counts after this period.

Keywords: Probiotics; functional food; *Lactobacillus acidophilus*; *Lactobacillus casei*.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - FORMULAÇÕES DA BEBIDA VEGETAL FERMENTADA À BASE DE EXTRATO DE AVEIA.....	20
TABELA 2 - ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS PARA AS FORMULAÇÕES DE BEBIDA FERMENTADA A BASE DE EXTRATO AVEIA.....	25
TABELA 3 - CONTAGEM DE BAL PARA AS FORMULAÇÕES DE BEBIDA FERMENTADA À BASE DE EXTRATO AVEIA.....	28
TABELA 4 – CONTAGEM DE MICRORGANISMOS PARA A BEBIDA PROBIÓTICA SABORIZADA COM POLPA DE AÇAÍ.....	30
TABELA 5 – CONTAGEM DE BAL APÓS 1 E 14 DIAS DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO.....	31

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 MATERIAL E MÉTODOS	19
2.1 MATÉRIAS-PRIMAS E INGREDIENTES	19
2.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO DE AVEIA.....	19
2.3 PREPARO DA BEBIDA.....	19
2.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	21
2.4.1 Teor de umidade, sólidos totais e sólidos solúveis.....	21
2.4.2 Cinzas totais.....	22
2.4.3 Nitrogênio total e proteína	22
2.4.4 Lipídios totais por extração com solvente a quente.....	22
2.4.5 Determinação do pH	22
2.4.6 Acidez titulável	22
2.4.7 Antocianinas.....	23
2.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	23
2.5.1 Contagem de bactérias ácido lácticas (BAL).....	24
2.5.2 Contagem de Enterobacteriaceae e Bacillus cereus	24
2.5.3 Contagem de bolores e leveduras.....	24
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS FORMULAÇÕES DA BEBIDA FERMENTADA.....	25
3.2 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DAS FORMULAÇÕES DA BEBIDA FERMENTADA.....	28
3.3 CARACTERIZAÇÃO DA BEBIDA PROBIÓTICA SABORIZADA	30
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

A procura por produtos funcionais e a busca por um estilo de vida mais saudável tem exigido que pesquisadores desenvolvam novos tipos de produtos de maneira que agrade aos consumidores e que atenda a alegação de alimento funcional. Através de Salgado (2017), os alimentos funcionais são compostos de substâncias naturais as vezes em alta concentração ou presentes em alimentos que não as supririam, além disso, possuem efeitos positivos, o que pode aumentar o bem-estar e a saúde ou reduzir o risco de doenças, promovendo benefícios a saúde e aumentando a qualidade de vida, agregando nos desempenhos físico, psicológico e comportamental. Seus efeitos não curam, porém, podem auxiliar na prevenção de determinadas patologias, sendo elas, câncer, diabetes, hipertensão, mal de Alzheimer, doenças ósseas, cardiovasculares, inflamatórias e intestinais.

A Resolução nº 2 de 07/01/2002, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), descreve alimento funcional como “todo alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido na dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica”. Já a *Functional Food Science in Europe* (Fufose, 2001) definiu os alimentos funcionais como aqueles que “demonstraram satisfatoriamente afetar de forma benéfica uma ou mais funções-alvo do corpo, além dos efeitos nutricionais próprios, de forma que sejam relevantes para um melhor estado de saúde e bem-estar ou para a redução dos riscos de doenças”.

Cerca de 60% dos alimentos funcionais trazem benefícios e melhorias para a saúde digestiva, no qual possuem probióticos e prebióticos que exercem suas funções na via intestinal do ser humano, através de mecanismos de ação distintos (BINNS, 2014).

O termo probiótico quer dizer “para vida” e é atribuído aos microrganismos que proporcionam benefícios para a saúde de humanos e animais (FAO/OWH, 2006). Segundo Moreira (2019), o consumo de produtos probióticos ajuda a regular a flora intestinal, bem como propicia benefícios ao sistema imunológico, resistência gastrointestinal à colonização por patógenos, além de aumentar a absorção de minerais e vitaminas.

Geralmente os probióticos estão relacionados a produtos lácteos, como iogurtes e bebidas lácteas fermentadas, que incluem em sua composição, dentre os principais gêneros microbianos, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (GALLINA et al.,

2012; KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008). Nestes produtos, os probióticos contribuem com o próprio processo de elaboração, conferindo características sensoriais através da fermentação da lactose. Além dos produtos funcionais de base láctea, os cereais se mostraram uma alternativa para a produção de alimentos deste tipo. Eles podem ser utilizados como substrato fermentescível para crescimento de microrganismos probióticos e podem, ainda, apresentar oligossacarídeos com potenciais propriedades prebióticas. De acordo com Ranadheera et al., (2017) produtos de soja, à base de cereais, sucos de frutas e vegetais, além de produtos fermentados de carne e peixe podem ser considerados os principais alimentos probióticos não lácteos disponíveis no mercado atualmente.

O termo prebiótico é definido como “ingredientes seletivamente fermentados, que resultam em alterações específicas na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal, proporcionando benefícios para a saúde do hospedeiro” (GIBSON et al., 2010). Segundo Ramirez (2017) alguns tipos de prebióticos são galacto-oligossacarídeos, xilo-oligossacarídeos, fruto-oligossacarídeo, inulina, fosfo-oligossacarídeo, isomalto-oligossacarídeos, isomalto-oligossacarídeos, lactulose e pectina.

A composição química e estrutural do grão da aveia é única entre os cereais, o que lhe confere aptidão para uso na alimentação humana. Segundo Mendonça et al., (2009), no que se refere aos cereais, a aveia e cevada são os que possuem o maior teor de β -glucanas, tendo em média de 3-7% e 3-11% respectivamente, sendo estas importantes fibras alimentares. De acordo com Angelov et al., (2018) as bebidas fermentadas a base de aveia são consideradas funcionais devido ao efeito simbiótico das culturas starter probióticas e as fibras prebióticas de β -glucana. Essa fibra provou reduzir o colesterol no sangue e a absorção de glicose no intestino. Além das fibras, a aveia é rica em proteínas, polissacarídeos, minerais como magnésio, ferro, manganês, cobre e zinco e vitaminas B1 e B5. Ao reduzir o colesterol do sangue, a aveia previne doenças do coração e é considerado um alimento funcional, sendo sua composição química e qualidade nutricional altas e superiores a dos demais cereais.

