

Influência do armazenamento nas características de bebida láctea fermentada de cupuaçu adicionada de prebióticos

Influence of storage on the characteristics of cupuaçu fermented milk drink added with prebiotics

Juliana Arvani Zaniolo
Faculdade Anhanguera -MT
<https://orcid.org/0000-0003-0245-9651>

Wander Miguel de Barros
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
<https://orcid.org/0000-0001-5909-7757>

Pâmella Volpato Zamboni
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
<https://orcid.org/0000-0002-6511-870X>

Daryne Lu Maldonado Gomes da Costa
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
<https://orcid.org/0000-0003-2350-6031>

E-mail: Juliana Arvani Zaniolo - julianaarvani@gmail.com

Resumo

O objetivo da pesquisa foi elaborar uma bebida láctea fermentada saborizada com xarope de cupuaçu adicionada de prebióticos e avaliar sua estabilidade durante o armazenamento. Foi realizada uma análise sensorial de ordenação de preferência para a escolha de duas formulações a ser submetidas a análises de pH, acidez, sinérese, viscosidade, atividade de água, cor ($L^*a^*b^*$), conteúdo de inulina, cinzas, umidade, proteína, lipídio, determinações microbiológicas de coliformes a 45 °C, Salmonella e fungos filamentosos e leveduras, viabilidade de bactérias lácticas e análise sensorial de aceitação. Na análise sensorial de ordenação de preferência, a formulação que obteve a maior soma de ordens foi a que continha 725 mL de soro de leite e 20 g de inulina, e a segunda foi a formulação com 950 mL de soro de leite, 20 g de inulina e 6 g de farinha de banana verde. O teor de inulina das formulações, ao final dos 28 dias, foi de 1,88 g e 2,09g/100g de produto, respectivamente. A viabilidade de bactérias lácticas encontrou-se em concordância com os parâmetros estabelecidos pela legislação ($1,4 \times 10^8$ e $1,2 \times 10^8$ UFC/mL). Na análise sensorial de aceitação, a amostra que apresentou o maior índice de aceitabilidade a todos os atributos sensoriais avaliados foi a que continha 725 mL de soro e 20 g de inulina, com 28 dias de armazenamento. As bebidas lácteas prebióticas adicionadas de xarope de cupuaçu mantiveram-se estáveis ao longo do tempo determinado da vida de prateleira, mesmo sem a adição de conservantes, podendo ser uma excelente opção para o mercado consumidor.

Palavras-chave: Inulina. Farinha de banana verde. *Theobroma grandiflorum*. Derivado lácteo.

Abstract

The objective of the research was to elaborate a fermented dairy drink flavored with cupuaçu syrup added with prebiotics and to evaluate its stability during storage. A sensorial analysis of preference order was first carried out for the selection of two formulations to be submitted to analysis of pH, acidity, syneresis, viscosity, water activity, color (L^ , a^* and b^*), inulin content, ashes, moisture, protein, lipid, microbiological determinations of coliforms at 45° C, Salmonella and filamentous fungi and yeasts, viability of lactic bacteria and sensorial acceptance analysis. In the sensorial analysis of preference order the formulation that obtained the highest sum of orders was the one containing 725 mL of whey and 20 g of inulin, and the second one chosen was the formulation with 950 mL of whey, 20 g of inulin and 6 g of green banana flour. During the storage period, the inulin content of the formulations at the end of the 28 days was 1.88 and 2.09g/100g of product. The viability of lactic acid bacteria was in agreement with the parameters established in legislation of 1.4×10^8 and 1.2×10^8 CFU / mL. In the sensorial analysis of acceptance, the sample that presented the highest index of acceptability to all sensorial attributes evaluated was the formulation containing 725 mL of whey and 20 g of inulin, with 28 days of storage. The prebiotic dairy drinks added with cupuaçu syrup remained stable over the determined shelf-life period, even without the addition of preservatives to the formulations, which makes it an excellent choice for the consumer market.*

Keywords: Inulin. Green banana flour. *Theobroma grandiflorum*. Dairy product.

INTRODUÇÃO

A demanda dos consumidores por produtos com função nutricional básica e que proporcionem benefícios à saúde tem feito a indústria de laticínios investir em tecnologia e inovação no desenvolvimento de produtos com apelos funcionais, fazendo com que seja possível oferecer aos consumidores alimentos com propriedades que conferem saúde e, por conseguinte, garantindo seu lugar em um mercado competitivo^{1,2}.

O uso do soro para o desenvolvimento de produtos lácteos mostra grande potencial, por meio tanto da agregação de valor nutricional ao produto diante de seu alto valor biológico, quanto da geração de riquezas e da diminuição do impacto ambiental causado pelo seu descarte inadequado^{3,4}. O emprego do soro lácteo na elaboração de produtos é uma boa forma de reduzir os custos de produção, em virtude de seu baixo preço e vasta disponibilidade nas indústrias de derivados lácteos⁵.

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), um dos mais importantes frutos tipicamente amazônicos, vêm conquistando o mercado e despertando o interesse de países da Europa e da Ásia. Sua polpa é utilizada, principalmente, como ingrediente na produção de sorvetes, sucos e licores em razão de seu sabor distinto⁶. É composto por altas quantidades de amido, polissacarídeos, pectina⁷ e fibras alimentares⁸, fazendo com que seu uso contribua com os parâmetros de textura de produtos lácteos⁹. Além disso, há um componente inovador, visto que existem poucas opções de leites fermentados com cupuaçu no mercado nacional. Esta é uma alternativa para o uso da fruta no que concerne à agregação de valor.

Nos últimos anos, tem crescido o interesse das indústrias de alimentos em incorporar ingredientes com propriedades benéficas à saúde. Entre estes, destacam-se prebióticos como a inulina e probióticos como os *Lactobacillus acidophilus*^{10,11,6}.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência do armazenamento sobre as características de uma bebida láctea fermentada saborizada com xarope de cupuaçu, após a adição de inulina e farinha de banana verde.

