



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE**  
**ALIMENTOS**

**DANIELLE ALVES DA SILVA RIOS**

**EXTRATOS VEGETAIS FERMENTADOS POR KEFIR: DESENVOLVIMENTO,  
CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL ANTIMICROBIANO**

**FORTALEZA**

**2021**

DANIELLE ALVES DA SILVA RIOS

EXTRATOS VEGETAIS FERMENTADOS POR KEFIR: DESENVOLVIMENTO,  
CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL ANTIMICROBIANO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Elisabeth Mary Cunha da Silva

Coorientadora: Profa. Dra. Anna Rafaela Cavalcante Braga

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

R453e Rios, Danielle Alves da Silva.  
Extratos vegetais fermentados por Kefir: desenvolvimento, caracterização e potencial antimicrobiano /  
Danielle Alves da Silva Rios. – 2021.  
75 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-  
Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Elisabeth Mary Cunha da Silva .

Coorientação: Prof. Dr. Anna Rafaela Cavalcante Braga .

1. Propriedades funcionais. 2. Fermentação. 3. Substitutos lácteos. 4. Atividade antimicrobiana. I. Título.  
CDD 664

---

DANIELLE ALVES DA SILVA RIOS

EXTRATOS VEGETAIS FERMENTADOS POR KEFIR: DESENVOLVIMENTO,  
CARACTERIZAÇÃO E POTENCIAL ANTIMICROBIANO

Tese ou Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em: 29/10/2021.

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Elisabeth Mary Cunha da Silva (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Anna Rafaela Cavalcante Braga (Co-orientadora)  
Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

---

Profa. Dra. Ana Lúcia Fernandes Pereira  
Universidade Federal do Maranhã (UFMA)

---

Profa. Dra. Ana Paula Colares de Andrade  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Janaina Maria Martins Vieira  
Centro Universitário Fanor Wyden (UniFanor)

---

Profa. Dra. Larissa Moraes Ribeiro da Silva  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Ao meu amor, meus filhos e meus pais.

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer toda e qualquer pessoa que tenha sido impulsionadora da ideia, execução e, principalmente, finalização desse processo.

À Universidade Federal do Ceará, instituição onde me formei, da qual eu me orgulho em fazer parte e para onde retornei para realizar o sonho de fazer o doutorado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade em aprender mais e me capacitar na longa e árdua trajetória acadêmica.

À minha orientadora Elisabeth e minha co-orientadora Anna Rafaela pelas contribuições pontuais e significativas em momentos importantes da execução do trabalho. Obrigada por aceitarem o convite e o contexto no qual eu estou inserida. Obrigada de verdade.

Ao Renato Rios, eu não tenho dúvida que TUDO só foi possível por você ter topado essa e todas as outras aventuras que aconteceram ao mesmo tempo. Muitas vezes faltam palavras para agradecer e expressar o tanto que você significa para mim. Já partilhamos tantas coisas, construímos nossa história baseada em tantas qualidades e sentimentos, mas a parceria foi imprescindível, e se tem alguém que pode viver as alegrias das conquistas da mesma forma que eu, é você. Eu te amo.

Um agradecimento especial aos meus pequenos, Gael e Lia, com doses ‘naturais’ de culpa que toda mãe acaba sentindo. Eles me incentivam, sem ao menos terem noção disso, a buscar o meu caminho, seguir meus planos e tentar ser melhor a cada dia, em cada escolha. Sou movida por um amor incondicional por esses dois e espero poder proporcionar o mundo para eles.

Aos meus pais (José Carlos e Sônia) por me incentivarem desde muito cedo a buscar meus desejos, nada veio fácil e eu valorizo cada conquista lembrando sempre do caminho percorrido. Obrigada por tanto. Amo vocês.

Aos meus irmãos (Douglas e Débora), minha cunhada (Nel) e meus sobrinhos (Levi, Gigi e Ester), não por fazer parte da construção desse projeto profissional, mas por torcerem e por serem presentes em momentos de lazer, que sempre são tão importantes para recarregar nossas energias.

Aos amigos, poucos e preciosos, que dividem alegrias, angústias e sonhos. É tão importante a presença de vocês em minha vida, que todo e qualquer momento eu vou agradecer por tê-los comigo: Larissa (em especial nessa jornada, ‘obrigada amiga, você é uma

amiga'), Nágela, Alice, Vitória, Mari Carrapeiro, Lis, Tielle, Mari, Bruni, Rafa, Ítalo, Ana e Mi.

Às minhas alunas de Iniciação científica e Trabalho de conclusão de curso que contribuíram com seus trabalhos, engrandecendo o meu. De fato, sozinhos não vamos a lugar nenhum, obrigada meninas: Gabriela, Érica, Dayanne, Dayana, Carol, Ingrid, Sabrina, Josi e Tati.

“Conhecimento não é aquilo que você sabe,  
mas o que você faz com aquilo que sabe”  
(Aldous Huxley).

## RESUMO

Alimentos fermentados possuem várias propriedades benéficas que vão desde a presença de micro-organismos vivos até de substâncias antimicrobianas, podendo ser utilizados como produtos alimentícios e adicionados em outros gêneros alimentícios para exercerem a função de conservantes naturais. Entretanto, uma das matrizes mais utilizadas e consumidas no processo fermentativo é o leite, que para muitas pessoas que possuem restrições alimentares, seja devido a patologias (intolerâncias e alergias alimentares) ou por escolha, se torna um problema. Dessa forma, a busca por fontes alternativas, movimenta pesquisas que atendam a essas demandas. As bebidas vegetais estão entre os alimentos em estudo que contribuem para o desenvolvimento de novos produtos com as características supracitadas. Por outro lado, o Kefir é uma simbiose de micro-organismos de cultivo artesanal, com vários efeitos positivos associados ao seu consumo. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi produzir e caracterizar extratos vegetais fermentados por Kefir e avaliar seu potencial antimicrobiano. Os extratos vegetais de arroz branco, arroz integral, castanha de caju, castanha do Pará e coco foram elaborados e caracterizados quanto a composição proximal (umidade proteína, lipídios, cinzas e carboidratos), parâmetros físico-químicos (pH, sólidos solúveis totais, umidade e cor) e microbiológicos (*Salmonella* sp., coliformes termotolerantes, aeróbios mesófilos e bolores e leveduras). Os extratos foram fermentados com Kefir e submetidos à determinação da composição proximal, contagem de células viáveis, atividade antimicrobiana (*Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*), como também pH, sólidos solúveis totais, umidade e cor. As composições dos extratos vegetais pasteurizados apresentaram diferentes valores energéticos, correspondente às suas matérias-primas. Os parâmetros físico-químicos variaram e não tiveram boa correlação através da análise de regressão linear, provavelmente, em função da falta de homogeneidade dos produtos. Todos os extratos pasteurizados estavam aptos ao consumo, conforme legislação vigente. Já os extratos vegetais fermentados por Kefir apresentaram valores calóricos distintos em comparação aos não fermentados, devido a presença dos micro-organismos e sua adaptação ao meio. Através desta análise e dos parâmetros físico-químicos investigados, foi possível verificar comportamentos diferenciados em relação ao processo fermentativo, revelando a influência das matérias-primas no desenvolvimento microbiano. O pH atingiu valores que variaram entre  $5,28 \pm 0,09$  (extrato de coco) até  $6,44 \pm 0,08$  (extrato de castanha do Pará) após 24 horas de fermentação, revelando que o tempo de fermentação em extratos vegetais é diferente daquele do leite. Para

os sólidos solúveis e umidade, os valores e comportamento destes parâmetros foram similares aos dos extratos pasteurizados, não sendo possível inferir sobre a presença do Kefir no meio. Já para as coordenadas de cromaticidade, a mudança mais expressiva foi na coordenada L\* que variavam de  $44,63 \pm 1,98$  à  $66,98 \pm 3,44$ , para  $71,05 \pm 4,00$  à  $82,05 \pm 2,43$ , em 24 horas, com aumento de luminosidade pós fermentação. A contagem elevada dos micro-organismos utilizados como requisito microbiológico do Kefir mostrou que ele é capaz de se adaptar a diferentes substratos, ampliando suas possibilidades de uso. Nesta contagem, após 24 horas de fermentação, as bactérias ácido lácticas chegaram à  $5,25 \times 10^8$  UFC/mL no extrato de arroz integral, para leveduras, o maior valor obtido foi nos extratos de arroz integral e castanha do Pará ( $2,53 \times 10^8$  UFC/mL), enquanto para os aeróbios mesófilos a maior quantidade encontrada foi no extrato de castanha do Pará,  $4,44 \times 10^8$  UFC/mL. Em relação à atividade antimicrobiana apenas os extratos vegetais fermentados de arroz integral e castanha do Pará apresentaram ação contra os micro-organismos testados, ratificando sua possibilidade não só como produto, mas também como um conservante natural para vários tipos de alimentos.

**Palavras-chave:** propriedades funcionais; fermentação; substitutos lácteos; atividade antimicrobiana.

## ABSTRACT

Fermented foods have several beneficial properties ranging from the presence of live microorganisms to antimicrobial substances, and can be used as food products and added to other foodstuffs to act as natural preservatives. However, one of the most used and consumed matrices in the fermentation process is milk, which for many people who have food restrictions, whether due to pathologies (food intolerances and allergies) or by choice, becomes a problem. Thus, the search for alternative sources drives research that meets these demands. Vegetable drinks are among the foods under study that contribute to the development of new products with the aforementioned characteristics. On the other hand, kefir is a symbiosis of micro-organisms from artisanal cultivation, with several positive effects associated with its consumption. In this context, the objective of this work was to characterize vegetable extracts fermented by kefir and their potential antimicrobial activity. The vegetable extracts of white rice, brown rice, cashew nuts, Brazil nuts, and coconut were prepared and characterized as to the proximate composition (protein, lipid, ash, and carbohydrate moisture), physicochemical (pH, total soluble solids, moisture, and color) and microbiological parameters (*Salmonella* sp., thermotolerant coliforms, mesophilic aerobics and molds, and yeasts). The extracts were fermented with kefir and subjected to determination of proximate composition, viable cell count, antimicrobial activity (*Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*), as well as pH, total soluble solids, moisture, and color. The compositions of pasteurized vegetable extracts showed different energy values, corresponding to their raw materials. The physicochemical parameters varied and did not have a good correlation through linear regression analysis, probably due to the lack of homogeneity of the products. All pasteurized extracts were suitable for consumption in accordance with current legislation. Vegetable extracts fermented by kefir, on the other hand, showed different caloric values compared to non-fermented ones due to the presence of microorganisms and their adaptation to the environment. Through the results of microbiological and physicochemical analyzes it was possible to verify different behaviors in relation to the fermentation process, revealing the influence of raw materials on microbial development. The pH reached values ranging from  $6.44 \pm 0.08$  (Brazil nut extract) to  $5.28 \pm 0.09$  (coconut extract) after 24 hours of fermentation, revealing that the fermentation time in vegetable extracts is different from that of milk. For soluble solids and moisture, the values and behavior of these parameters were similar to those of pasteurized extracts, and it is not possible to infer on the role of kefir in the medium. Regarding color, the most expressive change was in the L\*

coordinate, whose values ranged from  $44.63 \pm 1.98$  to  $66.98 \pm 3.44$ , to  $71.05 \pm 4.00$  to  $82.05 \pm 2.43$  in 24 hours, with increased luminosity after fermentation. The high count of microorganisms used as a microbiological requirement for kefir showed that it is capable of adapting to different substrates, expanding its use possibilities. In this count, after 24 hours of fermentation, lactic acid bacteria reached  $5.25 \times 10^8$  CFU/mL in brown rice extract, for yeasts, the highest value obtained in brown rice and Brazil nut extracts was  $2.53 \times 10^8$  CFU/mL, while for mesophilic aerobics, the largest amount found was in Brazil nut extract with  $4.44 \times 10^8$  CFU/ml. Regarding the antimicrobial activity, only vegetable extracts fermented from brown rice and Brazil nuts showed action against the tested microorganisms, confirming its possibility not only as a product but also as a natural preservative for various types of food.

**Keywords:** functional properties; fermentation; dairy replacer; antimicrobial activity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Grãos de Kefir .....	25
Figura 2 – Fluxograma do desenho metodológico .....	34
Figura 3 – Valores médios e desvio padrão do pH dos extratos vegetais pasteurizados (I) e dos extratos fermentados por Kefir por 24 horas (II) durante 20 dias sob refrigeração (4 °C) .....	45
Figura 4 – Valores médios e desvio padrão de sólidos solúveis (°Brix) dos extratos vegetais pasteurizados (I) e dos extratos fermentados por Kefir após 24 horas (II) durante 20 dias sob refrigeração (4 °C) .....	49
Figura 5 – Valores médios e desvio padrão de umidade (%) dos extratos vegetais pasteurizados (I) e dos extratos fermentados por Kefir após 24 horas (II) durante 20 dias sob refrigeração (4 °C) .....	51
Figura 6 – Valores médios e desvio padrão da coordenada de cromaticidade L* dos extratos vegetais pasteurizados (I) e dos extratos fermentados por Kefir após 24 horas (II) durante 20 dias sob refrigeração (4 °C) .....	53
Figura 7 – Valores médios e desvio padrão da coordenada de cromaticidade a* dos extratos vegetais pasteurizados (I) e dos extratos fermentados por Kefir após 24 horas (II) durante 20 dias sob refrigeração (4 °C) .....	54
Figura 8 – Valores médios e desvio padrão da coordenada de cromaticidade b* dos extratos vegetais pasteurizados (I) e dos extratos fermentados por Kefir após 24 horas (II) durante 20 dias sob refrigeração (4 °C) .....	55

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Aspectos físico-químicos e microbiológicos do Kefir .....	24
Quadro 2 – Composição proximal de extratos vegetais .....	29

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores médios e desvio padrão da composição proximal (%) e valor calórico (Kcal) dos extratos vegetais pasteurizados (70 °C/20 minutos) .....	41
Tabela 2 – Valores médios e desvio padrão da composição proximal (%) e valor calórico (Kcal) dos extratos vegetais fermentados .....	41
Tabela 3 – Resultados das análises microbiológicas dos extratos vegetais hidrossolúveis pasteurizados (70 °C/20 minutos) .....	57
Tabela 4 – Valores das contagens de células viáveis (bactérias ácido lácticas, leveduras totais e aeróbios mesófilos) dos extratos hidrossolúveis após 24 horas de fermentação por Kefir .....	58
Tabela 5 – Absorbância referente à atividade antimicrobiana contra <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> dos extratos vegetais fermentados (E.F.) por Kefir (%) .....	59
Tabela 6 – Valores médios e desvio padrão do pH dos extratos vegetais pasteurizados armazenados por 20 dias sob refrigeração (4 °C) .....	73
Tabela 7 – Valores médios e desvio padrão do pH durante os 20 dias de armazenamento sob refrigeração dos extratos fermentados .....	73
Tabela 8 – Valores médios de sólidos solúveis (°Brix) dos extratos vegetais hidrossolúveis pasteurizados armazenados por 20 dias sob refrigeração (4 °C) .....	74
Tabela 9 – Valores médios de sólidos solúveis (°Brix) durante os 20 dias de armazenamento sob refrigeração dos extratos fermentados .....	74
Tabela 10 – Valores médios de umidade (%) dos extratos vegetais pasteurizados e armazenados por 20 dias sob refrigeração (4 °C) .....	75
Tabela 11 – Valores médios de umidade (%) dos extratos fermentados durante os 20 dias de armazenamento sob refrigeração (4 °C) .....	75
Tabela 12 – Valores médios das coordenadas de cromaticidade (L*, a* e b*) dos extratos vegetais hidrossolúveis durante 20 dias de armazenamento sob refrigeração (4 °C) .....	76

Tabela 13 – Valores médios para as coordenadas de cor ( $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ ) durante os 20 dias de armazenamento sob refrigeração dos extratos fermentados .....	77
---	----

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	19
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	21
<b>2.1</b>	<b>Objetivos geral</b> .....	21
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	21
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	22
<b>3.1</b>	<b>Alimentos fermentados</b> .....	22
<b>3.2</b>	<b>Kefir</b> .....	23
<b>3.2.1</b>	<i>Características do Kefir</i> .....	25
<b>3.2.2</b>	<i>Propriedades do Kefir</i> .....	26
<b>3.3</b>	<b>Extratos vegetais</b> .....	27
<b>3.3.1</b>	<i>Extrato hidrossolúvel de arroz</i> .....	29
<b>3.3.2</b>	<i>Extrato hidrossolúvel de amêndoas</i> .....	31
<b>3.3.3</b>	<i>Extrato hidrossolúvel de coco</i> .....	32
<b>3.4</b>	<b>Bebidas vegetais fermentadas por Kefir</b> .....	33
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	34
<b>4.1</b>	<b>Material</b> .....	34
<b>4.2</b>	<b>Metodologia</b> .....	35
<b>4.2.1</b>	<i>Extrato vegetais</i> .....	35
<b>4.2.1.1</b>	<i>Composição proximal dos extratos vegetais</i> .....	36
<b>4.2.1.2</b>	<i>Valor energético</i> .....	36
<b>4.2.1.3</b>	<i>Caracterização físico-química dos extratos vegetais</i> .....	36
<b>4.2.1.4</b>	<i>Qualidade microbiológica dos extratos vegetais</i> .....	37
<b>4.2.2</b>	<i>Extratos vegetais fermentados</i> .....	37
<b>4.2.2.1</b>	<i>Preparo do inóculo</i> .....	37
<b>4.2.2.2</b>	<i>Fermentação dos extratos hidrossolúveis</i> .....	37
<b>4.2.2.3</b>	<i>Contagem de células viáveis nos extratos vegetais fermentados por Kefir</i> .....	37
<b>4.2.2.4</b>	<i>Estudo da atividade antimicrobiana dos extratos hidrossolúveis fermentados</i> .	38
<b>4.2.4</b>	<i>Análise estatística</i> .....	39
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	40
<b>5.1</b>	<b>Composição proximal e valor energético</b> .....	40
<b>5.2</b>	<b>Análise físico-química dos extratos</b> .....	44

5.2.1	<i>pH</i> .....	44
5.2.2	<i>Sólidos solúveis</i> .....	48
5.2.3	<i>Umidade</i> .....	50
5.2.4	<i>Cor</i> .....	52
5.3	<b>Análise microbiológica dos extratos hidrossolúveis</b> .....	57
5.4	<b>Contagem de células viáveis nos extratos vegetais fermentados por Kefir ..</b>	58
5.5	<b>Atividade antimicrobiana dos extratos vegetais fermentados por Kefir .....</b>	60
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	62
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	63
	<b>ANEXO A – VALORES E DESVIO PADRÃO DO pH</b> .....	73
	<b>ANEXO B – VALORES E DESVIO PADRÃO DOS SÓLIDOS SOLÚVEIS</b> .....	74
	<b>ANEXO C – VALORES E DESVIO PADRÃO DA UMIDADE</b> .....	75
	<b>ANEXO D – VALORES E DESVIO PADRÃO DAS COORDENADAS DE CROMATICIDADE</b> .....	76

## 1 INTRODUÇÃO

A longevidade, associada à prevenção de doenças e a busca contínua pelo bem-estar, tem estimulado tanto os pesquisadores quanto a indústria de alimentos a aumentar a diversidade de produtos com propriedades benéficas. Assim, os alimentos fermentados podem contribuir nesse cenário, pois além de possuírem importante valor nutricional, também servem como fonte para micro-organismos vivos chegarem ao intestino introduzindo compostos bioativos e biodisponíveis (MARCO *et al.*, 2017). Além disso, no processo fermentativo, muitas vezes são produzidas substâncias antimicrobianas e metabólitos como ácidos, que diminuem o pH do meio, responsáveis pela conservação e características sensoriais do fermentado (LAVEFVE *et al.*, 2019; VOIDAROU *et al.*, 2020). Dessa forma, todos os fatores citados revelam não só a importância do consumo deste tipo de alimento, quanto a possibilidade do uso de suas funções como conservante natural em demais produtos.

Dentre os alimentos fermentados, os derivados lácteos, como os iogurtes e leites fermentados, são as principais matrizes carreadoras desses micro-organismos, porém alergias e intolerâncias alimentares são cada vez mais frequentes na população, e o leite é um dos principais alimentos relacionados a essas possíveis intercorrências (SCHIFFNER *et al.*, 2016). A intolerância à lactose é comumente confundida com a alergia às proteínas componentes do leite, entretanto a intolerância trata-se de uma síndrome na qual as principais reações são de nível gastrointestinal, como diarreia, flatulência, dor e distensão abdominal. Já a alergia é caracterizada por causar reações em nível de sistema imunológico, como dermatites, sangue e muco nas fezes, dentre outras (MAHAN *et al.*, 2012; RANGEL *et al.*, 2016). De outra forma, indivíduos podem decidir por uma dieta restritiva, excluindo a ingestão de leites e derivados lácteos, como também existe parte considerável da população atual que pode não consumir nenhum tipo de alimento de origem animal, os vegetarianos (FIORDA *et al.*, 2017).

Assim, bebidas vegetais fermentadas, como soja, quinoa, amendoim, gergelim, feijão branco e amêndoas, estão sendo utilizadas como alternativa aos leites e derivados, visando à inclusão de probióticos e suas propriedades na dieta (PRETTI, 2010; BICUDO *et al.*, 2012; ABATH, 2013; MARSH *et al.*, 2014, FIORAVANTE, 2015; COSTA, 2017).

O Kefir é formado por uma mistura de micro-organismos, predominantemente de bactérias ácido-láticas e leveduras, que atuam em simbiose e, há muito tempo, é usado pela sociedade de forma artesanal e prática, sem custo para sua obtenção. Sua produção pode ocorrer tradicionalmente com substrato de origem animal (leite de diferentes espécies animais)

e de origem vegetal (açúcar mascavo, leite de arroz, soja). Estudos realizados usando o Kefir proveniente de diferentes locais determinam que ele seja um alimento rico em ácido láctico, acético e glicônico, álcool etílico, gás carbônico, vitamina B12 e polissacarídeos. É fonte de cálcio e de proteínas de alto valor biológico e alta digestibilidade em função da fermentação (WESCHENFELDER *et al.*, 2011; SANTOS, 2013; PALEZI *et al.*, 2015).

Associado ao seu valor nutricional, o Kefir apresenta inúmeros benefícios que vão desde sua propriedade probiótica (com contagens microbianas necessárias), efeito antitumoral em animais, propriedades antimicrobianas, redução do colesterol, tratamento de doenças gastrointestinais e doenças cardiovasculares, hipertensão, alergias (RATTRAY; O'CONNELL, 2011; SANTOS, 2013; DIAS *et al.*, 2016; GAMBA *et al.*, 2016; REIS *et al.*, 2019).

Dessa forma, a elaboração de diferentes extratos vegetais fermentados por Kefir pode contribuir para estratégias com matrizes alimentares alternativas aos produtos lácteos, aliando produtos que atendam indivíduos com problemas relacionados à ingestão do leite, sejam patologias ou escolhas alimentares, aos benefícios associados à presença de microorganismos vivos. Assim como, avaliar o potencial em desempenhar atividade antimicrobiana, a fim de contribuir de outras formas, como por exemplo como conservante natural.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Produzir e caracterizar extratos vegetais fermentados por Kefir e avaliar o potencial antimicrobiano *in vitro*.

