



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

RITA SANNARA BANDEIRA DO NASCIMENTO

DESENVOLVIMENTO DE UMA BEBIDA FERMENTADA À BASE DE XERÉM DE
CASTANHA DE CAJU (*Anacardium occidentale* L.)

FORTALEZA

2024

RITA SANNARA BANDEIRA DO NASCIMENTO

DESENVOLVIMENTO DE UMA BEBIDA FERMENTADA À BASE DE XERÉM DE
CASTANHA DE CAJU (*Anacardium occidentale* L.)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará (UFC) como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Produtos de Origem Microbiana e Enzimática.

Orientadora: Profa. Dra. Sueli Rodrigues.

FORTALEZA

2024

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

- N198d Nascimento, Rita Sannara Bandeira do.
Desenvolvimento de uma bebida fermentada à base de xerém de castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) / Rita Sannara Bandeira do Nascimento. – 2024.
78 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2024.
Orientação: Profa. Dra. Sueli Rodrigues.
1. Alimentos funcionais. 2. Amêndoa de castanha de caju. 3. Extrato vegetal. 4. Bebida fermentada. 5. Digestão in vitro. I. Título.

CDD 664

RITA SANNARA BANDEIRA DO NASCIMENTO

DESENVOLVIMENTO DE UMA BEBIDA FERMENTADA À BASE DE XERÉM DE
CASTANHA DE CAJU (*Anacardium occidentale* L.)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará (UFC) como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Produtos de Origem Microbiana e Enzimática.

Aprovada em: 16/02/2024.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Sueli Rodrigues (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Rhonyele Maciel da Silva
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Mayra Garcia Maia Costa
Núcleo de Tecnologia e Qualidade Industrial do Ceará (NUTEC)

A Deus.

À minha mãe, irmã e sobrinha.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser meu guia e me dar forças para sempre seguir em frente.

À minha família, por todo amor e apoio incondicional. À minha mãe, Rita, por ser meu porto seguro, por toda dedicação, por nunca medir esforços para nos proporcionar o melhor. À minha irmã, Saara, por todo incentivo e por celebrar genuinamente todas as minhas conquistas. À minha sobrinha, Ana Lívia, por sempre acreditar em mim e em minha capacidade.

À minha orientadora, Profa. Dra. Sueli Rodrigues, cuja excelente orientação foi fundamental para a realização deste trabalho. Agradeço por toda paciência, dedicação, conhecimentos e acolhida durante o período de mestrado.

Aos membros participantes da banca examinadora, pelo tempo, valiosas colaborações e sugestões.

À Profa. Dra. Ana Lúcia Fernandes Pereira por toda contribuição no desenvolvimento deste trabalho. Assim como, pela parceria na realização das análises sensoriais relatadas nesta pesquisa.

À Dra. Thatyane Vidal Fonteles pela disponibilidade em ajudar sempre que precisei. Agradeço por todos os conselhos, sugestões e ensinamentos.

À toda equipe do Labiotec que me acolheu de braços abertos. Em especial Betina, Brenda, Cristiano, Elaine, Fátima e Karol pela convivência diária, almoços, conselhos, perrengues, risadas, dificuldades e alegrias. Os dias foram mais leves ao compartilhar essa montanha russa que é a pós-graduação com vocês.

Aos amigos e colegas de turma do mestrado que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho

Ao PPGCTA, assim como, todo corpo docente e técnico-administrativo pelo empenho ao programa.

À UFC pela oportunidade de formação acadêmica em um ambiente propício ao aprendizado.

À CAPES, pela manutenção da bolsa. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Assim como, ao INCT- FT e às agências de fomento FUNCAP e CNPQ pelo suporte financeiro.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”
(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

O interesse dos consumidores em alimentos funcionais, tem crescido nos últimos anos. Os produtos de origem vegetal também se encontram em evidente demanda, influenciados por fatores com intolerância à lactose e alergias, veganismo e outras questões éticas. Diante da relevância da amêndoa de castanha de caju (ACC) no comércio brasileiro e o desperdício gerado durante a sua produção devido às quebras e irregularidades propõe-se o uso do xerém da castanha de caju na elaboração de uma bebida vegetal fermentada com bactéria potencialmente probiótica. Dessa maneira, este trabalho teve como objetivo desenvolver e avaliar o potencial funcional de uma bebida à base de extrato de xerém de castanha de caju fermentada pela cepa *Lactocaseibacillus casei* NRRL B-442. A bebida fermentada foi preparada e a sua estabilidade foi avaliada ao longo de 42 dias de armazenamento refrigerado (4 °C), monitorando pH, viabilidade e concentração de ácido lático e açúcares. Além disso, a taxa de sobrevivência das células após a simulação da digestão gastrointestinal foi quantificada. Uma nova fermentação foi preparada e a bebida fermentada foi dividida em duas partes, as quais foram adicionadas de sacarose (7%, m/v) ou sucralose (0,2%, v/v) e foram submetidas a análise sensorial, com testes de associação de palavras, escala hedônica e CATA. Durante a fermentação, o microrganismo potencialmente probiótico demonstrou uma preferência pelo consumo da glicose, resultando na produção de ácido lático. A bebida fermentada se mostrou estável ao longo do armazenamento, com contagens finais de células viáveis superiores a 12 log UFC/mL em todas as amostras analisadas. Durante esse período, a bebida fermentada sofreu pós-acidificação, apresentando valores de ácido lático acima de 9 g/L no final desse período. Após a digestão *in vitro* nos 1°, 21° e 42° dias de armazenamento, foram observadas taxas de sobrevivência do microrganismo de 73,18% (9,55 log UFC/mL), 76,39% (10,68 log UFC/mL) e 75,06% (9,18 log UFC/mL), respectivamente. Os produtos elaborados foram bem aceitos sensorialmente, não havendo diferença significativa entre as amostras adoçadas com sacarose e com sucralose, de acordo com os testes aplicados. Portanto, os resultados indicam que a matriz à base de xerém de castanha de caju é uma boa alternativa na elaboração de produtos vegetais probióticos. O desenvolvimento deste projeto possibilitou a elaboração de um extrato vegetal fermentado com um bom potencial funcional, oferecendo uma nova opção de produto ao público interessado.

Palavras-chave: extrato vegetal; amêndoa de castanha de caju; alimentos funcionais; bebidas fermentadas; digestão *in vitro*; *Lactocaseibacillus casei*.

ABSTRACT

Consumer interest in functional foods has grown in recent years. Plant-based milk alternatives (PBMA) are also in clear demand, influenced by factors such as lactose intolerance, allergies, veganism, and ethical considerations. Recognizing the relevance of cashew nut kernels in Brazilian commerce and the by-products generated during its production due to breakages and irregularities, this study proposed utilizing cashew nut by-product in the preparation of a plant-based beverage fermented with potentially probiotic bacteria. Therefore, this work aimed to develop and evaluate the functional potential of a cashew nut-based beverage fermented by the *Lactocaseibacillus casei* NRRL B-442 strain. The fermented beverage was prepared and its stability was evaluated over 42 days of refrigerated storage (4 °C), monitoring parameters such as pH, viability and concentration of lactic acid and sugars. Additionally, the survival rate of viable cells after simulated gastrointestinal digestion was quantified. A new fermentation was prepared and the fermented beverage was divided into two parts, which were added with sucrose (7%, w/v) or sucralose (0.2%, v/v) and were subjected to sensory analysis, including word association, hedonic scale, and CATA tests. During fermentation, the potentially probiotic microorganism demonstrated a preference for consuming glucose, resulting in the production of lactic acid. The fermented beverage was stable throughout refrigerated storage, with final viable cell counts greater than 12 log CFU/mL in all samples analyzed. During this period, the samples underwent post-acidification during storage, with lactic acid values above 9 g/L at the end of this period. After *in vitro* digestion on the 1st, 21st and 42nd days of storage, microorganism survival rates of 73.18% (9.55 log CFU/mL), 76.39% (10.68 log CFU/mL) and 75.06% (9.18 log CFU/mL) were observed, respectively. The products prepared were well accepted sensorially, with no significant difference between the samples sweetened with sucrose and sucralose, according to the tests applied. Overall, the results suggest that the cashew nut-based matrix is a promising alternative for the development of probiotic plant-based products. The development of this project made it possible to elaborate a fermented plant-based beverage with strong functional potential, providing a new product option for interested consumers.