MATERIAL E MÉTODOS

Ingredientes e Preparo das formulações

Leite pasteurizado (Cooperleite Jaciara®) e leite UHT integral (Italac®) do mesmo lote foram utilizados em todo o experimento. Açúcar cristal (Barralcool®). Cultura láctica probiótica contendo *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus thermophilus* (ABT-5 Probio-tec, Chr. Hansen®), liofilizada (DVS). Inulina (Orafti®). Farinha de banana verde (Mundo Verde®).

O xarope de cupuaçu foi preparado com 50% de polpa pasteurizada, 39% de sacarose e 11% de água. Os ingredientes do xarope foram aquecidos em banho-maria até total homogeneização e alcance de teor de sólidos solúveis totais de 58°Bx. Em seguida, o xarope elaborado foi resfriado até 25°C e acondicionado em recipientes fechados e higienizados de polietileno. O xarope foi armazenado à temperatura de refrigeração (7°C) até o momento da adição às bebidas.

Foram elaboradas nove formulações de bebida láctea fermentada, com variações na quantidade de soro de leite, de leite UHT, de inulina e de farinha de banana verde, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 - Formulações utilizadas na produção de bebidas lácteas prebióticas.

Formulações	Ingredientes			
	Soro (mL)	Leite (mL)	Inulina (g)	Farinha de banana verde (g)
A	500	500	0	0
B	500	500	10	6
C	500	500	20	3
D	725	275	0	6
E	725	275	10	3
F	725	275	20	0
G	950	50	0	3
H	950	50	10	0
I	950	50	20	6

As amostras, de acordo com a quantidade definida na Tabela 1, foram submetidas a um tratamento térmico de 80°C por quinze minutos e resfriadas a 42°C. Posteriormente, foram inoculadas com 0,2% de fermento lácteo e incubadas a 42°C até que a mistura atingisse pH 4,6. Após a fermentação, a base láctea foi resfriada a 4°C por doze horas, para então ser adicionado 15% do xarope de cupuaçu em cada formulação. O produto final foi acondicionado em garrafas de polietileno de alta densidade, previamente higienizadas e estocadas a 4°C.

Avaliação de vida prateleira da bebida láctea

Foram determinados 28 dias como período de armazenamento, e as bebidas foram mantidas a 4°C durante a estocagem. As análises foram realizadas a partir de um mesmo lote de bebidas, em quintuplicatas, logo no primeiro dia de formulação e a cada sete dias de armazenamento até completar o período estabelecido.

O pH das amostras foi medido por potenciometria direta em potenciômetro digital da marca Hanna – modelo HI2221, de acordo com o método nº 943.71¹² e a acidez titulável, em termos de ácido láctico, foi determinada por titulação (método nº 937.05).

A análise de sinérese foi adaptada de Amaya-Llano et al.¹³ em que 2 g da bebida foram centrifugados a 3000 rpm por dez minutos a 5°C. O sobrenadante foi descartado e a amostra pesada, e o índice de sinérese foi obtido pela diferença entre massa do sobrenadante e massa total da amostra.

A determinação da atividade de água foi feita utilizando-se o analisador AQUALAB 4TE Water Activity Meter, segundo o método nº 978.18¹². A viscosidade foi medida

em viscosímetro analógico da marca Brookfield – modelo LVT, utilizando-se SDC 2 com velocidade a 6 rpm¹².

Os parâmetros de cor foram determinados em colorímetro (Minolta – modelo CM 700D) calibrado para um padrão branco, no sistema CIE L*a*b*¹⁴.

O teor de inulina foi determinado via kit enzimático Fructan HK da marca Megazyme¹⁵, de acordo com o método nº 999.03¹².

Análises microbiológicas foram realizadas em placas prontas da marca Compact Dry®. As amostras foram analisadas quanto à presença de coliformes a 45 °C (método nº 966.24), Salmonella spp. (método nº 989.13) e fungos filamentosos e leveduras (método nº 997.02), de acordo com a AOAC¹². A viabilidade de bactérias lácticas foi determinada por plaqueamento em profundidade sobre camada em ágar MRS, incubado a 37 °C por 72 horas em anaerobiose¹⁶.

Análise sensorial

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso (IFMT), sob o parecer CAAE nº 2.074.065. Todas as amostras foram submetidas à avaliação microbiológica, a fim de atestar a qualidade do produto, antes de cada análise sensorial.

A avaliação sensorial foi conduzida em duas etapas com cem provadores não treinados. Na primeira, foram avaliadas as nove formulações através do teste de preferência por ordenação, em três seções com três amostras por vez, com intervalos de duas horas entre cada prova. Nessa etapa foram selecionadas duas formulações para a avaliação da composição química e das análises de vida de prateleira.

Na segunda etapa, o teste de aceitação e intenção de compra foi aplicado às formulações definidas na etapa anterior, utilizando-se cem provadores não treinados. Estes avaliaram a aceitabilidade das formulações em dois tempos (no sétimo e 28º tempo de armazenamento das bebidas) por meio de escala hedônica estruturada de nove pontos, abarcando características referentes a sabor, cor, textura, aparência e aceitação global. Os provadores também foram solicitados a indicar a intenção de compra sobre o produto avaliado.

Para o cálculo do índice de aceitabilidade (IA) do produto, utilizou-se a equação $IA (\%) = A \times 100 / B$, onde A é a nota média obtida para o produto e B é a nota máxima dada ao produto¹⁷.

Avaliação da composição química

Para a avaliação da composição química, foi realizada a análise de teor de umidade em secagem em estufa (Quimis) a 105°C pelo método nº 950.46; de cinzas por incineração em forno mufla (Zezimaq) a 550°C, de acordo com o método nº 920.153; de proteínas pelo método de Kjeldahl (Tecnal, modelo TE-0363, método nº 928.08), utilizando-se fator de conversão 6,38; de teor de lipídios por Soxhlet (modelo SL-202 Solab), com desnaturação ácida segundo o método nº 963.15¹².

As análises foram realizadas com triplicatas de amostras e quintuplicatas de análises apenas nas duas formulações definidas pela primeira etapa da análise sensorial.