O açaí também é considerado um alimento rico em fibras, auxiliando no trânsito intestinal, tendo em vista que as fibras promovem um sistema digestivo saudável (ROCHA et al., 2015). Souza e Bahia (2010) afirmam que além do fator histórico e socioeconômico, o açaí se mostrou um produto em alta e de grande

destaque nutricional por ser fonte de vitaminas, como E e B1, bem como rico em lipídios. Segundo Nascimento et.al, (2008), o óleo de açaí apresentou altos teores de ácidos graxos insaturados, variando de 68% a 71%. Dentre os ácidos graxos insaturados, o ácido oleico e o ácido palmítico são os mais abundantes, destacando este fruto em uma condição atraente para o mercado de alimentos, além de fonte de minerais como ferro e fósforo e antioxidantes. Bernaud e Funchal (2011), verificaram a importante atividade antioxidante do açaí, a qual é quase totalmente atribuída às antocianinas, e afirmam que esta classe de flavonoides se destaca por seus efeitos protetores contra muitas doenças, principalmente doenças cardiovasculares e câncer. As antocianinas são compostos hidrossolúveis que, além de conferir capacidade antioxidante, são responsáveis pela cor vermelha escura característica da polpa do açaí. Segundo Portinho et al. (2012) as principais antocianinas presentes na polpa do açaí são cianidina-3-glucosídeo, cianidina-3-rutinosídeo, perlagonidina-3-glucosídeo, cianidina-3-sambiosídeo, peonidina-3-glucosídeo, e peonidina-3-rutinosídeo.

Segundo Batista et al. (2020), a intolerância à lactose atinge em torno de 65% a 75% da população mundial, apresentando assim, uma predominância distinta entre as populações, sendo de 80 a 100% em indígenas americanos e asiáticos, 60 a 80% dos negros e latinos e entre 2 a 15% dos descendentes do norte europeu.

De acordo com Mattar e Mazo (2010), a má absorção ou má digestão de lactose consiste na redução da capacidade do organismo de hidrolisar a lactose, que é resultante da hipolactasia. A hipolactasia significa diminuição da atividade de enzima lactase na mucosa do intestino delgado, conhecida também como lactase não persistente. Os sintomas típicos incluem dor abdominal, sensação de inchaço no abdome, flatulência, diarreia, borborigmos e, particularmente nos jovens, vômitos.

Além disso, a Sociedade Vegetariana Brasileira (SVB, 2018) estima que 14% dos brasileiros se declaram abertamente vegetarianos e/ou veganos e 55% dos brasileiros consumiriam mais produtos veganos se estivesse indicado na embalagem.

Assim, por conta do elevado número de pessoas com intolerância à lactose, alergia a proteína do leite e até mesmo daquelas que optaram pelo vegetarianismo ou veganismo, a procura por bebidas de base vegetal aumentou consideravelmente. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi desenvolver e avaliar as

características de uma bebida fermentada probiótica e prebiótica a base de extrato de aveia, saborizada com polpa de açaí.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATÉRIAS-PRIMAS E INGREDIENTES

A aveia em flocos integral (Nestlé) e o açúcar refinado foram adquiridas em um mercado local de Jandaia do Sul. O concentrado proteico de ervilha (85% de proteína) foi obtido em loja de produtos naturais (Growth). A polpa de açaí 100% natural (Polpa Norte) foi adquirida em um mercado de São Bernardo do Campo-SP. Os probióticos *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus acidophilus* (10^9 UFC em cada cápsula) foram obtidos em farmácia de manipulação.

2.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO DE AVEIA

A obtenção do extrato hidrossolúvel de aveia foi baseada na metodologia de Dezideiro (2019) com algumas modificações quanto a proporção de aveia. Desta forma, definiu-se avaliar as proporções de 15 g aveia/100 mL água e de 10 g aveia/100 mL água. Após a pesagem, foi realizada a trituração da aveia em flocos integral com água potável filtrada em temperatura ambiente (25°C) por 2 minutos em um liquidificador doméstico para obter-se uma mistura homogênea. Posteriormente foi realizada a filtração em malha de organza para separação do extrato e do resíduo sólido.

2.3 PREPARO DA BEBIDA

Para o preparo da bebida, foi desenvolvido um planejamento experimental com seis formulações do extrato hidrossolúvel de aveia e do probiótico, conforme TABELA 1. As formulações foram preparadas em duplicata.

TABELA 1 - FORMULAÇÕES DA BEBIDA VEGETAL FERMENTADA À BASE DE EXTRATO DE AVEIA.

FORMULAÇÃO	EXTRATO DE AVEIA	CONCENTRADO PROTEÍCO DE ERVILHA	POLPA DE AÇAÍ	PROBIÓTICO ¹
F1	10% (m/v) 100 mL	3 g	20 g	<i>L. casei</i>
F2	15% (m/v) 100 mL	3 g	20 g	<i>L. casei</i>
F3	10% (m/v) 100 mL	3 g	20 g	<i>L. acidophilus</i>
F4	15% (m/v) 100 mL	3 g	20 g	<i>L. acidophilus</i>
F5	10% (m/v) 200 mL	6 g	40 g	<i>L. casei</i> + <i>L. acidophilus</i>
F6	15% (m/v) 200 mL	6 g	40 g	<i>L. casei</i> + <i>L. acidophilus</i>

FONTE: A autora (2023)

¹ Foi adicionado uma cápsula de cada probiótico em cada formulação.

Inicialmente, foram preparados os extratos de aveia 10% e 15% para as formulações das bebidas, conforme indicado na TABELA 1. A quantidade de açaí foi definida por meio de testes preliminares. A quantidade de concentrado de ervilha foi estimada de modo que as bebidas apresentassem em torno de 3% de proteína (teor proteico médio do leite bovino). O cálculo foi realizado com base nos teores de proteína informado no rótulo do concentrado de ervilha (85%) e no teor médio de proteína de extratos de aveia (1,05 a 2,04 %) encontrados na literatura (DEZIDEIRO 2019; ALMEIDA et al. 2020). A cada uma das formulações adicionou-se também sacarose (10 g/100 mL), conforme indicado por Costa et al. (2017). Todos os ingredientes foram misturados em liquidificador doméstico em velocidade alta por 2 minutos.

Após obter-se uma mistura homogênea, separou-se uma amostra de cada bebida para determinar o pH inicial (antes da fermentação). A seguir, todas as

formulações foram pasteurizadas a 85°C durante 30 min e em seguida resfriadas em água fria até atingir a temperatura de 45°C.

A seguir, procedeu-se a inoculação, sendo utilizada uma cápsula de cada probiótico de acordo com a formulação da bebida (TABELA 1). As cápsulas de cada cultura probiótica foram abertas assepticamente, e inseridas no frasco de cada formulação. A seguir, foram acondicionados em uma estufa de incubação para realização do processo de fermentação por 48 h a uma temperatura de 42°C ± 5°C (COSTA et al., 2017).

Cada uma das seis formulações do extrato vegetal foi avaliada quanto à contagem de bactérias ácido lácticas (BAL) para escolha da melhor formulação para o desenvolvimento da bebida probiótica. As mesmas formulações também foram analisadas quanto a composição (umidade, sólidos totais, sólidos solúveis, minerais totais, proteína e lipídios), acidez e pH.