Keywords: plant-based products; cashew nut kernel; functional foods; fermented beverages; *in vitro* digestion; *Lactocaseibacillus casei*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Caju (<i>Anacardium occidentale</i> L.)	26
Figura 2	– Etapas do processamento da castanha de caju	28
Figura 3	– Classificação do tamanho dos grãos fragmentados de ACC	28
Figura 4	– Extrato de xerém de castanha de caju (ECC)	34
Figura 5	– Fluxograma de obtenção do ECC	35
Figura 6	– Biomassa úmida de <i>L. casei</i> NRRL B-442	36
Figura 7	– Biorreator BIO-TEC-PRO. a) Sistema de biorreatores, controlador e banho termostático; b) Biorreator acoplado aos sensores de pH e temperatura	37
Figura 8	– Digestão gastrointestinal simulada de acordo com método INFOGEST 2.0	39
Figura 9	– Acidificação e viabilidade das células de <i>L. casei</i> NRRL B-442 durante a fermentação do ECC	44
Figura 10	– Perfil de consumo de açúcares e produção de ácido lático durante a fermentação do ECC pelo <i>L. casei</i> NRRL B-442	45
Figura 11	– Comportamento do pH e viabilidade das células durante os 42 dias de armazenamento refrigerado (4 °C) do ECC fermentado pelo <i>L. casei</i> NRRL B-442	49
Figura 12	– Perfil de consumo de açúcares e produção de ácido lático durante os 42 dias de armazenamento refrigerado (4 °C) do ECC fermentado <i>L. casei</i> NRRL B-442	50
Figura 13	– Taxa de sobrevivência do microrganismo nos dias 1, 21 e 42 de armazenamento refrigerado (4 °C) do ECC fermentado após digestão simulada	52
Figura 14	– Viabilidade após as fases da digestão <i>in vitro</i> nos dias 1, 21 e 42 de armazenamento refrigerado (4 °C) do ECC fermentado <i>L. casei</i> NRRL B-442	54

Figura 15 – Categorias mais frequentemente citadas no teste de associação de palavras relacionadas à bebida de castanha de caju fermentada	56
Figura 16 – Aceitação sensorial dos atributos cor, aparência, aroma, sabor e impressão global medidos usando escala hedônica das bebidas estudadas	59
Figura 17 – Percentuais de frequência dos descritores que apresentaram diferença significativa na avaliação CATA das bebidas fermentadas à base de ECC adicionadas de sacarose (ECC-SAC) e sucralose (ECC-SUC) em comparação com o leite fermentado comercial	61

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Fermentação de bebidas vegetais por microrganismos probióticos	25
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição nutricional de bebida vegetal à base de amêndoa de castanha de caju	29
Tabela 2 – Composição dos fluidos simulados de acordo com protocolo INFOGEST 2.0 para o preparo de 400 mL de solução	38
Tabela 3 – Valores de pH, viabilidade, glicose, sacarose e ácido lático obtidos durante o processo de fermentação do ECC pelo <i>L. casei</i> NRRL B-442	46
Tabela 4 – Valores de pH, viabilidade, glicose, sacarose e ácido lático obtidos durante os 42 dias de armazenamento refrigerado (4 °C) do ECC fermentado pelo <i>L. casei</i> NRRL B-442	48
Tabela 5 – Viabilidade após as fases da digestão <i>in vitro</i> nos dias 1, 21 e 42 de armazenamento refrigerado (4 °C) do ECC fermentado pelo <i>L. casei</i> NRRL B-442	53
Tabela 6 – Resultado da associação de palavras da bebida de castanha de caju fermentada, exemplos de associações individuais e frequência de menção das categorias	57
Tabela 7 – Aceitação sensorial dos atributos medidos das amostras usando escala hedônica	59
Tabela 8 – Percentuais de frequência dos descritores mais utilizadas pelos avaliadores na metodologia do CATA, para descrever as bebidas de ECC fermentado adicionadas de sacarose (ECC-SAC) e sucralose (ECC-SUC) em comparação com o leite fermentado comercial	60

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	Alimentos funcionais	17
2.2	Probióticos	18
2.3	Bactérias ácido lácticas	19
2.3.1	<i>Lactocaseibacillus casei</i>	21
2.4	Extratos vegetais hidrossolúveis	22
2.4.1	<i>Processo fermentativo de extratos vegetais</i>	23
2.5	Amêndoas de castanha de caju	26
2.6	Digestão simulada de alimentos probióticos	30
3	OBJETIVOS	33
3.1	Objetivo geral	33
3.2	Objetivos específicos	33
4	MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1	Preparo e processamento do extrato vegetal de xerém de castanha de caju	34
4.2	Microrganismo e preparo do inóculo	35
4.2.1	<i>Preparo da cultura estoque do L. casei NRRL B-442</i>	35
4.2.2	<i>Ativação e preparo do inóculo do L. casei NRRL B-442</i>	36
4.3	Fermentação da bebida vegetal e estudo da cinética	37
4.4	Estabilidade durante o armazenamento da bebida fermentada	37
4.5	Digestão gastrointestinal simulada	38
4.6	Métodos analíticos	39
4.6.1	<i>pH</i>	39
4.6.2	<i>Contagem de células viáveis</i>	40

4.6.3	<i>Determinação de ácido lático e açúcares</i>	40
4.7	Análise sensorial	41
4.8	Análise estatística	42
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1	Cinética da fermentação	43
5.2	Estabilidade durante o armazenamento refrigerado da bebida fermentada	47
5.3	Sobrevivência do microrganismo após digestão simulada	51
5.4	Análise sensorial	55
5.4.1	<i>Associação de palavras</i>	55
5.4.2	<i>Aceitação sensorial por escala hedônica</i>	58
5.4.3	<i>Teste Check-All-That-Apply (CATA)</i>	60
6	CONCLUSÃO	64
	REFERÊNCIAS	65
	APÊNDICE A – TESTE CHECK-ALL-THAT-APPLY (CATA)	76
	APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO	77

1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos últimos anos, a população tem manifestado um interesse crescente por um estilo de vida mais saudável e consciente. É evidente a preocupação com uma alimentação mais equilibrada, que forneça benefícios à saúde além dos aspectos nutricionais (Collier *et al.*, 2023; Lillo-Pérez *et al.*, 2021). De tal forma, o mercado mundial de alimentos funcionais foi fortemente impulsionado nos anos recentes (Küçüköz; Trzaskowska, 2022).

Aproximadamente 65% do mercado global dos produtos funcionais alimentícios são representados por produtos probióticos (Kouamé *et al.*, 2023). Esses alimentos possuem em sua composição microrganismos vivos que, ao serem ingeridos em quantidade apropriada, contribuem para a promoção da saúde do indivíduo (Hill *et al.*, 2014; FAO/WHO, 2002). Esses organismos microscópicos favorecem o fortalecimento da microbiota intestinal, contribuem para a diminuição dos níveis de colesterol e aumentam o estímulo do sistema imunológico (Bernat *et al.*, 2014a).

Uma parte significativa dos microrganismos empregados na produção de alimentos probióticos pertence ao grupo das bactérias ácido lácticas (BAL), sendo os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* os gêneros mais relevantes (Szutowska, 2020). Todavia, a sobrevivência dessas bactérias é influenciada pelo tipo de matéria-prima utilizada como substrato na elaboração de tais produtos (Freitas *et al.*, 2021). O microrganismo probiótico deve manter uma concentração mínima de células viáveis na ordem de 6-7 log UFC/mL durante toda a vida útil do alimento (Leeuwendaal *et al.*, 2022). Além disso, é essencial que sobreviva às condições gastrointestinais e fixe-se ao epitélio para exercer seus efeitos benéficos (Valero-Cases *et al.*, 2020).

Tradicionalmente, os alimentos probióticos são desenvolvidos a partir de matrizes lácteas como iogurtes, queijos, leite fermentado, kefir, entre outros (Valero-Cases *et al.*, 2020). Contudo, devido a fatores como intolerância à lactose, alergias, veganismo, impactos ao meio ambiente e outras questões éticas, a busca por alternativas capazes de substituir essas fontes tem se intensificado (Brooker *et al.*, 2023; Kokwar; Arya; Bhat, 2022). Em resposta a essa demanda, surgem alternativas de origem vegetal, que buscam reproduzir as características de aparência e consistência do leite de vaca. Essas opções são extratos hidrossolúveis obtidos pela trituração e homogeneização de matérias-primas vegetais, tais como legumes, cereais, sementes e nozes (Huang *et al.*, 2023; Tangyu *et al.*, 2019).