### 2.2 Objetivos específicos

- Determinar a composição proximal (umidade, proteína, gordura, cinzas e carboidratos) e as características físico-químicas (pH, cor, teor de umidade e sólidos solúveis totais) dos extratos vegetais de arroz branco, arroz integral, castanha de caju, castanha do Pará e coco;
- Determinar a qualidade microbiológica dos extratos vegetais hidrossolúveis;
- Caracterizar os fermentados do Kefir a base dos extratos vegetais quanto a sua composição proximal e características físico-químicas (pH, cor, teor de umidade e sólidos solúveis) durante 20 dias de estocagem;
- Quantificar os micro-organismos presentes nos diferentes extratos vegetais após processo fermentativo;
- Determinar a atividade antimicrobiana dos extratos vegetais fermentados por Kefir contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Alimentos fermentados

A fermentação é uma das técnicas mais antigas utilizadas para conservação dos alimentos no mundo (NEVIN *et al.*, 2019). Essa prática consiste em modificar matérias-primas como frutas, cereais, vegetais ou carnes, mediante a ação de diversos micro-organismos que, através de reações metabólicas, produzem ácidos orgânicos (acético, láctico, butírico e propiônico), dióxido de carbono e álcool e metabólitos antimicrobianos. Essas reações geram modificações nos alimentos, principalmente relacionadas às suas características sensoriais, com componentes que são, também, responsáveis por uma conservação mais prolongada (TAMANG; WATANABE; HOLZAPFEL, 2016; LAVEFVE *et al.*, 2019, VOIDAROU *et al.*, 2020; MARCO *et al.*, 2021).

Como resultado da infinidade de combinações de micro-organismos, existem diversos tipos de alimentos e bebidas fermentados. Entretanto, apesar de inicialmente o processo fermentativo ter como principal objetivo aumentar a vida útil de alguns produtos, atualmente eles têm se tornado mais popular devido aos seus benefícios à saúde. Durante a fermentação acontece melhora do valor nutricional, como por exemplo o favorecimento da digestibilidade proteica e o aumento da produção ou biodisponibilidade de vitaminas. Além disso, os alimentos fermentados com micro-organismos viáveis, quando consumidos regularmente, podem modular a microbiota intestinal (GILLE *et al.*, 2018; DIMID *et al.*, 2019, VOIDAROU *et al.*, 2020).

A produção e veiculação de micro-organismos em alimentos requer uma série de etapas e cuidados a nível industrial, que podem impactar na decisão do consumidor, pois na sua grande maioria, os produtos fermentados são derivados lácteos. Assim, formas artesanais de obtenção desses micro-organismos com matérias-primas distintas para o processo fermentativo, tem sido alvo da busca por pessoas por vários motivos como dietas restritivas, e alternativas para ingestão de alimentos fermentados, seja por alguma patologia ou escolha (GENTRY, 2015; ESPITIA *et al.*, 2016). Nessa perspectiva, alguns produtos fermentados artesanais estão em alta por proporcionarem benefícios já conhecidos pela ingestão de micro-organismos, como exemplo principais são: Kefir (bebida láctea fermentada), Kefir de água (água açucarada fermentada) e a Kombucha (chá açucarado fermentado) (BOURRIE; WILLING; COTTER, 2016; ATALAR, 2019; REIS *et al.*, 2019).

### 3.2 Kefir

O Kefir é o derivado lácteo fermentado mais antigo, com produção e cultura específica, de fácil preparo e economicamente acessível (TAMIME, 2006; SANTOS; BASSOS, 2013). Possui sabor ácido, é viscoso, levemente carbonatado e com baixa concentração de etanol, devido aos micro-organismos, bactérias e fungos, que estão presentes em simbiose nos grãos que lhe dão origem. Devido a essa associação dos grãos, é difícil cultivá-los com manutenção do perfil microbiano constante em qualidade e quantidade, pois vários serão os fatores que poderão influenciar nessa interação, como tempo de fermentação, temperatura, condição de cultivo, entre outros. Além disso, quando isolados, os micro-organismos diminuem sua atividade biológica ou não conseguem se desenvolver. É consumido de maneira tradicional na Europa Oriental, Rússia e sudoeste asiático (LOPITZ-OTSOA *et al.*, 2006; MONTANUCI, 2010, LEITE *et al.*, 2013a).

O Kefir é um produto originado de uma fermentação dupla: láctica e alcoólica. Inicialmente, ocorre a fermentação láctica à temperatura ambiente, com uma proteólise do leite, onde as proteínas são quebradas em peptídeos menores, levando ao acúmulo de aminoácidos. Esse processo faz com que a bebida seja de mais fácil digestão. Após essa fermentação inicial, ocorre a maturação onde ao mesmo tempo em que o álcool e o CO<sub>2</sub> são produzidos, acontece o acúmulo de vitaminas do complexo B característicos do metabolismo das leveduras presentes no processo (LEITE *et al.*, 2013a; SANTOS; BASSOS, 2013). Ao final do processo, o Kefir apresentará ácido láctico, ácido acético, ácido glucônico, etanol, vitamina B<sub>12</sub>, gás carbônico e exopolissacarídeos, que são responsáveis por suas características sensoriais específicas (WESCHENFELDER *et al.*, 2011; LEITE *et al.*, 2012; LEITE *et al.*, 2013b). Os requisitos básicos para os aspectos físico-químicos e microbiológicos estão no Quadro 1.

Quadro 1 – Aspectos físico-químicos e microbiológicos do Kefir.

<b>Físico-químico</b>	Acidez (g de ác. Láctico/100g)	<1,0		
	Etanol (%v/m)	0,5 a 1,5		
	Matéria gorda láctea (g/100g)	Creme		Mínimo 6,0
		Integral		3,0 a 5,9
		Parcialmente desnatado		0,6 a 2,9
		Desnatado		Máximo 0,5
Proteínas lácteas (g/100g)		Mínimo 2,9		
<b>Microbiológico</b>	Contagem de BAL totais (UFC/g)		Mínimo 10 <sup>7</sup>	
	Contagem de leveduras específicas (UFC/g)		Mínimo 10 <sup>4</sup>	

Fonte: Brasil (2007).

Historicamente, o Kefir surgiu em Cáucaso a partir de uma fermentação natural, produto da estocagem do leite em bolsas feitas com pele de animais. Essa mistura era agitada de tempos em tempos até a sua coagulação. Após o consumo do leite fermentado acrescentava-se mais leite para ocorrer o processo novamente. Assim, permanecia na bolsa o resíduo remanescente e esse processo repetitivo deixava um aglomerado de micro-organismos vivos com aparência de couve-flor, o grão, composto por proteínas e polissacarídeos que se adaptavam ao meio e se propagavam (REA *et al.*, 1996; LIU; MOON, 2002; WESCHENFELDER, 2016).

A variabilidade da constituição microbiológica dependendo das características da matéria-prima em que o Kefir esteja em contato, gera dificuldades de padronização de produtos para que sejam comercializados, por esse motivo no Brasil o consumo e cultivo é predominantemente artesanal (LEITE *et al.*, 2013a; LEITE *et al.*, 2013b; WESCHENFELDER, 2016). Entretanto, é considerado biologicamente seguro, devido à produção dos compostos ácidos, diminuindo o pH e atuando como um conservante natural, e bacteriocinas, que inibem a proliferação de micro-organismos patogênicos no meio (WESCHENFELDER *et al.*, 2011; LEITE *et al.*, 2013b; BOURRIE; WILLING; COTTER, 2016).

### 3.2.1 Características do Kefir

Os grãos de Kefir (Figura 1) são amarelos ou esbranquiçados com formas irregulares e superfície multilobular, variando de 0,3 a 3 cm de diâmetro, semelhante à pequenas couves-flores (WESCHENFELDER, 2009; LEITE *et al.*, 2013b) e se multiplicam conforme vão sendo cultivados, podendo ter tanto associações microbianas diferentes, dependendo do local que tenham surgido, como gerando propriedades sensoriais distintas (MIGUEL *et al.*, 2010). A estrutura dos grãos de Kefir é composta por uma matriz de polissacarídeo chamado Kefiran ou Kefirano, que é uma solução aquosa contendo quantidades iguais de D-glucose e D-galactose, que atua como uma matriz sustentadora entre diversos componentes do grão (MAGALHÃES, 2010; LEITE *et al.*, 2013b).

Figura 1 – Grãos de Kefir



Fonte: Própria.

Eles podem atuar em diversas matérias-primas, como leite de vaca, cabra, ovelha e búfala, açúcar mascavo, sucos de frutas, extrato de soja, entre outras. A produção da bebida ocorre diretamente pela adição dos grãos no substrato de preferência, mas, em geral, o sabor e o aroma do Kefir são resultados da atividade metabólica simbiótica dos micro-organismos que os compõem (LEITE *et al.*, 2012).

Essa falta de uniformização tem como possibilidade mais de uma cultura *starter*, ainda que ocorram semelhanças nos estudos sobre os micro-organismos que compõem os grãos (FARNWORTH, 2005; SATIR; GUZEL-SEYDIM, 2016; DERTLI; ÇON, 2017). Em geral os micro-organismos que estão presentes são bactérias ácido lácticas (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, e *Streptococcus spp.*), bactérias ácido acéticas (*Acetobacter*) e

leveduras (*Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Candida* e *Torula*), misturadas a caseína e açúcares (PUERARI; MAGALHÃES; SCHWAN, 2012). Assim, através desses micro-organismos, os principais produtos formados pela fermentação do Kefir são o ácido láctico, o álcool e o CO<sub>2</sub>, cujas quantidades podem variar conforme as matérias-primas, a microbiota, a idade dos grãos e a tecnologia utilizada no processamento (OTLES; CAGINDI, 2003; CARNEIRO, 2010).

Em um estudo usando 10 diferentes culturas de grãos de Kefir e 4 leites de diferentes espécies, foi observado que a concentração de vitaminas solúveis aumentou para mais de 20% em tiamina (Kefir de leite de ovelha), piridoxina (exceto em leite de vaca) e ácido fólico (em 3 das 4 espécies) (KNEIFEL; MAYER, 1991). Em um outro estudo com soro de leite, verificou-se que o teor de proteínas aumentou após a fermentação utilizando grãos de Kefir (FILCHAKOVA; KOROLEVA, 1997). O estudo mostrou que a presença de determinados micro-organismos, *Propionibacterium peterssoni* e *Propionibacterium pituitosuu*, diminuiu o teor de vitamina B12, enquanto que a espécie *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* não só reduziu o teor dessa mesma vitamina como também do ácido fólico. Entretanto, aumentou a quantidade de ácido pantotênico e vitamina B6, ressaltando como a microbiota pode influenciar na composição nutricional (SARKAR, 2007).

Portanto, esse crescimento dependerá de muitos fatores, além dos grãos se desenvolverem mais rapidamente quando não são lavados; quando não são pressionados na peneira e quando o frasco de fermentação é agitado periodicamente durante o processo, da mesma forma que em relatos históricos de como era feito nos primórdios. Já em operações comerciais é recomendado que os grãos de Kefir sejam mantidos viáveis por propagações diárias, devendo ser substituídos caso os micro-organismos não promovam mais a fermentação do leite (FARNWORTH, 2005).

### **3.2.2 Propriedades do Kefir**

O Kefir contém minerais, vitaminas e aminoácidos essenciais que auxiliam no tratamento e manutenção das funções do corpo (CARNEIRO, 2010). É fonte de aminoácidos essenciais, como triptofano, precursor do neurotransmissor serotonina, boa fonte de fósforo, segundo mineral mais abundante no corpo, que auxilia na utilização de carboidratos, lipídeos e proteínas para o crescimento celular, manutenção e energia (OTLES; CAGINDI, 2003). Além disso, são considerados bioativos pela presença dos micro-organismos que estão presentes no fermentado, pelos metabólitos produzidos por eles durante o processo de

fermentação (como as bacteriocinas), ou pela quebra de produtos da matriz alimentar (peptídeos). Todos estes compostos podem ser responsáveis por efeitos benéficos e podem agir independentemente, ou em conjunto, para produzir tais efeitos ao longo do consumo de Kefir (FARNWORTH, 2005).

Durante a produção tradicional do Kefir, mesmo não havendo assepsia na manipulação dos grãos nenhuma contaminação significativa é relatada. Isso ocorre devido à elevada concentração de ácidos e pela presença de substâncias antimicrobianas, como as bacteriocinas. Assim, a ausência de patógenos nos grãos ao longo de todos esses anos do Kefir pode ser justificada (GARROTE; ABRAHAM; DE ANTONI, 2010; LIMA, 2011; LEITE *et al.*, 2013b). Essas características auxiliam no processo de conservação dos alimentos fermentados pelo Kefir. Além disso, estes compostos liberados e acumulados não só afetam o potencial nutricional, mas também o valor biológico do leite fermentado (SIMOVA *et al.* 2006).

Diversos estudos têm relatado a atividade terapêutica do Kefir relacionada à sua própria constituição, como a redução dos efeitos de intolerância à lactose (HERTZLER; CLANCY, 2003; FERNANDES, 2013), a imunomodulação (VINDEROLA *et al.*, 2006; HONG *et al.*, 2009), a proteção contra micro-organismos patogênicos (SANTOS *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2009; CHIFIRIUC; CIOACA; LAZAR, 2011) e o balanço da microbiota intestinal (URDANETA *et al.*, 2007). Estudos também têm demonstrado sua ação anticarcinogênica (LIU; MOON, 2002), especificamente no carcinoma colorretal e no retardo do desenvolvimento do cancro da mama (PAWLOS *et al.*, 2016), ação angiogênica, regulando a pressão arterial, e antiinflamatória (QUIRÓS *et al.*, 2005; PRADO *et al.*, 2016), atividades cicatrizantes (HUSEINI *et al.*, 2012) e regeneração hepática (SCHMIDT; VASS, SZAKALY, 1984).

### **3.3 Extratos vegetais**

Uma das problemáticas nutricionais mais crescentes nos últimos anos está relacionada às alergias alimentares, que afetam adultos e crianças. A prevalência mundial aumentou nas últimas décadas e acometem cerca de 10% da população mundial. No Brasil os dados são escassos e limitados a determinados grupos, gerando dificuldade de uma avaliação mais real (SENNA *et al.* 2018). Aproximadamente 170 alimentos já foram considerados alergênicos, no entanto, cerca de 90% dos casos de alergia de origem alimentar são ocasionados por apenas oito tipos de alimentos, tendo como destaque o leite de vaca. Pessoas

portadoras de alergias relacionadas às proteínas desse produto, conhecida como alergia à proteína do leite de vaca (APLV), são os principais casos e cada vez mais recorrentes (SOLORZANO; SILVA, 2011; GENTRY, 2015).

Além da alergia, ainda sobre o leite de vaca, tem-se a intolerância à lactose, definida pela incapacidade de digerir a lactose devido à deficiência ou ausência da enzima intestinal chamada de lactase (LONGO; WASZCZYNSKYJ, 2009; SOLORZANO; SILVA, 2011; OLIVEIRA, 2013). Entre 10 brasileiros, 7 apresentam intolerância à lactose e cerca de 60% dessa população ainda desconhece a doença, dificultando identificação de tal patologia e conduta adequada (MATTAR; MAZZO, 2010; ABATH, 2013).

Assim, a indústria alimentícia vem desenvolvendo substitutos do leite de vaca para atender não só a demanda do público que tenha a necessidade da substituição devido às patologias associadas ao seu consumo, como para aqueles que optem pela exclusão desse alimento da sua dieta. Essa escolha geralmente se dá pelos baixos ou nenhum teor de gordura e colesterol presentes em extratos vegetais, por serem naturalmente livres de lactose e por possuírem um conteúdo protéico, vitamínico e mineral similar ao do leite (GROETCH *et al.*, 2010). Estima-se que mais de mil novos produtos à base de vegetais foram lançados somente no ano de 2013, e que em 2018 o mercado mundial de bebidas ou extratos à base de vegetais crescerá mais de 15% ao ano (COSTA *et al.*, 2016).

As matérias-primas mais utilizadas para a elaboração de bebidas vegetais são: arroz, aveia, milho, quinoa, amêndoas, castanha, coco, entre outras (CARVALHO *et al.*, 2011; WONG, 2013). Elas apresentam relevância comercial nutricional, além de oferecer aos produtores a possibilidade do custo relativamente baixo, devido ao beneficiamento dos grãos e oleaginosas íntegros gerarem perdas com partes quebradas que possuem o mesmo valor nutricional e funcional. Estas partes, que não se adequariam ao uso habitual do processo, podem ser utilizadas de forma alternativa, para a elaboração das bebidas, agregando valor ao resíduo, permitindo o aproveitamento integral dos produtos (BÔENO, 2014). A composição centesimal desses extratos será determinante para qualquer que seja o uso. O Quadro 2 apresenta a composição de alguns extratos já analisados na literatura, sendo possível observar conteúdos variados dos macro e micronutrientes, dependendo da matéria-prima utilizada.

Quadro 2 – Composição centesimal de extratos vegetais.

Parâmetros (g/100g)	Soja	Arroz integral	Quirera de arroz	Amendoim	Castanha de caju	Castanha de Baru	Grão de bico
Umidade	92,98	94,89	95,11	-	87,11	80,97	92,40
Cinzas	0,84	0,64	0,58	0,26	0,32	1,03	0,60
Proteínas	2,51	0,84	0,73	4,22	2,28	2,82	2,98
Lipídeos	1,05	0,59	0,41	7,84	4,10	4,86	-
Carboidratos	2,62	3,05	3,17	2,24	6,45	10,53	4,83

Fonte: Costa; Santos (2020).

Além disso, a forma de elaboração dos extratos irá variar conforme a matéria-prima a ser utilizada. Alguns requerem poucas operações unitárias para o seu processamento, como para as castanhas, outras, como o coco, necessitam da trituração da polpa com água, seguido da prensagem separando a parte líquida, da parte sólida. Já o de soja, por sua vez, requer algumas etapas a mais, como hidratação dos grãos, cozimento, homogeneização com água, filtração e tratamento térmico (MORAIS *et al.*, 2010; SOARES JÚNIOR *et al.*, 2010).

### 3.3.1 Extrato hidrossolúvel de arroz

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais mais antigos, consumido em todo o mundo, considerado um dos alimentos mais relevantes para a população mundial, com uma produção em 2014 de 475.500 toneladas (COSTA *et al.*, 2016). Essa relevância está associada ao fato do arroz ser base das refeições de grande parte da sociedade e pela facilidade de cultivo, sendo realizada em diversos países. No Brasil sua produção acontece na maioria dos estados, mas principalmente nas regiões que estão entre o Centro-Oeste e o Sul, estando entre os 10 maiores produtores do mundo (SOARES *et al.*, 2010; CARVALHO *et al.*, 2011; RIOS *et al.*, 2015).

Esse grão é constituído por, aproximadamente, 90% de amido e em torno de 7% de proteína, apresenta baixos teores de lipídios, sais minerais (fósforo, ferro e cálcio) e vitaminas do complexo B. Sua proteína é considerada de alta qualidade por conter oito aminoácidos essenciais ao homem e apresenta boa digestibilidade. Devido à isenção de glúten, o arroz é pouco alergênico e pode ser consumido sem apresentar problemas, sendo mais comercializado na forma *in natura*. Entretanto, pode ser utilizado em produtos processados destinados para pessoas portadoras de doença celíaca, dentre os quais estão farinha de arroz,

creme de arroz, arrozina, arroz integral em pó e seus derivados e a bebida de arroz. Além do uso em formulações de alimentos infantis e em outros alimentos como fonte de amido (BASSINELLO; CASTRO, 2004; SOARES *et al.*, 2010).

Os extratos a base de arroz podem ser uma alternativa vantajosa por terem um custo relativamente baixo para a produção e para pessoas que apresentem alguma patologia relacionada ao leite de vaca, uma vez que se assemelha a este em relação à cor, consistência e por apresentar sabor suave devido a sua composição, favorecendo o consumo pelas suas propriedades sensoriais (SOARES *et al.*, 2010; COSTA *et al.*, 2016).

Embora escassos, alguns estudos têm demonstrado que os extratos de arroz podem ser utilizados em substituição ao leite, para que seja possível atender a busca de pessoas que apresentem alguma restrição alimentar, ou para aquelas que estejam em busca de alimentos saudáveis ricos em nutrientes (SOARES *et al.*, 2010; CARVALHO *et al.*, 2011; BENTO; SCAPIM; AMBROSIO-UGRI, 2012).

Carvalho *et al* (2011) avaliando as características físico-químicas de extratos de arroz integral, quirera de arroz e soja, observaram que apesar do valor nutricional dos extratos provenientes de arroz ser menor que os obtidos com a soja, exceto para carboidratos, foram considerados alternativas viáveis em relação a substituição do leite ou mesmo da soja, pois ambos têm potencial alergênico.

Um estudo com extratos de arroz branco, integral e soja saborizados com polpa de maracujá, verificou que apesar da diferença em relação ao valor nutricional, a bebida obtida com extrato de arroz integral foi a que obteve notas mais altas em todos os atributos avaliados, destacando a sua preferência em relação ao atributo sabor. Além disso, também apresentou a maior média em relação à intenção de compra (SOARES *et al.*, 2010).

Já em outro trabalho, para melhorar o valor nutricional atribuído ao extrato de arroz, principalmente em relação ao perfil protéico, foram elaboradas 3 formulações utilizando quinoa. A bebida elaborada foi saborizada com cacau e adicionada de alfarroba para auxiliar no produto como espessante. Através de escala hedônica ancorada em 9 pontos, todos os atributos analisados: aparência, aroma, textura e sabor não obtiveram diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre as formulações. Entretanto, as notas para os mesmos não foram acima de 7,0, indicando na escala que estavam abaixo do gostei moderadamente. Assim, os autores chegaram a conclusão que o produto pode ser utilizado como alternativa para os consumidores de maneira geral, porém, precisaria ser aperfeiçoado para uma melhor aceitação (BENTO; SCAPIM; AMBROSIO-UGRI, 2012).

### 3.3.2 Extrato hidrossolúvel de amêndoas

As amêndoas de castanha de caju são alimentos reconhecidos pelo seu sabor característico e pelas qualidades nutricionais relevantes. Em geral apresentam elevados teores de lipídios, onde predominam os ácidos graxos insaturados, uma porção considerada de proteína com alto valor biológico (como a metionina, por exemplo) e alguns minerais peculiares a elas em qualidade e quantidade (MACHADO, 2017).

As castanhas podem ser consumidas de várias formas, ou seja, *in natura*, desidratada, salgada, tostada, cobertas com vários tipos de coberturas. Também podem ser utilizadas em produtos como granolas, sorvetes, chocolates, bolos, doces e biscoitos e como farinha (FERBERG *et al.*, 2002). Entretanto, nesses processos, podem ser geradas perdas significativas em função do nível de exigência dos importadores. A qualidade em relação aos parâmetros como: integridade, tamanho, cor e sabor são atribuídos pelos mesmos, gerando desperdício de matéria-prima que podem ser utilizados para a elaboração de extratos vegetais (MORAIS *et al.*, 2010).

Os extratos de castanha já são estudados há algum tempo, mas ainda de forma discreta. Ferberg *et al.* (2002) avaliaram as condições da extração e qualidade do extrato da castanha do Brasil, assim como a doçura adequada do produto, para que houvesse uma melhor aceitação por parte dos consumidores. Utilizando essa mesma castanha, Cardarelli e Oliveira (2000) avaliaram formas de conservação desse extrato, onde o mesmo se mostrou estável com o processo de pasteurização seguido pela refrigeração por 30 dias. Entretanto, quando adicionado conservante, o produto se manteve dentro dos mesmos parâmetros por 180 dias. Já Morais (2015), para melhorar a aceitação dos extratos de castanha utilizou alfarroba em substituição ao cacau (2 g/100 mL), verificando ao final uma boa aceitação do produto elaborado.