A bebida fermentada obtida, preparada a partir da formulação escolhida, foi analisada em relação às suas características microbiológicas e teor de antocianinas. Foi também avaliado o potencial probiótico da bebida pronta, por meio da contagem de bactérias ácido lácticas (BAL), após 14 dias de armazenamento refrigerado (5 ± 1°C).

2.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Para a produção e elaboração de alimentos, é de suma importância a realização de análises físico-químicas para averiguar a qualidade do produto. Para a realização destas análises usou-se o proposto pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). Com isso, determinou-se o teor de umidade, sólidos totais (ST), sólidos solúveis (SS), cinzas totais, nitrogênio total e proteína, lipídios, pH e acidez titulável.

2.4.1 Teor de umidade, sólidos totais e sólidos solúveis

Para a determinação de umidade e sólidos totais utilizou-se a secagem em estufa a 105°C durante 24 horas.

Para determinar o teor de sólidos solúveis utilizou-se um refratômetro e a leitura foi realizada em porcentagem de sólidos solúveis (°Brix).

2.4.2 Cinzas totais

As cinzas foram obtidas através da incineração na mufla, em temperatura de 550°C, em torno de 3 a 4 horas. Para isso utilizou-se 3 g de amostra em cadinhos previamente preparados.

2.4.3 Nitrogênio total e proteína

A determinação de proteína baseou-se na determinação de nitrogênio total, realizada através do processo de digestão de Kjeldahl. Este método baseia-se em três etapas: digestão, destilação e titulação. A matéria orgânica é decomposta e o nitrogênio existente é transformado em amônia. Levou-se em consideração o fator de 6,25 para transformar o número de g de nitrogênio encontrado em número de g de proteínas, tendo em vista que o conteúdo de nitrogênio das diferentes proteínas é de aproximadamente 16%. Para o procedimento da digestão utilizou-se 0,25 g da amostra.

2.4.4 Lipídios totais por extração com solvente a quente

Para a obtenção da fração lipídica desejada e para garantir uma melhor eficiência de extração de lipídios totais, utilizou-se as amostras resultantes do processo de retirada de umidade. O método empregado foi extração com solvente a quente em extrator Goldfish Lucadema®. O método é baseado em três etapas: extração da gordura de cada amostra com solvente éter de petróleo (90%), eliminação do solvente por evaporação e quantificação por pesagem.

2.4.5 Determinação do pH

O pH foi medido através de um pHmetro de bancada e, para isso, utilizou-se 10 mL de cada amostra. Para a calibração do equipamento foi usado soluções tampão de pH 4,0 e 7,0.

2.4.6 Acidez titulável

Esta etapa baseou-se na titulação de 10 mL de amostra de cada formulação sendo usada uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N e três gotas de fenolftaleína como indicador. Assim, o resultado foi expresso em % de ácido láctico.

2.4.7 Antocianinas

Para a determinação de antocianinas, utilizou-se o método proposto por Ribeiro (2016), onde o conteúdo total de antocianinas dos extratos foi determinado pelo método de pH diferencial, onde foram utilizadas soluções tampões de cloreto de potássio (0,025 mol. L⁻¹, pH 1,0) e tampão acetato de sódio (0,4 mol. L⁻¹, pH 4,5). Com isso, foi separado em torno de 10 mL de cada amostra, as quais foram centrifugadas à 5000 rpm durante 15 minutos. Após a centrifugação foram tomados 200 µL do sobrenadante, os quais foram misturados com 3800 µL de cada solução tampão. Por fim, a absorbância foi medida através de um espectrofotômetro com comprimentos de onda de 510 nm e 700 nm.

A partir disso, foi realizado o cálculo para determinação de antocianinas totais, conforme mostra a EQUAÇÃO (1).

$$AT = \left[\frac{Abs_{510} - Abs_{700 \text{ pH } 1,0} \times 10^5 \times PM_{\text{cianidina-3-glicosídeo}} \times fd}{\epsilon} \right] \times 100 \quad (1)$$

2.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Para saber qual formulação se apresentou com melhor desempenho, foi realizada a contagem de bactérias ácido lácticas (BAL). Após a escolha da melhor formulação, esta foi preparada novamente e, com isso, foram feitas contagens de *Enterobacteriaceae*, *Bacillus cereus* e bolores e leveduras, para verificar o atendimento aos padrões microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa N° 161 de 1 de julho de 2022 (BRASIL, 2022). Foi também realizada novamente a contagem de BAL após 14 dias de armazenamento a 5 ± 1°C, sendo assim, possível

analisar a performance da cepa probiótica em relação ao tempo de armazenamento em refrigeração.

2.5.1 Contagem de bactérias ácido lácticas (BAL)

Para esta etapa, seguiu-se o método proposto por Silva et al. (2017), assim, a contagem de BAL (UFC/mL) foi determinada em ágar de Man Rogosa & Sharpe (MRS), através da técnica de plaqueamento em profundidade, utilizando uma sobrecamada do mesmo meio, para garantir condições microaerófilas, finalizada por incubação posterior das amostras a 35 °C por 72 h.

2.5.2 Contagem de Enterobacteriaceae e *Bacillus cereus*

As contagens de *Enterobacteriaceae* (UFC/mL), foram realizadas conforme Assunção et al. (2008) com algumas modificações, assim, utilizou-se o meio VRBG, plaqueamento em superfície com incubação a 35°C por 24 horas.

Para as contagens de *Bacillus cereus* (UFC/mL), realizou-se os procedimentos conforme descrito por Costa et al. (2017), onde utilizou-se o Ágar Manitol Gema de Ovo Polimixina (MYP), plaqueamento em superfície espalhando com alça de Drigalsky e incubação a 35°C por 24 horas.

2.5.3 Contagem de bolores e leveduras

Para a avaliação dos bolores e leveduras (UFC/mL) seguiu-se a metodologia de Kieling, Barbosa-Cánovas e Prudencio (2019), pela determinação em ágar batata dextrose, com uso da técnica de plaqueamento em superfície, seguido de incubação a 25 °C por 5 a 7 dias.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos para teor de sólidos solúveis e sólidos totais, cinzas, proteína, lipídios, pH, acidez titulável em ácido láctico e contagem de BAL, foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p \leq 0,05$). As análises

estatísticas foram realizadas com auxílio do programa Statistica 7. A média e desvio padrão foram calculados com uso do Excel®, versão 2019.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS FORMULAÇÕES DA BEBIDA FERMENTADA

No que se refere às análises físico-químicas, estas foram realizadas em duplicata para as seis formulações desenvolvidas com extrato de aveia, concentrado proteico de ervilha e açaí. Os resultados alcançados (g) estão retratados na TABELA 2 de acordo com a média e desvio padrão.

TABELA 2 - ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS PARA AS FORMULAÇÕES DE BEBIDA FERMENTADA A BASE DE EXTRATO AVEIA.