Análise estatística

Nas análises do período de armazenamento utilizou-se o esquema de tratamentos em parcelas subdivididas, em que o tratamento principal foi a formulação e o secundário, o tempo de armazenamento. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste t de comparação de médias, com 5% de significância.

No teste de preferência por ordenação, os dados foram analisados por meio da soma de ordens para comparação ao nível de 5% de significância, através do método de Friedman¹⁸.

As análises de composição química e sensorial de aceitação foram avaliadas empregando-se a análise de variância (ANOVA) e o teste Tukey ($p \leq 0,05$). Todos os dados foram analisados no programa RStudio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise sensorial de preferência

O teste de ordenação de preferência foi empregado para selecionar duas amostras a serem utilizadas em análises subsequentes. As formulações preferidas determinadas na etapa da análise sensorial de ordenação foram F e I, como mostra a soma das médias de preferência na Tabela 2.

Tabela 2 - Soma das ordens da análise sensorial de preferência.

	Formulações								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Soma das ordens	230 ^{bc}	202 ^{ab}	157 ^a	308 ^{de}	274 ^{cd}	418 ^f	305 ^{de}	264 ^{cd}	344 ^e

Somas de ordens seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Friedman a 5% de significância.

A formulação F, que continha 725 mL de soro e 20 g de inulina, foi a amostra preferida pela soma das ordens da análise sensorial de ordenação, diferindo significativamente das demais amostras. Já a formulação I, que continha 950 mL de soro, 20 g de inulina e 6 g de farinha de banana verde, foi a que alcançou a segunda maior soma das médias, porém não apresentou diferença significativa em relação às formulações D e G. No entanto, por ter apresentado maior soma de médias e maior concentração de prebióticos, foi selecionada. Dessa forma, as formulações F e I foram as amostras escolhidas para a sequência do estudo.

Avaliação vida de prateleira

A Tabela 3 apresenta os resultados para as características de pH, acidez titulável, sinérese, atividade de água e viscosidade das formulações previamente determinadas pela análise sensorial de ordenação de preferência das bebidas lácteas prebióticas, durante seu armazenamento (de 28 dias) a 4 °C.

Tabela 3 - pH, acidez titulável, sinérese, atividade de água (Aw) e viscosidade (valor médio \pm desvio padrão) das formulações preferidas de bebidas lácteas fermentadas prebióticas de cupuaçu durante armazenamento refrigerado a 4 °C

Formulações			
Características	Tempo de estocagem (dias)	F	I
pH	0	4,6 ^{aA} \pm 0,04	4,58 ^{bA} \pm 0,06
	7	4,55 ^{aA} \pm 0,04	4,25 ^{bB} \pm 0,1
	14	4,28 ^{aB} \pm 0,05	4,23 ^{bBC} \pm 0,03
	21	4,26 ^{aB} \pm 0,02	4,19 ^{bC} \pm 0,01
	28	3,85 ^{bC} \pm 0,06	4,1 ^{aD} \pm 0,03
Acidez titulável (% de ácido láctico)	0	0,64 ^{aA} \pm 0,2	0,66 ^{aA} \pm 0,05
	7	0,59 ^{aB} \pm 0,1	0,62 ^{aAB} \pm 0,06
	14	0,56 ^{aC} \pm 0,02	0,59 ^{aBC} \pm 0,01
	21	0,54 ^{aC} \pm 0,03	0,56 ^{aC} \pm 0,02
	28	0,52 ^{aD} \pm 0,1	0,54 ^{aD} \pm 0,1
Sinérese (mL 100g produto ⁻¹)	0	74,19 ^{bC} \pm 0,01	67,73 ^{bD} \pm 0,01
	7	75,58 ^{bB} \pm 0,02	73,39 ^{bC} \pm 0,06
	14	77,21 ^{aA} \pm 0,1	75,77 ^{bB} \pm 0,1
	21	77,12 ^{aA} \pm 0,1	77,04 ^{aA} \pm 0,03
	28	77,45 ^{aA} \pm 0,2	77,99 ^{aA} \pm 0,1
Atividade de água (Aw)	0	0,9827 ^{aA} \pm 0,01	0,9827 ^{aA} \pm 0,02
	7	0,9782 ^{aA} \pm 0,02	0,9805 ^{aA} \pm 0,02
	14	0,9788 ^{aA} \pm 0,01	0,9759 ^{aA} \pm 0,01
	21	0,9789 ^{aA} \pm 0,01	0,9794 ^{aA} \pm 0,01
	28	0,9779 ^{aA} \pm 0,01	0,9792 ^{aA} \pm 0,01

Continua

Continuação da tabela 3

Características	Formulações		
	Tempo de estocagem (dias)	F	I
Viscosidade (cP)	0	330,5 ^{aA} ±0,3	390,5 ^{aA} ±0,1
	7	266,5 ^{aB} ±0,3	307 ^{aB} ±0,1
	14	179 ^{bC} ±0,04	226,5 ^{bC} ±0,01
	21	117 ^{cD} ±0,01	210 ^{bC} ±0,1
	28	105 ^{cD} ±0,1	87,5 ^{cD} ±0,1

Médias ± desvio padrão na mesma coluna, acompanhadas de letras minúsculas distintas, indicam diferenças a $p \leq 0,05$ para cada formulação afetada pelo tempo de armazenamento. Médias na mesma linha, acompanhadas de letras maiúsculas distintas, indicam diferenças a $p \leq 0,05$ entre as formulações para o mesmo dia de estocagem. *Formulações: F (75% de soro + 20g de inulina); I (95% de soro + 20g de inulina + 6g de farinha de banana verde).

No tempo 0 do preparo das bebidas, os valores de pH encontravam-se na faixa de 4,6 a 4,58, com acidez titulável na faixa de 0,64% a 0,66% de ácido láctico. As formulações não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos no primeiro tempo avaliado, mas apenas no último. Quanto à acidez, não houve diferença durante o armazenamento. Fidelis et al.¹⁹, ao analisarem iogurte desnatado adicionado de inulina, encontraram pH entre 4,62 e 4,44. Castro et al.²⁰ e Montanuci et al.²¹ observaram a acidez total em ácido láctico de 0,78% para bebida láctea fermentada com adição de prebióticos. Akalin, Fenderya e Akbulut²² constataram que iogurtes contendo frutooligosacarídeos apresentavam conteúdo de ácido láctico reduzido em comparação com os iogurtes controle.