Considerando o alto valor nutricional da castanha de caju e sua grande disponibilidade no nordeste do Brasil, um estudo foi realizado para verificar as melhores condições de obtenção do extrato a partir dessa matéria-prima, que avaliou a aceitabilidade com os consumidores que se deu de forma satisfatória em todos os atributos avaliados (MORAIS, 2009). No ano seguinte, Morais *et al.* (2010) avaliaram a mesma bebida adicionada de suco concentrado de manga, demonstrando novas possibilidades de uso desses produtos, com resultados satisfatórios para aceitabilidade.

### 3.3.3 Extrato hidrossolúvel de coco

Alternativas de bebidas vegetais são as sintetizadas à base de leite de coco. Seu cultivo começou com a chegada dos portugueses no Brasil e sua produção concentrava-se no estado da Bahia. Posteriormente, difundiu-se pelo litoral nordestino, onde encontrou condições de um clima tropical favorável para o seu cultivo, logo depois se adaptou para as demais regiões do país. O coco é rico em aminoácidos essenciais e livre de colesterol (CARVALHO; COELHO, 2009; MARTINS; JESUS, 2011). Além disso, possui duas moléculas de cisteína, que representa um potente poder antioxidante e antitóxico, no qual participa como cofator de várias enzimas, protegendo o corpo contra metais pesados (CARVALHO; COELHO, 2009).

Apesar do extrato de coco ser um dos produtos mais antigos comercializados, não há muitos estudos que envolvam a pesquisa sobre essa bebida. Os estudos que os utilizam não preparam o extrato, usam os comerciais e tentam fazer alguma adaptação, como o leite condensado elaborado a partir do extrato de coco (ONE, 2017).

### 3.4 Bebidas vegetais fermentadas por Kefir

Algumas bebidas vegetais já foram testadas com fermentações a partir de cepas de micro-organismos específicas já utilizadas na obtenção de produtos alimentícios (ISANGA; ZHANG, 2009; CARVALHO *et al.*, 2011; RINALDONI *et al.*, 2012; KIZZIE-HAYFORD *et al.*, 2016; ZANNINI *et al.*, 2018). A partir dessa idéia o Kefir passou a ser uma possibilidade de micro-organismos fermentadores desses extratos e alguns trabalhos estão sendo desenvolvidos na tentativa de viabilizar e confirmar essa via de fermentação, assim como caracterizar esses novos produtos. Entretanto, utilizando o Kefir, principalmente de leite, como fermentador, os trabalhos ainda são escassos.

Nos estudos as bebidas vegetais fermentadas por Kefir apresentam características sensoriais e nutricionais variáveis e dependentes da composição nutricional de cada substrato, pois como o Kefir é uma associação simbiótica de bactérias e leveduras o produto final será resultado da atividade metabólica adaptativa desenvolvida por esses micro-organismos. Conseqüentemente, os benefícios desenvolvidos pelo Kefir também podem ser diferentes e dependentes das características de cada matéria-prima (SATIR; GUZEL-SEYDIM, 2016; COSTA; SANTOS, 2020).

Deeseenthum, Luang-In e Chunchom (2018) avaliaram as características antioxidantes e antiinflamatórias de uma espécie de arroz pigmentado fermentado por Kefir de leite. Além de ambas as atividades serem maiores no fermentado do arroz pigmentado em comparação ao Kefir no substrato original (leite), ainda foram avaliados parâmetros triviais do Kefir e verificou-se que o ácido láctico surgiu mais rapidamente no Kefir de leite (24 - 48 h). Entretanto, concentrações de álcool foram evidenciadas primeiramente no fermentado de arroz (24 - 48 h) em comparação ao Kefir tradicional (72 h), ressaltando que o comportamento desses micro-organismos pode modificar a partir dos substratos disponíveis para a fermentação, bem como os metabólitos secundários dessa via.

Corroborando com o relatado no estudo acima, um trabalho, também comparativo, com lentilhas germinadas e não germinadas que foram fermentadas por Kefir, demonstraram não só que o processo de germinação como a fermentação aumentaram tanto o valor nutricional, quanto a quantidade de compostos fenólicos e atividade antioxidante (propriedades funcionais) desses produtos (GUNENC *et al.*, 2017).

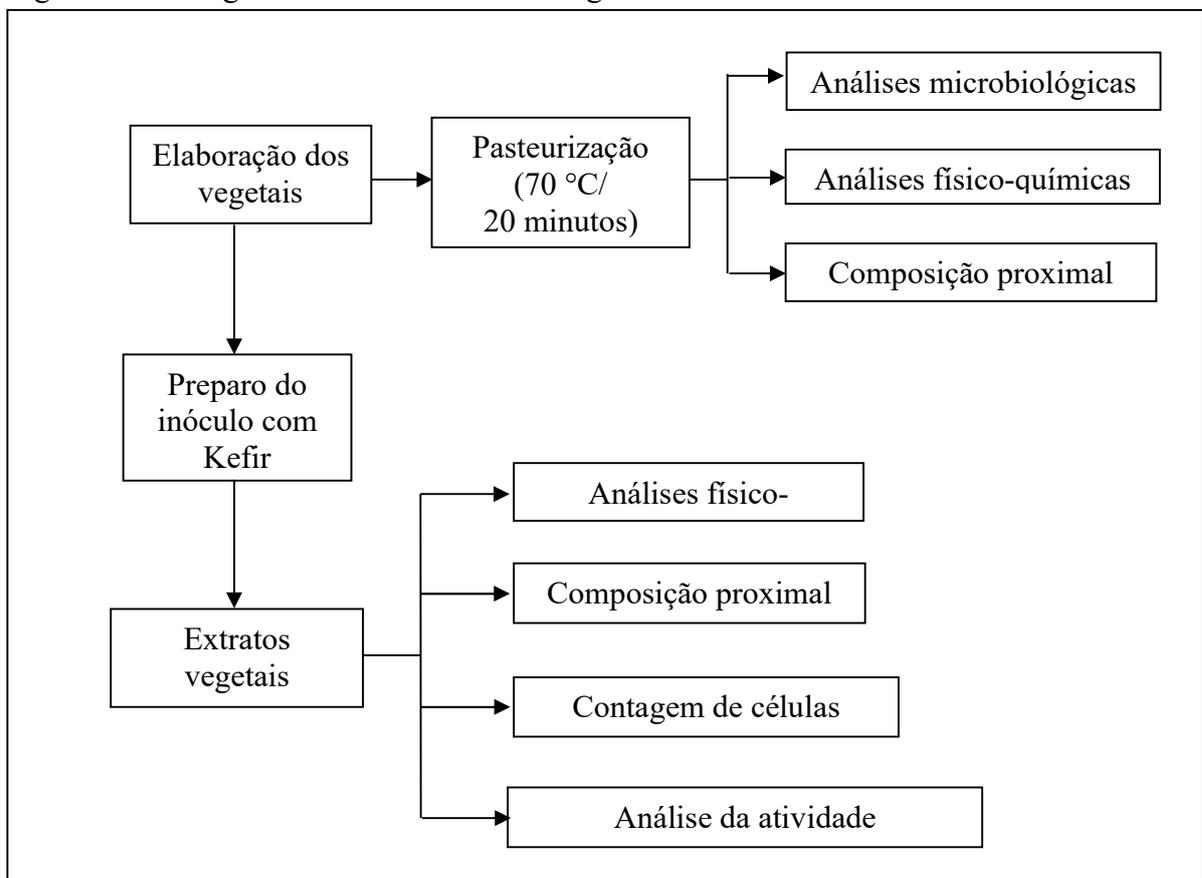
Utilizando extrato de soja como substrato do processo fermentativo para Kefir, foi verificado que alguns parâmetros tiveram comportamento similar tanto para o Kefir de leite, quanto para o Kefir de soja. Além disso, foi possível analisar que a microbiota do Kefir não foi afetada quando houve a mudança do leite para o extrato de soja (NOBERTO *et al.*, 2018). Sendo assim, é possível observar que os micro-organismos são adaptáveis a novos substratos e podem gerar novos produtos fermentados sem o comprometimento da sua microbiota inicial, garantindo benefícios já estabelecidos por eles.

A partir de extratos de seis frutas diferentes do mediterrâneo foram realizadas fermentações com Kefir e observou-se que tanto as bactérias quanto as leveduras conseguiram se desenvolver nos sucos. Além disso, o comportamento foi similar ao Kefir na sua matriz tradicional, com algumas exceções de poucos parâmetros analisados, ressaltando a capacidade de adaptação desses micro-organismos. Nesse mesmo trabalho a análise sensorial demonstrou que dentre os fermentados o de 2 frutas especificamente, uva e maçã, obtiveram as notas mais altas (5,2 e 4,7), com diferença estatística para as demais frutas analisadas. Portanto, o estudo enalteceu o alto valor agregado das bebidas à base de Kefir, além das suas propriedades funcionais em função das matrizes utilizadas (RANDAZZO *et al.*, 2016).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados conforme o fluxograma apresentado na Figura 2, no Laboratório de Carnes e Pescado do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará (UFC), nos Laboratórios de Bromatologia, Análise Sensorial, Microbiologia e Tecnologia de Alimentos do Centro Universitário Estácio do Ceará, localizados no município de Fortaleza – CE.

Figura 1 – Fluxograma do desenho metodológico.



Fonte: Própria.

### 4.1 Material

As matérias-primas: arroz branco, arroz integral, coco, castanha de caju e castanha do Pará utilizadas para elaboração dos extratos vegetais foram adquiridas no comércio local de Fortaleza (CE), já o Kefir foi obtido de um grupo que cultiva e distribui para os interessados na cidade de Fortaleza (CE).

## 4.2 Metodologia

### 4.2.1 Extratos vegetais

As metodologias para obtenção dos extratos vegetais foram realizadas de diferentes formas, dependendo da matéria-prima utilizada, conforme processos já descritos para consumo de tais produtos. A seguir apresenta-se a forma de produção de cada um deles.

- Arroz (branco e integral): inicialmente os grãos de arroz foram lavados em água potável corrente, a fim de eliminar possíveis sujidades físicas. Na sequência, em uma panela de aço inox, foram adicionados o arroz e a água (na proporção de 1:4 (p/v)) e realizado o cozimento em fogão doméstico com panela sem tampa durante um tempo médio de 15 minutos, para o arroz branco, e 30 minutos, para o arroz integral. Após a cocção, o arroz cozido foi pesado e a sua desintegração realizada em liquidificador na proporção de 1 (uma) parte do arroz cozido para 2 (duas) partes de água, durante 3 minutos. O homogeneizado resultante foi filtrado em uma peneira de aço inox (50 mesh), obtendo-se, assim, o extrato hidrossolúvel de arroz (CARVALHO *et al.*, 2011; BENTO; SCAPIM; AMBROSIO-UGRI, 2012);

- Castanha de caju e do Pará: Os extratos foram produzidos triturando-se amêndoas da castanha de caju cruas selecionadas com a proporção de água mineral de 1:6. Após a trituração, realizou-se a centrifugação (BIOMED/4004) por 30 segundos em baixa rotação para a remoção dos componentes mais grosseiros (resíduo) que poderiam sedimentar durante o armazenamento (MORAIS *et al.*, 2010);

- Coco: O endosperma de coco fresco foi misturado com água destilada à 70 °C na proporção de 1:2 (p/p) em um processador doméstico. A pasta obtida foi filtrada em gaze pressionada para obter a maior quantidade de extrato possível (OCHOA-VELASCO; CRUZ-GONZALEZ; GUERREO-BELTRAN, 2014).

Todos os extratos obtidos foram envasados em embalagens de vidro âmbar com capacidade para 500 mL, previamente esterilizadas em autoclave (121 °C / 15 minutos). Em seguida, foram pasteurizadas à 72 °C ± 2°C por 20 (MORAIS *et al.*, 2010) minutos em banho-maria (QUIMIS/334M), submetidas à choque térmico em banho de gelo e armazenadas sob refrigeração (5 °C ± 2).

#### ***4.2.1.1 Composição proximal dos extratos vegetais***

A composição proximal dos extratos vegetais foi realizada através da determinação dos parâmetros: umidade, cinzas, proteínas e lipídios totais de acordo com AOAC (2016). A porcentagem de carboidratos totais foi calculada por meio do método de diferença, onde os carboidratos totais são iguais a cem menos os valores de umidade, cinzas, lipídios e proteínas (todos em base úmida).

#### ***4.2.1.2 Valor energético***

Para a determinação do valor energético foram utilizados os fatores de conversão de Atwater de 9 kcal/g para lipídios e 4 kcal/g para proteína e carboidratos totais, segundo Wilson, Santos e Vieira (1982).

#### ***4.2.1.3 Caracterização físico-química dos extratos vegetais***

As amostras de extratos vegetais foram analisadas em intervalos de 12 horas, durante os primeiros 3 dias, armazenadas sob refrigeração (4 °C), além do 10º, 15º e 20º dia, para verificar a estabilidade dos produtos. Os parâmetros físico-químicos realizados foram:

- pH: os valores de pH foram determinados de acordo com a AOAC (2006). Foi transferido 20 mL da amostra para um béquer de 100 mL e o pH foi verificado por determinação direta na amostra através de pHmetro (QUIMIS/Q400A), previamente calibrado com solução tampão 7,0 e 4,0 (conforme instrução do fabricante);

- Sólidos solúveis: o teor de sólidos solúveis totais foi medido pelo método de refratometria, o qual consiste em colocar a amostra em uma lente do refratômetro (ATAGO, POCKET), em temperatura de 20 °C lida diretamente na escala graus Brix. Este teor expressa de maneira indireta a quantidade de açúcares solúveis totais encontrados em matérias primas, ou seja, o grau de doçura da amostra analisada (MORETTO, 2008);

- Umidade: o método consistiu em levar as amostras à 105 °C em estufa (MARCONI, MA037), até peso constante e, posteriormente, resfriá-las em dessecador por 30 minutos e pesá-las (IAL, 2008);

- Cor: a avaliação objetiva da cor foi realizada na superfície dos extratos através do colorímetro digital (CHROMA METER, CR-400/410), que foi descrita através das

coordenadas de cromaticidade: L\* (luminosidade), a\* (intensidade de vermelho a verde), e b\* (intensidade de amarelo a azul).

#### ***4.2.1.4 Qualidade microbiológica dos extratos vegetais***

A qualidade dos extratos foi estabelecida através da análise dos micro-organismos: coliformes termotolerantes, *Salmonella* sp., bolores e leveduras e aeróbios mesófilos (BRASIL, 2001). As metodologias de análises adotadas seguiram o *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (APHA, 2001).

#### ***4.2.2 Extratos vegetais fermentados***

##### ***4.2.2.1 Preparo do inóculo***

Os inóculos foram adaptados aos substratos (extratos hidrossolúveis) com 5% de inóculo e trocas diárias dos substratos. Essa adaptação foi feita à 25 °C em BOD por 24 horas durante 7 dias (FIORDA *et al.*, 2016).

##### ***4.2.2.2 Fermentação dos extratos vegetais hidrossolúveis***

As amostras de extratos vegetais fermentados foram analisadas em intervalos de 12 horas, durante o período de 3 dias, armazenadas sob refrigeração (4 °C). Os parâmetros físico-químicos realizados foram os mesmos descritos no item 4.2.1.3. Também foram determinadas as composições dos extratos fermentados como no item 3.2.1.1, após 24 horas.

##### ***4.2.2.3 Contagem de células viáveis nos extratos vegetais fermentados por Kefir***

A contagem de bactérias ácido lácticas totais, leveduras e aeróbios mesófilos foi realizada pelo método de plaqueamento em superfície a partir de diluições decimais sucessivas das amostras (CARVALHO, 2011).

Para as bactérias ácidos lácticas, inoculou-se 0,1 mL das diluições de  $10^{-5}$  a  $10^{-7}$  na superfície de cada placa de Petri contendo 15 a 20 mL de ágar MRS (Man Rogosa & Sharpe). As placas foram incubadas à 22°C em estufa incubadora tipo BOD (TECNAL/TE-391) durante 48 a 72 horas.

Na contagem de leveduras totais foram utilizadas às diluições  $10^{-4}$  a  $10^{-6}$  em placas contendo Agar Batata acidificado e foram incubadas à 22°C em estufa incubadora tipo BOD (TECNAL/TE-391) durante 3 a 5 dias. Em seguida, foi feita a visualização em microscópio (NIKON/ECLIPSE/E200) para confirmação das leveduras.

Para aeróbios mesófilos foi inoculado 0,1 mL das diluições  $10^{-3}$  a  $10^{-5}$  em Ágar Padrão e foram incubadas à 35 °C durante 24 a 48 horas para posteriormente serem realizadas as contagens.

#### **4.2.2.4 Estudo da atividade antimicrobiana dos extratos hidrossolúveis fermentados**

Os extratos fermentados por Kefir foram filtrados em membrana 0,22U (MERCK MILLIPORE), para remoção de micro-organismos presentes, e avaliados quanto à possível atividade antimicrobiana por meio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bacteriostática mínima (CBM). Para as técnicas foi utilizando o método de microdiluição em microplacas de acordo com a Norma M7-46 (NCCLS, 2005).

Os micro-organismos patogênicos testados foram as cepas bacterianas de *Escherichia coli* (ATCC 8739) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e o meio utilizado no ensaio foi o caldo BHI (*Brain heart infusion*).

Para as determinações da CIM e CBM, as cepas foram repicadas em caldos estéreis e incubadas à 37 °C até atingirem fase exponencial de crescimento (4 a 6 horas). Em seguida, a densidade celular das suspensões foi ajustada, utilizando-se o meio de cultivo, de modo a obter a turbidez equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL) ou até a densidade ótica de 600 nm ( $DO_{600nm}$ ) entre 0,08 e 0,1. Por fim, as suspensões foram diluídas 100 vezes resultando na concentração final de  $10^6$  UFC/mL.

Os testes foram realizados com adição de 200 µl de diluições com porcentagens de extratos fermentados de 50, 25, 12,5, 6,25 e 3,13%. As diluições foram distribuídas em microplacas estéreis e após 24 h de incubação à 37 °C a turbidez dos poços foram avaliadas por leitura à 600 nm em leitor de microplaca (SYNERGY HT BIO-TEK, WINOOSKU, US). A CIM é a menor concentração da amostra capaz de inibir completamente o crescimento microbiano mediante inspeção a olho nu pela ausência de turvação visível nos poços. Já a CBM é a menor concentração de agente antibacteriano/antimicrobiano capaz de inativar completamente o crescimento microbiano. Para saber sobre a CIM e CBM é realizado um sub-cultivo de cada poço em que não houve crescimento microbiano na placa. Assim, é

verificado se esse crescimento não ocorre somente na presença do agente antibacteriano (bacteriostático) ou se o contato com o agente provocou a morte bacteriana (bactericida).

#### ***4.2.4 Análise estatística***

As análises foram realizadas em triplicata e os dados foram expressos com média  $\pm$  desvio padrão. Os resultados das análises em função do tempo foram analisados através de regressão linear e teste de diferença de média (Tukey). Os dados foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e Tukey ( $p < 0,05$ ) utilizando o *software* Statistica 7.0.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Composição proximal e valor energético

Os resultados médios obtidos da composição proximal dos extratos vegetais pasteurizados (70 °C/20 minutos) e dos extratos vegetais fermentados por Kefir estão na Tabela 1 e 2, respectivamente.

Dentre os cinco extratos elaborados pasteurizados, as maiores quantidades de carboidratos foram verificadas no arroz branco,  $10,05 \pm 0,04$  g, e no arroz integral,  $9,43 \pm 0,10$  g ( $p < 0,05$ ). Em relação às proteínas, o maior percentual ( $p < 0,05$ ) foi encontrado na amêndoa de castanha de caju ( $2,01 \pm 0,09$  g). Valores elevados ( $p < 0,05$ ) de cinzas estavam presentes no extrato de coco, assim como em relação aos lipídios, resultando no maior valor calórico total ( $83,07 \pm 4,07$  g). Dessa forma, as três origens diferentes dos extratos apresentam composições distintas, justificadas pela composição das matérias-primas, que são oriundas de alimentos com características variáveis, além da proporção matéria-prima/solvente diferentes nos processos de extração.

Após a adaptação do Kefir em cada extrato vegetal, foi realizada a composição proximal dos líquidos fermentados por 24 horas (Tabela 2). Comparando os resultados obtidos com os valores dos extratos não fermentados (Tabela 1), pode-se observar que dependendo da fonte vegetal o processo fermentativo se encontra em momentos distintos em relação ao metabolismo microbiano, com produção e/ou utilização de substratos.

Tabela 1 – Valores médios e desvio padrão da composição proximal (%) e valor calórico (Kcal) dos extratos vegetais pasteurizados (70 °C/20 minutos).

Extratos	Carboidratos	Proteína	Lipídios	Umidade	Cinzas	Valor calórico
<b>A.B.</b>	10,05 ± 0,04 <sup>A</sup>	0,77 ± 0,04 <sup>D</sup>	0,04 ± 0,00 <sup>D</sup>	88,93 ± 0,01 <sup>B</sup>	0,211 ± 0,002 <sup>B,C</sup>	43,67 ± 0,04 <sup>C</sup>
<b>A.I.</b>	9,43 ± 0,10 <sup>B</sup>	0,98 ± 0,02 <sup>C</sup>	0,09 ± 0,02 <sup>D</sup>	89,37 ± 0,01 <sup>D</sup>	0,140 ± 0,121 <sup>C</sup>	42,39 ± 0,52 <sup>C</sup>
<b>C.</b>	1,04 ± 0,05 <sup>C</sup>	1,01 ± 0,02 <sup>C</sup>	8,32 ± 0,45 <sup>A</sup>	89,24 ± 0,45 <sup>C,D</sup>	0,397 ± 0,012 <sup>A</sup>	83,07 ± 4,07 <sup>A</sup>
<b>C.C.</b>	0,66 ± 0,03 <sup>D</sup>	2,01 ± 0,09 <sup>A</sup>	3,46 ± 0,00 <sup>C</sup>	92,31 ± 0,01 <sup>A</sup>	0,236 ± 0,002 <sup>B,C</sup>	41,85 ± 0,22 <sup>C</sup>
<b>C.P.</b>	0,62 ± 0,04 <sup>D</sup>	1,62 ± 0,05 <sup>B</sup>	6,46 ± 0,16 <sup>B</sup>	89,73 ± 0,01 <sup>C</sup>	0,347 ± 0,001 <sup>A,B</sup>	67,06 ± 1,18 <sup>B</sup>

A.B: Arroz branco; A.I.: Arroz integral; C.: Coco; C.C.: Castanha de caju; C.P.: Castanha do Pará.

<sup>A,B,C,D</sup> Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si (p<0,05).

Tabela 2 – Valores médios e desvio padrão da composição proximal (%) e valor calórico (Kcal) dos extratos vegetais fermentados.