Parâmetros	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Umidade (%)	84,37 ± 0,24 ^a	81,84 ± 0,20 ^b	84,55 ± 0,39 ^a	82,54 ± 0,09 ^b	84,88 ± 0,07 ^a	82,10 ± 0,01 ^b
ST (%)	15,63 ± 0,24 ^b	18,16 ± 0,21 ^a	15,45 ± 0,39 ^b	17,46 ± 0,09 ^a	15,12 ± 0,07 ^b	17,90 ± 0,01 ^a
Cinzas (%)	0,30 ± 0,13 ^a	0,33 ± 0,03 ^a	0,29 ± 0,03 ^a	0,35 ± 0,03 ^a	0,29 ± 0,01 ^a	0,34 ± 0,03 ^a
Proteínas (%)	2,83 ± 0,33 ^a	3,06 ± 0,12 ^a	2,61 ± 0,04 ^a	2,96 ± 0,05 ^a	2,49 ± 0 ^a	2,99 ± 0,08 ^a
Lípídeos (%)	0,75 ± 0,24 ^a	0,58 ± 0,04 ^a	0,59 ± 0,20 ^a	0,85 ± 0,09 ^a	0,85 ± 0,11 ^a	0,75 ± 0,12 ^a
Acidez (%) ácido láctico	0,64 ± 0,01 ^b	0,78 ± 0,02 ^b	0,88 ± 0,13 ^b	1,17 ± 0,01 ^a	0,79 ± 0,10 ^b	0,85 ± 0,02 ^b
pH ¹	4,55 ± 0,01 ^a	4,25 ± 0,28 ^a	4,05 ± 0,49 ^a	3,62 ± 0,25 ^a	3,67 ± 0,15 ^a	3,72 ± 0,04 ^a
SS (°BRX)	12,63 ± 0,53 ^{ab}	13,75 ± 0,71 ^{ab}	12,00 ± 0,71 ^b	14,88 ± 0,88 ^a	11,75 ± 0 ^b	11,38 ± 0,53 ^b

FONTE: A autora (2023).

Letras diferentes na mesma linha correspondem a diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ¹pH inicial das formulações = $6,39 \pm 0,02$.

Através das análises de caracterização físico-química das formulações, nota-se que em relação ao teor de umidade, houve diferença significativa entre as amostras. Esse alto valor se dá pelo fato de a polpa de açaí possuir em média 88,7% de umidade, segundo a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). De acordo com Furtado e Ferraz (2007) o teor de umidade é uma das principais determinações analíticas realizadas a fim de verificar padrões de identidade e qualidade em alimentos. Este parâmetro está diretamente ligado ao tempo de vida deste produto, tendo em vista que teores elevados de umidade acelera a deterioração do alimento

Em relação ao teor de sólidos totais, também se observou diferença significativa entre as formulações. Essas diferenças nos resultados de umidade e ST são explicadas pelas diferentes concentrações do extrato de aveia utilizado nas bebidas, enquanto para F2, F4 e F6 o extrato possui 15% (m/v), para F1, F3 e F5 possui 10% (m/v). Nas análises de Almeida et al. (2020), a composição centesimal mostra um teor de 10,09% de sólidos totais no extrato de aveia. A bebida fermentada em questão foi complementada com mais ingredientes do que no estudo abordado, sendo assim, a quantidade de sólidos totais tende a aumentar e, desse modo, este parâmetro ficou entre 15,12% e 18,16%.

No que se refere a análise de cinzas, não houve diferença significativa entre as amostras. Por se tratar de um extrato de aveia, ocorre uma perda significativa de resíduos sólidos, sendo assim, a quantidade de cinzas variou de 0,29% a 0,34%. De acordo com Heiden et al. (2014) o teor de cinzas encontrado no floco de aveia foi de 1,7%, enquanto o valor encontrado por Bayer (2019) foi de 0,095% no extrato de aveia. A partir da TACO (2011) foi possível verificar que a polpa de açaí possui um teor de cinzas de 0,3%. Sendo assim, era esperado que o teor de cinzas da bebida não fosse muito elevado.

Já referente a quantidade de proteínas presentes, verificou-se que não houve diferença significativa entre as amostras. No estudo realizado por Bayer (2019), o extrato de aveia apresentou um teor de 0,927% de proteínas. O baixo teor de proteínas encontrado no extrato de aveia pode estar relacionado à baixa solubilidade das suas proteínas em água ou a interferência da concentração de lipídeos na solubilidade das proteínas. Desta forma, devido ao baixo teor proteico do extrato de aveia, foi adicionado concentrado proteico de ervilha para tentar

aproximar o teor proteico da bebida de base vegetal elaborada com o do leite bovino (mínimo de 2,9%). Este intuito foi alcançado.

Para o teor de lipídios, é possível observar que não houve diferença significativa entre as amostras. Segundo dados obtidos por Minighin (2019) o percentual de lipídios obtido na polpa média de açaí roxo foi de 6,57%. Por sua vez, Almeida et al. (2020) obteve um valor de 1,87% no extrato de aveia. Os baixos percentuais encontrados neste trabalho se explicam pelo fato de ter sido adicionada uma fração pequena de polpa de açaí (20g/100mL) na elaboração da bebida, além de outros ingredientes, reduzindo assim, o teor de lipídios na bebida já pronta.

No que se refere à acidez titulável, foi observada diferença significativa entre as formulações. De acordo com Silva (2019) este parâmetro indica à quantidade de ácidos orgânicos contidos na amostra. Dentre as amostras analisadas, a menor acidez titulável foi verificada para F1 em comparação às demais. Em uma pesquisa realizada por Thamer e Penna (2006) foi possível observar que quanto maior o percentual de sólidos solúveis em bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico, maior foi a acidez titulável. Pode-se observar que a formulação F4, com maior teor de sólidos solúveis, apresentou a maior acidez titulável, o que deve ser decorrente do próprio processo fermentativo (fermentação láctica), talvez mais intenso nesta formulação, no qual há conversão de açúcares fermentescíveis em ácidos orgânicos, primordialmente ácido láctico.

O pH é um parâmetro que merece atenção, isso porque, de acordo com a Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998 da Anvisa, o pH de bebidas não deve ultrapassar 4,5, pois, acima deste, podem favorecer o crescimento de *Clostridium botulinum* durante o armazenamento em ausência de oxigênio (BRASIL, 1998). Nas formulações desenvolvidas pode-se observar por meio do pH que as bebidas se mantiveram ácidas variando de 3,62 a 4,55, não havendo diferença significativa entre elas. Assim, através dos resultados obtidos neste estudo, os níveis de pH estão de acordo com a legislação brasileira.