Nesse cenário, o uso de oleaginosas na produção de extratos vegetais e produtos probióticos não foi completamente elucidado, tornando essencial o desenvolvimento de novos

produtos a partir dessa matéria-prima (Comak Gocer; Koptagel, 2023). Tendo em vista que, a amêndoa da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) representa uma das oleaginosas mais relevantes no mercado internacional e que durante o seu processamento até 40% da produção pode sofrer danos por quebras, podem-se utilizar os grãos quebrados para a produção de bebidas vegetais, valorizando-se este subproduto (Lima *et al.*, 2021). Em 2021, a produção mundial de amêndoas de castanha de caju atingiu cerca de 1,1 milhão de toneladas, sendo o Brasil o quarto maior produtor, com 30 mil toneladas (FAOSTAT, 2023).

A amêndoa de castanha de caju (ACC) se destaca pelo seu alto valor nutricional, com elevados teores de gorduras (46%), proteínas (21,2%) e carboidratos (22,3%), além de apresentar grandes quantidades de aminoácidos essenciais para o ser humano (Chen *et al.*, 2022; Amorim *et al.*, 2018). O seu consumo está associado a propriedades anti-inflamatórias (D'Amico *et al.*, 2022), diminuição da pressão arterial sistólica e ao aumento das concentrações do colesterol HDL (Mohan *et al.*, 2018). De tal forma, propõe-se o desenvolvimento de um extrato hidrossolúvel à base de xerém de castanha de caju como uma alternativa de substrato viável para a produção de bebidas probióticas.

Além da matéria-prima, o processamento do alimento também afeta a viabilidade e a estabilidade do microrganismo probiótico (Jeske; Zannini; Arendt, 2018). A adoção do processo fermentativo para a incorporação de bactérias probióticas é considerada uma valiosa ferramenta biotecnológica para a promoção da qualidade nutricional, sensorial e microbiológica de produtos alimentícios (Kaprasob *et al.*, 2018). As bactérias ácido lácticas (BAL) são comumente empregadas na produção de uma variedade de alimentos fermentados, contribuindo para a otimização do sabor, textura e conservação (Hasan *et al.*, 2023).

A utilização da espécie *Lactocaseibacillus casei* é fortemente difundida na indústria de alimentos em decorrência do seu potencial industrial, comercial e funcional (Valero-Cases *et al.*, 2020). Contudo, é digno de nota que as propriedades probióticas são intrinsecamente vinculadas à cepa do microrganismo utilizada (Bernal-Castro *et al.*, 2023). Alguns estudos indicaram que a cepa *L. casei* NRRL B-442 demonstrou uma boa adaptação em matérias-primas vegetais, com elevadas taxas de sobrevivência ao longo do armazenamento (Costa *et al.*, 2013; Fonteles *et al.*, 2012; Freitas *et al.*, 2021; Santos Filho *et al.*, 2019) e após a digestão simulada (Silva; Campelo; Rodrigues, 2022). Embora diversos autores tenham obtido êxito na promoção de probióticos a partir de matrizes não lácteas, a avaliação sensorial e aceitação pelos consumidores ainda são escassas (Vivek *et al.*, 2023; Subhashree; Kavita, 2019).

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi desenvolver uma bebida vegetal à base de xerém de castanha de caju fermentada pela cepa potencialmente probiótica *L. casei* NRRL B-442. Em sequência, buscou-se caracterizar as variações de pH, viabilidade, açúcares e ácidos orgânicos ao longo do período de 42 dias de armazenamento refrigerado a 4 °C, além de avaliar a sobrevivência do microrganismo após a digestão simulada. Adicionalmente, o produto elaborado foi submetido a análise sensorial com participantes não treinados.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Alimentos funcionais

Admite-se que o termo alimento funcional surgiu em 1991, no Japão, se referindo ao alimento suplementado por vitaminas, fibras, proteínas ou outros aditivos (Min *et al.*, 2019). Atualmente, um alimento é considerado funcional quando, simultaneamente, fornece nutrientes e proporciona efeitos benéficos ao organismo, promovendo saúde e bem-estar ao consumidor (Doyon; Labrecque, 2008). Este tipo de alimento, ao fazer parte da dieta normal, possui funções específicas capazes de promover melhoras à saúde ou reduzir a probabilidade da ocorrência de determinadas doenças (Kouamé *et al.*, 2023).

Estes alimentos podem apresentar uma diversidade de componentes adicionados ou inerentes, como antioxidantes, minerais, peptídeos bioativos, prebióticos e probióticos (Lillo-Pérez *et al.*, 2021). Segundo Kouamé *et al.* (2023), os alimentos funcionais podem ser divididos em 5 grupos, sendo estes, naturais, enriquecidos, modificados, fortificados e melhorados. É importante salientar que, a manutenção da aparência do alimento após a adição do componente funcional é uma característica relevante na elaboração destes produtos (Shori *et al.*, 2022).

Nas últimas décadas, os consumidores mostraram mudanças em sua percepção acerca dos alimentos que ingerem. Cada vez mais conscientes, buscam por alimentos que, além de satisfazer as suas necessidades energéticas, também, forneçam benefícios à saúde. Com isso, a indústria alimentícia é encorajada a dar maior importância ao desenvolvimento de alimentos funcionais (Küçüköz; Trzaskowska, 2022). Dessa maneira, mais de 500 novos produtos funcionais adentraram o mercado de 2011 a 2021 (Souza *et al.*, 2021).

Shori *et al.* (2022) destacam que o interesse nesses produtos tem se tornado mais evidente devido a fatores como o aumento no estilo de vida saudável da população, o aumento na expectativa de vida dos indivíduos, assim como, o aumento nos custos dos tratamentos e planos de saúde atuais. Recentemente, a pandemia de COVID-19 intensificou a demanda de alimentos com propriedades funcionais, impulsionando ainda mais o crescimento do mercado desses itens alimentícios (Paredes; Escudero-Gilete; Vicario, 2022).

Somente entre os anos de 2000 e 2013, o mercado mundial de alimentos e bebidas funcionais multiplicou o seu faturamento em mais de 5 vezes, logrando o montante de US\$176,7 bilhões, representando cerca de 5% do setor de alimentos (Tripathi; Giri, 2014). Uma pesquisa realizada pela Precedence Research (2023) relata que, em 2022, o mercado global

atingiu a marca de US\$305,4 bilhões. Ainda de acordo com esta organização, as previsões mercadológicas indicam que ocorra um crescimento até o patamar de 597,1 bilhões de dólares, até o ano de 2032. Dentre os alimentos funcionais, os probióticos representam a maior quantidade, correspondendo a porção de 60% a 70% do mercado mundial (Naseem *et al.*, 2023).

2.2 Probióticos

O conceito de probióticos foi idealizado em torno de 1900, pelo cientista russo Elie Metchnikoff, ao observar que a boa saúde e longevidade dos camponeses búlgaros se dava pelo consumo de produtos preparados com leite fermentado (Tripathi; Giri, 2014).

No início dos anos 2000, a Organização Mundial de Saúde (OMS/WHO) e a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) definiram o termo “probiótico” na publicação das Diretrizes para a Avaliação de Probióticos em Alimentos como: “microrganismos vivos que quando administrados em quantidade adequada conferem um benefício à saúde do hospedeiro” (FAO/WHO, 2002).

Em 2013, uma conferência realizada por especialistas da Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP) considerou uma pequena alteração gramatical nesta definição, reiterando probióticos como: “microrganismos vivos, que quando administrados em quantidade adequada, conferem um benefício à saúde do hospedeiro”, tornando-se a definição mais aceita mundialmente (Hill *et al.*, 2014).

Diversas organizações relacionadas com as regulamentações alimentícias, admitem que a quantidade mínima de células viáveis presentes no alimento no momento do seu consumo deve ser de 10^6 UFC/mL (Leeuwendaal *et al.*, 2022). Contudo, a viabilidade do probiótico depende de uma variedade de fatores dentre os quais podem ser citados, a espécie e cepa do microrganismo, a matriz utilizada como substrato, a presença de oxigênio, o pH do meio e o tempo de fermentação do alimento (Cerdá-Bernad *et al.*, 2022; Costa *et al.*, 2013).

As condições do armazenamento também influenciam diretamente na viabilidade do microrganismo. A temperatura empregada na estocagem é inversamente proporcional à manutenção das células viáveis. Dessa forma, é proposto que os alimentos probióticos sejam acondicionados em temperaturas na faixa de 4 a 5 °C, de maneira a preservar a viabilidade do produto (Tripathi; Giri, 2014).