Extratos	Carboidratos	Proteínas	Lipídios	Umidade	Cinzas	Valor calórico
<b>A.B.</b>	7,84 ± 0,02 <sup>B</sup>	0,44 ± 0,08 <sup>D</sup>	0,02 ± 0,00 <sup>D</sup>	91,68 ± 0,01 <sup>B</sup>	0,024 ± 0,008 <sup>E</sup>	33,30 ± 0,03 <sup>D</sup>
<b>A.I.</b>	9,86 ± 0,02 <sup>A</sup>	0,91 ± 0,03 <sup>C</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>D</sup>	88,99 ± 0,03 <sup>C</sup>	0,154 ± 0,007 <sup>D</sup>	43,89 ± 0,02 <sup>C</sup>
<b>C.</b>	1,22 ± 0,13 <sup>D</sup>	0,98 ± 0,03 <sup>C</sup>	5,32 ± 0,45 <sup>C</sup>	92,13 ± 0,05 <sup>A</sup>	0,348 ± 0,009 <sup>C</sup>	56,68 ± 0,20 <sup>B</sup>
<b>C.C.</b>	2,97 ± 0,02 <sup>C</sup>	3,24 ± 0,07 <sup>A</sup>	6,57 ± 0,00 <sup>B</sup>	86,83 ± 0,01 <sup>E</sup>	0,393 ± 0,009 <sup>B</sup>	83,97 ± 0,03 <sup>A</sup>
<b>C.P.</b>	1,40 ± 0,06 <sup>D</sup>	2,20 ± 0,10 <sup>B</sup>	7,97 ± 0,11 <sup>A</sup>	87,93 ± 0,03 <sup>D</sup>	0,504 ± 0,004 <sup>A</sup>	86,13 ± 0,09 <sup>A</sup>

A.B: Arroz branco; A.I.: Arroz integral; C.: Coco; C.C.: Castanha de caju; C.P.: Castanha do Pará.

<sup>A,B,C,D,E</sup> Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si (p<0,05).

Avaliando diferentes formas de obtenção de extratos hidrossolúveis com castanha do Pará, resultados semelhantes ao presente estudo foram verificados: proteína (1,5%), lipídios (6,2%) e cinzas (0,3%); quando utilizada a temperatura ambiente (25 °C) da água para elaborar o extrato e uma diluição mais elevada na proporção castanha:água (1:8) (FERBERG *et al.*, 2002). Ao avaliar outra forma de obtenção do extrato de castanha do Pará, onde foi inicialmente elaborada uma torta com as castanhas e posteriormente feito o extrato, com a proporção de 1:2 (torta:água). As quantidades de nutrientes variaram: proteína com aproximadamente 21,5% e lipídios em média 5,2% (CARDARELLI; OLIVEIRA, 2000). A relativa novidade atrelada aos extratos vegetais e a falta de padronização na forma de obtenção dos extratos, justifica a divergência em diferentes estudos realizados, pois o preparo envolvido nessa extração será fundamental para obter uma maior quantidade de nutrientes. Esses aspectos reforçam a necessidade de estudos que avaliem desde diferentes métodos de produção até suas aplicações para a determinação das melhores condições em cada um dos processos envolvendo elaboração e uso desses extratos. Especialmente, por conta do potencial tanto para seu consumo direto quanto para o desenvolvimento de tecnologias como as de revestimento de alimentos com ação antimicrobiana.

Em um estudo mais detalhado das condições para melhor extração da bebida proveniente da amêndoa de castanha de caju, Morais (2009) analisou a influência da água e da temperatura em relação à composição do extrato. Foi verificada uma relação inversamente proporcional dos parâmetros citados acima em função do teor de proteínas. Para os lipídios, a água foi inversamente proporcional, enquanto a temperatura não mostrou influência sobre tal nutriente. Para os carboidratos, pode-se identificar que a menor quantidade de água foi responsável pela maior quantidade de carboidratos, enquanto para a temperatura obtiveram-se os melhores resultados nos extremos estudados (20 e 100 °C). Assim, este estudo corrobora com fatores que podem influenciar na quantidade dos nutrientes que será obtida a depender do processo.

As bebidas com maiores valores energéticos (Tabela 1) foram a de coco, seguida da castanha do Pará, pela predominância de lipídios em ambas. Entretanto, a composição de ácidos graxos entre elas é diferente, enquanto no estudo de Machado (2017), a castanha apresentou um perfil predominante de ácidos graxos insaturados, no trabalho de Carvalho e Coelho (2009) o coco foi constituído por boa parte de saturados. Todos esses fatores podem resultar em processos fermentativos com metabólitos específicos para cada extrato obtido, que irão não só interferir nas características do produto, como nas propriedades funcionais atribuídas a eles.

O leite de vaca apresenta em sua composição 87,2% de umidade, 5,92% de carboidratos, 2,93% de proteínas, 3,23% de lipídios e 0,67% de sais minerais, com um valor calórico de 64 kcal (TBCA, 2020). Os extratos vegetais apresentam alguns valores similares aos nutrientes analisados quando comparados ao leite. Entretanto, não há um extrato vegetal que se assemelhe ao perfil nutricional de maneira completa ao do leite. Além disso, vale ressaltar que não só as quantidades, mas os tipos de aminoácidos, o perfil de ácidos graxos e os carboidratos presentes deverão ser avaliados, para que possa ser feita uma relação com o crescimento microbiano, processo fermentativo e prováveis alterações nas características sensoriais do produto, como acontece no derivado lácteo fermentado por Kefir.

No extrato de arroz branco e integral fermentado, verifica-se que a maioria dos nutrientes se encontra em valores abaixo da bebida não fermentada, indicando que possivelmente os micro-organismos presentes estão utilizando os substratos para o processo fermentativo. No arroz branco, o processo está em níveis mais avançados e no integral, nas 24 horas, o processo aconteceu, porém não houve o consumo dos nutrientes da mesma forma. Comportamento também observado no extrato de coco, entretanto, a redução ocorre substancialmente no teor de lipídios, componente predominante, indicando o uso do mesmo pelos micro-organismos do Kefir, demonstrando a capacidade adaptativa desse grupo. Estes micro-organismos podem produzir lipase para utilização de lipídios como substrato, liberando outros compostos, causando essa diminuição (MAGALHÃES, 2010).

Comparando o extrato pasteurizado em relação aos extratos fermentados das amêndoas de castanhas, o aumento de todos os nutrientes avaliados sugere que o processo fermentativo não está ocorrendo de forma significativa após 24 horas. Essa elevação pode ocorrer em função do aumento da biomassa microbiana e de toda matriz de polissacarídeos, onde parte dessa produção acaba sendo determinada juntamente com o líquido obtido.

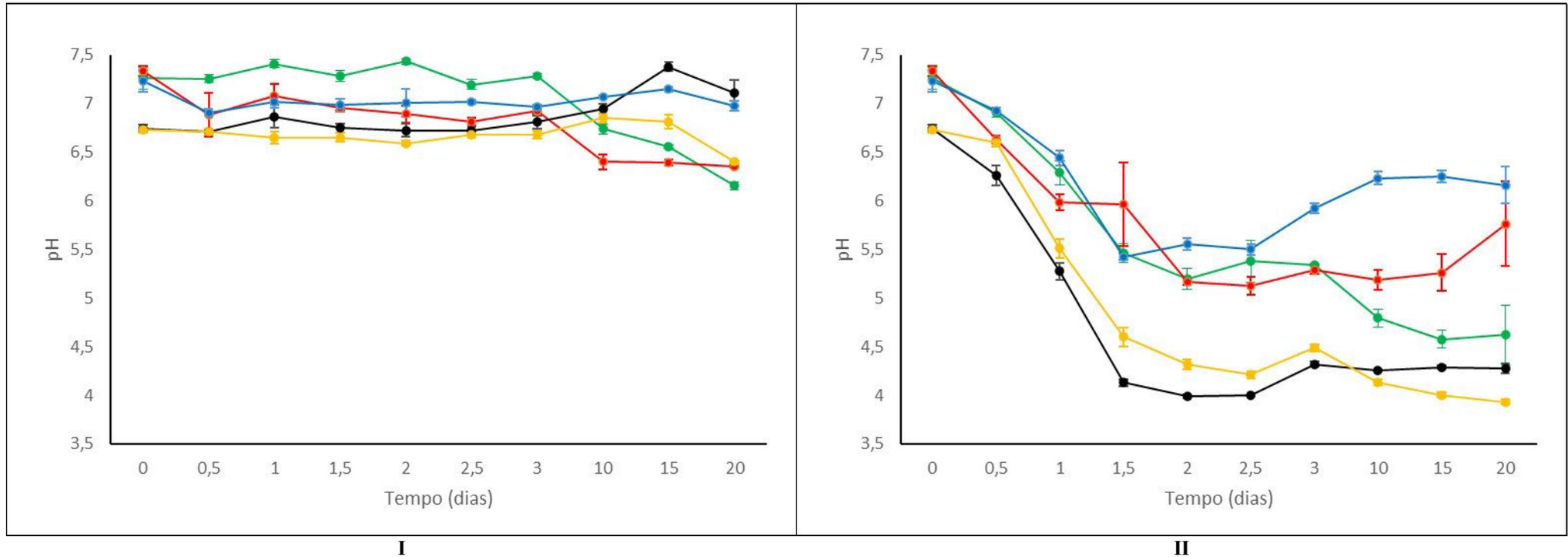
Os parâmetros físico-químicos e a contagem dos micro-organismos nos extratos fermentados esclarecem o comportamento do Kefir nas diferentes matérias-primas. Esse comportamento diferenciado pode ser explorado dependendo da aplicação que se deseja, oferecendo dessa forma, diversas opções de uso com o estudo direcionado de cada um dos extratos aqui avaliados. O presente trabalho servirá de ponto de partida para estudos com aplicações direcionadas.

## **5.2 Análise físico-química dos extratos**

### **5.2.1 pH**

Na Figura 3 estão expressos os resultados da análise do pH das cinco formulações dos extratos vegetais pasteurizados (I) e os fermentados por Kefir (II), durante 20 dias de armazenamento sob refrigeração. Os pHs dos extratos pasteurizados não apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para os extratos de amêndoas de castanhas (caju e Pará). Entretanto, após o processo fermentativo dos extratos vegetais por Kefir, o único que não apresentou relação com o tempo ( $p > 0,05$ ) foi o extrato de castanha do Pará.

Figura 3 – Valores médios e desvio padrão do pH dos extratos vegetais pasteurizados (I) e dos extratos fermentados por Kefir por 24 horas (II) durante 20 dias sob refrigeração (4 °C).



- Arroz branco (I-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,97$  / II-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,46$ );
- Arroz integral (I-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,72$  / II-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,32$ );
- Coco (I-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,82$  / II-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,38$ );
- Castanha de caju (I-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,23$  / II-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,58$ );
- Castanha do Pará (I-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,08$  / II-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,34$ ).

Fonte: Própria.

Avaliando os resultados ao longo do tempo, o extrato pasteurizado de arroz branco se manteve estável por 12 horas, os de coco e castanha de caju até 24 horas. Já os extratos de arroz integral e o de castanha do Pará tiveram um decréscimo após 12 horas. Essas flutuações foram verificadas em outro estudo com extratos vegetais, sugerindo-se uma instabilidade de interação entre os nutrientes presentes no líquido (MACHADO, 2017). Todos os extratos ao final do 20º dia foram diferentes ( $p < 0,05$ ) do tempo inicial, com pH mais baixo, exceto o extrato de coco que apresentou um pH maior aos 20 dias de armazenamento (ANEXO A).

Pode-se verificar que os extratos de arroz pasteurizados apresentaram uma queda constante nos valores médios de pH. Silva *et al.* (2015) e Jaekel, Rodrigues e Silva (2010) verificaram que as bebidas elaboradas com o extrato do arroz adicionadas de polpas de frutas ou outros extratos apresentaram valores médios de pH abaixo dos verificados no presente estudo. Diferenças pequenas entre os valores encontrados podem ser justificadas pelas matérias primas utilizadas em associação ao extrato, como já mencionado anteriormente. Carvalho *et al.* (2011), em sua pesquisa obtiveram uma média de pH entre 6,54 e 6,77 para os extratos de arroz integral e de quirera respectivamente, corroborando com os valores aqui encontrados.

Os extratos das amêndoas das castanhas pasteurizados apresentaram-se estáveis em relação ao pH até as 72 horas, após esse tempo houve um declínio do parâmetro analisado (ANEXO A). Cardarelli e Oliveira (2000) constataram comportamento semelhante, onde o pH apresentou um decréscimo acentuado no decorrer da pesquisa, tornando o extrato mais ácido.

No extrato do coco pasteurizado os valores de pH aumentaram, destacando-se pelo acréscimo entre o 3º até 15º dia (ANEXO A). Essa alteração possivelmente ocorreu pela presença de micro-organismos no líquido pasteurizado, que podem ter utilizado compostos ácidos, elevando o pH. Ornellas (2007) descreveu que o processo de pasteurização elimina micro-organismos termossensíveis (bactérias patogênicas), reduzindo o número de micro-organismos presentes nos extratos, mas alguns desses micro-organismos mais resistentes ao binômio tempo e temperatura (deteriorantes) multiplicam-se lentamente, mesmo sob refrigeração.

Adicionalmente, os extratos fermentados de arroz branco e castanha de caju se mantiveram estáveis nas primeiras 12 horas e os demais (arroz integral, coco e castanha do Pará) apresentaram diferença estatística ( $p < 0,05$ ) com 12 horas de fermentação. Porém, para todos os extratos as mudanças decrescentes que acontecem em relação ao pH cessam antes da coleta do 10º dia, onde já não há mais diferença significativa apresentada ( $p < 0,05$ ) (ANEXO A). De maneira geral, pH em torno de 4,0 – 4,5 são considerados adequados para bebidas

vegetais fermentadas, pois abaixo de 4,0 o produto se torna muito ácido, com precipitação de proteínas e de difícil aceitação. Por outro lado, pH acima de 4,5 pode comprometer a conservação dos produtos, assim como o sabor e textura dos fermentados (MOREIRA, 2019). Sendo assim, as bebidas avaliadas no presente estudo que não apresentaram uma faixa de pH indicada foram os extratos de castanha do Pará e arroz integral. Os demais apresentaram variação de tempo para alcançar os valores sugeridos, demonstrando a diferença de processo fermentativo do Kefir dependente do meio em que ele esteja inserido.

Comparando o pH dos extratos vegetais pasteurizados com os extratos vegetais fermentados pode-se perceber que as quedas de pH ocorreram de forma expressiva na presença do Kefir, com valores finais diferentes dos iniciais (ANEXO A). Porém, para a castanha do Pará a queda não foi tão acentuada, provavelmente o conteúdo lipídico, o tipo de ácido graxo, assim como os sais minerais desse extrato, quando comparados aos demais, tenha exercido influência no metabolismo microbiano.

Balabanova e Panayotov (2011) perceberam alterações na velocidade de fermentação e no decréscimo do pH quando alteraram o substrato do Kefir de leite pelo soro. Com teor de proteína menor neste meio de cultivo, perde-se a capacidade tamponante das proteínas e conseqüentemente o pH decresce mais rapidamente, diminuindo o tempo de fermentação. Entretanto, analisando a composição proximal dos extratos, foi possível perceber que a proteína não é o único nutriente determinante para o decréscimo do pH, pois os extremos em conteúdo protéico; extrato de arroz branco com o menor teor e castanha de caju com o maior, se mantiveram estáveis nas primeiras 12 horas, enquanto os demais já apresentaram diferença estatística em relação ao tempo 0.

Além da influência da composição nutricional dos diferentes substratos, o comportamento pode estar relacionado à adaptação do Kefir nos meios que são utilizados, pois a maioria dos estudos pesquisados já realiza o processo fermentativo de forma direta, sem adaptar o Kefir no novo substrato de interesse.

No estudo de Costa (2017) o Kefir de água foi utilizado para fermentar bebidas vegetais contendo inhame, gergelim e feijão branco, em diferentes proporções, sem adaptação aos meios. O pH foi mensurado até 24 horas de fermentação e foi verificado que o Kefir proveniente de água com açúcar demorou 15 horas para decrescer esse parâmetro. Tal fato foi atrelado aos mecanismos regulatórios da fisiologia dos micro-organismos no Kefir. Com os extratos vegetais de arroz integral, castanha do Pará e coco em 12 horas já houve decréscimo com diferença significativa de pH e os demais, entre 12 e 24 horas (ANEXO A). Sendo assim, adaptar o Kefir ao meio em que irá ocorrer a fermentação, pode acelerar as alterações

características esperadas por tais micro-organismos e, nesse caso, diminuir a possibilidade do desenvolvimento de patógenos.

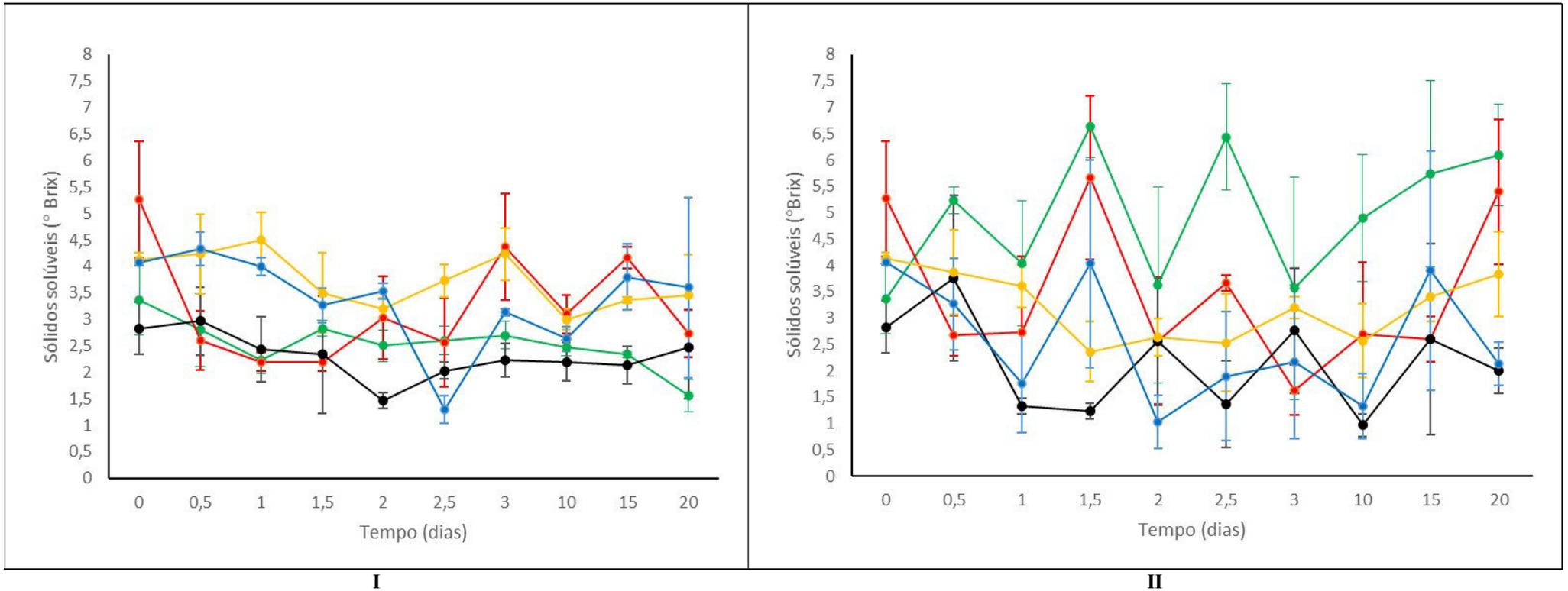
Além disso, o pH é um parâmetro com relevância para as características sensoriais, podendo tornar o produto indesejável, não sendo esse o único fator, mas importante para a aceitação do produto final (MOREIRA, 2019).

### **5.2.2 Sólidos solúveis**

Na Figura 4 estão os resultados da análise dos sólidos solúveis das cinco formulações dos extratos vegetais pasteurizados (I) e dos fermentados por Kefir (II). Nos extratos pasteurizados é possível verificar que os valores de sólidos solúveis das amêndoas das castanhas e do coco permaneceram estáveis ao longo do período de 20 dias. Já o arroz branco e o arroz integral apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para este parâmetro até o 20º dia de armazenamento, com diminuição do teor de sólidos solúveis.

Os resultados dos extratos fermentados demonstram que todos são iguais estatisticamente ( $p < 0,05$ ), comparando-se o tempo inicial e final de armazenamento (ANEXO B). O comportamento da linha, assim como algumas poucas diferenças que ocorreram ao longo dos 20 dias podem ser justificadas pelas características heterogêneas das amostras. Ademais, são valores muito próximos e comportamentos similares aos sólidos solúveis dos extratos pasteurizados, demonstrando que não é possível utilizar esse parâmetro para identificar a presença de alterações causadas pelos micro-organismos presentes no Kefir.

Figura 4 – Valores médios e desvio padrão de sólidos solúveis (°Brix) dos extratos vegetais pasteurizados (I) e dos extratos fermentados por Kefir após 24 horas (II) durante 20 dias sob refrigeração (4 °C).



- Arroz branco (I-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,60$  / II-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,27$ );
- Arroz integral (I-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,03$  / II-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,10$ );
- Coco (I-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,07$  / II-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,08$ );
- Castanha de caju (I-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,41$  / II-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,10$ );
- Castanha do Pará (I-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,03$  / II-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,07$ ).

Fonte: Própria.

Em um estudo realizado por Carvalho *et al.* (2011), o teor médio de sólidos solúveis do extrato de soja de 13,0 °Brix foi comparado com os extratos de quirera de arroz que obteve 12,33 °Brix e arroz integral 11,67 °Brix. No mesmo estudo, o autor explica que essas variações se devem, principalmente, às características das matérias-primas, pois a soja apresenta maior conteúdo de nutrientes solúveis (minerais e açúcares solúveis), enquanto o arroz integral e a quirera possuem alto teor de amido. Porém, este não se enquadra nos sólidos solúveis, podendo ser uma das justificativas dos valores apresentados pelo extrato de arroz branco deste estudo ser inferior a maioria dos outros extratos.

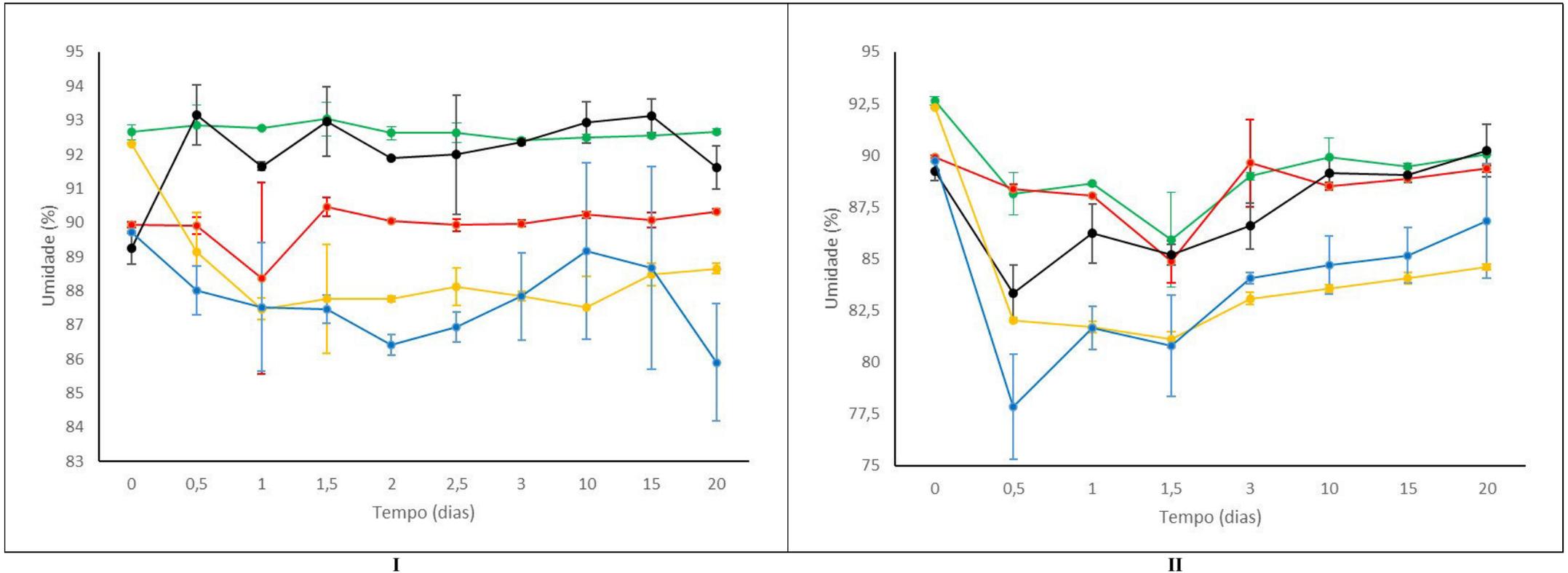
Moreira (2019), avaliando extratos hidrossolúveis vegetais a base de castanha do Pará e/ou arroz polido em diferentes proporções, verificou em que momento houve a estagnação da redução do teor de sólidos solúveis, demonstrando o consumo do açúcar solúvel pelos micro-organismos. Essa percepção não aconteceu no presente estudo, podendo ser justificado tanto pelo método de obtenção dos extratos, como pelas proporções de matéria-prima e água utilizada nos extratos. Além disso, o líquido fermentado não passou por nenhum processo de filtração ou tratamento, sendo gotejado diretamente no refratômetro, podendo ou não carregar micro-organismos e influenciar na leitura e homogeneidade da amostra.