Segundo Silva et al. (2022) o teor de sólidos solúveis (°BRIX) é utilizado na indústria de alimentos para determinar os teores aproximados de açúcares em frutas, sucos de fruta, vinhos, bebidas em geral, bem como em outras soluções. O teor de sólidos solúveis é uma importante característica a ser analisada em frutas e seus derivados sendo usado, para padronização, índice de maturidade, doçura e quantidade de substâncias que se encontram dissolvidas, sendo importante essa

mensuração para melhor avaliação da qualidade das frutas *in natura*, e dos produtos derivados. De acordo com a Instrução Normativa n° 01, de janeiro de 2000 (BRASIL, 2000), na qual fixa padrões de identidade e qualidade para sucos de frutas, o açaí deve apresentar, em relação ao °Brix, de 8% a 14%.

O principal ingrediente a contribuir para os valores de SS da bebida foi o açúcar (10 g) e, em segundo lugar, a polpa de açaí (20 g). As variações encontradas devem-se aos sólidos solúveis provenientes do extrato de aveia, o qual foi preparado em diferentes proporções (m/v), e do concentrado de ervilha.

3.2 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DAS FORMULAÇÕES DA BEBIDA FERMENTADA

A TABELA 3 apresenta as contagens de bactérias ácido-lácticas obtidas através das análises microbiológicas das 6 formulações de bebida fermentada previamente preparada com extrato de aveia, concentrado proteico de ervilha e polpa de açaí.

TABELA 3 - CONTAGEM DE BAL PARA AS FORMULAÇÕES DE BEBIDA FERMENTADA À BASE DE EXTRATO AVEIA.

Formulações	BAL (Log UFC/mL)
F1	6,39 ± 0,23 ^c
F2	5,84 ± 0,51 ^c
F3	7,87 ± 0,04 ^b
F4	9,56 ± 0,03 ^a
F5	8,82 ± 0,27 ^b
F6	8,87 ± 0,05 ^b

FONTE: A autora (2023). BAL = Bactérias ácido lácticas.

Letras diferentes na mesma coluna correspondem a diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A partir das análises microbiológicas, notou-se diferença significativa na contagem de BAL para as 6 formulações produzidas. Para que os alimentos possam ser classificados como funcionais é necessário que a sobrevivência das bactérias probióticas alcancem a contagem mínima necessária de 10^6 UFC/mL (BAÚ;

GARCIA; IDA, 2014), desta forma todas as formulações podem ser consideradas viáveis, mas a vida útil poderá ser curta inviabilizando a produção comercial. Por outro lado, Terhaag et al. (2020) apontam um consumo diário mínimo de 10^6 - 10^9 UFC do microrganismo probiótico para se obter o efeito benéfico e cita que fatores como composição da matriz alimentícia, forma de processamento, temperatura, dentre outros, afetam a viabilidade da cultura probiótica.

No que se diz respeito a escolha da melhor formulação para o desenvolvimento da bebida probiótica, considerou-se a F4, a qual apresentou o maior valor de contagem para BAL ($9,56 \pm 0,03$ log UFC/mL), destacando-se que nesta formulação utilizou-se extrato de aveia 15% (m/v) e apenas o *Lactobacillus acidophilus* como probiótico, o qual demonstrou melhor desempenho comparado com o *L. casei*. A associação do *L. acidophilus* com o *L. casei*, por sua vez (F5 e F6), não evidenciou resultado favorável, pelo contrário, há evidências de que pode ter ocorrido competição entre ambos uma vez que o *L. acidophilus* sozinho atingiu maiores contagens (F4).

No geral, quando é feito o uso de culturas probióticas em certos alimentos, o mesmo necessita de um significativo período de fermentação até atingir valores de pH baixos (pH < 4,5). De acordo com Smid e Kleerebezem (2014) a principal aplicabilidade das BAL nas indústrias, se dá pelo fato de a fermentação dos alimentos estar relacionada ao curto tempo de acidificação da matriz alimentar, causado pela rápida conversão de carboidratos fermentescíveis em ácido láctico. Assim, a rápida acidificação e o rápido consumo de açúcares fermentescíveis são dois fatores que resultam a vantagem competitiva dessas bactérias em ambientes ricos em nutrientes, tudo isso está relacionado as matérias-primas, podendo elas ser de origem animal ou vegetal. O tempo de fermentação das bebidas desenvolvidas foi de 48 horas. Desta forma, a F4 foi a que obteve a maior acidez titulável, mostrando uma fermentação mais efetiva, tendo em vista o maior desenvolvimento do probiótico, no mesmo período de tempo.

Segundo Leroy e Vuyst (2004) a rápida acidificação da bebida e a produção de ácido láctico, etanol, compostos aromáticos, bacteriocinas, exopolissacarídeos e enzimas aumentam o prazo de validade e a segurança do produto, além de favorecer para um perfil sensorial agradável. Para Smid e Kleerebezem (2014), o baixo pH e uma determinada concentração de ácidos orgânicos demonstram uma maior durabilidade de produtos alimentares fermentados com as bactérias ácido

láticas, além disso, as BAL não influenciam apenas na validade do produto, mas a matriz alimentar conduz a produção de outras funcionalidades como, textura, valor nutricional e aroma.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DA BEBIDA PROBIÓTICA SABORIZADA

Os resultados das análises microbiológicas da bebida probiótica pronta (F4), saborizada com polpa de açaí, são apresentados na TABELA 4.

TABELA 4 – CONTAGEM DE MICRORGANISMOS PARA A BEBIDA PROBIÓTICA SABORIZADA COM POLPA DE AÇAÍ.

Microrganismo	Contagem (UFC/mL)
<i>B. cereus</i>	$8,5 \times 10^2 \pm 9,19$
<i>Enterobacteriaceae</i>	$1,0 \times 10^2 \pm 0$
Bolores e Leveduras	$1,2 \times 10^4 \pm 0$

FONTE: A autora (2023).

A instrução normativa 161 de 1 de julho de 2022 estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. A bebida probiótica desenvolvida se enquadra no grupo de bebidas não alcoólicas como “sucos e outras bebidas submetidas a processos tecnológicos para redução microbiana, que necessitam de refrigeração”. Nela foi possível ter conhecimento quanto aos limites máximos permitidos para *B. cereus* (5×10^2 UFC/mL), *Enterobacteriaceae* (10^2 UFC/mL) e Bolores e Leveduras (10^2 UFC/mL) nesses tipos de produtos. Desta forma, é possível observar que os valores encontrados neste estudo para *B. cereus* e Bolores e Leveduras ficaram acima do máximo permitido. A contagem obtida para *Enterobacteriaceae* está de acordo, porém no limite estabelecido.

A presença de *B. cereus* na bebida probiótica saborizada pode ser explicada pelo fato desses microrganismos formarem esporos, sendo resistentes ao processo de pasteurização. Essas bactérias têm o solo como o seu reservatório natural, e por conta da alta resistência dos esporos, eles podem estar amplamente distribuídos na natureza. Assim, contamina facilmente alimentos como vegetais, cereais, condimentos, carne bovina, suína e de frango, laticínios, sorvetes, pudins, carne

cozida, sopas, pratos à base de vegetais e arroz cozido (MENDES et al. 2004). De acordo com Forsythe (2013) esse microrganismo está relacionado com a síndrome emética e diarreica.