A sinérese teve um aumento ao longo do período de armazenamento, que pode ser atribuído à redução do pH durante a estocagem, o que gera contração na matriz micelar de caseína e a expulsão do soro²³. Segundo González-Martínez et al.²⁴ e Castro et al.²⁵, quanto maior o teor de soro de leite usado, maior o índice de sinérese em bebidas lácteas fermentadas. Magenis et al.²⁶ relataram que menores teores de proteína também podem ter influência sobre um índice maior de sinérese, o que pode ser confirmado por meio da observação do índice de sinérese da formulação I, o qual possui menor teor proteico e maior variação no aumento da sinérese.

Na análise de variância, a interação tratamento x tempo de armazenamento não foi significativa ($p \leq 0,05$) para a atividade de água das amostras, indicando que as formulações se comportaram de modo semelhante em relação ao tempo de estocagem.

A viscosidade mostrou-se reduzida em ambas as formulações a partir do segundo tempo avaliado. Comportamento similar foi obtido por Cunha et al.²⁷ para bebidas

lácteas fermentadas por bactérias probióticas. A diminuição da viscosidade, segundo Al Mijan, Choi e Kwak²⁸, pode ser provocada pela separação do soro com o aumento do tempo de armazenamento. O aumento da sinérese nas amostras influenciou essa diminuição. Wang et al.²⁹, ao compararem a viscosidade aparente de iogurtes, também observaram sua redução no decorrer do armazenamento.

Os valores médios dos parâmetros de cor durante o período de armazenamento estão apresentados na Tabela 4. Não houve diferença nos parâmetros L*a*b* de cor durante o período de estocagem das formulações, mas sim entre as formulações.

Tabela 4 - Parâmetros de cor (L*a*b*) das bebidas lácteas fermentadas prebióticas.

Formulações			
Cor	Tempo de estocagem (dias)	F	I
L*	0	60,37 ^{aB} ±0,01	50,84 ^{bA} ±0,02
	7	66,79 ^{aB} ±0,01	55,59 ^{bA} ±0,02
	14	64,24 ^{aB} ±0,02	57,14 ^{bA} ±0,01
	21	60,32 ^{aB} ±0,01	54,29 ^{bA} ±0,01
	28	58,18 ^{aB} ±0,01	53,86 ^{bB} ±0,01
a*	0	-1,73 ^{aA} ±0,01	-0,65 ^{bA} ±0,01
	7	-1,51 ^{aB} ±0,01	-0,56 ^{bA} ±0,02
	14	-1,60 ^{aB} ±0,02	-0,54 ^{bA} ±0,01
	21	-1,60 ^{aB} ±0,01	-0,55 ^{bA} ±0,01
	28	-1,60 ^{aB} ±0,01	-0,67 ^{bA} ±0,02
b*	0	7,41 ^{aC} ±0,01	8,67 ^{aA} ±0,01
	7	7,37 ^{aC} ±0,01	8,13 ^{aB} ±0,01
	14	9,15 ^{aA} ±0,02	8,41 ^{aA} ±0,02
	21	8,97 ^{aB} ±0,01	8,67 ^{aA} ±0,01
	28	8,54 ^{aB} ±0,03	8,38 ^{aA} ±0,01

Médias ± desvio padrão na mesma coluna, acompanhadas de letras minúsculas distintas, indicam diferenças a $p \leq 0,05$ para cada formulação afetada pelo tempo de armazenamento. Médias na mesma linha, acompanhadas de letras maiúsculas distintas, indicam diferenças a $p \leq 0,05$ entre as formulações para o mesmo dia de estocagem.

Os valores de L* foram significativamente afetados pela adição de farinha de banana verde nos tempos iniciais da formulação I, em comparação com a formulação F; por isso, a formulação I apresentou os menores valores no índice de luminosidade. Ambas as formulações tiveram parâmetro a* negativo, com tendência para o verde. As bebidas apresentaram coloração amarelada diante do componente b* positivo, podendo essa cor estar relacionada à adição do xarope de cupuaçu. Costa et al.⁹, ao avaliarem iogurte prebiótico de leite de cabra adicionado de polpa de cupuaçu, obtiveram -1,78 para a* e 8,30 para b*, de modo semelhante aos observados aqui.

A Tabela 5 mostra os resultados referentes aos valores médios e ao desvio padrão do teor de inulina nas formulações selecionadas de bebida láctea fermentada prebiótica de cupuaçu, nos diferentes tempos de armazenamento. A interação entre o tratamento e seu tempo de armazenamento na análise do teor de inulina não apresentou diferença significativa ao nível de 5%, sugerindo que as formulações tiveram comportamento semelhante durante o tempo de estocagem. Houve uma redução de 10,47% para a formulação F e de 9,13% para a formulação I, em relação ao teor de inulina ao longo do período de armazenamento refrigerado a 4 °C. A formulação I apresentou menor queda no teor de inulina, uma vez que possuía maior concentração desta e que a farinha de banana verde também constitui fonte de inulina³⁰.

Tabela 5 - Teor de inulina (valor médio \pm desvio padrão) nas bebidas lácteas fermentadas prebióticas saborizadas com xarope de cupuaçu.

Formulações			
	Tempo de estocagem (dias)	F	I
Teor de inulina (g/100g)	0	2,10bA \pm 0,1	2,30aA \pm 0,1
	7	2,09bA \pm 0,1	2,28aB \pm 0,09
	14	2,09bA \pm 0,06	2,28aB \pm 0,05
	21	1,92bB \pm 0,08	2,19aC \pm 0,1
	28	1,88bC \pm 0,1	2,09aD \pm 0,1

Médias \pm desvio padrão na mesma coluna, acompanhadas de letras minúsculas distintas, indicam diferenças a $p \leq 0,05$ para cada formulação afetada pelo tempo de armazenamento. Médias na mesma linha, acompanhadas de letras maiúsculas distintas, indicam diferenças a $p \leq 0,05$ entre as formulações para o mesmo dia de estocagem.