Para ser apontada como probiótica, a cepa do microrganismo deve atender alguns requisitos. Sobretudo, todas as cepas devem ser reconhecidas como seguras (*Generally Recognized As Safe* - GRAS), garantindo que não ofereçam riscos à saúde do consumidor. Ademais, devem ter seus efeitos benéficos confirmados, não devem apresentar resistência aos antibióticos, suas características organolépticas devem ser agradáveis e, ainda, devem oferecer uma boa adesão e colonização à superfície da mucosa intestinal (Szutowska, 2020).

Quando no hospedeiro, os microrganismos probióticos devem apresentar resistência à saliva, ao ácido gástrico e à bile, assim como, a todo o trânsito pelo trato gastrointestinal, e colonizar o intestino em quantidade suficiente para a promoção de benefícios à saúde (Lillo-Pérez *et al.*, 2021).

O consumo regular de probióticos contribui para a manutenção do equilíbrio da microbiota intestinal e da saúde do intestino. Também está associado a melhora na digestibilidade da lactose, a inibição de patógenos no trato gastrointestinal (TGI), além de contribuir com o controle da síndrome do intestino irritável (Costa *et al.*, 2013; Szutowska, 2020). Diversos estudos clínicos indicam a observação de efeitos benéficos como a redução nos marcadores de doença cardiovascular (Cavallini *et al.*, 2016), a redução nos níveis de colesterol no sangue (Larkin; Astheimer; Price, 2009) e melhora no índice glicêmico (Singh *et al.*, 2023).

El Dib *et al.* (2021) relatam que existe uma relação entre a microbiota intestinal e o sistema nervoso central e entérico, denominado por eixo microbiota-intestino-cérebro. A desregulação da microbiota intestinal pode acarretar desordens mentais e do sistema nervoso central. Alli *et al.* (2022) ressaltam que quadros clínicos de depressão e ansiedade reduzem a diversidade de espécies do gênero *Lactobacillus* presentes na microbiota intestinal, assim, o uso de probióticos pode contribuir para a melhora dos sintomas causados por esses transtornos.

Na literatura são relatados ainda diversos outros benefícios do consumo de produtos adicionados de probióticos, dentre os quais pode-se destacar as propriedades anticarcinogênicas, supressão da infecção por *Helicobacter pylori* e a melhora no bem-estar de modo geral (Pereira; Maciel; Rodrigues, 2011; Pimentel *et al.*, 2021b).

2.3 Bactérias ácido lácticas

Grande parte dos microrganismos probióticos fazem parte do grupo das bactérias ácido lácticas (BAL), as quais possuem importante relevância industrial (Bernal-Castro *et al.*, 2023). Em geral, as BAL são bactérias Gram-positivas e não apresentam a capacidade de

formação de esporos. Habitualmente, são isoladas da microbiota intestinal, boca e leite (James; Wang, 2019; Mattison *et al.*, 2020). Comumente, apresentam preferência por ambientes que sejam abundantes em carboidratos, aminoácidos, vitaminas e ácidos graxos. Contudo, são capazes de se desenvolverem em ambientes adversos, como em um processo fermentativo (Szutowska, 2020).

De acordo com os produtos obtidos da sua fermentação, as BAL podem ser classificadas em homofermentativas e heterofermentativas. As bactérias homofermentativas produzem ácido lático em quase exclusividade, enquanto as heterofermentativas produzem uma diversidade de metabólitos, como ácido lático, etanol, ácido acético e dióxido de carbono (Bernal-Castro *et al.*, 2023; Chen *et al.*, 2017).

As BAL possuem uma variedade de propriedades funcionais, dentre as quais podem ser enfatizadas as funções probióticas, aumento da bioacessibilidade de nutrientes, efeito antimicrobiano, degradação de compostos antinutricionais, melhora nas características sensoriais, dentre outros (Hati; Patel; Mandal, 2018; Szutowska, 2020).

Dentre as BAL, os *Lacticaseibacillus* são amplamente empregados no processo industrial de alimentos, sendo utilizados como um ingrediente com propriedades funcionais de grande importância, devido às suas características relacionadas à segurança, eficácia e interesse comercial (Padilha *et al.*, 2016). Esses microrganismos são capazes de promover a fermentação, modificar a textura, sabor e odor do alimento, além de contribuir para a preservação do produto (Pimentel *et al.*, 2021a).

Diferentes fatores influenciam o crescimento das cepas do gênero *Lacticaseibacillus* como, o pH, temperatura e composição do meio. Tais microrganismos apresentam capacidade de crescimento em valores de pH pouco ácido a neutro, com faixa de pH ótimo entre 5,5 e 6,2. Quanto às condições de temperatura, possuem capacidade de crescimento de 2 a 53 °C, com faixa ótima de 30 a 40 °C (Costa *et al.*, 2013).

Recentemente, Zheng *et al.* (2020) sugeriram diversas mudanças taxonômicas no grupo dos *Lactobacillus* baseadas nas características fenotípicas, ecológicas e genotípicas. A partir do sequenciamento completo do genoma, os autores recomendaram a reclassificação do gênero *Lactobacillus* em 25 novos gêneros, que incluem: *Acetilactobacillus*, *Agrilactobacillus*, *Amylolactobacillus*, *Apilactobacillus*, *Bombilactobacillus*, *Companilactobacillus*, *Dellaglioia*, *Fructilactobacillus*, *Furfurilactobacillus*, *Holzapfelia*, *Lacticaseibacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Lapidilactobacillus*, *Latilactobacillus*, *Lentilactobacillus*, *Levilactobacillus*, *Ligilactobacillus*,

Limosilactobacillus, *Liquorilactobacillus*, *Loigolactobacillus*, *Paucilactobacillus*, *Schleiferilactobacillus* e *Secundilactobacillus* (Zheng *et al.*, 2020).

2.3.1 *Lacticaseibacillus casei*

A espécie *Lacticaseibacillus casei*, anteriormente chamada *Lactobacillus casei*, foi isolada a partir de diferentes ambientes, incluindo laticínios e seus produtos fermentados, matérias-primas vegetais e TGI humano e animal (Wang *et al.*, 2012). Esta espécie é bastante aplicada na indústria de alimentos como bactéria potencialmente probiótica (Pimentel *et al.*, 2021a) e está associada a efeitos benéficos na saúde do hospedeiro, como melhorias nas funções imunológicas, manutenção do equilíbrio da microbiota e redução dos riscos relacionados a diarreias (Sultana *et al.*, 2023).

Em geral, as cepas pertencentes ao gênero *Lacticaseibacillus* são homofermentativas e metabolizam pentoses pela via da fosfocetolase (Zheng *et al.*, 2020). Esses microrganismos são exigentes quanto aos componentes nutricionais do meio, quando adicionados em um substrato pobre em nutrientes o seu desenvolvimento é prejudicado (Costa *et al.*, 2013).

A sobrevivência do *L. casei* no alimento é influenciada por inúmeros fatores dentre os quais destacam-se as etapas de processamento, a composição da matriz alimentar, os ingredientes adicionados, o preparo e a concentração do inóculo, a temperatura e a embalagem utilizada no armazenamento (Pimentel *et al.*, 2021a).

Esse microrganismo possui características vantajosas quando usado na fermentação de alimentos de origem vegetal como: o aumento da vida de prateleira do produto, a produção de compostos bioativos e a manutenção da viabilidade mesmo em condições de pH ácido (Silva; Campelo; Rodrigues, 2022). Durante o processo de fermentação, o meio é rapidamente acidificado pela produção de ácido lático e outros compostos como, bacteriocinas, vitaminas, compostos aromáticos e enzimas (AL Zahrani; Shori, 2023).

Na literatura podem ser encontrados diversos estudos que relataram bons resultados com a aplicação de *L. casei* em produtos de origem vegetal. Cunha Júnior *et al.* (2021) produziram um extrato simbiótico à base de castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K) adicionado de inulina. Os autores relataram que o microrganismo *L. casei* manteve boa viabilidade durante todo o período de armazenamento, apresentando 8,58 log UFC/mL ao final dos 28 dias. Santos Filho *et al.* (2019) ao desenvolverem uma bebida de polpa de cacau

(*Theobroma cacao* L.) observaram que a viabilidade do *L. casei* após a fermentação atingiu valores de até 9,25 log UFC/mL. Pereira *et al.* (2017) avaliaram as condições de fermentação de uma bebida de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) com a cepa *L. casei* NRRL B-442. Os resultados obtidos se mantiveram acima de 8 log UFC/mL em todas as condições testadas.