De acordo com Hoffmann (2001) em alimentos muito ácidos ($\text{pH} < 4,0$), a microbiota capaz de se desenvolver é restrita apenas aos bolores e leveduras e, por vezes, bactérias lácticas e acéticas. Siqueira (1995) afirma que a presença de bolores e leveduras viáveis e em grande quantidade nos alimentos podem ser determinantes pela falta de condições higiênicas, multiplicação no produto em decorrência de falhas no processamento e/ou estocagem e matéria-prima com contaminação excessiva.

Ferraz (2009) afirma que a família *Enterobacteriaceae* pertence ao grupo de microrganismos considerados indicadores e que esses microrganismos estão associados a componentes da microbiota intestinal. Além disso, essas bactérias podem causar infecções e toxinfecções alimentares (RIBEIRO et al. 2004).

Conforme Rhee (2011) o processo de fermentação nos alimentos torna-os resistentes à deterioração microbiana e ao desenvolvimento de toxinas alimentares; menos propensos a transferir microrganismos patogênicos; geralmente preserva os alimentos entre o momento da colheita e o consumo, e modifica o sabor dos ingredientes originais e muitas vezes melhora o valor nutricional.

Como os valores das contagens de *B. cereus*, bolores e leveduras e *Enterobacteriaceae* apresentaram-se acima do esperado, seria de suma importância verificar a qualidade microbiológica inicial dos ingredientes utilizados na formulação das bebidas, bem como implementar melhorias no processamento, entre elas aplicar um tratamento térmico mais intenso à formulação antes da fermentação.

Na TABELA 5 está exposto a contagem de BAL, a fim de averiguar a viabilidade da cultura láctica probiótica após 1 e 14 dias de armazenamento refrigerado ($5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$).

TABELA 5 – CONTAGEM DE BAL APÓS 1 E 14 DIAS DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO.

Contagem de BAL (Log UFC/mL)	
F4 (1 dia a 5°C)	F4 (14 dias a 5°C)
$(3,70 \pm 0,28) \times 10^9$	$(1,22 \pm 0,25) \times 10^7$

FONTE: A autora (2023). BAL = Bactérias ácido lácticas.

No decorrer do acompanhamento da bebida fermentada durante o armazenamento, verificou-se que a bebida manteve seu potencial probiótico após 14 dias em refrigeração, apresentando ainda contagens satisfatórias após este período, tendo em vista a contagem mínima recomendável de 10^6 UFC/mL para alimentos e bebidas probióticos (BAÚ, GARCIA E IDA, 2014).

De acordo com Garcia et al. (2020) as BAL são capazes de metabolizar diferentes substratos acarretando em mudanças bioquímicas na sua composição, além disso, a fermentação do ácido láctico está vinculada em melhor as propriedades nutricionais, sabor e aspectos relacionados à saúde dos produtos alimentícios. É importante ressaltar que a capacidade de sobrevivência dos probióticos depende do gênero, espécie e cepa, e a composição dos outros ingredientes na preparação também interfere a viabilidade do produto a ser desenvolvido. Por conta disso, mudanças no número de bactérias probióticas viáveis durante o armazenamento de alimentos funcionais devem ser estudadas mais profundamente (KANG et al., 2012).

Kang et al. (2012) frisou que fatores como baixa temperatura e presença de açúcares favorecem a sobrevivência das BAL em meio ácido, o que torna necessário o armazenamento da bebida em ambientes com temperaturas reduzidas. Em um estudo realizado por Yoon et al. (2004), foi possível notar que houve uma diminuição de 1000 vezes na população de BAL após 28 dias de armazenamento em suco de tomate fermentado para *L. plantarum*. O armazenamento em condições não refrigeradas com alta umidade relativa e a exposição a uma atmosfera contendo oxigênio pode contribuir para a diminuição da viabilidade dos probióticos ao longo do tempo. Isso ocorre porque o armazenamento em longo prazo pode ocasionar dano à membrana celular. Assim o armazenamento em refrigeração visa garantir a segurança e manter a qualidade dos produtos (KANG et al., 2012). Na bebida fermentada do presente estudo houve redução de 303 vezes na contagem de BAL após 14 dias de armazenamento refrigerado, sendo recomendável uma avaliação por um maior período de tempo, para poder estimar a viabilidade final da cepa probiótica utilizada.

Segundo Poppi et al. (2008), a cor é um atributo sensorial de suma importância para determinar a qualidade de um alimento, exercendo uma enorme influência na aparência e auxiliando na aceitação de uma variedade de produtos

alimentícios por parte dos consumidores. Em produtos naturais, a maioria das substâncias responsáveis pela coloração pertence à classe dos flavonóides. Podem ser consideradas duas classes como as mais importantes nesses compostos sendo elas os flavonóis e as antocianinas.

Na análise realizada, obteve-se um teor de antocianinas totais na bebida fermentada (F4) de $158,64 \pm 9,45$ mg cianidina-3-glucosídeo/L. De acordo com Cohen et al. (2006) as antocianinas, além de corantes, são antioxidantes naturais. Em bebidas de açaí esses compostos foram identificados como cianidina-3-arabinosídeo e cianidina-3-arabinosil-arabinosídeo, sendo o teor de antocianinas totais de 263 mg/100g (ALBARICI et al., 2006). Já na pesquisa realizada por Carbonell et al. (2015), a qual consistiu na elaboração de uma bebida com polpa de açaí, foram encontrados teores de antocianinas totais de 40,4 a 49,3 mg cianidina-3-glucosídeo/L, inferiores portanto aos teores determinados no presente trabalho. De acordo com Ribeiro e Seravalli (2004), as antocianinas são pigmentos instáveis e apresentam maior estabilidade em condições ácidas.

De acordo com um estudo realizado por Maria do Socorro et al. (2010) o valor obtido de antocianinas totais na polpa de açaí foi de 73,54 mg/100g, sendo este fruto considerado fonte deste pigmento. Santos et al. (2008), por sua vez, encontraram teores variando de 13,93 a 54,18 mg/100g de antocianinas totais ao analisar polpas de açaí de 12 pontos comerciais distintos em Fortaleza/CE. Já Tonon et al. (2009) obtiveram 32,81 mg/100g de antocianinas em polpa de açaí advinda da cidade do Pará. É válido ressaltar que a diferença entre os valores de antocianinas analisados pode estar relacionada ao processamento e ao tempo de acondicionamento da polpa, tendo em vista que nos locais que foram realizados os estudos de Santos et al. (2008) e Tonon et al. (2009) o açaí não é um fruto típico, sendo adquirido na forma processada (pasteurizada e congelada).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A formulação escolhida para a produção da bebida fermentada a base de extrato de aveia, saborizada com polpa de açaí, foi a F4, na qual é composta por 15% do extrato de aveia e contendo o *L.acidophilus*. Entretanto, todas as seis formulações produzidas neste estudo são consideradas viáveis para a produção da bebida probiótica.