A redução do teor de inulina, mesmo não sendo estatisticamente significativa, ocorreu a partir do sétimo dia de estocagem. Tal redução pode estar relacionada à hidrólise ácida que a inulina sofre em ambiente ácido, resultando na formação de frutose³¹. Pimentel, Garcia e Prudêncio³², ao avaliarem iogurtes probióticos com inulina, observaram durante o armazenamento de 28 dias uma diminuição de 2,4% no conteúdo de inulina nas formulações.

Na literatura há relatos de que, ao longo do período de estocagem, algumas espécies de bactérias utilizadas no processo de fermentação, como *Lactobacillus*, *Streptococcus* e bifidobactérias, são capazes de metabolizar inulina adicionada ao produto^{33,34}. Contudo, neste estudo não foram observadas diferenças estatisticamente significativas no teor de inulina durante os 28 dias de armazenamento do produto, o que indica que as bactérias empregadas na fermentação não degradaram o prebiótico.

A formulação com adição de farinha de banana verde apresentou valores percentuais mais elevados de inulina. Isso ocorreu, segundo Agopian et al.³⁵, porque a farinha de banana verde tem determinada quantidade de frutanos em sua composição.

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária³⁶, a ingestão diária de inulina necessária para promover o efeito benéfico associado a esse carboidrato é de 5 g/dia para equilibrar a quantidade de bifidobactérias no intestino. Teores de 1,88 g/100g de inulina estavam presentes na formulação F e 2,09 g/100g na formulação I ao final do período estipulado de armazenamento, o que indica que seria possível aplicar a alegação de propriedade funcional das bebidas lácteas elaboradas, considerando-se o consumo de uma porção diária de, pelo menos, 250 mL.

Os resultados microbiológicos mostraram ausência de coliformes a 45 °C e de *Salmonella* spp. durante o tempo de estocagem nas duas formulações (Tabela 6), garantindo, assim, a segurança microbiológica das bebidas. A ausência desses microrganismos é um indicativo de boas condições higiênico-sanitárias na elaboração das bebidas. O pH reduzido do produto também pode ser um fator que dificulta o desenvolvimento desses microrganismos²⁰.

Tabela 6 - Determinações microbiológicas das bebidas lácteas durante o tempo de armazenamento.

Microrganismos	Formulações		
	Tempo de estocagem (dias)	F	I
Coliformes a 45°C (UFC/mL)	0	<10aA	<10bA
	7	<10aA	<10bA
	14	<10aA	<10bA
	21	<10aA	<10bA
	28	<10aA	<10bA
Fungos filamentosos e leveduras (UFC/mL)	0	<10aA	<10bA
	7	10aA	10bA
	14	12aA	15aB
	21	15bA	15aA
	28	<10aA	<10bA
<i>Salmonella</i> spp. (em 25 g)	0	Ausente	Ausente
	7	Ausente	Ausente
	14	Ausente	Ausente
	21	Ausente	Ausente
	28	Ausente	Ausente

Continua

Continuação da tabela 6

Microrganismos	Formulações		
	Tempo de estocagem (dias)	F	I
Viabilidade de bactérias lácticas (UFC/mL)	0	1,8x10 ⁸ aA	1,6x10 ⁸ bA
	7	2,4x10 ⁹ bB	1,9x10 ⁹ cA
	14	1,3x10 ⁹ bC	5,4x10 ⁸ bB
	21	2,1x10 ⁸ aA	2,2x10 ⁸ bA
	28	1,4x10 ⁸ aA	1,2x10 ⁸ bA

Médias \pm desvio padrão na mesma coluna, acompanhadas de letras minúsculas distintas, indicam diferenças a $p \leq 0,05$ para cada formulação afetada pelo tempo de armazenamento.

Médias na mesma linha, acompanhadas de letras maiúsculas distintas, indicam diferenças a $p \leq 0,05$ entre as formulações para o mesmo dia de estocagem.

A análise de fungos filamentosos e leveduras, embora não exigida pela legislação, foi efetuada para avaliar a qualidade higiênico-sanitária das formulações, as quais apresentaram, durante o período de armazenamento, resultados que indicam condições higiênicas satisfatórias em termos de processamento e estocagem.

A Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005³⁷, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea, segundo o qual a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser de no mínimo 10⁶ UFC/g no produto final, valor que deve permanecer durante todo o prazo de validade³⁷. Sendo assim, as bebidas lácteas elaboradas encontram-se em conformidade com a legislação, pois as contagens de bactérias lácticas foram superiores a 10⁸ UFC por mililitro do produto.

Para garantir a função probiótica de um alimento, a Anvisa³⁶ determina uma quantidade mínima viável do probiótico na faixa de 10⁸ a 10⁹ UFC, em uma porção diária. A adição de fibras solúveis, como a inulina, influencia positivamente a viabilidade do *Lactobacillus acidophilus*, pois serve de substrato para o desenvolvimento desse microrganismo³⁸. Portanto, pode ter contribuído para a obtenção de valores elevados de bactérias lácticas, visto que esse microrganismo foi encontrado no fermento probiótico empregado.

Silveira et al.³⁹ obtiveram resultados semelhantes aos desta pesquisa, ao avaliarem a viabilidade de bactérias lácticas de bebidas lácteas de soro de leite de cabra com adição de inulina e probiótico durante 28 dias de armazenamento sob refrigeração.

Os resultados microbiológicos foram satisfatórios ao longo do armazenamento, uma vez que o produto elaborado não continha adição de conservantes nas formulações.

Composição química

Na Tabela 7 estão os resultados referentes aos valores médios e ao desvio padrão dos teores de umidade, cinzas, proteínas e lipídios das bebidas lácteas.