2.4 Extratos vegetais hidrossolúveis

O leite é uma das matrizes mais utilizadas na produção de alimentos probióticos. No entanto, o uso dessa matéria-prima pode causar prejuízos a uma parcela da população que apresenta sensibilidade ao seu consumo, como alergia às proteínas e intolerância à lactose. Na composição do leite de vaca podem ser encontradas mais de 20 proteínas capazes de provocar reações alérgicas no consumidor. Entre as mais frequentes, são citadas a caseína, β -lactoglobulina e α -lactoalbumina (Silva; Silva; Ribeiro, 2020). Da população mundial, estima-se que um terço possui algum nível de dificuldade na digestão da lactose (Paredes; Escudero-Gilete; Vicario, 2022).

Somados a esses fatores, outros elementos como estilo de vida, veganismo e sustentabilidade ambiental geram uma demanda crescente para o desenvolvimento de alimentos livres de componentes lácteos, impulsionando o mercado de produtos vegetais (Pimentel *et al.*, 2021b). Como resultado, as indústrias produtoras de itens veganos apresentam uma expansão anual em torno de 10% (Paredes; Escudero-Gilete; Vicario, 2022). O faturamento mundial de bebidas vegetais dobrou entre os anos de 2009 e 2015, alcançando a marca de 21 bilhões de dólares (Silva; Silva; Ribeiro, 2020). Projeta-se que até o ano de 2028, as vendas mundiais atinjam o patamar de US\$46 bilhões (Markets and Markets, 2023).

Um alimento substituto é um produto desenvolvido com o fim de ser utilizado como substituto total ou parcial do alimento ao qual se assemelha, sendo observadas as suas características quanto à aparência, textura, sabor e odor (Silva; Silva; Ribeiro, 2020). Os extratos vegetais são comumente reconhecidos como substitutos do leite bovino, devido às suas semelhanças quanto ao aspecto e consistência. Essas bebidas vegetais, popularmente conhecidas como “leites vegetais”, são emulsões obtidas da homogeneização de compostos vegetais e água (Jeske; Zannini; Arendt, 2017). De acordo com a sua matéria-prima, podem ser classificados em cinco categorias, sendo estas, cereais, legumes, amêndoas, sementes e pseudocereais (Silva; Smetana, 2022).

Quanto ao aspecto nutricional, os extratos vegetais não são equivalentes ao leite. Assim, a sua completa substituição pode acarretar perdas nutricionais ao consumidor, sendo recomendada a fortificação com outros nutrientes essenciais (Silva; Silva; Ribeiro, 2020). Por outro lado, estudos indicam que o consumo de vegetais está associado à redução de doenças crônicas, câncer e doenças cardiovasculares, assim como, ao fortalecimento do sistema imunológico. Esses efeitos são observados em virtude da presença de compostos como fibras, vitaminas, carotenóides, polifenóis e outros fitoquímicos nesses alimentos (Bernat *et al.*, 2014a; Paredes; Escudero-Gilete; Vicario, 2022).

Contudo, os extratos vegetais possuem antinutrientes, como fitatos e inibidores de tripsina, que podem interferir na absorção de compostos essenciais ao organismo, como as vitaminas e os minerais. De maneira a amenizar essa desvantagem, podem ser aplicadas estratégias como a fermentação, adição de enzimas ou a fortificação desses nutrientes (Jeske; Zannini; Arendt, 2018).

Os extratos vegetais são matrizes convenientes para a incorporação de microrganismos probióticos devido às suas características nutricionais (Pimentel *et al.*, 2021b). Podem ser encontradas na literatura, a utilização de diferentes matérias-primas no desenvolvimento de extratos vegetais probióticos como, por exemplo, avelã (Bernat *et al.*, 2014b), soja e arroz (Costa *et al.*, 2017), grão de bico e água de coco (Mesquita *et al.*, 2020), quinoa (Cerdá-Bernad *et al.*, 2022) e amêndoas de baru (Rocha *et al.*, 2023).

2.4.1 Processo fermentativo de extratos vegetais

A fermentação é uma das técnicas mais antigas empregadas na conservação dos alimentos. A sua aplicação age sobre diversas propriedades do produto, tais como as características nutricionais, sensoriais e a qualidade microbiológica (Szutowska, 2020). Esta técnica pode ser empregada como uma estratégia na elaboração de produtos vegetais inovadores e de maior valor nutricional (Araújo Filho *et al.*, 2023).

Durante o processo fermentativo, os aspectos organolépticos do alimento são modificados pelo metabolismo das bactérias ácido lácticas. Isto ocorre devido à produção de compostos voláteis, incluindo ácidos orgânicos, álcoois, aldeídos e cetonas. Esses compostos influenciam no sabor e odor do alimento, que podem conferir uma melhoria nesses atributos, tornando-os mais desejáveis (Kokwar; Arya; Bhat, 2022).

A produção de ácidos orgânicos durante a fermentação provoca a redução do pH e o aumento da acidez do meio. Em consequência, o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes é inibido e a vida de prateleira do produto é prolongada (Paredes; Escudero-Gilete; Vicario, 2022). O ácido láctico produzido pelas BAL presentes no processo possui grande importância no efeito inibitório desses microrganismos concorrentes (Szutowska, 2020).

Outra vantagem da fermentação é a contribuição para a redução da utilização de estabilizantes e espessantes no alimento (Ludena Urquizo *et al.*, 2017). As BAL apresentam a capacidade de metabolizar exopolissacarídeos (EPS), os quais são polissacarídeos extracelulares. Esses metabólitos atuam nas propriedades reológicas do alimento, sendo desejáveis pela indústria alimentícia (Szutowska, 2020). As modificações provocadas pelo EPS podem ser observadas na melhora da textura, limitação da sinérese e aumento da firmeza do gel (Jeske; Zannini; Arendt, 2018). O processo também contribui para a diminuição dos componentes antinutricionais, possibilitando uma melhor disposição dos minerais e digestibilidade de nutrientes (Rasika *et al.*, 2021).

A técnica de fermentação pode viabilizar o crescimento de cepas probióticas no extrato vegetal (Pimentel *et al.*, 2021). Em decorrência da alta concentração de carboidratos, polifenóis, vitaminas e minerais, os extratos vegetais são considerados excelentes matrizes para a fermentação ácido láctica (Szutowska, 2020).

Os açúcares disponíveis no meio são consumidos pelos microrganismos probióticos que, conseqüentemente, causam uma redução nos níveis de sólidos solúveis totais (SST) do substrato. Em geral, essa ação é percebida em sucos fermentados. Quando em outras matrizes vegetais, essa atividade será dependente da cepa do probiótico, assim como, da matéria-prima. Dessa forma, a doçura do alimento pode ser influenciada pelo consumo dos açúcares pelas bactérias envolvidas no processo (Pimentel *et al.*, 2021).

A presença de compostos fenólicos pode inibir ou estimular o desenvolvimento das bactérias probióticas dados diversos fatores, tais como a estrutura química e concentração desses compostos e a cepa do microrganismo utilizada no processo (Szutowska, 2020). Durante a fermentação, os compostos fenólicos podem ser metabolizados pelos microrganismos probióticos e ter seu conteúdo reduzido. Esse comportamento indica a ocorrência de um possível efeito prebiótico dos compostos fenólicos sobre o crescimento das cepas probióticas, potencializando a sua viabilidade (Cerdá-Bernad *et al.*, 2022).

A escolha adequada da matéria-prima é fundamental para a produção de uma bebida vegetal probiótica, podendo afetar diretamente a sobrevivência do microrganismo durante o

processamento e armazenamento (Naseem *et al.*, 2023). As condições ideais de fermentação favorecem um rápido crescimento do probiótico, inibindo o desenvolvimento de outros microrganismos deteriorantes e patogênicos (Szutowska, 2020). O Quadro 1 apresenta diversos estudos que empregaram o processo fermentativo na produção de bebidas vegetais probióticas.

Quadro 1 – Fermentação de bebidas vegetais por microrganismos probióticos.