Destaca-se como vantagem dessa nova formulação desenvolvida o fato de se tratar de uma bebida rica em componentes nutricionais e funcionais, alcançando determinados públicos com algum tipo de intolerância/alergia ou até mesmo por quem opta em não consumir produtos de origem animal, além de ser uma fonte alternativa, não láctea, de consumo de probióticos.

Em relação aos padrões microbiológicos, a bebida em questão não se mostrou de acordo com a legislação para *B.cereus* e Bolores e leveduras. Desta forma, é primordial avaliar a qualidade das matérias-primas utilizadas na elaboração, considerar o emprego de um tratamento térmico mais intenso e seguir com rigor o emprego de boas práticas de fabricação.

Em contrapartida, no que diz respeito ao potencial probiótico, a bebida fermentada com 15% de extrato de aveia e como probiótico *L.acidophilus* se mostrou viável após 14 dias de armazenamento em refrigeração.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A. L. O. et al. Avaliação clínica e evolutiva de crianças em programa de atendimento ao uso de fórmulas para alergia à proteína do leite de vaca. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 31, p. 152-158, 2013.
- ALBARICI, T. R; PESSOA, J.D.C; FORIM, M.R. **Efeito das variações de pH e temperatura sobre as antocianinas na polpa de açaí: estudos espectrofotométricos e cromatográficos**. 2006.
- ALMEIDA, R. L. J et al. Composição centesimal e comportamento reológico do extrato de aveia (*Avena sativa*). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 3, p. e31932329-e31932329, 2020.
- ANGELOV, A; YANEVA-MARINOVA, T; GOTCHEVA, V. Aveia como matriz de escolha para desenvolvimento de bebidas funcionais fermentadas. **Revista de ciência e tecnologia de alimentos**, v. 55, p. 2351-2360, 2018.
- ASSUNÇÃO, R. M. A de et al. **Enterobacter sakazakii em fórmulas lácteas infantis em pó: implementação da metodologia de detecção e avaliação microbiológica de amostras comercializadas no distrito de lisboa**. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária, 2008.
- ARAÚJO, S.G.D et al., Alteração da microbiota intestinal e patologias associadas: Importância do uso de prebióticos e probióticos no seu equilíbrio, João Pessoa, v.19, n°4, p 8-26
- BATISTA, R. A. B et al. Lactose em alimentos industrializados: avaliação da disponibilidade da informação de quantidade. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 23, p. 4119-4128, 2018.
- BAÚ, T. R; GARCIA, S; IDA, E. I. Evaluation of a functional soy product with addition of soy fiber and fermented with probiotic kefir culture. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, p. 402-409, 2014.
- BAYER, A. P. **Composição centesimal de extratos vegetais elaborados a partir de diferentes matérias-primas**. 2019. 56 f. Monografia (Graduação em Nutrição) - Escola de Nutrição, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2019.
- BINNS, N. Probióticos, Prebióticos e a Microbiota Intestinal. 44 f. Série Monografias Concisas ILSI Europe (**internacional Life Sciences Institute do Brasil**), São Paulo, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº01**, de 7 de Janeiro de 2000. Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta (e Suco de Fruta). Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2000

Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/vigilancia-agropecuaria/ivegetal/bebidas-arquivos/in-no-1-de-7-de-janeiro-de-2000.doc/view/>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar. Diário Oficial da União, Brasília, Distrito Federal, 1998.

Disponível em:

<https://www.google.com/search?q=Portaria+n%C2%BA+27%2C+de+13+de+janeiro+de+1998&oq=Portaria+n%C2%BA+27%2C+de+13+de+janeiro+de+1998&aqs=chrome..69i57.601j0j9&sourceid=chrome&ie=UTF-8>.

CASTRO, G. S. A; DA COSTA, C. H. M; NETO, J. F. Ecofisiologia da aveia branca. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, n. 3, p. 1-15, 2012.

CASTRO, G. S. A; COSTA, C. H. M da; NETO, J. F. **Ecofisiologia da aveia branca**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Campus de Botucatu, Botucatu, SP.

COHEN, K. de O. et al. Quantificação do teor de antocianinas totais da polpa de açaí de diferentes populações de açazeiro, Belém, 2006.

CONTOR, L. Ciência dos Alimentos Funcionais na Europa. Nutrição, metabolismo e doenças cardiovasculares: **NMCD**, v. 11, n. 4 Suplemento, pág. 20-23, 2001.

COSTA, K. K. F. D. et al. Changes of probiotic fermented drink obtained from soy and rice byproducts during cold storage. **Food Science and technology**, Goiânia, v. 78, p. 23-30, 2017.

CRESTANI, M. et al. Conteúdo de β -glucana em cultivares de aveia-branca cultivadas em diferentes ambientes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 261-268, 2010.

DE MOURA ROCHA, S. M. B. Benefícios funcionais do açaí na prevenção de doenças cardiovasculares. **Journal of Amazon Health Science (Revista de Ciências da Saúde na Amazônia)**, v. 1, n. 1, p. 1-10, 2015.

DEZIDEIRO, M. A. **Desenvolvimento de bebida fermentada funcional de origem vegetal**. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade de São Paulo. 2019.

DO CARMO CARVALHO, L. et al. A intolerância a lactose e a alergia a proteína do leite de vaca (APLV): as principais considerações clínicas. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, p. e4411729651-e4411729651, 2022.

DA COSTA SILVA, A. B; ARAÚJO, K. R. S; DE CARVALHO, L. M .F. Evidências científicas sobre intolerância à lactose: uma revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e509119331-e509119331, 2020.

DA MATTA, C. M. B et al. INFLUÊNCIA DE PREBIÓTICOS E DE FARINHA INTEGRAL DE AVEIA NA SOBREVIVÊNCIA DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS EM BEBIDA SIMBIÓTICA À BASE DE ARROZ. **Brazilian Journal of Food & Nutrition/Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 1, 2012.

DE MENDONÇA, S. N.T. G et al. Desenvolvimento do protótipo de um alimento a base de aveia e soja enriquecido com prebióticos, vitaminas e minerais para atender às necessidades nutricionais de adultos e idosos brasileiros. **Alimentos e Nutrição**, Medianeira, 2009.

DE SIQUEIRA, R. S. Manual de microbiologia de alimentos. 1995.

DE OLIVEIRA RIBEIRO, L; MENDES, M. F; PEREIRA, C. S. S. Avaliação da composição centesimal, mineral e teor de antocianinas da polpa de juçuí (*Euterpe edulis* Martius). **Revista Eletrônica TECEN**, v. 4, n. 3, p. 05-16, 2011.

FERRAZ, M. A. "Monitoramento de Enterobacteriaceae e Staphylococcus spp. na linha de produção de leite em pó de uma indústria de laticínios de Minas Gerais utilizando metodologias tradicional e rápida." (2009).