Tabela 7 - Composição proximal (valor médio \pm desvio padrão) das bebidas lácteas prebióticas de cupuaçu.

Parâmetros	Formulações	
	F	I
Cinzas %	0,86a \pm 0,2	0,85a \pm 0,1
Umidade %	84,95b \pm 0,4	85,86a \pm 0,3
Proteínas %	2,73a \pm 0,3	2,40b \pm 0,2
Lipídios %	1,40a \pm 0,1	0,93b \pm 0,3

Médias \pm desvio padrão com mesmo expoente, na mesma linha, não são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) pela ANOVA e pelo teste de Tukey.

Não houve diferença significativa entre as formulações quanto aos valores de cinzas encontrados. Os teores de umidade encontram-se na faixa de 84,95% a 85,86%, diferindo entre as formulações. Os valores obtidos correspondem aos encontrados por Costa et al.², a saber, de 86% a 88%.

A legislação define que uma bebida láctea fermentada com adições apresente teor de proteína de 1,0 g/100g de produto³⁷. As bebidas obtidas neste trabalho estão de acordo com a legislação quanto ao teor mínimo de proteína, com 2,73% para a formulação F e 2,40% para a formulação I. Castro et al.²⁰ e Silveira et al.³⁹ obtiveram teores de proteína de 2,70% e 2,39%, respectivamente, ao elaborarem bebidas lácteas com adição de oligofrutose. A formulação F apresentou valor mais elevado de proteína em relação à formulação I, um resultado já esperado na medida em que a formulação F tem maior concentração de leite.

Os resultados para os teores de lipídios foram de 1,40% para a formulação F e de 0,93% para a formulação I. Crispín-Isidro et al.⁴⁰, ao avaliarem iogurte com adição de frutanos e inulina, encontraram um valor de lipídio de 1,3%, ao passo que Batista et al.⁴¹ obtiveram um valor de 1,13% para leite simbiótico, ambos próximos aos desta pesquisa. A concentração de soro mais elevada na formulação I fez com que ficasse com o menor teor de lipídios e teor proteico, tendo em vista que o soro apresenta baixo teor desses componentes quando comparado ao leite.

Sensorial de aceitação

Foram analisados cinco parâmetros sensoriais a fim de avaliar a aceitabilidade das bebidas lácteas prebióticas de cupuaçu: sabor, cor, textura, aparência e aceitação global.

A Tabela 8 expõe os resultados das médias das notas atribuídas para cada amostra de acordo com o atributo avaliado. As amostras foram apresentadas aos provadores em pares, de forma sequencial – primeiro a amostra F nos dois tempos, em seguida a amostra I. Verificou-se que houve diferença ($p < 0,05$) entre as formulações em relação a todos os atributos, e as amostras da formulação I tiveram médias mais baixas.

Tabela 8 - Média dos atributos sensoriais para cada formulação de bebida láctea fermentada prebiótica saborizada com xarope de cupuaçu.

Atributo	Formulações			
	F (7 dias)	I (7 dias)	F (28 dias)	I (28 dias)
Sabor	7,41 ^a	6,28 ^b	7,62 ^a	6,34 ^b
Cor	6,65 ^b	6,02 ^c	7,28 ^a	6,16 ^{bc}
Textura	6,56 ^{ab}	5,95 ^b	6,92 ^a	6,22 ^b
Aparência	6,12 ^{ab}	5,64 ^b	6,66 ^a	6,06 ^{ab}
Aceitação global	7,3 ^a	6,3 ^b	7,47 ^a	6,49 ^b

Médias com mesmo expoente, na mesma linha, não são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) pela ANOVA e pelo teste de Tukey.

No atributo sabor, as amostras da formulação F obtiveram as maiores médias. Já a cor e a aparência das amostras da formulação I que continham farinha de banana verde ficaram com as médias mais baixas, resultado esse que pode ter sido influenciado pelo fato de que a farinha apresenta pequenas partículas quando adicionada à bebida.

As notas para o atributo textura da formulação I foram as mais baixas, podendo a quantidade de soro adicionado (95%) um possível fator para a obtenção desse resultado.

Essas amostras tiveram menos viscosidade, tornando a bebida aparentemente mais líquida em comparação com a formulação F.

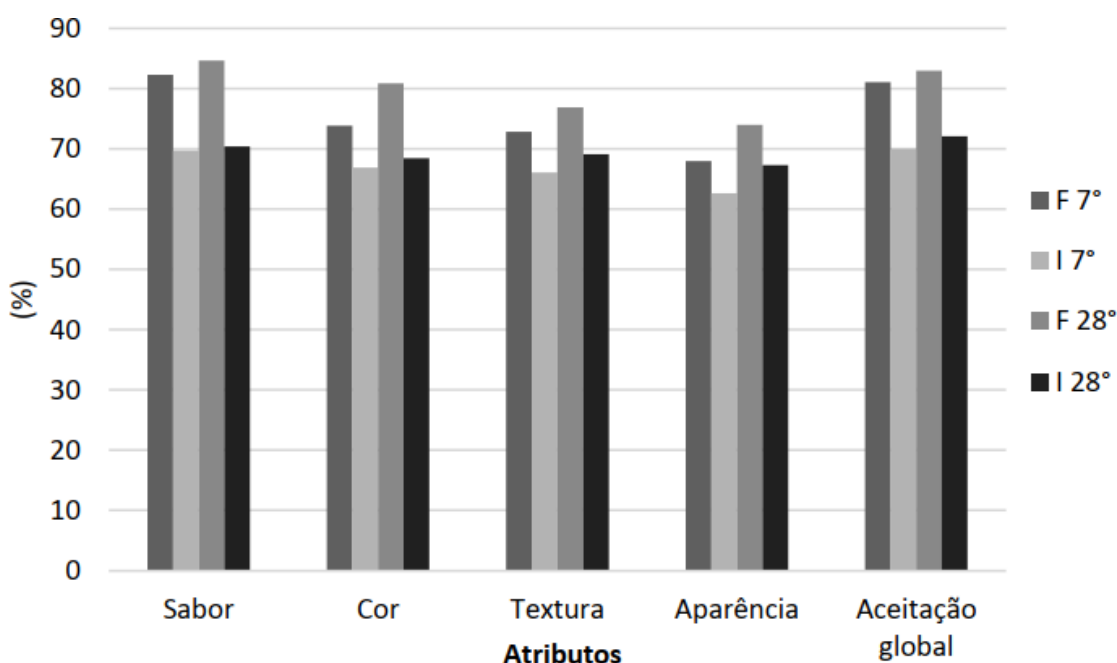
Com relação à aceitação global, os escores médios das amostras do sétimo e 28º dia da formulação F situaram-se entre os termos hedônicos “gostei moderadamente” e “gostei muito”. As amostras da formulação I, por sua vez, apresentaram escores médios correspondentes a “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Ambas