### **5.2.3 Umidade**

Os resultados de umidade durante o tempo de armazenamento sob refrigeração dos extratos vegetais pasteurizados (I) e fermentados (II) estão na Figura 5. Em ambos os casos, para todos os extratos, não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) do percentual de umidade em relação ao tempo.

Os extratos fermentados de arroz branco e integral não apresentam diferença estatística e os demais (coco, castanha de caju e castanha do Pará) apresentam variações e diferenças que, assim como os sólidos solúveis, podem ser caracterizadas pela amostragem heterogênea das alíquotas analisadas e, da mesma forma, não sendo um parâmetro que possa indicar alterações de comportamento pela presença dos micro-organismos (ANEXO C).

Figura 5 – Valores médios e desvio padrão de umidade (%) dos extratos vegetais pasteurizados (I) e dos extratos fermentados por Kefir após 24 horas (II) durante 20 dias sob refrigeração (4 °C).



- Arroz branco (I-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,21$  / II-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,17$ );
- Arroz integral (I-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,18$  / II-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,19$ );
- Coco (I-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,16$  / II-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,37$ );
- Castanha de caju (I-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,15$  / II-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,14$ );
- Castanha do Pará (I-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,12$  / II-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,26$ ).

Fonte: Própria.

Em um estudo realizado por Carvalho et. al. (2011), com bebida de extrato hidrossolúvel de soja, foram encontrados valores de umidade de 92,98%, demonstrando que o teor de água presente nesse tipo de produto é elevado e por esse motivo se torna um alimento perecível, sendo necessário os processos de conservação adequados para sua manutenção.

Diferentes extratos vegetais apresentaram teores de umidade próximos aos encontrados neste estudo, o que pode ser justificado pela composição da matéria-prima e pelos processos de obtenção que envolvem o uso de água em quantidades significativas (COSTA, 2017; COSTA; SANTOS, 2020). Dessa forma, pelos extratos vegetais serem produtos perecíveis, a fermentação, apesar de manter esse parâmetro elevado, dentre várias outras propriedades, pode ser uma estratégia que auxilie na conservação desse tipo de produto.

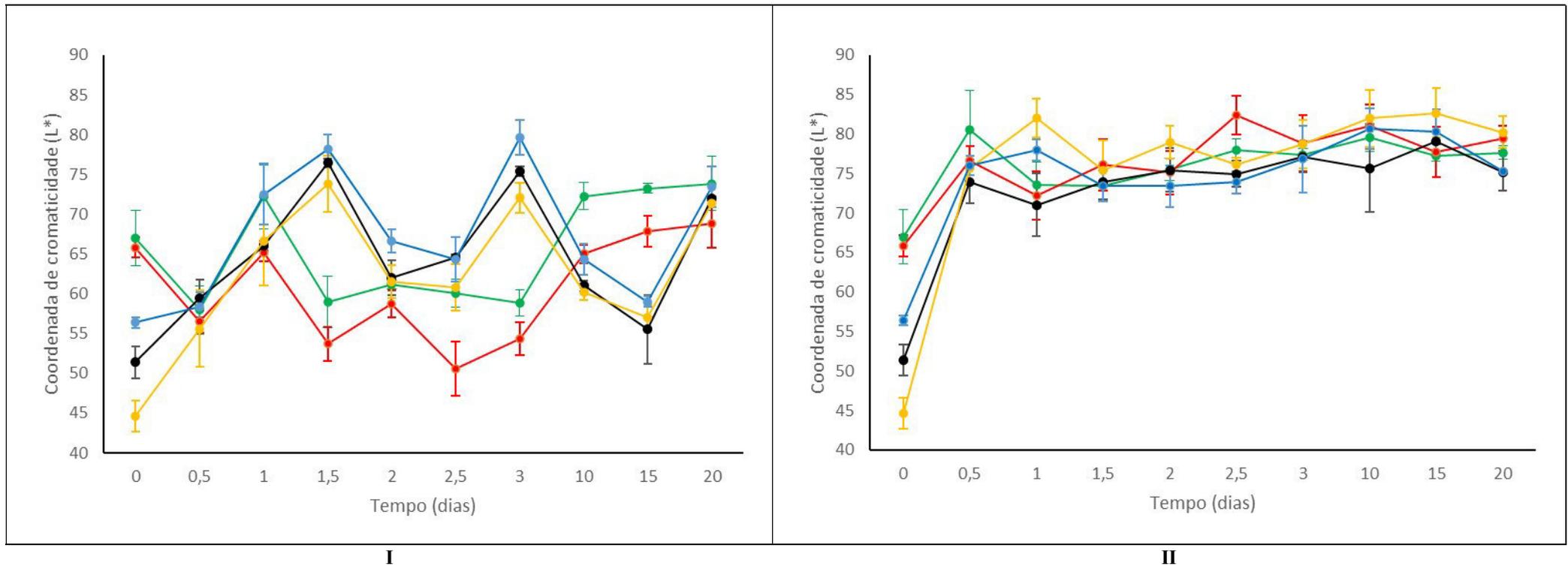
#### **5.2.4 Cor**

Nas Figuras 6, 7 e 8 estão expressos os resultados das análises das coordenadas de cromaticidade  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , respectivamente, das cinco formulações dos extratos vegetais pasteurizados (I) e os fermentados por Kefir (II), durante 20 dias de armazenamento sob refrigeração.

Através da análise de regressão linear para os extratos pasteurizados, a coordenada  $L^*$  apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao tempo apenas nos extratos de arroz (branco e integral). Já para a coordenada  $a^*$  foi ao contrário, o arroz foi o único em que não houve diferença ( $p > 0,05$ ) em relação ao tempo. A coordenada de cromaticidade  $b^*$  demonstrou diferença estatística ( $p < 0,05$ ) em relação ao tempo para todos os extratos pasteurizados.

Entretanto, após o processo fermentativo dos extratos vegetais por Kefir, a única que manteve comportamento similar foi a coordenada de cromaticidade  $b^*$ , apresentando diferença em relação ao tempo ( $p < 0,05$ ). A coordenada de cromaticidade  $a^*$  passou a ter diferença ( $p < 0,05$ ) em relação ao tempo para todos os extratos, contrária e a coordenada  $L^*$  que não teve diferença para nenhum deles ( $p > 0,05$ ).

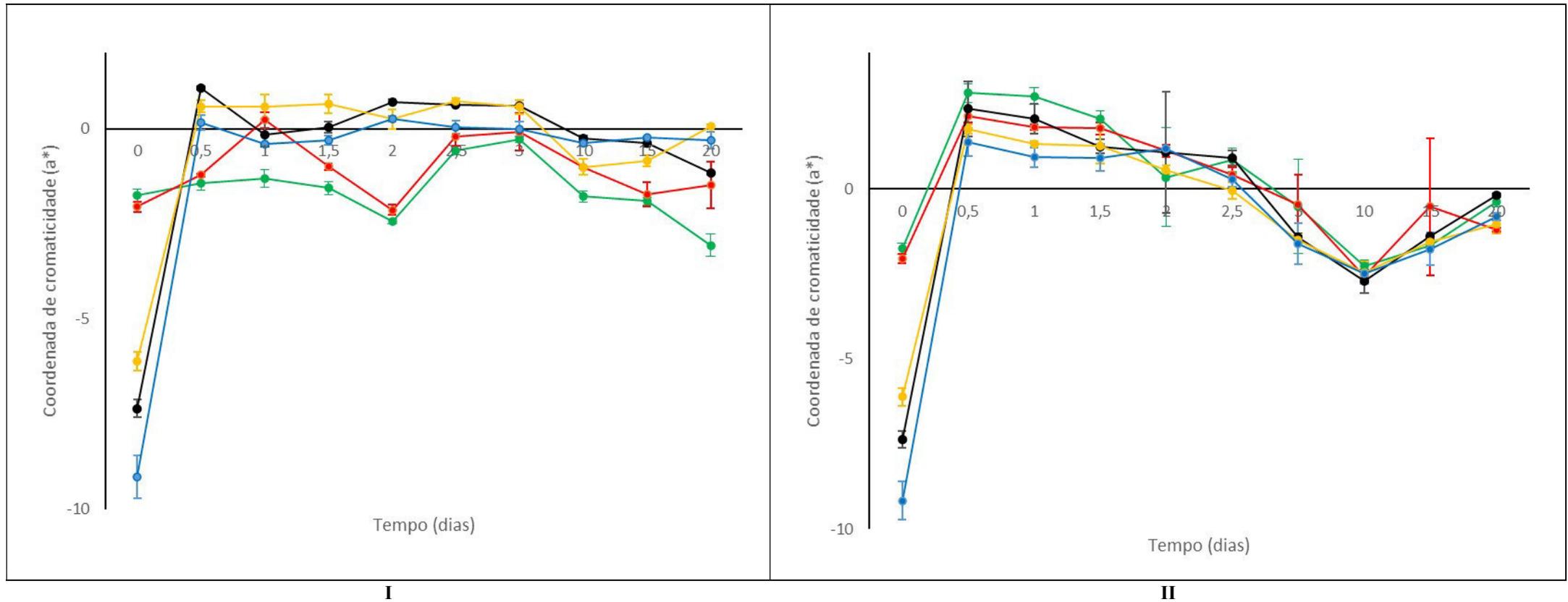
Figura 6 – Valores médios e desvio padrão da coordenada de cromaticidade L\* dos extratos vegetais pasteurizados (I) e dos extratos fermentados por Kefir após 24 horas (II) durante 20 dias sob refrigeração (4 °C).



- Arroz branco (I-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,60$  / II-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,31$ );
- Arroz integral (I-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,55$  / II-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,35$ );
- Coco (I-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,02$  / II-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,30$ );
- Castanha de caju (I-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,16$  / II-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,37$ );
- Castanha do Pará (I-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,00$  / II-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,33$ ).

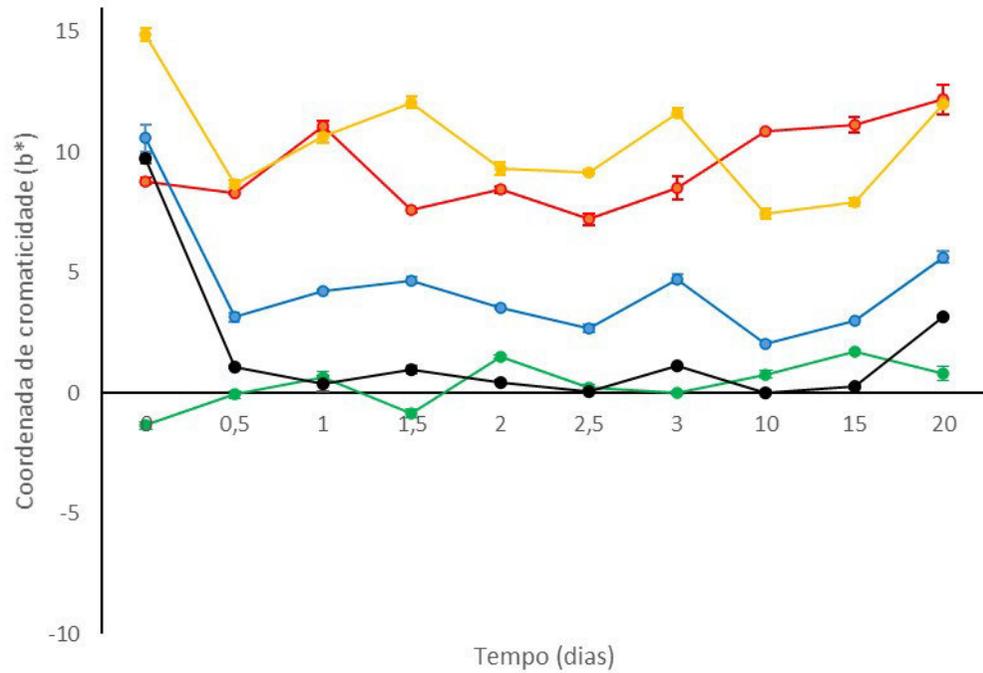
Fonte: Própria.

Figura 7 – Valores médios e desvio padrão da coordenada de cromaticidade  $a^*$  dos extratos vegetais pasteurizados (I) e dos extratos fermentados por Kefir após 24 horas (II) durante 20 dias sob refrigeração (4 °C).

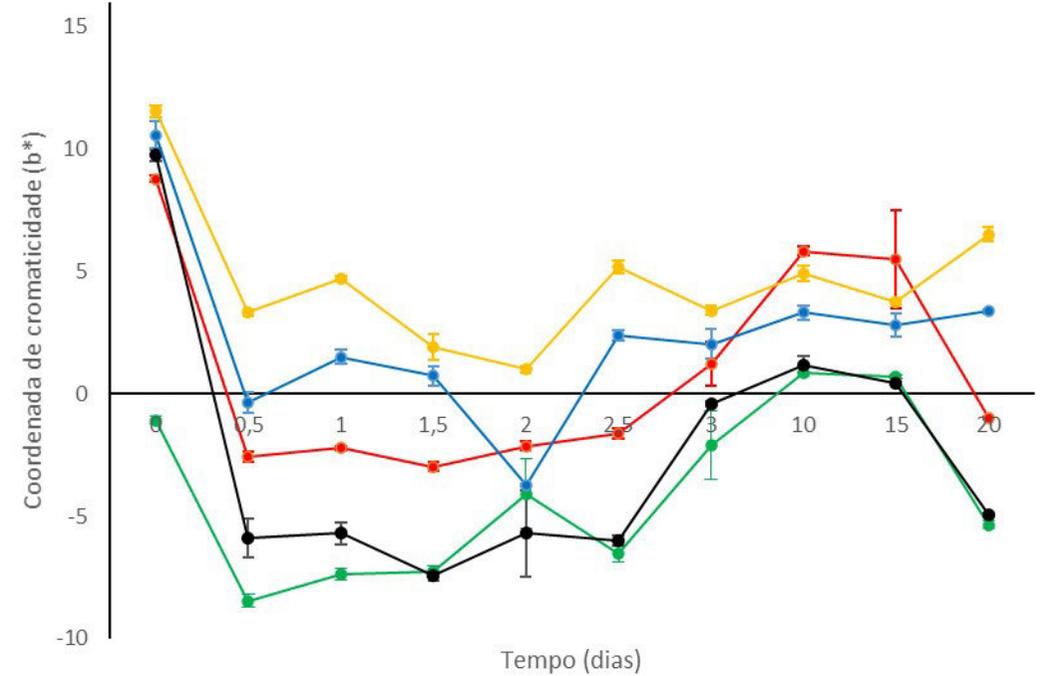


- Arroz branco (I-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,53$  / II-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,47$ );
  - Arroz integral (I-  $p > 0,05^*$ ;  $R = 0,24$  / II-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,46$ );
  - Coco (I-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,03$  / II-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,09$ );
  - Castanha de caju (I-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,05$  / II-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,16$ );
  - Castanha do Pará (I-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,06$  / II-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,16$ ).
- Fonte: Própria.

Figura 8 – Valores médios e desvio padrão da coordenada de cromaticidade  $b^*$  dos extratos vegetais pasteurizados (I) e dos extratos fermentados por Kefir após 24 horas (II) durante 20 dias sob refrigeração (4 °C).



I



II

- Arroz branco (I-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,51$  / II-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,37$ );
- Arroz integral (I-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,74$  / II-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,22$ );
- Coco (I-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,11$  / II-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,04$ );
- Castanha de caju (I-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,24$  / II-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,05$ );
- Castanha do Pará (I-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,17$  / II-  $p < 0,05$ ;  $R = 0,10$ ).

Fonte: Própria.

Nos extratos pasteurizados, analisando a coordenada  $L^*$ , através da análise com teste Tukey, foi possível verificar que apenas para os extratos de arroz branco e integral não houve diferença entre os valores médios dentro do intervalo de tempo analisado, 20 dias. Entretanto, para os demais os valores apresentaram diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre o tempo 0 h e 20 dias, com números maiores ao final, demonstrando um aumento da luminosidade nesses extratos, o que é considerado positivo do ponto de vista sensorial (ANEXO D).

Na coordenada  $a^*$  o extrato do arroz integral pasteurizado foi o único que não teve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores médios obtidos no intervalo de tempo analisado, os demais apresentaram. O arroz branco com decréscimo nessa coordenada, indica uma maior tendência para coloração esverdeada, podendo indicar a diminuição do amido ou alterações de nutrientes que ocorreram ao longo do tempo. Já para os demais extratos: coco, castanha de caju e castanha do Pará, saindo de valores negativos para valores maiores, revelando uma alteração de cor ao longo do tempo (ANEXO D).

Por fim, para coordenada  $b^*$  o extrato pasteurizado de castanha de caju não apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores médios, se mantendo com valores positivos, devido a característica do extrato com proximidade da cor amarela. Os extratos de arroz branco e arroz integral apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) com aumento da coordenada do tempo 0 h para o vigésimo dia, apresentando uma maior tendência à coloração amarela com o passar dos dias. Os extratos de coco e castanha do Pará tiveram um decréscimo da coordenada  $b^*$  do momento inicial para o final do tempo analisado, entretanto, mantiveram-se positivos (ANEXO D).

Os valores médios para as coordenadas de cor ( $L$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) dos extratos fermentados, de uma maneira geral, apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os valores médios obtidos em todas as coordenadas de cromaticidade, porém foram valores que variaram entre os intervalos de tempo analisados, com comportamento similar aos sólidos solúveis e umidade. Em comparação aos extratos pasteurizados houve o aumento da coordenada  $L^*$ , indicando o aumento da luminosidade do produto fermentado, característico desse processo. Para a coordenada  $a^*$  o comportamento foi diferente, acontecendo um aumento nos primeiros dias e finalizando de forma similar que os extratos pasteurizados. E a coordenada  $b^*$  demonstrou valores menores quando comparado aos extratos pasteurizados (ANEXO D).

Ainda sobre os extratos fermentados, a coordenada  $L^*$  referente à luminosidade dos extratos se apresenta de forma mais estável nos extratos de arroz, que pode ter relação

com o processo de obtenção, devido ao produto final se apresentar mais homogêneo que os demais (ANEXO D). A presença de açúcares pode promover a luminosidade das amostras, assim como o consumo dos açúcares presentes no momento em que forem consumidos pelos micro-organismos ao longo do processo fermentativo, irão causar variações nesse parâmetro (COSTA, 2017).

A coordenada a\* quase na sua totalidade apresentou valores negativos, mesmo com as diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) apresentadas através dos intervalos de tempos analisados (ANEXO D). Os valores negativos estão relacionados com a intensidade da coloração verde no produto analisado; como nenhum dos extratos tem como característica essa coloração, os valores negativos não foram tão expressivos, ficando muito próximos ao zero (GERTZOU *et al.*, 2017).

A coordenada b\* que representa a intensidade da coloração amarela, apresentou valores um pouco mais elevados nos extratos que tinham uma cor marrom mais claro, advindo da matéria-prima que lhe deu origem, como os de castanha e o de arroz integral. O arroz branco foi o único com valores negativos para essa coordenada, o que lhe aproxima da intensidade da coloração azul (GERTZOU *et al.*, 2017).

### 5.3 Análise microbiológica dos extratos hidrossolúveis

Os extratos analisados estão dentro do padrão estabelecido, apresentados na Tabela 3. A Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA dispõe os padrões microbiológicos em alimentos (BRASIL, 2001), estabelecendo para extratos pasteurizados: ausência de *Salmonella* sp. em 25 g e limite máximo menor que 10 NMP/g para contagem de coliformes à 45 °C.

Tabela 3 – Resultados das análises microbiológicas dos extratos vegetais hidrossolúveis pasteurizados (70 °C/20 minutos).

Extratos	<i>Salmonella</i> sp.	Coliformes termotolerantes (NMP/g)	Aeróbios Mesófilos (UFC/mL)	Bolores e leveduras (UFC/mL)
A.B.	Ausência	< 3,0	$4,23 \times 10^5$	$5,23 \times 10^5$
A.I.	Ausência	< 3,0	$9,63 \times 10^4$	$3,47 \times 10^5$
C.	Ausência	< 3,0	$2,72 \times 10^4$	$2,67 \times 10^2$
C.C.	Ausência	< 3,0	$7,13 \times 10^3$	$9,97 \times 10^3$
C.P.	Ausência	< 3,0	$8,77 \times 10^4$	$7,0 \times 10^4$
<b>Legislação</b>	Ausência	<10,0	-	-

A.B.: Arroz branco; A.I.: Arroz integral; C.: Coco; C.C.: Castanha de caju; C.P.: Castanha do Pará.

Aeróbios mesófilos e bolores e leveduras não são parâmetros microbiológicos estabelecidos pela legislação, entretanto são micro-organismos relacionados às condições higiênico-sanitárias dos alimentos. Ainda que os extratos apresentem contagens que variaram de  $7,13 \times 10^3$  a  $4,23 \times 10^5$  UFC/mL de aeróbios mesófilos e  $9,97 \times 10^3$  a  $5,23 \times 10^5$  UFC/mL de bolores e leveduras, essa carga microbiana irá sofrer modificações devido à competição dos micro-organismos que estão presentes no Kefir e que irão utilizar os substratos presentes nos extratos para sua multiplicação. Além da competição natural entre eles, possivelmente haverá a presença de antimicrobianos e ácidos que são produzidos durante a fermentação (BOURRIE; WILLING; COTTER, 2016).

#### 5.4 Contagem de células viáveis nos extratos vegetais fermentados por Kefir

Os resultados das contagens das células viáveis de bactérias ácido lácticas, leveduras totais e aeróbios mesófilos nos extratos hidrossolúveis fermentados por Kefir após o tempo de 24 horas estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores das contagens de células viáveis (bactérias ácido lácticas, leveduras totais e aeróbios mesófilos) dos extratos hidrossolúveis após 24 horas de fermentação por Kefir.