Matéria-prima	Probiótico	Fermentação	Armazenamento	Viabilidade	Referência
Soja e amêndoas	<i>Lactobacillus</i> spp.	40 °C/9 h	21 dias/4 °C	3,5 – 6,9 log UFC/mL	(AL Zahrani; Shori, 2023)
Quinoa	<i>L. plantarum</i> DSM 9843	30 °C/48 h	28 dias/4 °C	10,6 – 6,9 log UFC/mL	(Canaviri Paz <i>et al.</i> , 2020)
Quinoa vermelha	<i>L. plantarum</i> e <i>B. longum</i>	37 °C/6 h	-	9,82 – 10,20 log UFC/mL	(Cerdá-Bernad <i>et al.</i> , 2022)
Soja e arroz	<i>L. acidophilus</i>	42 °C	28 dias/5 °C	10 ⁸ – 10 ⁶ UFC/g	(Costa <i>et al.</i> , 2017)
Grão de bico e coco	<i>L. paracasei</i> LBC 81	37 °C	10 dias/4 °C	> 8 log UFC/mL	(Mesquita <i>et al.</i> , 2020)
Amêndoas de baru	<i>L. casei</i> 01	42 °C/5 h	28 dias/7 °C	8 – 10 log UFC/mL	(Fernandes <i>et al.</i> , 2021)
Castanha-do-Brasil	<i>L. casei</i> 01	37 °C/12 h	28 dias/4 °C	9,48 – 8,59 log UFC/mL	(Cunha Júnior <i>et al.</i> , 2021)
Avelã	<i>L. rhamnosus</i> GG	40 °C/3,5 h	28 dias/4 °C	> 7,9 log UFC/mL	(Bernat <i>et al.</i> , 2014a)

Fonte: Elaborado pela autora.

Ainda que a adição de probióticos promova a melhoria das características nutricionais e sensoriais do alimento, poucas informações estão disponíveis quanto o processo

fermentativo e a viabilidade desses microrganismos em produtos de origem vegetal (Illikoud *et al.*, 2023).

2.5 Amêndoas de castanha de caju

O cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) é uma espécie de árvore, que pertence à família *Anacardiaceae*, amplamente encontrada no Nordeste brasileiro. Esta variedade possui capacidade de crescimento em solo pobre e sob diversas condições climáticas, especialmente em climas tropicais e subtropicais. O seu fruto é caracterizado pela castanha, o qual se mantém preso a polpa, que é considerada um pseudofruto (Figura 1). A castanha corresponde a aproximadamente 10% do peso total do caju colhido e possui características sensoriais e nutricionais de grande interesse comercial (Lima; Garruti; Bruno, 2012; Sruthi; Naidu, 2023).

Figura 1 – Caju (*Anacardium occidentale L.*)



Fonte: Wikimedia Commons contributors (2023).

A produção deste fruto se concentra em países subdesenvolvidos, como a Índia, Brasil, Vietnã e outros localizados no leste da África (Oliveira *et al.*, 2020). No Brasil, esta atividade é uma fonte econômica e social de grande importância para o Nordeste brasileiro, onde está concentrada mais de 99% da plantação nacional (Sousa *et al.*, 2022).

No ano de 2021, a produção mundial de castanha de caju com casca foi de aproximadamente 3,8 milhões de toneladas, onde o Brasil representou a 12ª posição do ranking

de maiores produtores, contribuindo com mais de 111 mil toneladas. No mesmo ano, a produção global do fruto sem casca atingiu cerca de 1,1 milhão de toneladas e o Brasil registrou a marca de 30 mil toneladas, ocupando o 4º lugar entre os maiores produtores (FAOSTAT, 2023).

A castanha de caju é composta por casca, película e amêndoa. A amêndoa é a parte comestível da castanha e representa aproximadamente 30% do peso total do fruto, enquanto a casca equivale em torno de 70% (Oliveira *et al.*, 2020).

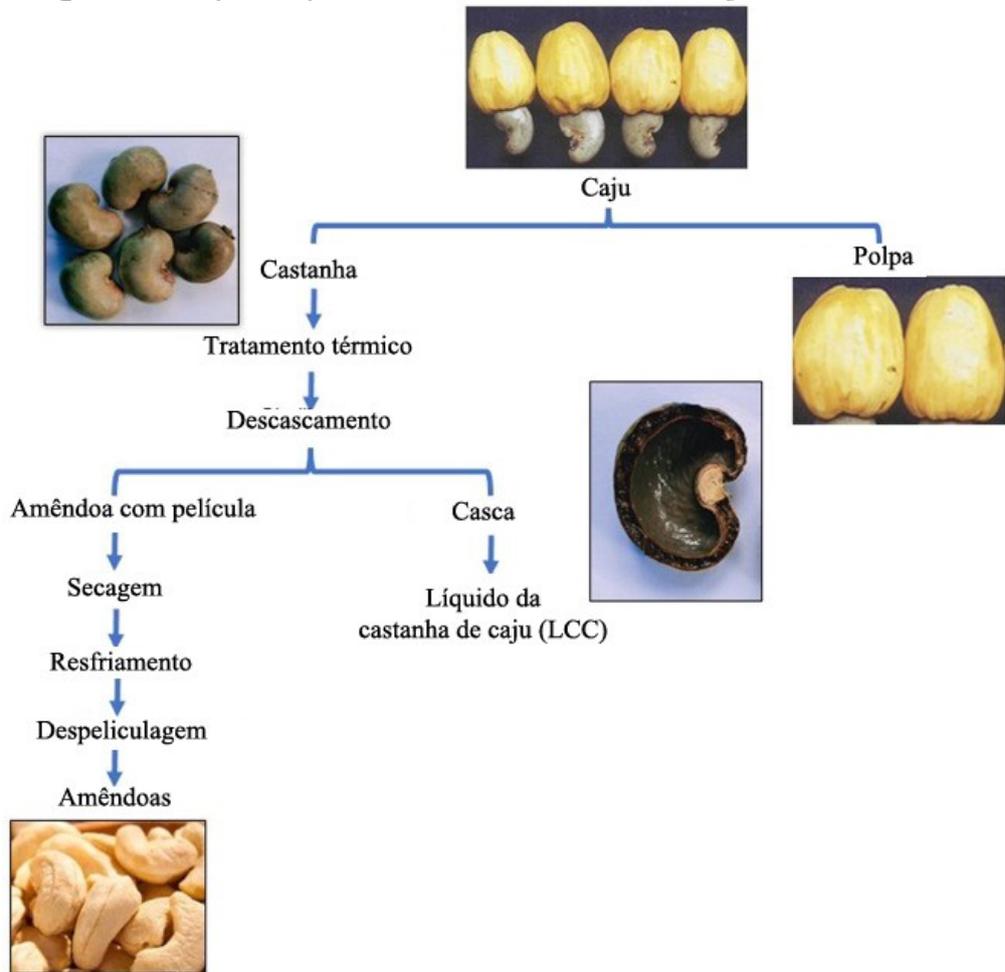
As amêndoas de castanha de caju (ACC) são uma ótima fonte de proteínas, carboidratos, fibras e lipídios. Dentre esses últimos, grande quantidade é representada por ácidos graxos mono e poli-insaturados, com destaque para os ácidos oleico (ômega 9) e linoleico (ômega 6). Assim, o consumo desse alimento é recomendado para o controle do colesterol no sangue, contribuindo para a sua redução (Silva; Silva; Ribeiro, 2020).

Em sua composição, também são encontrados todos os aminoácidos essenciais para o organismo (Bisinotto *et al.*, 2021), uma diversidade de compostos bioativos e diversos minerais como fósforo, cálcio e ferro (Oliveira *et al.*, 2020). Deste modo, sua ingestão oferece vantagens para a saúde, sendo associada ao combate às doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes (Lima; Garruti; Bruno, 2012).

O processamento da ACC envolve diversas etapas (Figura 2) e, como consequência, uma grande quantidade de grãos quebrados de baixo valor comercial é obtida ao final do processo. Esses grãos são classificados de acordo com a sua cor e tamanho (Bisinotto *et al.*, 2021; Lima; Garruti; Bruno, 2012).