as formulações com 28 dias de armazenamento receberam as maiores notas, mostrando que, mesmo com o tempo de estocagem, mantiveram a preferência do consumidor.

Quanto à intenção de compra, 91% dos julgadores disseram que comprariam a amostra F e 67%, que comprariam a amostra I. Também lhes foi solicitado que identificassem qual a sua amostra preferida em relação aos pares apresentados. Ambas as formulações com 28 dias de armazenamento obtiveram a preferência dos provadores, sendo 62% para F e 52% para I. Esse resultado pode ser atribuído ao catabolismo microbiano que libera compostos que caracterizam o aroma e o sabor das bebidas lácteas, os quais vão se acentuando ao longo do armazenamento⁴².

Na Figura 1 pode-se observar o índice de aceitabilidade das formulações avaliadas em relação aos atributos sensoriais. As amostras F com sete e 28 dias apresentaram os maiores índices de aceitabilidade nas características sensoriais, com destaque para o atributo de sabor, que teve as avaliações mais elevadas. Todos os atributos da formulação F com 28 dias tiveram porcentagens acima de 70%. De acordo com Dutcosky¹⁷, para um produto ser considerado aceito, é preciso que obtenha índices de aceitabilidade de, no mínimo, 70%.

Figura 1 - Índice de aceitabilidade das bebidas lácteas fermentadas prebióticas saborizadas com xarope de cupuaçu.



Diante dos resultados, destaca-se a aceitabilidade da formulação F, que alcançou os índices necessários nos atributos avaliados.

CONCLUSÃO

As bebidas lácteas fermentadas prebióticas elaboradas nesta pesquisa apresentaram bons resultados quanto ao prebiótico adicionado e à viabilidade de bactérias lácticas, visto que estas, além de se manterem em quantidade elevada, não degradaram o prebiótico durante o período de armazenamento.

As bebidas mantiveram suas características físico-químicas e sensoriais ao longo do tempo determinado da vida de prateleira, mesmo sem a adição de conservantes às formulações.

As formulações tiveram notas médias satisfatórias na análise sensorial, sendo a formulação F a que apresentou o melhor resultado, mostrando que teria boa aceitação por parte dos consumidores. O sabor foi o atributo que teve um índice de aceitabilidade acima de 70% para todas as amostras, o que pode ser atribuído ao emprego do xarope de cupuaçu como saborizante.

REFERÊNCIAS

1. Kraus A. Development of functional food with the participation of the consumer. Motivators for consumption of functional products. *International Journal of Consumer Studies*. 2015; 39 (1): 2-11.
2. Costa EL, Alencar NMM, Rullo BGS, Taralo RL. Effect of green banana pulp on physicochemical and sensory properties of probiotic yoghurt. *Food Science and Technology*. 2017a; 37 (3): 363-368.
3. Ha E, Zemel MB. Functional properties of whey, whey componentes, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people (review). *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2003; 14 (5): 251-258.
4. Sinha R, Radha C, Prakash J, Kaul P. Whey protein hydrolysate: functional properties, nutritional quality and utilization on beverage formulation. *Food Chemistry*. 2007; 101 (4): 1484-1491.
5. Thamer KG, Penna ALB. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por prebióticos e acrescidas de prebiótico. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2006; 26 (3): 589-595.
6. Costa MP, Monteiro MLG, Frasco BS, Silva VLM, Rodrigues BL, Chiappini CCJ, Conte-junior CA. Consumer perception, health information, and instrumental parameters of cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) goat milk yogurts. *Journal of Dairy Science*. 2017b; 100 (1): 157-168.

7. Vriesmann LC, Silveira JLM, Petkowicz CLO. Chemical and rheological properties of a starch-rich fraction from the pulp of the fruit cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). *Materials Science and Engineering C*. 2009; 29: 651-656.
8. Salgado JM, Rodrigues BS, Donado-Pestana CM, Dias CTS, Morzelle MC. Cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) peel as potential source of dietary fiber and phytochemicals in whole-bread. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2011; 66: 384-390.
9. Costa MP, Frasco BS, Silva ACO, Freitas MQ, Franco RM, Conte-Junior CA. Cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) pulp, probiotic, and prebiotic: Influence on color, apparent viscosity, and texture of goat milk yogurts. *Journal of Dairy Science*. 2015; 98 (9) 5995-6003.
10. Raud C. Os alimentos funcionais: a nova fronteira da indústria alimentar análise das estratégias da Danone e da Nestlé no mercado brasileiro de iogurtes. *Revista de Sociologia e Política*. 2008; 16 (31): 85-100.
11. Saad SMI, Cruz AG, Faria JAF. Probióticos e prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas. 1.ed., São Paulo: Livraria Varela, 2011. p.184-267.
12. AOAC. Association of official analytical chemists. Official methods of analysis – AOAC International. 19th ed. Maryland, USA, 2012.
13. Amaya-llano SL, Martínez-Alegria AL, Zazueta-Morales JJ, Martínez-Bustos F. Acid thinned jicama and maize starches as fat substitute in stirred yogurt. *LWT – Food Science and Technology*. 2008; 41: 1274-1281.
14. Ramos EM, Gomide LAM. Avaliação da qualidade de carnes: fundamentos e metodologias. Viçosa: UFV, 2007. p. 63-78.
15. Megazyme. Fructan HK assay procedure for the measurement of fructo-oligosaccharides (FOS) and fructan polysaccharide. 2016. [citado em: 07 de janeiro de 2017]. Disponível em: www.megazyme.com.
16. APHA. American public health association. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. Washington: APHA, 2001.
17. Dutcosky SD. Análise sensorial de alimentos. 4. ed. Curitiba: Editora Champagnat, 2013. p. 65-101.
18. Newell GJ, MacFarlane JD. Expanded tables for multiple comparison procedures in the analysis of ranked data. *Journal of Food Science*. 1987; 52 (6): 1721-1725.
19. Fidelis JCF, Scapim MRS, Tonon LAC, Pozza MSS, Pieretti GG, Antigo JL, Madrona GS. Iogurte natural desnatado adicionado de inulina. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*. 2014; 8 (2,): 1478-1487.
20. Castro FP, Cunha TM, Barreto PLM, Amboni RDMC, Prudêncio ES. Effect of oligofructose incorporation on the properties of fermented probiotic lactic beverages. *International Journal of Dairy Technology*. 2008; 62: 68-74.
21. Montanuci FD, Pimentel TC, Garcia S, Prudêncio SH. Effect of starter culture and inulin addition on microbial viability, texture, and chemical characteristics of whole or skim milk kefir. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2012; 32 (4): 850-861.