Micro-organismos (UFC/mL)	Bactérias ácido lácticas	Leveduras totais	Aeróbios mesófilos
AI	$5,25 \times 10^8$ <sup>A</sup>	$2,53 \times 10^8$ <sup>A</sup>	$3,38 \times 10^8$ <sup>A</sup>
AB	$2,61 \times 10^8$ <sup>A,B</sup>	$2,30 \times 10^8$ <sup>A,B,C</sup>	$2,83 \times 10^8$ <sup>A,B,C</sup>
C	$7,03 \times 10^7$ <sup>B</sup>	$2,07 \times 10^7$ <sup>B,C</sup>	$2,24 \times 10^8$ <sup>A,B,C</sup>
CP	$2,69 \times 10^8$ <sup>A,B</sup>	$2,53 \times 10^8$ <sup>A,B,C</sup>	$4,44 \times 10^8$ <sup>A,B</sup>
CC	$2,29 \times 10^8$ <sup>A,B</sup>	$1,53 \times 10^7$ <sup>B,C</sup>	$4,44 \times 10^7$ <sup>C</sup>

A.I.: Arroz integral; A.B: Arroz branco; C.: Coco; C.C.: Castanha de caju; C.P.: Castanha do Pará.  
<sup>A,B,C</sup> Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ( $p < 0,05$ ).

Através da análise estatística pode-se observar que houve diferença significativa entre as quantidades de células viáveis de bactérias ácido lácticas do extrato de arroz integral e do extrato de coco, tendo o extrato de arroz integral apresentado as maiores quantidades deste micro-organismo. Assim, as três origens distintas dos extratos (arroz, coco e amêndoas), por apresentarem diferentes composições, podem resultar em respostas específicas para cada grupo de micro-organismo, devido às características particulares das matérias-primas. Além disso, não é possível garantir a utilização dos substratos disponíveis nas bebidas pelos micro-

organismos presentes no tempo de 24 horas, levando-se em consideração as análises físico-químicas (pH, principalmente). Entretanto, as contagens elevadas dos micro-organismos analisados, revelam a capacidade que eles possuem em se adaptarem a substratos diferentes.

Utilizando leite fermentado por Kefir, as contagens de bactérias ácido lácticas atingiram  $1 \times 10^{10}$  UFC/mL em 24 horas e as leveduras chegaram somente a  $1 \times 10^6$  UFC/mL nesse mesmo intervalo de tempo (LEITE, 2012). Dessa forma, pode ser observado que para as bactérias ácido lácticas o leite apresenta uma melhor composição para o desenvolvimento desse tipo de micro-organismo, com valor acima do obtido no presente estudo com extratos vegetais hidrossolúveis, porém, o mesmo não ocorre para as leveduras. Sendo o Kefir uma simbiose de diferentes micro-organismos presentes, o balanço mais homogêneo em quantidades, quando o mesmo fermentou extratos vegetais, poderá apresentar benefícios diferentes aos já relatados.

Em um estudo utilizando extrato de soja como substrato para fermentação do Kefir, onde o processo fermentativo aconteceu à temperatura de 4 °C por 96 horas, as bactérias ácido lácticas aumentaram aproximadamente 2,5 a 3,0 log de um valor inicial de 6 log, obtendo contagens acima do estabelecido pela lei para ser considerada uma bebida probiótica, com aproximadamente  $3,16 \times 10^8$  UFC/mL (FERNANDES *et al.*, 2017). Entretanto, há estudos que demonstram que a soja está entre os alimentos com elevado potencial alergênicos, assim como o leite, sendo necessários cuidados em relação ao seu consumo (SOLORZANO; SILVA, 2011; GENTRY, 2015).

Randazzo *et al.* (2016) analisaram o desenvolvimento de novas bebidas não lácteas a partir de sucos de frutos do mediterrâneo fermentados com Kefir de água. Dentre os frutos estudados estavam maçã, uva, kiwi, romã, pêra e marmelo. As contagens de aeróbios mesófilos variaram de  $2,5 \times 10^7$  a  $2,5 \times 10^8$  UFC/mL, bactérias ácido lácticas entre  $3,9 \times 10^7$  e  $1 \times 10^8$  UFC/mL e leveduras de  $2,5 \times 10^7$  a  $1 \times 10^8$  UFC/mL. Essas contagens estão de acordo com a caracterização dos parâmetros microbiológicos do Kefir, onde a contagem total de bactérias ácido lácticas tem que ter o mínimo de  $10^7$  UFC/mL e a contagem de leveduras o mínimo de  $10^4$  UFC/mL (BRASIL, 2007), corroborando com os valores do presente estudo. Assim, demonstra-se a possibilidade da utilização de outros substratos para elaboração de fermentados por Kefir com prováveis benefícios atribuídos à ingestão destes micro-organismos.

### 5.5 Atividade antimicrobiana dos extratos vegetais fermentados por Kefir

A Tabela 5 apresenta o resultado da atividade antimicrobiana dos extratos vegetais fermentados por Kefir, onde foi verificado que os extratos de arroz integral e castanha do Pará fermentados por Kefir apresentaram atividade antimicrobiana para os dois micro-organismos (*Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*) testados. Porém, para o extrato de arroz integral a atividade ocorreu nas proporções 50, 25 e 12,5 % (v/v), já o extrato de castanha do Pará apresentou atividade em todas as concentrações testadas (50, 25, 12,5, 6,25 e 3,13 %).

Tabela 5 – Absorbância referente à atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* dos extratos vegetais fermentados (E.F.) por Kefir (%).

E.F. (%)	<i>Escherichia coli</i>					<i>Staphylococcus aureus</i>				
	50	25	12,5	6,25	3,13	50	25	12,5	6,25	3,13
AB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AI	0,058	0,086	0,093	-	-	0,054	0,085	0,101	-	-
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CP	0,064	0,201	0,254	0,393	0,500	0,061	0,200	0,289	0,441	0,588

A.B: Arroz branco; A.I.: Arroz integral; C.: Coco; C.C.: Castanha de caju; C.P.: Castanha do Pará.

Após as atividades antimicrobianas terem sido reveladas pela leitura das placas, foram realizados os subcultivos e foi confirmada atividade bactericida (CBM) para os extratos vegetais fermentados de arroz integral e castanha do Pará na proporção de 50 e 25 % (v/v). Já a concentração inibitória mínima (CIM) foi detectada para o extrato de castanha do Pará em todas as concentrações testadas e para o extrato de arroz integral a partir da diluição 12,5 % (v/v).

Os extratos vegetais hidrossolúveis foram testados antes do processo fermentativo nas mesmas diluições e com os mesmos micro-organismos, para verificar se haveria atividade antimicrobiana na ausência do Kefir. Nessa análise apenas o extrato de arroz integral apresentou atividade antimicrobiana na proporção 50, 25 e 12,5 % (v/v), entretanto, no subcultivo o efeito foi apenas bacteriostático (CIM). Assim, pode-se afirmar que a atividade antimicrobiana após o processo fermentativo com o Kefir foi potencializada. Tal ação sinérgica pode ser justificada pela atividade antimicrobiana observada naturalmente nos

alimentos, devido a enzimas, proteínas, presença de outros micro-organismos, produtos naturais de diversas matérias-primas alimentares, que funcionam como mecanismo de defesa (WESCHENFELDER, 2009).

Um estudo avaliou a sobrevivência de bactérias veiculadas pelo leite durante o processo fermentativo do Kefir e demonstrou que o ambiente foi desfavorável para os micro-organismos testados (DIAS *et al.*, 2012). Ácidos orgânicos, láctico e acético, presentes pós fermentação, em resultado do uso dos carboidratos que contribuem para o decréscimo do pH, tornam o ambiente hostil para a maioria dos micro-organismos (FARNWORTH, 2005; MAGALHÃES, 2010). Corroborando com essa informação, um estudo sobre a atividade inibitória do Kefir mostrou que as concentrações de tais ácidos (láctico e acético) eram os responsáveis pelo efeito bacteriostático do Kefir (GARROTE *et al.*, 2000).

Dias *et al.* (2012) avaliaram a atividade antimicrobiana de 60 micro-organismos obtidos dos grãos de kefir através do teste de inibição com sobrenadantes contra *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *E. coli*, *S. aureus* e *L. monocytogenes*. O pH dos sobrenadantes foi determinado antes do teste e foi repetido após o tratamento com substância neutralizante (NaOH), para exclusão dos ácidos orgânicos. Ainda assim, três isolados apresentaram atividade antimicrobiana, demonstrando que a acidificação não é o único fator envolvido na inibição dos patógenos.

Santos *et al.* (2003) avaliaram a atividade antimicrobiana de *Lactobacillus* isolados de Kefir e observaram que estes apresentaram ação contra várias linhagens de *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *S. enteritidis*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica*, sendo sugerido pelos autores que bacteriocinas seriam responsáveis por tal fenômeno, embora elas não tenham sido identificadas.

Dessa forma, os estudos que avaliaram a atividade antimicrobiana do Kefir contra cepas de micro-organismos patogênicos, verificaram que não só os ácidos produzidos no processo fermentativo, como também as bacteriocinas, são responsáveis por tal ação. No presente estudo, é provável que a ação tenha sido exercida pela presença de tais bacteriocinas, pois o tempo em que foi determinada a atividade antimicrobiana, 24 horas, o pH não havia reduzido o suficiente para justificar o efeito dos ácidos produzidos no meio.

## 6 CONCLUSÃO

Os extratos vegetais hidrossolúveis de castanha de caju, castanha do Pará, arroz branco, arroz integral e coco apresentaram composição proximal variável, conforme as características das suas matérias-primas, demonstrando um valor nutricional relevante e de uso como substitutos aos derivados lácteos.

Com relação aos parâmetros físico-químicos, os extratos vegetais hidrossolúveis pasteurizados não apresentaram alterações significativas no seu comportamento ao longo da estocagem refrigerada. As flutuações dos valores foram influenciadas pelas características não uniformes das matérias-primas utilizadas e pela forma de obtenção dos extratos vegetais. Além disso, as análises microbiológicas ficaram dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação vigente, sendo seguros para o consumo, possibilitando seu uso nas fermentações.

Em relação aos extratos hidrossolúveis fermentados por Kefir, a composição nutricional foi variável e dependente da adaptação dos micro-organismos ao meio.

O pH dos extratos vegetais fermentados decresceu durante o armazenamento refrigerado, ainda que não tenha ocorrido de forma igualitária. Tal fato pode indicar que o processo fermentativo tem comportamento diferente em relação aos substratos analisados. A umidade, os sólidos solúveis e a cor apresentaram variações, assim como, os extratos não fermentados, não apresentando relação direta com os micro-organismos presentes e as transformações realizadas por eles.

A carga microbiana característica do Kefir pós fermentação ficou dentro do exigido pela legislação e diferente para cada extrato, confirmando a capacidade desses micro-organismos de se adaptarem a diferentes substratos. Já sobre a atividade antimicrobiana dos extratos vegetais fermentados, apenas os extratos de arroz integral e castanha do Pará apresentaram ação contra os micro-organismos testados, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

As características nutricionais do Kefir e sua capacidade de adaptação em diferentes substratos, podem apresentar benefícios ao consumidor pela presença dos micro-organismos, de forma acessível à população. Tais propriedades podem se estender a produtos alimentícios, agregando valor aos mesmos, atendendo a demanda por produtos mais saudáveis, com benefícios naturais e ricos em fitoquímicos, principalmente para intolerantes ou alérgicos aos produtos derivados de leite. Além disso, propriedades como atividade antimicrobiana pode ser mais bem explorada para o uso em substituição aos conservantes comerciais.

## REFERÊNCIAS

- ABATH, T.N. **Substitutos de leite animal para intolerantes à lactose**. Universidade de Brasília, Brasília, 2013.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. **Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemistry**. 18 ed. Arlington, 2006.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. **Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemistry**. 20 ed. Washington, DC, 2016.
- APHA. **American Public Health Association**. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 20<sup>o</sup>ed., 2001.
- ATALAR, I. Functional kefir production from high pressure homogenized hazelnut milk. **LWT – Food Science and Technology**, v.107, 256-263, 2019.
- BALABANOVA, T.; PANAYOTOV, P. Obtaining functional fermented beverages by using the kefir grains. **Procedia Food Science**, v. 1, 1653-1659, 2011.
- BARBOSA, L.N. **Propriedade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas condimentares com potencial de uso como conservante em carne e hambúrguer bovino e testes de aceitação**. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Botucatu, 2010.
- BASSINELLO, P.Z.; CASTRO, E.M. Arroz como alimento. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.25, n.222, p.101-108, 2004.
- BENTO, R.S.; SCAPIM, M.R.S.; AMBROSIO-UGRI, M.C.B. Desenvolvimento e caracterização de bebida achocolatada à base de extrato hidrossolúvel de quinoa e de arroz. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 71, n. 2, p. 317-323, 2012.
- BICUDO, M.O.P.; VASQUES, E.C.; ZUIM, D.R.; CANDIDO, L.M.B. Elaboração e caracterização de bebida fermentada à base de extrato hidrossolúvel de quinoa com polpa de frutas. **Boletim do Ceppa**, v. 30(1), p. 19-26, 2012.
- BÔENO, J.A. **Bebidas lácteas fermentadas formuladas com leite, soro de leite e extrato de arroz vermelho: aspectos físicos, químicos, microbiológicos e sensorial**. 115 p. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal) – Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.
- BOURRIE, B.C.T.; WILLING, B.P.; COTTER, P.D. The microbiota and health promoting characteristics of the fermented beverage Kefir. **Frontier in Microbiology**. v. 7:647, 2016.
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA. Resolução de Diretoria Colegiada nº12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da União; Poder Executivo, Brasília - DF, 02 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n.46, 23 de outubro de 2007. Aprova o **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados**. Diário Oficial, Brasília, 24 out. 2007, seção 1, p. 5.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ofício circular n° 15/ 2009/ GAB/ DIPOA, de 8 de maio de 2009. **Uso de conservantes/aditivos em produtos cárneos: procedimentos de registro e fiscalização**. Brasília, 2009.

CARDARELLI, H.R.; OLIVEIRA, A. J. Conservação do leite de Castanha-do-Pará. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 4, p. 617-622, 2000.

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

CARVALHO, M.R.A.C.G.P.; COELHO, N.R.A. Leite de coco: aplicações funcionais e tecnológicas. **Estudos**, Goiânia, v. 36, n. 5/6, p: 851-865, 2009.

CARVALHO, N.C. **Efeito do método de produção de Kefir na vida de prateleira e na infecção experimental com *Salmonella typhomurium* em camundongos**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

CARVALHO, W.T.; REIS, R.C.; VELASCO, P.; SOARES JÚNIOR, M.S.; BASSINELO, P.Z.; CALIARI, M. Características físico-químicas de extratos de arroz integral, quirera de arroz e soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 3, p. 422-429, 2011.

CHIFIRIUC, M.C.; CIOACA, A.B.; LAZAR, V. In vitro assay of the antimicrobial activity of kephir against bacterial and fungal strains. **Anaerobe**, v. 17, n. 6, p. 433-5, 2011.

COSTA, K.K.F.D., GARCIA M.C., RIBEIRO, K.O.R., SOARES JUNIOR, M S., CALIARI, M. Rheological properties of fermented rice extract with probiotic bacteria and different concentrations of waxy maize starch. **Food Science and Technology**, v. 72, p. 71-77, 2016.

COSTA, M.R. **Elaboração de bebida a partir de extrato vegetal de taro (*Colocasia esculenta*), gergelim (*Sesamum indicum*) e feijão branco (*Phaseolus vulgaris* L.) fermentada por kefir**. 25p. Monografia (Curso de Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

COSTA, I.P.; SANTOS, N.S.T. Bebidas fermentadas com Kefir a partir de extratos vegetais. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v. 12, p. 40-54, 2020.

DEESEENTHUM, S.; LUANG-IN, V.; CHUNCHOM, S. Characteristics of Thai pigmented Rice milk kefir with potential as antioxidant and anti-inflammatory foods. **Pharmacognosy Journal**, v. 10, p. 154-161, 2018.

DERTLI, E., ÇON, A. H. Microbial diversity of traditional Kefir grains and their role on Kefir aroma. **Food Science and Technology**, v. 85, p. 151-157, 2017.

DIAS, P.A.; SILVA, D.T.; TEJADA, T.S.; LEAL, M.C.G.; CONCEIÇÃO, R.C.S.; TIMM, C.D. Survival of pathogenic microorganisms in kefir. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 177- 181, 2012.

DIAS, P.A.; ROSA, J.V.; TEJADA, T.S.; TIMM, C.D. Propriedades antimicrobianas do kefir. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 1-5, 2016.

DIMIDI, E.; COX, S.R.; ROSSI, M.; WHELAN, K. Fermented Foods: Definitions and characteristics, impact on the gut microbiota and effects on gastrointestinal health and disease. **Nutrients**, v.11(8), p.1806, 2019.

ESPITIA, P.J.P.; BATISTA, R.A.; AZEREDO, H.M.C.; OTONI, C.G. Probiotics and their potential applications in active edible films. **Food Research International**, v. 90, p. 42-52, 2016.

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

FERBERG, I.; CABRAL, L.C.; GONÇALVES, E.B.; DELIZA, R. Efeito das condições de extração no rendimento e qualidade do leite de Castanho-do-Brasil despeliculada. **Boletim CEPPA**, v. 20, n. 1, p. 75-88, 2002.

FERNANDES, G.R. **Aplicações tecnológicas atuais e potenciais no mercado para alimentos probióticos**. 2013. 43 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado Interdisciplinar em Biosistemas) - Universidade Federal de São João del-Rei, Sete Lagoas, 2013.

FERNANDES, M.S.; LIMA, F.S.; RODRIGUES, D.; HANDA, C.; GUELFY, M.; GARCIA, S.; IDA, E.I. Evaluation of the isoflavone and total phenolic contents of kefir-fermented soymilk storage and after the in vitro digestive system simulation. **Food Chemistry**, 229, p. 373-380, 2017.

FILCHAKOVA, S.A; KOROLEVA, N.S. The influence of culturing conditions on the composition and microflora of Kefir grains. **Mol. Prom.**, v. 5, p. 37, 1997.

FIORDA, F.A.; PEREIRA, G.V.M.; THOMAZ-SOCCOL, V.; MEDEIROS, A.P.; RAKSHIT, S.K.; SOCCOL, C.R. Development of kefir-based probiotic beverages with DNA protection and antioxidant activities using soybean hydrolyzed extract, colostrums and honey. **LWT – Food Science and Technology**, v. 68, p. 690-697, 2016.

FIORDA, F.A.; PEREIRA, G.V.M.; SOCCOL, V.T.; RAKSHIT, S.K.; PAGNONCELLI, M.G.B.; VANDENBERGHE, L.P.S.; SOCCOL, C.R. Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation - A review. **Food Microbiology**, 66, 86-95, 2017.

FIORAVANTE, M.B. **Elaboração, caracterização e aceitabilidade de bebida fermentada saborizada à base de extrato hidrossolúvel da amêndoa de Baru (*Dipteryx alata* Vogel)**. 99 p. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste) - Departamento de Tecnologia e Saúde, Mato Grosso do Sul, 2015.

GAMBA, R.R.; CARO, C.A.; MARTÍNEZ, O.L.; MORETTI, A.F.; GIANNUZZI, L.; DE ANTONI, G.L.; PELÁEZ, A.L. Antifungal effect of kefir fermented milk and shelf life improvement of corn arepas. **International journal of food microbiology**, v. 235, p. 85-92, 2016.

GARROTE, G.L.; ABRAHAM, A.G.; DE ANTONI, G.L. Inhibitory power of kefir: the role of organic acids. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 3, p. 364-369, 2000.

GARROTE, G.L.; ABRAHAM, A.G.; DE ANTONI, G. Microbial Interactions in Kefir: A Natural Probiotic Drink. In: MOZZI, F; RAYA, R. R., *et al* (Ed.). **Biotechnology of Lactic Acid Bacteria - Novel Applications**. Iowa: Blackwell Publishing, 2010. cap. 18, p.327-340.

GENTRY, A. **A nova culinária vegana**. Ed. Alaúde, 2015.

GERTZOU, I.H.; KARABAGIAS, K.I.; DROSOS, P.E.; RIGANAKOS, K.A. Effect of combination of ozonation and vacuum packaging on shelflife extension of fresh chicken legs during storage under refrigeration. **Journal of Food Engineering**, v. 213, p. 18-26, 2017.

GILLE, D., SCHMID, A., WALTHER, B., VERGÈRES, G. Fermented Food and Non-Communicable Chronic Diseases: A Review. **Nutrients**. v. 4, p 448. 2018.

GROETCH, M.E.; CHRISTIE, L.; VARGAS, P.A.; JONES, S.M.; SICHERER, S.H. Food Allergy Educational Needs of Pediatric Dietitians: A Survey by the Consortium of Food Allergy Research. **Journal of Nutrition Education and Behavior**, v. 42, n.4, p. 259-264, 2010.

GUNENC, A.; YEUNG, M.H.; LAVERGNE, C.; BERTINATO, J.; HOSSEINIAN, F. Enhancements of antioxidant activity and mineral solubility of germinated wrinkled lentils during fermentation in kefir. **Journal of Functional Foods**, v. 32, p. 72–79, 2017.

HERTZLER, S.R.; CLANCY, S.M. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 103, n. 5, p. 582-7, 2003.

HONG, W.S.; CHEN, H.C., CHEN, Y.P.; CHEN, M.J. Effects of kefir supernatant and lactic acid bacteria isolated from kefir grain on cytokine production by macrophage. **Int. Dairy J.**, v. 19, 244–251, 2009.

HUSEINI, F.H. *et al*. Evaluation of wound healing activities of Kefir products. **SciVerse Science Direct**. *B u r n s*. v. 3 8. p. 7 1 9 – 7 2 3, 2012.

ISANGA, J.; ZHANG, G. Production and evaluation of some physicochemical parameters of peanut milk yoghurt. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 1132–1138, 2009.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/index.html>. Acesso em: 21 jun. 2020.

JAEKEL, L.Z.; RODRIGUES, R.S.; SILVA, A.P. Avaliação físico-química e sensorial de bebidas com diferentes proporções de extratos de soja e de arroz. **Cienc Tecnol Aliment**. v.

30(2), p. 342-8, 2010.

KARL-OTTO, H. The use and control of nitrite for the processing of meat products. **Meat Science**, Barking, v. 78, n. 1/2, p. 68-76, 2008.

KIZZIE-HAYFORD, N.; JAROS, D.; ZAHN, S.; ROHM, H. Effects of protein enrichment on the microbiological, physicochemical and sensory properties of fermented tiger nut milk. **LWT – Food Science and Technology**, v. 74, p. 319-324, 2016.

KNEIFEL, W.; MAYER, H. K. Vitamin profiles of Kefir made from milks of different species. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 66, p. 423-428, 1991.

LAVEFVE, L., MARASINI, D., CARBONERO, F. Microbial Ecology of Fermented Vegetables and Non-Alcoholic Drinks and Current Knowledge on Their Impact on Human Health. **Adv Food Nutr Res**. v. 87, p. 147-185, 2019.

LEITE, A.M.O. *et al.* Assessment of the microbial diversity of Brazilian Kefir grains by PCR-DGGE and pyrosequencing analysis. **Food Microbiology**, v. 31, p. 215-221, 2012.

LEITE, A.M.O. *et al.* Microbiological and chemical characteristics of Brazilian Kefir during fermentation and storage processes. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 4149-4159, 2013a.