FERREIRA, F. N; MONTEIRO, M. L.; SILVA, L. D. **Determinação de nitrogênio total em amostras de rocha petrolífera pelo Método Kjeldahl/Indofenol**. 2007.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. [Digite o Local da Editora]: Grupo A, 2013. E-book. ISBN 9788536327068. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788536327068/>. Acesso em: 18 nov. 2023.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. Probiotics in food. 2001.

FURTADO, MAM; FERRAZ, F. O. Determinação de Umidade em Alimentos por Intermédio de Secagem em Estufa Convencional e Radiação Infravermelha–Estudo Comparativo Em Alimentos Com Diferentes Teores De Umidade. UFJF-Juiz de Fora-MG, 2007.

GARCIA, C. et al. Sucos de frutas ou vegetais fermentados lácticos: passado, presente e futuro. **Bebidas**, v. 6, n. 1, pág. 8, 2020.

GIBSON, G. R. et al. Dietary prebiotics: current status and new definition. **Food Sci. Technol. Bull. Funct. Foods**, v. 7, n. 1, p. 1-19, 2010.

HAUBEN, K. JA et al. Sensibilização transitória de alta pressão de *Escherichia coli* à lisozima e nisina por ruptura da permeabilidade da membrana externa. **Revista de Proteção Alimentar**, v. 59, n. 4, pág. 350-355, 1996.

HEIDEN, T. et al. Determinação de cinzas em diversos alimentos. **Instituto Federal Catarinense**, p. 1-5, 2014.

HOFFMANN, F. L. Fatores limitantes à proliferação de microorganismos em alimentos. **Brasil alimentos**, v. 9, n. 1, p. 23-30, 2001.

KANG, M. S. et al. Comparison of temperature and additives affecting the stability of the probiotic *Weissella cibaria*. **Chonnam Medical Journal**, v. 48, n. 3, p. 159-163, 2012.

KIELING, D. D; CÁNOVAS-BARBOSA, G. V; PRUDENCIO, S. H. Effects of high pressure processing on the physicochemical and microbiological parameters, bioactive compounds, and antioxidant activity of a lemongrass-lime mixed beverage. **Journal of Food Sciences and Technology**, v. 56, n. 1, p. 409-419, 2019.

LEROY F, de VUYST L. 2004. Bactérias ácido lácticas como culturas starter funcionais para a indústria de fermentação de alimentos. **Tendências Food Sci. Tecnologia**. 15: 67 – 78

MARÇO, P. H; POPPI, R. J; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, v. 31, p. 1218-1223, 2008.

MARIA DO SOCORRO, M. R. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

MATIAS DOS SANTOS, G. et al. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Archivos latinoamericanos de nutricion**, v. 58, n. 2, p. 187-192, 2008.

MATTAR, R; MAZO, D. F. C. Intolerância à lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, p. 230-236, 2010.

MEIRA, N. A. N; DE PAULA PEREIRA, N. Flavonóides e antocianinas em *Myrciaria cauliflora* (Jabuticaba) visando à aplicabilidade cosmética. **Visão Acadêmica**, v. 17, n. 3, 2017.

MENDES, R. A. et al. Contaminação ambiental por *Bacillus cereus* em unidade de alimentação e nutrição. **Revista de Nutrição**, v. 17, pág. 255-261, 2004.

MINIGHIN, E. C. et al. **Composição centesimal, perfil de ácidos graxos e efeitos da digestão in vitro sobre o teor de minerais, compostos fenólicos e atividade antioxidante de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) roxo e branco**. 2019- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019.

NASCIMENTO, R. J. S. et al. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 498-502, 2008.

OLIVEIRA, M. N. et al. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, p. 1-21, 2002.

PORTINHO, J. A.; ZIMMERMANN, L. M.; BRUCK, M. R. Efeitos benéficos do açaí. **Revista Internacional de Nutrição**, v. 5, não. 1 pág. 15-20, 2012.

RAMIREZ, A.V.G. A importância da microbiota no organismo humano e sua relação com a obesidade. **International Journal Of Nutrology**, v. 10, n. 4, p.153-160. São José do Rio Preto, 2017.

RANADHEERA, Chaminda Senaka et al. Entrega de probióticos por meio de fermentação: bebidas lácteas versus bebidas não lácteas. **Fermentação**, v. 3, n. 4, pág. 67, 2017.

RHEE, S. J.; LEE, JE; LEE, CH. Importância das bactérias do ácido lático em alimentos fermentados asiáticos. In: Fábricas de células microbianas. **BioMed Central**, 2011. p. 1-13.

RIBEIRO, G. P. et al. Fermentation of oat extract with strains of *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* BB-12 and *Streptococcus thermophilus*. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 3, p. 18049-18066, 2022.

Ribeiro, E.P.; Seravalli, E.A.G. (2004). Química de Alimentos. 1º Ed. São Paulo: Editora Edgard Blücher LTDA, pg. 159.

RIBEIRO, L. F. **Propriedades físicas e químicas de bagaços de uva (*Vitis vinifera* E *Vitis labrusca*) e composição fenólica por espectrofotometria ultravioleta-visível (UV-Vis)** - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

SALGADO, Joicelem. **Alimentos funcionais**. Oficina de Textos, 2017.

SANDERS, M.E. Probiotics. **Food Technol.**, Chicago, v.53, n.11, p.67-77, 1999

SMID, E. J.; KLEEREBEZEM, M. Production of aroma compounds in lactic fermentations. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 5, n. 3, p.313-326, 2014.

SOCIEDADE VEGETARIANA BRASILEIRA (SVB). (2018). Estimativa e Porcentagem de Vegetarianos e Veganos no Brasil. Brasil, São Paulo – SP; SVB, 2018.

SILVA, A. K. N. et al. Avaliação da composição nutricional e capacidade antioxidante de compostos bioativos da polpa de açaí. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 11, n. 1, p. 2205-2216, 2017.

SILVA, G. A. A. **Elaboração e caracterização de chips de inhame (*Dioscoreaceae*)**- Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2019.

SILVA, N. et al. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 5a ed. São Paulo: Blucher, 2017.

SILVA, M. C. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema simplate**. Piracicaba (SP): Escola Superior de Agricultura- Universidade de São Paulo, 2002.

TERHAAG, M. M.; BERTUSSO, F. R.; PRUDENCIO, S. H. Development of non-dairy probiotic beverages with *Saccharomyces boulardii*: current situation and perspectives. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 12, 2020.

VIZZOTTO, M; KROLOW, ACR; TEIXEIRA, F. C. **Alimentos funcionais**: conceitos básicos. 2010.

WEBER, F. H.; GUTKOSKI, L. C; ELIAS, M. C. Caracterização química de cariopses de aveia (*Avena sativa* L) da cultivar UPF 18. **Food Science and Technology**, v. 22, p. 39-44, 2002.