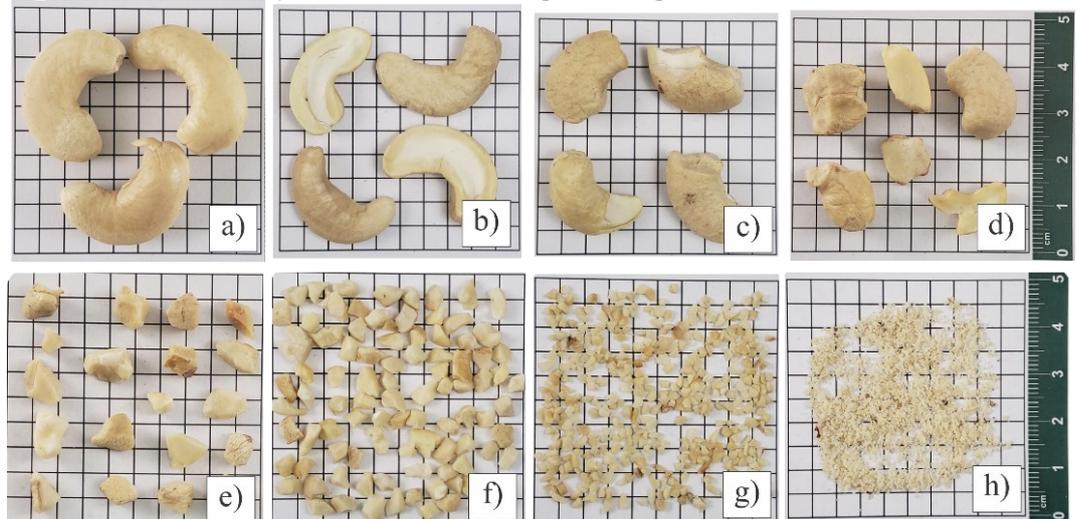
De maneira simplificada, a ACC é classificada quanto a qualidade de sua coloração em quatro diferentes categorias, variando desde as cores mais claras, como branco e marfim, até as mais escuras, como marrom e âmbar (Lima; Garruti; Bruno, 2012). Referente ao tamanho dos grãos fragmentados (Figura 3), em geral, as amêndoas podem ser classificadas em inteiras (W), bandas (S), batoques (B), pedaços (P) e outras partículas menores, sendo pedaço pequeno (SP), pedaço especial pequeno (SSP), xerém (X) e farinha (F) (Carvalho *et al.*, 2018; ONVIT, 2022).

Figura 2 – Etapas do processamento da castanha de caju



Fonte: Adaptado de Sruthi e Naidu (2023).

Figura 3 – Classificação do tamanho dos grãos fragmentados de ACC



Fonte: Adaptado de ONVIT (2022).

Nota: a) W; b) S; c) B; d) P; e) SP; f) SSP; g) X e h) F.

Com o objetivo de valorizar este subproduto, pode-se utilizar os farelos dos grãos na confecção de outros produtos como doces, sorvetes, bolos e bebidas vegetais (Bisinotto *et al.*, 2021). Dessa forma, a produção de um extrato de amêndoa de castanha de caju (ECC) é uma ótima alternativa para a utilização destes fragmentos. De acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA, 2022), a composição nutricional de bebida vegetal à base de castanha de caju apresenta os valores dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição nutricional de bebida vegetal à base de amêndoa de castanha de caju

Componente	Valor por 100g
Energia	511 kJ / 123 kcal
Carboidrato total	4,81 g
Proteína	4,14 g
Lipídios	9,91 g
Ácidos graxos saturados	1,65 g
Ácidos graxos monoinsaturados	5,67 g
Ácidos graxos poli-insaturados	1,73 g
Fibras	0,82 g
Minerais	
Cálcio	5,68 mg
Ferro	1,15 mg
Sódio	0,08 mg
Magnésio	51,6 mg
Fósforo	109 mg
Potássio	140 mg
Zinco	1,01 mg
Cobre	0,25 mg

Fonte: Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TBCA (2022).

O ECC pode ser usado como meio para melhorar o crescimento e a atividade metabólica de BAL e cepas probióticas (Shori *et al.*, 2022). Componentes como compostos fenólicos, oligossacarídeos e ácidos graxos poli-insaturados encontrados nas amêndoas podem ser considerados prebióticos e, assim, estimulam o desenvolvimento dos microrganismos (Bisinotto *et al.*, 2021). Vale ressaltar que, os lipídios presentes na matéria-prima contribuem

para a proteção dos probióticos frente a diferentes tipos de condições de estresse, contribuindo para a manutenção da viabilidade (Lillo-Pérez *et al.*, 2021).

2.6 Digestão simulada de alimentos probióticos

A viabilidade do probiótico é influenciada não somente pelo processamento e armazenamento do produto, mas também pela sobrevivência da bactéria no organismo do consumidor. A seleção apropriada da matriz alimentar é determinante para a elaboração de produtos probióticos eficazes. Os componentes e o pH da mesma podem impactar no desenvolvimento e sobrevivência dos microrganismos no ambiente gastrointestinal. Determinados alimentos possuem capacidade de atuar como tampão regulando a colonização probiótica. Além disso, podem conter compostos bioativos, que ao interagir com a cepa modificam sua funcionalidade e eficácia (Mantovani *et al.*, 2020).

O microrganismo deve ser capaz de resistir às condições de estresse encontradas durante o trânsito gastrointestinal, como as provocadas pelo ácido gástrico e bile. Assim, muitos probióticos comerciais apresentam dificuldade em entregar boas quantidades de células viáveis ao cólon do hospedeiro (Rasika *et al.*, 2021). O microrganismo probiótico deve sobreviver as condições gastrointestinais, em concentrações entre 10^6 e 10^7 UFC/mL, para que seja capaz de colonizar o intestino e, assim, desenvolver as suas características benéficas à saúde do hospedeiro (Szutowska, 2020). No entanto, quantidades na ordem de 10^2 a 10^5 UFC/mL são consideradas satisfatórias (Mantovani *et al.*, 2020).

Embora não haja um consenso em relação a quantidade ideal de microrganismos viáveis que devem chegar ao cólon, acredita-se que esta concentração está associada com os efeitos desejados na saúde. Portanto, torna-se crucial a avaliação da sobrevivência do microrganismo ao longo das diferentes fases gastrointestinais (Padilha *et al.*, 2016).

As situações adversas provocadas pelo processo digestivo podem afetar a integridade da membrana celular, o pH intracelular e as enzimas funcionais das células probióticas. Como resultado, as células podem se encontrar viáveis, adormecidas, ativas ou mortas. Células que sofreram grande nível de estresse podem possuir atividade metabólica, porém, não apresentar mais capacidade de cultivo (Rodrigues *et al.*, 2019). A exposição das células a um pH ácido, inferior a 4,5, gera uma alta necessidade por energia para regular o pH intracelular. Desse modo, ocorre uma escassez de ATP para atender às outras funções vitais, que por consequência, ocasiona a morte celular (Costa *et al.*, 2017).

Usualmente, durante as fases iniciais da digestão é percebida uma perda na viabilidade em decorrência ao choque sofrido pelas células dadas as condições gástricas. Quando na fase entérica, a redução das células viáveis ocorre devido a presença dos sais biliares, que atuam como detergentes e podem ser tóxicos e danosos (Silva; Campelo; Rodrigues, 2022). A tolerância da cepa probiótica em relação ao estresse causado pelos ácidos gástricos e sais biliares é um indicador importante para o seu emprego tecnológico (Tripathi; Giri, 2014).

A técnica de digestão *in vitro* possibilita a investigação do comportamento do alimento no trato gastrointestinal simulado. Dentre as vantagens desse método, podem ser ressaltadas o custo baixo, a rapidez das análises e o não envolvimento de questões éticas para a realização do procedimento, por não utilizar testes *in vivo* (Bisinotto *et al.*, 2021). Em essência, essa técnica replica com precisão as condições físico-químicas ocorridas na digestão humana, abrangendo as fases oral, gástrica e intestinal. O método inclui aspectos como temperatura (37 °C), pH e variações enzimáticas conforme o ambiente. Adicionalmente, alguns sistemas apresentam o compartimento do cólon, permitindo simular a interação da microbiota (Padilha *et al.*, 2016).

Os modelos de digestão gastrointestinal *in vitro* podem ser de dois tipos, sendo eles, estático ou dinâmico. Para a digestão *in vitro* estática são utilizados biorreatores, que reproduzem as condições enzimáticas, físicas e químicas do processo digestivo. No entanto, não é possível a alteração do alimento entre as fases do processo e as condições ambientais permanecem estáveis (Küçükğöz; Trzaskowska, 2022). Os sistemas dinâmicos possibilitam uma simulação mais fidedigna, representando todos os segmentos do TGI, incluindo variações biológicas e químicas. Entretanto, esses sistemas apresentam relativa complexidade e demandam manutenção e configuração de elevado custo, o que dificulta a sua disponibilidade para grande parte da comunidade científica (Almada-Érix *et al.*, 2021).