22. Akalin AS, Fenderya S, Akbulut N. Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. *International Journal of Food Science and Technology*. 2004; 39 (6): 613-621.
23. Achanta K, Aryana KJ, Boenele CA. Fat free plain set yogurts fortified with various minerals. *LWT-Food Science and Technology*. 2007; 40 (3): 424-429.
24. González-Martínez C, Becerra M, Cháfer M, Albors A, Carot JM, Chiralt A. Influence of substituting milk powder for whey powder on yoghurt quality. *Trends in Food Science & Technology*. 2002; 13: 334-340.
25. Castro FP, Cunha TM, Ogliari PJ, Teófilo RF, Ferreira MMC, Prudêncio ES. Influence of different contents of cheese whey and oligofructose on the properties of fermented lactic beverages: study using response surface methodology. *LWT- Food Science and Technology*. 2009; 42: 993-997.
26. Magenis RB, Prudêncio ES, Amboni RDMC, Cerqueira Junior NG, Oliveira RVB, Soldi V, Benedet HD. Compositional and physical properties of yogurt manufactured from milk and whey cheese concentrated by ultrafiltration. *International Journal of Food Science and Technology*. 2006; 41 (5): 560-568.
27. Cunha TM, Ilha EC, Amboni RDMC, Barreto PLM, Castro FP, Prudêncio ES. A influência do uso de soro de queijo e bactérias probióticas nas propriedades de bebidas lácteas fermentadas. *Brazilian Journal of Technology*. 2009; 12 (1): 23-33.
28. Al Mijan M, Choi KH, Kwak HS. Physicochemical, microbial, and sensory properties of nanopowdered eggshell-supplemented yogurt during storage. *Journal of Dairy Science*. 2014; 97 (6): 3273-3280.
29. Wang W, Bao Y, Hendricks GM, Guo M. Consistency, microstructure and probiotic survivability of goats milk yoghurt using polymerized whey protein as a cothickening agent. *International Dairy Journal*. 2012; 24 (2): 113-119.
30. Roberfroid MB. Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition*. 2005; 93: 13-25.
31. Flamm G, Glinsmann W, Kritchevsky D, Prosky L, Roberfroid M. Inulin and oligofructose as dietary fiber: a review of the evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2001; 41 (5): 353-362.
32. Pimentel T, Garcia S, Prudencio SH. Effect of long-chain inulin on the texture profile and survival of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* in set yoghurts during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*. 2012; 65 (1): 104-110.
33. Ehermann MA, Koraki M, Vogel RF. Identification of the gene for β -fructofuranosidase of *Bifidobacterium lactis* DSM10140 and characterization of the enzyme expressed in *Escherichia coli*. *Current Microbiology*. 2003; 46:391-397.
34. Kaplan H, Hutkins RW. Metabolism of fructooligosaccharides by *Lactobacillus paracasei* 1195. *Applied and Environmental Microbiology*. 2003; 69 (4): 2217-2222.
35. Agopian RG, Soares CA, Purgatto E, Cordenunsi BR, Lajolo FM. Identification of fructooligosaccharides in different banana cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008; 56 (9): 3305-3310.

36. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde. 2016. [citado em: 22 dez. 2017]. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>.
37. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea. Diário Oficial da União. 2005.
38. Brandão WAPLNTM, Mendonça SNTG, Benedet HD. Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* em bebida fermentada, saborizada a partir de soro lácteo e inulina. *Revista Higiene Alimentar*. 2011; 25 (194): 139-142.
39. Silveira EO, Lopes neto JH, Silva LA, Raposo AES, Magnani M, Cardarelli HR. The effects of inulin combined with oligofructose and goat cheese whey on the physicochemical properties and sensory acceptance of a probiotic chocolate goat dairy beverage. *LWT-Food Science and Technology*. 2015; 62 (1): 445-451.
40. Crispín-isidro G, Lobato-calleros C, Espinisa-andrews H, Alvarez-ramirez J, Vernon-carter EJ. Effect od inulin and agave frutanos addition on the rheological, microstructural and sensory properties of reduced-fat stirred yogurt. *LWT-Food Science and Technology*. 2014; 29 (2): 66-74.
41. Batista ALD, Silva R, Cappato LP, Ferreira MVS, Nascimento KO, Schmiele M, Esmerino EA, Balthazar CF, Silva HLA, Moraes J, Pimentel TC, Freitas MQ, Raices RSL, Silva MC, Cruz AG. Developing a synbiotic fermented milk using probiotic bacteria and organic green banana flour. *Journal of Functional Foods*. 2017; 38: 242-250.
42. ORDÓÑEZ, J. P. et al.. *Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal*. v. 2, Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 85-110.

Submissão: 20/07/2023

Aprovação: 04/03/2024