LEITE, A.M.O. *et al.* Microbiological, technological and therapeutic properties of Kefir: a natural probiotic beverage. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 2, p. 341-349, 2013b.

LIMA, A.R.C. **Avaliação sensorial, química e microbiológica de bebidas lácteas fermentadas elaboradas com polpa de frutas tropicais**. 62 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

LIU, J.A.P.; MOON, N.J. Kefir-a “new” fermented milk product. **Cultured Dairy Products Journal**, Washington, v. 83, n 3, p.11-12. 2002.

LONGO, G.; WASZCZYNSKYJ, N. **Influência da adição de lactase na produção de iogurtes**. 89 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

LOPITZ-OTSOA, F. *et al.* Kefir: a symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 23, n. 2, p. 67-74, 2006.

MACHADO, A.L.B. **Desenvolvimento de extrato hidrossolúvel à base de Castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*) e Macadâmia (*Macadamia integrifolia*)**. 126 p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química) – Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.

MAGALHÃES, K.T. **Produção de bebidas fermentadas Kefir de soro de queijo**. 133 p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

MAHAN, L.V.; ESCOTT-STUMP, S.; KRAUSE ALIMENTOS, **Nutrição. Dietoterapia**. 13ª edição. Rio de Janeiro: Livraria Roca Ltda, p. 1127-1251, 2012.

- MARCO, M.L.; HEENEY, D.; BINDA, S.; CIFELLI, C.J.; COTTER, P.D.; FOLIGNÉ, B.; GÄNZLE, M.; KORT, R.; PASIN, G.; PIHLANTO, A.; SMID, E.J.; HUTKINS, R. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. **Curr Opin Biotechnol.** v. 44, p. 94-102, 2017.
- MARCO, M.L.; SANDERS, M.E.; GÄNZLE, M. *et al.* The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on fermented foods. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol.** v. 18, p. 196–208, 2021.
- MARTINS, C.R.; JESUS, L.A. Evolução da produção de coco no Brasil e o comércio internacional: panorama 2010. **Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 2011.
- MARTINS, A.P. **Atividade bactericida de antimicrobianos naturais sobre *Listeria monocytogenes* inoculada em mortadela.** 163p. Tese – Universidade Federal de Lavras, 2016.
- MARSH, A.J.; HILL, C.; ROSS, R.P.; COTTER, P.D. Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. **Trends in Food Science & Technology**, v. 38, p. 113-124, 2014.
- MATTAR, R.; MAZO, D. F. C. Intolerância à lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. **Rev. Assoc. Med. Bras.** [online]. v.56, n.2, p. 230-236, 2010.
- MIGUEL, M.G.D.C.P. *et al.* Diversity of bacteria present in milk Kefir grains using culture-dependent and culture-independent methods. **Food Research International**, v. 43, n. 5, p. 1523-1528, 2010.
- MONTANUCI, F.D. **Bebidas de Kefir com e sem inulina em versões integral e desnatada: elaboração e caracterização química, física, microbiológica e sensorial.** 142 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Londrina, 2010.
- MORAIS, A. C.S. **Desenvolvimento, otimização e aceitabilidade de extrato hidrossolúvel de amêndoa da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.).** 113 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2009.
- MORAIS, A.C.S.; RODRIGUES, M.C.P.; REBOUÇAS, M.C.; PENHA, M.F.A. Seleção de julgadores e avaliação de diferença sensorial entre extratos hidrossolúveis da amêndoa da castanha de caju. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 28, n. 2, p. 281-288, 2010.
- MORAIS, A.C.S. **Alfarroba como substituto do cacau no desenvolvimento de bebida sem lactose: otimização, perfil sensorial e comportamento reológico.** Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2015.
- MOREIRA, P.Z. **Elaboração e caracterização físico-química de bebida vegetal fermentada saborizada com ameixa seca.** Recife, 2019.

- MORETTO, E. **Composição centesimal dos produtos alimentícios**. In: \_\_\_\_\_. Introdução à ciência de alimentos. Florianópolis: UFSC, 2008, cap. 1, p. 17-50.
- NCCLS. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS - NCCLS. M100-S13. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**; Thirteenth Informational Supplement. Wayne, Pennsylvania, USA: NCCLS documents, 2005.
- NEVIN, Ş.; BÜŞRA, B.G.; AYBÜKE, C. S. Health benefits of fermented foods, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 59:3, p. 506-527, 2019.
- NOBERTO, A.P.; MARMENTINI, R.P.; CARVALHO, P.H.; CAMPAGNOLLO, F.B.; TAKEDA, H.H.; ALBERTE, T.M.; ROCHA, R.S.; CRUZ, A.G.; ALVARENGA, V.O.; SANT'ANA, A.S. Impact of partial and total replacement of milk by water-soluble soybean extract on fermentation and growth parameters of kefir microorganisms. **LWT - Food Science and Technology**, v. 93, p. 491–498, 2018.
- OCHOA-VELASCO, C.E.; CRUZ-GONZALEZ, M.; GUERRERO-BELTRAN, J.A. Ultraviolet-C light inactivation of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in coconut (*Cocos nucifera* L.) milk. **Innovative Food Sci. Emerg. Technol.** v. 26, p. 199–204, 2014.
- OLIVEIRA, V.C. *et al.* **Alergia à proteína do leite de vaca e intolerância à lactose: uma abordagem nutricional, pesquisa qualitativa e percepções dos profissionais das áreas da saúde**. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2013.
- ONE, G.M.C. **Nutrição e saúde: os desafios da interdisciplinaridade nos ciclos da vida humana**. Campina Grande: Instituto Bioeducação (IBEA), 2017.
- ORNELLAS, L.H. **Técnica dietética: seleção e preparo de alimentos**. 8.ed. São Paulo: Atheneu, 2007.
- OTLES, S.; CAGINDI, O. Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. **Food Engineering Department**, v. 2, p. 54-59, 2003.
- PALEZI, S.C.; DE MARCHI, L.; PIETTA, G.M. Caracterização e avaliação sensorial do kefir tradicional e derivados. **Unoesc & Ciência-ACET**, p. 15-22, 2015.
- PAWLOS, M. *et al.* The influence of the dose of calcium bisglycinate on physicochemical properties, sensory analysis and texture profile of Kefirs during 21 days of cold storage. **Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria**, v. 15, n.1, p. 37-45, 2016.
- PINI, F.; AQUILANI, C.; GIOVANNETTI, L.; VITI, C.; PUGLIESE, C. Characterization of the microbial community composition in Italian Cinta Senese sausages dry-fermented with natural extracts as alternatives to sodium nitrite. **Food Microbiol.** 2020.
- PRADO, M.R.M. *et al.* Anti-inflammatory and angiogenic activity of polysaccharide extract obtained from Tibetan Kefir. **Microvascular Research**, v. 108, p. 29–33, 2016.
- PRETTI, T. **Tecnologia para produção de extrato aquoso de amendoim e elaboração de produto fermentado**. 71p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio

de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição, Araraquara, 2010.

PUERARI, C.; MAGALHÃES, K.T. SCHWAN, R.F. New cocoa pulp-based Kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. **Food Research International**, v. 48, p. 634-640, 2012.

QUIRÓS, A. *et al.* Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of peptides derived from caprine Kefir. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 3480-3487, 2005.

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

RANGEL, A.H.N. *et al.* Lactose intolerance and cow's milk protein allergy. **FoodSci. Technol.** (Campinas), Campinas, v. 36, n. 2, p. 179-187, 2016.

RATTRAY, F.P., O'CONNELL, M.J. Fermented Milks Kefir. **Encyclopedia of Dairy Sciences (2th ed)**, San Diego, USA, p.518-524, 2011.

REA, M.C. *et al.* Irish Kefir-like grains: their structure, microbial composition and fermentation kinetics. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 81, p. 83-94, 1996.

REIS, S.A.; CONCEIÇÃO, L.L.; DIAS, M.M.; SIQUEIRA, N.P.; ROSA, D.D.; OLIVEIRA, L.L.; MATTA, S.L.P. Kefir reduces the incidence of pre-neoplastic lesions in an animal model for colorectal cancer. **Journal of Functional Foods**, v. 53, p. 1-6, 2019.

RINALDONI, A.N.; CAMPDERRÓS, M.E.; PADILLA, A.P. Physico-chemical and sensory properties of yogurt from ultrafiltered soy milk concentrate added with inulin. **LWT – Food Science and Technology**, v. 45, p. 142-147, 2012.

RIOS, D.A.S.; BORBA T.M.; KALIL, S.J.; BURKERT, J.F.M. Rice parboiling wastewater in the maximization of carotenoids bioproduction by *Phaffia rhodozyma*. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 39, n. 4, p. 401-410, 2015.

SANTOS, A.; SAN MAURO, M.; SANCHEZ, A.; TORRES, M. MARQUINA, D. The Antimicrobial properties of different strains of *Lactobacillus* spp. Isolated from Kefir. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 26, n. 3, p. 434- 437, 2003.

SANTOS, M.R; BASSOS, C. Análise físico-química e sensorial de gelatina à base de quefir. **Revista Disciplinarum Scientia**. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 14, n. 1, p. 93-100, 2013.

SARKAR, S. Potential of Kefir as a dietetic beverage: A review. **British Food Journal**, v. 109, p. 280-290, 2007.

SATIR, G.; GUZEL-SEYDIM, Z.B. How Kefir fermentation can affect product composition? **Small Ruminant Research**, v. 134, p. 1–7, 2016.

- SCHIFFNER, R.; KOSTEV, K.; GOTHE, H. Do patients with lactose intolerance exhibit more frequent comorbidities than patients without lactose intolerance? An analysis of routine data from German medical practices. **Annals of Gastroenterology: Quarterly Publication of the Hellenic Society of Gastroenterology**, v. 29, n. 2, p. 174, 2016.
- SCHMIDT, P.; VASS, A.; SZAKALY, S. Effect of fermented milk diets on regeneration of the rat liver. **Acta Med Hung**, v. 41, n. 2-3, p. 163-9, 1984.
- SENNA, S.N.; SCALCO, M,F; AZALIM, S,P; GUIMARAES, L,L; FILHO ,W,R. Achados epidemiológicos de alergia alimentar em crianças brasileiras: análise de 234 testes de provocação duplo-cego placebo-controlado (TPDCPCs). **Arq Asma Alerg Imunol**. v.2(3), p.344-350, 2018.
- SILVA, K. R. *et al.* Antimicrobial activity of broth fermented with Kefir grains. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 152, n. 2, p. 316-25, 2009.
- SILVA, E.P.; BECKER, F.S.; SILVA, F.A.; SOARES JÚNIOR, M.S.; CALIARI, M.; DAMIANI, C. **Bebidas mistas de extratos de arroz com maracujá e mamão**. Rev. Inst. Adolfo Lutz, v. 74, n. 1, p. 49-56, 2015.
- SIMOVA, E. *et al.* Amino acid profiles of lactic acid bacteria, isolated from Kefir grains and Kefir starter made from them. **International Journal of Food Microbiology**, v. 107, n. 2, p. 112-23, 2006.
- SOARES JUNIOR, M.S.; BASSINELO, P. Z.; CALLIARI, M.; VELASCO, P.; REIS, R.C.; CARVALHO, W. T. Bebidas saborizadas obtidas de extratos de quirera de arroz, de arroz integral e de soja. **Ciênc Agrotec.**, v. 34, n. 2, p. 407-413, 2010.
- SOLORZANO, J.L.; SILVA, M.C. **Bebida à base de quinoa real e leite de coco: desenvolvimento, aceitabilidade, caracterização físico-química e microbiológica**. 36 f. Dissertação. Faculdade de Ciências da Educação e Saúde, Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2011.
- TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). **Food Research Center (FoRC)**. Versão 7.1. São Paulo, 2020. Acesso em: 23 de junho de 2021. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca>.
- TAMANG, J.P.; WATANABE, K.; HOLZAPFEL, W. H. Review: Diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages. **Frontiers in microbiology**. v. 7, p. 377, 2016.
- TAMIME, A.Y. Production of Kefir, Koumiss and Other Related Products. In: TAMIME, A. Y. (Ed.). **Fermented Milk**. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd., cap. 8, p.174-216, 2006.
- URDANETA, E. *et al.* Intestinal beneficial effects of Kefir-supplemented diet in rats. **Nutrition Research**, v. 27, n. 10, p. 653-658, 2007.
- VINDEROLA, G. *et al.* Effects of Kefir fractions on innate immunity. **Immunobiology**, v. 211, n. 3, p. 149-56, 2006.

VOIDAROU, C.; ANTONIADOU, M.; ROZOS, G. *et al.* Fermentative Foods: Microbiology, Biochemistry, Potential Human Health Benefits and Public Health Issues. **Foods**. v. 10(1), p. 69, 2020.

WESCHENFELDER, S. **Caracterização de Kefir tradicional quanto a composição físico-química, sensorialidade e atividade anti-*Escherichia coli***. 17 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

WESCHENFELDER, S. *et al.* Caracterização físico-química e sensorial de Kefir tradicional e derivados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 2, p. 473-480, 2011.

WESCHENFELDER, S. **Elaboração e avaliação físico-química e microbiológica de produtos lácteos obtidos a base de Kefir**. 114 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

WILSON, E.D.; SANTOS, A.C.; VIEIRA, E.C. Energia. In: DUTRA-DE-OLIVEIRA, J.E.; SANTOS, A.C.; WILSON, E.D. **Nutrição básica**. São Paulo: Savier, 1982.

WONG, V. Soy Milk Fades as Americans Opt for Drinkable Almonds. **Business Week**, 2013.  
ZANNINI, E; JESKE, S; LYNCH, KM; ARENDT, EK. Development of novel quinoa-based yoghurt fermented with dextran producer *Weissella cibaria* MG1. **International Journal of Food Microbiology**, v. 268, p.19–26, 2018.

### ANEXO A – VALORES E DESVIO PADRÃO DO pH

Tabela 6 – Valores médios e desvio padrão do pH dos extratos vegetais pasteurizados armazenados por 20 dias sob refrigeração (4 °C).

Extratos	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h	60 h	72 h	10 d	15 d	20 d
<b>A.B.</b>	7,26±0,11 <sup>b,c</sup>	7,26±0,42 <sup>c</sup>	7,41±0,04 <sup>a,b</sup>	7,28±0,06 <sup>a,b,c</sup>	7,43±0,04 <sup>a</sup>	7,20±0,05 <sup>c</sup>	7,28±0,03 <sup>a,b,c</sup>	6,74±0,05 <sup>f</sup>	6,55±0,02 <sup>e</sup>	6,16±0,04 <sup>d</sup>
<b>A.I.</b>	7,34±0,05 <sup>a</sup>	6,89±0,22 <sup>b,c</sup>	7,08±0,12 <sup>b</sup>	6,95±0,03 <sup>b,c</sup>	6,89±0,09 <sup>b,c</sup>	6,82±0,04 <sup>c</sup>	6,92±0,02 <sup>b,c</sup>	6,40±0,08 <sup>d</sup>	6,40±0,03 <sup>d</sup>	6,36±0,01 <sup>d</sup>
<b>C.</b>	6,75±0,04 <sup>d</sup>	6,71±0,01 <sup>d</sup>	6,87±0,12 <sup>c,d</sup>	6,75±0,05 <sup>d</sup>	6,72±0,07 <sup>d</sup>	6,72±0,04 <sup>d</sup>	6,81±0,07 <sup>c,d</sup>	6,95±0,05 <sup>b,c</sup>	7,38±0,05 <sup>a</sup>	7,11±0,13 <sup>b</sup>
<b>C.C.</b>	6,73±0,02 <sup>b,c</sup>	6,71±0,03 <sup>b,c,d</sup>	6,65±0,06 <sup>c,d</sup>	6,65±0,05 <sup>c,d</sup>	6,59±0,03 <sup>d</sup>	6,68±0,03 <sup>c,d</sup>	6,68±0,04 <sup>c,d</sup>	6,85±0,05 <sup>a</sup>	6,81±0,07 <sup>a,b</sup>	6,40±0,02 <sup>e</sup>
<b>C.P.</b>	7,23±0,04 <sup>a</sup>	6,91±0,03 <sup>c</sup>	7,01±0,06 <sup>b,c</sup>	6,98±0,07 <sup>b,c</sup>	7,01±0,14 <sup>b,c</sup>	7,02±0,02 <sup>b,c</sup>	6,97±0,02 <sup>b,c</sup>	7,00±0,03 <sup>a,b,c</sup>	7,15±0,03 <sup>a,b</sup>	6,97±0,05 <sup>b,c</sup>

A.B: Arroz branco; A.I.: Arroz integral; C.: Coco; C.C.: Castanha de caju; C.P.: Castanha do Pará.  
<sup>a,b,c,d,e</sup> Médias com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si (p<0,05).

Tabela 7 – Valores médios e desvio-padrão do pH durante os 20 dias de armazenamento sob refrigeração dos extratos fermentados.

Extratos	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h	60 h	72 h	10 d	15 d	20 d
<b>A.B.</b>	7,26±0,11 <sup>a</sup>	6,91±0,05 <sup>a</sup>	6,29±0,13 <sup>b</sup>	5,46±0,10 <sup>c</sup>	5,20±0,11 <sup>c,d</sup>	5,14±0,05 <sup>c,d,e</sup>	5,14±0,05 <sup>c,d</sup>	4,79±0,09 <sup>e,f</sup>	5,58±0,09 <sup>f</sup>	4,62±0,31 <sup>f</sup>
<b>A.I.</b>	7,34±0,05 <sup>a</sup>	6,63±0,04 <sup>b</sup>	5,99±0,08 <sup>c</sup>	5,96±0,43 <sup>c</sup>	5,17±0,04 <sup>d,e</sup>	5,12±0,09 <sup>e</sup>	5,29±0,05 <sup>d,e</sup>	5,19±0,10 <sup>d,e</sup>	5,26±0,19 <sup>d,e</sup>	5,76±0,43 <sup>c,d</sup>
<b>C.</b>	6,75±0,04 <sup>a</sup>	6,26±0,10 <sup>b</sup>	5,28±0,09 <sup>c</sup>	4,13±0,04 <sup>e,f</sup>	3,99±0,02 <sup>g</sup>	4,00±0,01 <sup>f,g</sup>	4,32±0,03 <sup>d</sup>	4,26±0,01 <sup>d,e</sup>	4,29±0,02 <sup>d</sup>	4,28±0,06 <sup>d</sup>
<b>C.C.</b>	6,73±0,02 <sup>a</sup>	6,60±0,04 <sup>a</sup>	5,51±0,10 <sup>b</sup>	4,60±0,10 <sup>c</sup>	4,32±0,05 <sup>d</sup>	4,21±0,04 <sup>d,e</sup>	4,49±0,04 <sup>c</sup>	4,14±0,03 <sup>e,f</sup>	4,00±0,03 <sup>f,g</sup>	3,93±0,03 <sup>g</sup>
<b>C.P.</b>	7,23±0,04 <sup>a</sup>	6,93±0,02 <sup>b</sup>	6,44±0,08 <sup>c</sup>	5,43±0,04 <sup>f</sup>	5,56±0,06 <sup>f</sup>	5,50±0,05 <sup>f</sup>	5,93±0,05 <sup>d,e</sup>	6,23±0,07 <sup>c</sup>	6,25±0,06 <sup>c</sup>	6,16±0,19 <sup>c,e</sup>

A.B: Arroz branco; A.I.: Arroz integral; C.: Coco; C.C.: Castanha de caju; C.P.: Castanha do Pará.  
<sup>a,b,c,d,e</sup> Médias com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si (p<0,05).

## ANEXO B – VALORES E DESVIO PADRÃO DOS SÓLIDOS SOLÚVEIS

Tabela 8 – Valores médios de sólidos solúveis (°Brix) dos extratos vegetais hidrossolúveis pasteurizados armazenados por 20 dias sob refrigeração (4 °C).

Extratos	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h	60 h	72 h	10 d	15 d	20 d
<b>A.B.</b>	3,37±0,67 <sup>a,b</sup>	2,8±0,69 <sup>a,b,c</sup>	2,23±0,25 <sup>c,d</sup>	2,83±0,15 <sup>a,b,c</sup>	2,50±0,30 <sup>a,b,c,d</sup>	2,60±0,26 <sup>a,b,c,d</sup>	2,7±0,26 <sup>a,b,c</sup>	2,47±0,15 <sup>a,b,c,d</sup>	2,33±0,06 <sup>b,c,d</sup>	1,57±0,31 <sup>d</sup>
<b>A.I.</b>	5,27±1,10 <sup>a</sup>	2,6±0,57 <sup>b,c</sup>	2,20±0,17 <sup>b,c</sup>	2,2±0,17 <sup>c</sup>	3,03±0,78 <sup>b,c</sup>	2,57±0,83 <sup>b,c</sup>	4,37±1,00 <sup>a,b</sup>	3,10±0,36 <sup>b,c</sup>	4,17±0,21 <sup>a,b</sup>	2,73±0,46 <sup>b,c</sup>
<b>C.</b>	2,83±0,49 <sup>a</sup>	2,97±0,64 <sup>a</sup>	2,43±0,61 <sup>a</sup>	2,2±0,92 <sup>a</sup>	1,47±0,15 <sup>a</sup>	2,03±0,15 <sup>a</sup>	2,23±0,32 <sup>a</sup>	2,20±0,36 <sup>a</sup>	2,13±0,35 <sup>a</sup>	2,13±0,66 <sup>a</sup>
<b>C.C.</b>	4,13±0,12 <sup>a,b</sup>	4,23±0,75 <sup>a,b</sup>	4,50±0,53 <sup>a</sup>	3,5±0,75 <sup>a,b</sup>	3,20±0,20 <sup>a,b</sup>	3,73±0,31 <sup>a,b</sup>	4,23±0,49 <sup>a,b</sup>	3,00±0,20 <sup>b</sup>	3,37±0,06 <sup>a,b</sup>	3,47±0,75 <sup>a,b</sup>
<b>C.P.</b>	4,07±0,06 <sup>a</sup>	4,33±0,32 <sup>a</sup>	4,00±0,17 <sup>a</sup>	3,27±0,32 <sup>a</sup>	3,53±0,15 <sup>a</sup>	1,30±0,26 <sup>b</sup>	3,13±0,06 <sup>a,b</sup>	2,63±0,23 <sup>a,b</sup>	3,80±0,62 <sup>a</sup>	3,60±1,7 <sup>a</sup>

A.B: Arroz branco; A.I.: Arroz integral; C.: Coco; C.C.: Castanha de caju; C.P.: Castanha do Pará.

<sup>a,b,c</sup>. Médias com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si (p<0,05).

Tabela 9 – Valores médios de sólidos solúveis (°Brix) durante os 20 dias de armazenamento sob refrigeração dos extratos fermentados.

Extratos	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h	60 h	72 h	10 d	15 d	20 d
<b>A.B.</b>	3,37±0,67 <sup>a</sup>	5,2±0,25 <sup>a</sup>	4,03±1,18 <sup>a</sup>	6,63±0,59 <sup>a</sup>	3,63±1,90 <sup>a</sup>	6,43±1,01 <sup>a</sup>	3,57±2,11 <sup>a</sup>	4,90±1,20 <sup>a</sup>	5,73±1,77 <sup>a</sup>	6,10±0,96 <sup>a</sup>
<b>A.I.</b>	5,27±1,10 <sup>a,c</sup>	2,67±0,38 <sup>a,b,c</sup>	2,73±1,43 <sup>a,b,c</sup>	5,67±1,55 <sup>a</sup>	2,57±1,21 <sup>b,c</sup>	3,67±0,15 <sup>a,b,c</sup>	1,63±0,47 <sup>b,c</sup>	2,70±1,35 <sup>a,b,c</sup>	2,60±0,44 <sup>b,c</sup>	5,40±1,37 <sup>a,c</sup>
<b>C.</b>	2,83±0,49 <sup>a,b</sup>	3,77±1,57 <sup>a</sup>	1,33±0,15 <sup>a,b</sup>	1,23±0,15 <sup>a,b</sup>	2,57±1,19 <sup>a,b</sup>	1,37±0,81 <sup>a,b</sup>	2,77±0,18 <sup>a,b</sup>	0,97±0,21 <sup>b</sup>	2,60±1,82 <sup>a,b</sup>	2,00±0,44 <sup>a,b</sup>
<b>C.C.</b>	4,13±0,12 <sup>a</sup>	3,87±0,80 <sup>a,b</sup>	3,60±0,40 <sup>a,b</sup>	2,37±0,58 <sup>b</sup>	2,63±0,35 <sup>a,b</sup>	2,53±0,93 <sup>a,b</sup>	3,20±0,20 <sup>a,b</sup>	2,57±0,70 <sup>a,b</sup>	3,40±0,46 <sup>a,b</sup>	3,83±0,81 <sup>a,b</sup>
<b>C.P.</b>	4,07±0,06 <sup>a</sup>	3,27±0,87 <sup>a</sup>	1,77±0,95 <sup>a</sup>	4,03±1,97 <sup>a</sup>	1,03±0,50 <sup>a</sup>	1,90±1,22 <sup>a</sup>	2,16±1,46 <sup>a</sup>	1,30±0,61 <sup>a</sup>	3,90±2,65 <sup>a</sup>	2,13±0,40 <sup>a</sup>

A.B: Arroz branco; A.I.: Arroz integral; C.: Coco; C.C.: Castanha de caju; C.P.: Castanha do Pará.

<sup>a,b,c</sup>. Médias com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si (p<0,05).

### ANEXO C – VALORES E DESVIO PADRÃO DA UMIDADE

Tabela 10 – Valores médios de umidade (%) dos extratos vegetais pasteurizados e armazenados por 20 dias sob refrigeração (4 °C).

Extratos	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h	60 h	72 h	10 d	15 d	20 d
<b>A.B.</b>	92,65±0,21 <sup>a</sup>	92,85±0,60 <sup>a</sup>	92,78±0,04 <sup>a</sup>	93,03±0,48 <sup>a</sup>	92,62±0,20 <sup>a</sup>	92,63±0,29 <sup>a</sup>	92,42±0,07 <sup>a</sup>	92,51±0,08 <sup>a</sup>	92,54±0,05 <sup>a</sup>	92,66±0,08 <sup>a</sup>
<b>A.I.</b>	89,94±0,08 <sup>a</sup>	89,91±0,25 <sup>a</sup>	88,37±2,80 <sup>a</sup>	90,46±0,27 <sup>a</sup>	90,05±0,04 <sup>a</sup>	89,92±0,17 <sup>a</sup>	89,71±0,10 <sup>a</sup>	90,22±0,10 <sup>a</sup>	90,07±0,21 <sup>a</sup>	90,33±0,06 <sup>a</sup>
<b>C.</b>	92,31±0,01 <sup>a</sup>	93,16±0,87 <sup>a</sup>	91,64±0,12 <sup>a</sup>	92,97±1,02 <sup>a</sup>	91,88±0,05 <sup>a</sup>	91,99±1,75 <sup>a</sup>	92,37±0,10 <sup>a</sup>	92,94±0,61 <sup>a</sup>	93,11±0,50 <sup>a</sup>	91,62±0,63 <sup>a</sup>
<b>C.C.</b>	89,23±0,44 <sup>a</sup>	89,14±1,15 <sup>a</sup>	87,47±0,32 <sup>a</sup>	87,77±1,59 <sup>a</sup>	87,76±0,08 <sup>a</sup>	88,13±0,55 <sup>a</sup>	87,84±0,14 <sup>a</sup>	87,50±0,92 <sup>a</sup>	88,48±0,33 <sup>a</sup>	88,65±0,15 <sup>a</sup>
<b>C.P.</b>	89,73±0,01 <sup>a</sup>	88,01±0,71 <sup>a</sup>	87,53±1,90 <sup>a</sup>	87,46±0,42 <sup>a</sup>	86,42±0,30 <sup>a</sup>	86,93±0,45 <sup>a</sup>	87,84±1,28 <sup>a</sup>	89,17±2,60 <sup>a</sup>	88,66±2,97 <sup>a</sup>	85,90±1,73 <sup>a</sup>

A.B: Arroz branco; A.I.: Arroz integral; C.: Coco; C.C.: Castanha de caju; C.P.: Castanha do Pará.

<sup>a,b</sup> Médias com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si (p<0,05).

Tabela 11 – Valores médios de umidade (%) dos extratos fermentados durante os 20 dias de armazenamento sob refrigeração (4°C).

Extratos	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h	60 h	72 h	10 d	15 d	20 d
<b>A.B.</b>	92,65±0,21 <sup>a</sup>	88,16±1,02 <sup>a</sup>	88,63±0,09 <sup>a</sup>	85,91±2,29 <sup>a</sup>	90,78±2,10 <sup>a</sup>	67,93±7,64 <sup>b</sup>	89,00±0,18 <sup>a</sup>	89,92±0,93 <sup>a</sup>	89,48±0,13 <sup>a</sup>	90,07±0,05 <sup>a</sup>
<b>A.I.</b>	89,94±0,08 <sup>a</sup>	88,39±0,23 <sup>a</sup>	88,04±0,06 <sup>a</sup>	84,87±1,03 <sup>a</sup>	88,52±0,07 <sup>a</sup>	67,74±5,60 <sup>b</sup>	89,63±2,11 <sup>a</sup>	88,52±0,18 <sup>a</sup>	88,88±0,02 <sup>a</sup>	89,36±0,15 <sup>a</sup>
<b>C.</b>	89,23±0,45 <sup>a,b</sup>	83,32±1,35 <sup>c</sup>	86,22±1,42 <sup>a,b,c</sup>	85,21±0,49 <sup>b,c</sup>	89,01±1,00 <sup>a,b</sup>	72,22±3,64 <sup>d</sup>	86,59±1,10 <sup>a,b,c</sup>	89,15±0,67 <sup>a,b</sup>	89,04±0,34 <sup>a,b</sup>	90,24±1,27 <sup>a</sup>
<b>C.C.</b>	92,31±0,01 <sup>a</sup>	82,04±0,13 <sup>b,c,d</sup>	81,71±0,28 <sup>c,d</sup>	81,09±0,39 <sup>d</sup>	82,63±0,35 <sup>b,d</sup>	53,32±2,91 <sup>e</sup>	83,08±0,28 <sup>b,c,d</sup>	83,56±0,19 <sup>b,c,d</sup>	84,07±0,27 <sup>b,c</sup>	84,61±0,16 <sup>b</sup>
<b>C.P.</b>	89,73±0,0 <sup>a</sup>	77,83±2,55 <sup>c</sup>	81,66±1,05 <sup>b,c,d,e</sup>	80,78±2,45 <sup>c,d,e</sup>	85,12±1,73 <sup>a,b,c</sup>	51,73±3,43 <sup>f</sup>	84,07±0,28 <sup>b,c,d</sup>	84,70±1,42 <sup>a,b,c</sup>	85,16±1,34 <sup>a,b,c</sup>	86,83±2,77 <sup>a,b</sup>

A.B: Arroz branco; A.I.: Arroz integral; C.: Coco; C.C.: Castanha de caju; C.P.: Castanha do Pará.

<sup>a,b</sup> Médias com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si (p<0,05).

**ANEXO D – VALORES E DESVIO PADRÃO DAS COORDENADAS DE CROMATICIDADE**

Tabela 12 – Valores médios das coordenadas de cromaticidade (L\*, a\* e b\*) dos extratos vegetais hidrossolúveis durante 20 dias de armazenamento sob refrigeração (4 °C).

Extratos		0 h	12 h	24 h	36 h	48 h	60 h	72 h	10 d	15 d	20 d
<b>A.B.</b>	L*	66,98±3,44 <sup>a,b</sup>	57,97±3,02 <sup>b,c</sup>	72,19±4,06 <sup>a</sup>	58,98±3,20 <sup>c</sup>	61,18±0,58 <sup>b,c</sup>	60,04±1,75 <sup>b,c</sup>	58,89±1,63 <sup>c</sup>	72,27±1,00 <sup>a</sup>	73,23±0,35 <sup>a</sup>	73,85±1,95 <sup>a</sup>
	a*	-1,76±0,17 <sup>b,c</sup>	-1,44±0,16 <sup>b,c</sup>	-1,31±0,24 <sup>b</sup>	-1,57±0,18 <sup>b,c</sup>	-2,44±0,06 <sup>c</sup>	-0,58±0,11 <sup>a</sup>	-0,29±0,07 <sup>a</sup>	-1,79±0,14 <sup>b,c</sup>	-1,91±0,09 <sup>c,d</sup>	-3,07±0,30 <sup>f</sup>
	b*	-1,07±0,06 <sup>f</sup>	-0,05±0,06 <sup>d,e</sup>	0,67±0,15 <sup>b,c,d</sup>	-0,23±0,98 <sup>e,f</sup>	1,52±0,08 <sup>a,b</sup>	0,25±0,14 <sup>c,d,e</sup>	0,01±0,04 <sup>d,e</sup>	0,79±0,04 <sup>b,c,d</sup>	1,73±0,02 <sup>a</sup>	0,80±0,12 <sup>b,c,d</sup>
<b>A.I.</b>	L*	65,84±1,31 <sup>a</sup>	56,49±1,36 <sup>b,c</sup>	65,15±1,11 <sup>a</sup>	53,70±2,09 <sup>b,c</sup>	58,73±1,70 <sup>b</sup>	50,91±3,21 <sup>c</sup>	54,39± 2,09 <sup>b,c</sup>	65,05±0,66 <sup>a</sup>	67,83±1,14 <sup>a</sup>	62,83±1,72 <sup>a</sup>
	a*	-3,76±2,89 <sup>b</sup>	-0,46±1,31 <sup>a</sup>	0,23±0,21 <sup>a</sup>	-1,00±0,08 <sup>a,b</sup>	-2,13±0,13 <sup>a,b</sup>	-0,21±0,24 <sup>a</sup>	-0,09±0,49 <sup>a</sup>	-1,01±0,03 <sup>a,b</sup>	-1,72±0,32 <sup>a,b</sup>	-1,48±0,62 <sup>a,b</sup>
	b*	8,79±0,38 <sup>c</sup>	8,30±0,27 <sup>c,d</sup>	11,06±0,27 <sup>b</sup>	7,59±0,58 <sup>d,e</sup>	8,45±0,34 <sup>c,d</sup>	7,21±0,21 <sup>e</sup>	8,49±0,39 <sup>c,d</sup>	10,87±0,24 <sup>b</sup>	11,13±0,24 <sup>b</sup>	12,20±0,37 <sup>a</sup>
<b>C.</b>	L*	51,40±1,98 <sup>c</sup>	59,46±2,37 <sup>b,c,d</sup>	66,02±0,64 <sup>c</sup>	76,47±0,55 <sup>a</sup>	62,00±2,22 <sup>b,c</sup>	64,58±0,29 <sup>b,c</sup>	75,37±0,59 <sup>a</sup>	60,99±0,40 <sup>b,c,d</sup>	55,53±2,48 <sup>d,e</sup>	71,96±0,15 <sup>a</sup>
	a*	-7,36±0,23 <sup>f</sup>	1,07±0,05 <sup>a</sup>	-0,16±0,31 <sup>d</sup>	0,03±0,15 <sup>d</sup>	0,71±0,06 <sup>a,b,c</sup>	0,63±0,04 <sup>b,c</sup>	0,60±0,04 <sup>c</sup>	-0,25±0,08 <sup>d</sup>	-0,38±0,09 <sup>d</sup>	-1,16±0,05 <sup>c</sup>
	b*	9,75±0,51 <sup>a</sup>	1,07±0,29 <sup>c,d</sup>	0,39±0,09 <sup>c,d,e,f</sup>	0,97±0,05 <sup>c,d,f</sup>	0,46±0,04 <sup>c,d,e,f</sup>	0,05±0,11 <sup>e</sup>	1,13±0,06 <sup>c,d</sup>	0,04±0,58 <sup>e</sup>	0,27±0,06 <sup>e,f</sup>	3,19±0,10 <sup>b</sup>
<b>C.C.</b>	L*	44,63±1,98 <sup>d</sup>	55,62±4,81 <sup>b,c</sup>	66,59±5,20 <sup>a,b</sup>	73,79±3,50 <sup>a</sup>	61,53±2,02 <sup>b,c</sup>	60,81±2,90 <sup>b,c</sup>	72,08±1,88 <sup>a</sup>	60,25±0,57 <sup>b,c</sup>	57,05±0,94 <sup>b,c</sup>	71,37±0,27 <sup>a</sup>
	a*	-6,11±0,25 <sup>d</sup>	0,59±0,15 <sup>a,b</sup>	0,58±0,31 <sup>a,b</sup>	0,65±0,25 <sup>a,b</sup>	0,25±0,26 <sup>a,b</sup>	0,73±0,08 <sup>a</sup>	0,57±0,19 <sup>a,b</sup>	-1,01±0,21 <sup>c</sup>	-0,84±0,15 <sup>c</sup>	0,07±0,05 <sup>b</sup>
	b*	11,54±4,98 <sup>a,b</sup>	8,66±1,03 <sup>a,b</sup>	10,68±1,07 <sup>a,b</sup>	12,05±0,53 <sup>a,b</sup>	9,30±1,04 <sup>a,b</sup>	9,17±0,50 <sup>a,b</sup>	11,63±0,21 <sup>a,b</sup>	7,43±0,18 <sup>b</sup>	7,92±0,27 <sup>a,b</sup>	11,98±0,13 <sup>a,b</sup>
<b>C.P.</b>	L*	56,37±0,62 <sup>f</sup>	58,42±1,77 <sup>e,f</sup>	72,50±3,81 <sup>b,c</sup>	78,22±1,75 <sup>a,b</sup>	66,63±1,47 <sup>c,d</sup>	64,34±2,77 <sup>d,e</sup>	79,64±2,16 <sup>a</sup>	64,34±1,13 <sup>d,e</sup>	59,36±0,39 <sup>e,f</sup>	73,44±1,48 <sup>a,b</sup>
	a*	-9,15±0,57 <sup>b</sup>	0,16±0,19 <sup>a</sup>	-0,40±0,02 <sup>a</sup>	-0,31±0,13 <sup>a</sup>	0,26±0,08 <sup>a</sup>	0,03±0,18 <sup>a</sup>	-0,02±0,20 <sup>a</sup>	-0,37±0,09 <sup>a</sup>	-0,23±0,03 <sup>a</sup>	-0,31±0,23 <sup>a</sup>
	b*	10,58±0,98 <sup>a</sup>	3,16±0,45 <sup>d,e,f</sup>	4,26±0,54 <sup>c,d</sup>	4,68±0,39 <sup>b,c</sup>	3,56±0,08 <sup>c,d,e</sup>	2,69±0,27 <sup>e,f</sup>	4,74±0,14 <sup>b,c</sup>	2,07±0,30 <sup>f</sup>	2,99±0,19 <sup>d,e,f</sup>	5,65±0,25 <sup>b</sup>

A.B: Arroz branco; A.I.: Arroz integral; C.: Coco; C.C.: Castanha de caju; C.P.: Castanha do Pará.

<sup>a,b,c,d,e</sup> Médias com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si (p<0,05).

Tabela 13 – Valores médios para as coordenadas de cor (L, a\* e b\*) durante os 20 dias de armazenamento sob refrigeração dos extratos fermentados.

Extratos		0 h	12 h	24 h	36 h	48 h	60 h	72 h	10 d	15 d	20 d
<b>A.B.</b>	L	66,98±3,44 <sup>c</sup>	80,52±4,95 <sup>a</sup>	73,58±2,93 <sup>b</sup>	73,48±0,61 <sup>b,c</sup>	75,50±1,42 <sup>a,b</sup>	77,95±1,39 <sup>a,b</sup>	77,38±0,74 <sup>a,b</sup>	79,57±1,76 <sup>a,b</sup>	77,22±0,64 <sup>a,b</sup>	77,66±0,89 <sup>a,b</sup>
	a*	-1,76±0,17 <sup>d,e</sup>	2,82±0,28 <sup>a</sup>	2,72±0,24 <sup>a</sup>	2,05±0,24 <sup>a,b</sup>	0,34±1,44 <sup>b,c</sup>	0,84±0,34 <sup>b,c</sup>	-0,52±1,39 <sup>c,d,e</sup>	-2,27±0,18 <sup>c</sup>	-1,66±0,09 <sup>d,e</sup>	-0,37±0,15 <sup>c,d</sup>
	b*	-1,07±0,06 <sup>a,b</sup>	-8,47±0,69 <sup>c</sup>	-7,39±0,45 <sup>d,e</sup>	-7,29±0,24 <sup>d,e</sup>	-4,08±3,-59 <sup>b,c,d</sup>	-6,52±0,33 <sup>d,e</sup>	-2,10±3,04 <sup>a,b,c</sup>	0,88±0,26 <sup>a</sup>	0,68±0,12 <sup>a</sup>	-5,35±0,53 <sup>c,d,e</sup>
<b>A.I.</b>	L	65,83±1,31 <sup>c</sup>	76,66±1,86 <sup>a,b</sup>	72,27±3,07 <sup>b,c</sup>	76,11±3,25 <sup>a,b</sup>	75,11±2,74 <sup>a,b</sup>	82,37±2,46 <sup>a</sup>	78,8±3,57 <sup>a,b</sup>	81,01±2,78 <sup>a,b</sup>	77,78±3,17 <sup>a,b</sup>	79,49±1,60 <sup>a,b</sup>
	a*	-2,05±0,13 <sup>d,e</sup>	2,15±0,20 <sup>a</sup>	1,80±0,08 <sup>a</sup>	1,78±0,18 <sup>a</sup>	1,12±0,18 <sup>a,b</sup>	0,42±0,22 <sup>a,b,c</sup>	-0,48±0,89 <sup>b,c,d</sup>	-2,58±0,19 <sup>c</sup>	-0,53±2,02 <sup>b,c,d</sup>	1,20±0,05 <sup>c,d,e</sup>
	b*	8,79±0,38 <sup>a</sup>	-2,59±0,41 <sup>d</sup>	-2,22±0,62 <sup>d</sup>	-2,97±0,17 <sup>d</sup>	-2,13±0,77 <sup>d</sup>	-1,62±0,48 <sup>c,d</sup>	1,21±3,03 <sup>c</sup>	5,82±0,20 <sup>b</sup>	5,51±0,04 <sup>b</sup>	-1,00±0,20 <sup>c,d</sup>
<b>C.</b>	L	51,40±1,98 <sup>b</sup>	73,99±2,79 <sup>a</sup>	71,05±4,00 <sup>a</sup>	73,88±2,14 <sup>a</sup>	75,44±2,78 <sup>a</sup>	74,94±1,68 <sup>a</sup>	77,09±1,93 <sup>a</sup>	72,36±10,60 <sup>a</sup>	79,11±0,45 <sup>a</sup>	75,15±2,30 <sup>a</sup>
	a*	-7,36±0,23 <sup>c</sup>	2,34±0,81 <sup>a</sup>	2,05±0,44 <sup>a</sup>	1,24±0,20 <sup>a,b</sup>	1,06±1,78 <sup>a,b</sup>	0,90±0,22 <sup>a,b</sup>	-1,43±0,10 <sup>c,d</sup>	-2,71±0,35 <sup>d</sup>	-1,41±0,90 <sup>c,d</sup>	-0,18±0,05 <sup>b,c</sup>
	b*	9,75±0,51 <sup>a</sup>	-5,91±0,74 <sup>c</sup>	-5,70±1,56 <sup>c</sup>	-7,45±0,53 <sup>c</sup>	-5,71±3,23 <sup>c</sup>	-6,01±0,41 <sup>c</sup>	-0,41±0,69 <sup>b</sup>	1,18±0,04 <sup>b</sup>	0,42±0,06 <sup>b</sup>	-4,96±0,24 <sup>c</sup>
<b>C.C.</b>	L	44,63±1,98 <sup>b</sup>	75,65±1,57 <sup>a</sup>	82,05±2,43 <sup>a</sup>	75,38±3,85 <sup>a</sup>	79,00±2,09 <sup>a</sup>	76,13±0,82 <sup>a</sup>	78,67±3,06 <sup>a</sup>	82,01±3,61 <sup>a</sup>	82,67±3,10 <sup>a</sup>	80,20±2,03 <sup>a</sup>
	a*	-6,11±0,25 <sup>f</sup>	1,75±0,13 <sup>a</sup>	1,31±0,09 <sup>a</sup>	1,26±0,51 <sup>a,b</sup>	0,56±0,11 <sup>b,c</sup>	-0,05±0,25 <sup>c</sup>	-1,50±0,17 <sup>d</sup>	-2,46±0,33 <sup>e</sup>	-1,55±0,11 <sup>d</sup>	-1,03±0,27 <sup>d</sup>
	b*	11,54±4,97 <sup>a</sup>	3,33±0,21 <sup>b,c</sup>	4,72±0,58 <sup>b,c</sup>	1,92±1,50 <sup>b,c</sup>	0,99±0,53 <sup>b</sup>	5,18±0,31 <sup>b,c</sup>	3,40±0,17 <sup>b,c</sup>	4,91±0,55 <sup>b,c</sup>	3,76±0,86 <sup>b,c</sup>	6,52±0,49 <sup>c</sup>
<b>C.P.</b>	L	56,37±0,62 <sup>c</sup>	76,04±1,20 <sup>a,b</sup>	78,00±1,31 <sup>a,b</sup>	73,42±1,98 <sup>a,b</sup>	70,07±8,34 <sup>b</sup>	73,88±1,40 <sup>a,b</sup>	76,84±4,20 <sup>a,b</sup>	80,66±2,58 <sup>a,b</sup>	80,33±2,85 <sup>a,b</sup>	75,31±0,24 <sup>a,b</sup>
	a*	-3,49±10,38 <sup>a</sup>	1,37±0,41 <sup>a</sup>	0,92±0,28 <sup>a</sup>	0,91±0,40 <sup>a</sup>	1,17±0,05 <sup>a</sup>	0,27±0,21 <sup>a</sup>	-1,61±0,61 <sup>a</sup>	-2,48±0,30 <sup>a</sup>	-1,77±0,48 <sup>a</sup>	-0,82±0,10 <sup>a</sup>
	b*	10,58±0,98 <sup>a</sup>	-0,37±0,65 <sup>d</sup>	1,51±0,20 <sup>b,c,d</sup>	0,75±1,41 <sup>c,d</sup>	-3,74±0,71 <sup>c</sup>	2,38±0,56 <sup>b,c</sup>	2,02±0,27 <sup>b,c</sup>	3,32±0,75 <sup>b</sup>	2,79±0,34 <sup>b,c</sup>	3,36±1,22 <sup>b</sup>

A.B: Arroz branco; A.I.: Arroz integral; C.: Coco; C.C.: Castanha de caju; C.P.: Castanha do Pará.

<sup>a,b,c,d,e</sup> Médias com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si (p<0,05).