Dessa forma, uma variedade de modelos estáticos tem sido vastamente aplicada no estudo da digestibilidade e bioacessibilidade de diversos produtos (Minekus *et al.*, 2014). Visando obter um consenso para o modelo, a rede INFOGEST, composta por especialistas de mais de 35 países, publicou um protocolo que define os parâmetros para a simulação estática da digestão de um adulto. Os autores ressaltam que as condições descritas podem não ser aplicáveis a todas as demandas de pesquisas. No entanto, a metodologia detalha minuciosamente os procedimentos, visando alcançar um conjunto de condições práticas que se

aproximam do cenário fisiológico, sendo ponderadas como sugestão básica para abordar inúmeras questões de investigação (Brodkorb *et al.*, 2019).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver e avaliar o potencial funcional de uma bebida à base de extrato de xerém de castanha de caju fermentada pela cepa *Lacticaseibacillus casei* NRRL B-442.

3.2 Objetivos específicos

- Preparar o extrato de xerém de castanha de caju (ECC);
- Realizar estudo da cinética da fermentação da bebida preparada;
- Realizar estudo da estabilidade da bebida fermentada durante o período de armazenamento refrigerado por 42 dias a 4 °C;
- Determinar e quantificar os açúcares e ácidos orgânicos presentes nas amostras;
- Quantificar a taxa de sobrevivência do microrganismo potencialmente probiótico após a digestão *in vitro*;
- Analisar as características sensoriais da bebida através de testes de aceitação com painel não treinado;
- Analisar estatisticamente os dados encontrados no desenvolvimento do trabalho.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este projeto trata-se de uma pesquisa aplicada, exploratória, experimental e quantitativa. O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia (Labiotec), situado no Campus do Pici da Universidade Federal do Ceará (UFC), em Fortaleza – CE em parceria com a Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

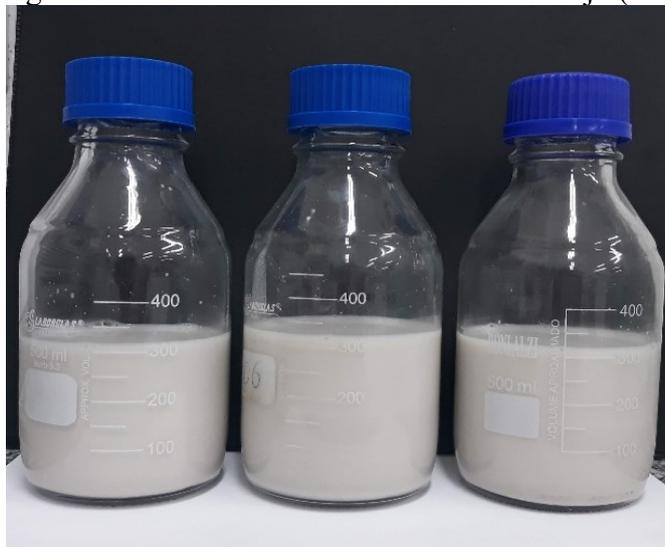
4.1 Preparo e processamento do extrato vegetal de xerém de castanha de caju

O xerém de castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) utilizado neste estudo foi adquirido no comércio local de Fortaleza - CE. O preparo do extrato do xerém de castanha de caju (ECC) foi realizado conforme metodologia adaptada a partir do comunicado técnico 232 emitido pela EMBRAPA Agroindústria Tropical (Lima *et al.*, 2017).

Inicialmente, o xerém foi hidratado com água, na proporção de 100 g para 200 mL de água e, em seguida, foi mantido em repouso por 4 horas à temperatura ambiente (em torno de 26 °C).

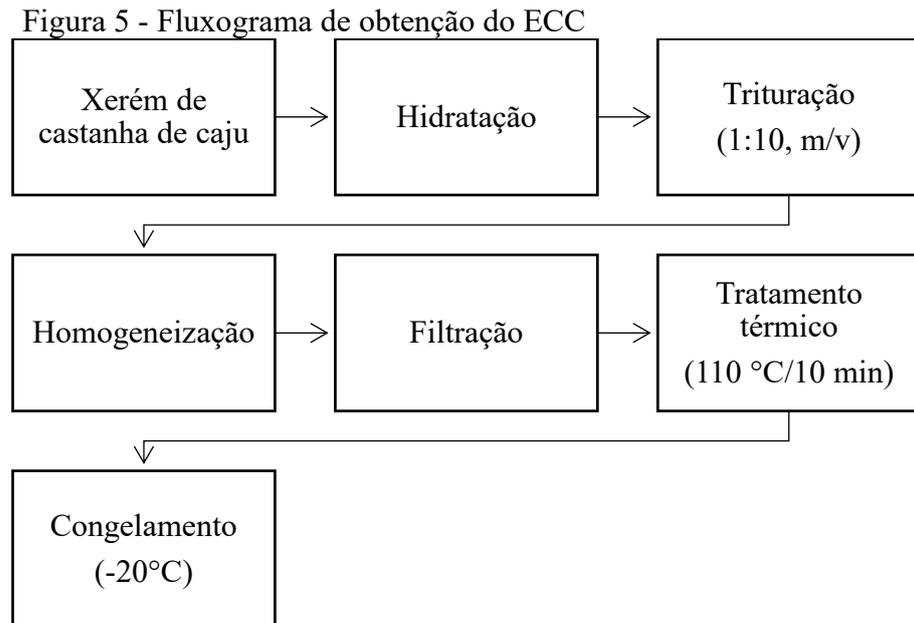
Após o período de hidratação, a mistura foi triturada em um liquidificador doméstico (FAET) em potência máxima por 4 minutos. O volume foi completado para 1 litro com água destilada e a bebida foi homogeneizada. Após este processo, o extrato foi filtrado em tecido *voal* para a remoção de resíduos e, em seguida, distribuído em garrafas de vidro com tampas rosqueáveis (Figura 4).

Figura 4 – Extrato de xerém de castanha de caju (ECC)



Fonte: elaborado pela autora.

A bebida obtida foi submetida a processamento térmico em autoclave sob temperatura de 110 °C por 10 minutos, para desinfecção de possíveis microrganismos contaminantes presentes no extrato. Por fim, após o resfriamento, o líquido foi embalado à vácuo em sacos plásticos apropriados e armazenado sob congelamento a aproximadamente -20 °C, para posterior utilização. A Figura 5 ilustra o processo de obtenção do ECC.



Fonte: elaborado pela autora.

4.2 Microrganismo e preparo do inóculo

4.2.1 Preparo da cultura estoque do *L. casei* NRRL B-442

Uma cepa de *Lacticaseibacillus casei* NRRL B-442 obtida da coleção de cultura do Departamento de Agricultura dos EUA (NRRL Culture collection, United States Department of Agriculture, Peoria, IL, USA) foi utilizada para a fermentação do ECC.

Em um tubo de ensaio contendo 10 ml de meio caldo De Man, Rogosa e Sharpe (MRS) estéril, de pH 6,5, foi adicionado o microrganismo *L. casei* NRRL B-442 liofilizado. A cepa foi ativada estaticamente por um período de 16 horas sob temperatura de 37 °C em incubadora BOD da marca Marconi (Piracicaba, BR). Em sequência, a suspensão de ativação foi inoculada em 100 mL de caldo MRS, contendo 10 mL de solução tampão fosfato de potássio dibásico 200 mM (pH 6,7), e foi submetida à incubação estática em BOD à 37 °C por 6 horas. Após este período, transferiu-se 1mL desta suspensão para 100 mL de caldo MRS adicionado

de 10 mL de solução tampão fosfato de potássio dibásico 200 mM (pH 6,7). Novamente, incubou-se estaticamente em estufa BOD sob temperatura de 37 °C por 16 horas.

Em seguida, adicionou-se glicerol estéril (50% v/v) à suspensão para a proteção das células durante o seu armazenamento. A cultura estoque obtida foi armazenada em tubos criogênicos estéreis (2 mL) e acondicionada sob congelamento a -20 °C (Pereira; Maciel; Rodrigues, 2011).

4.2.2 Ativação e preparo do inóculo do *L. casei* NRRL B-442

A cepa de cultura estoque foi ativada para o posterior preparo do inóculo. A ativação foi realizada em um biorreator Tecnal® (Piracicaba, Brasil), modelo BIO-TEC-PRO, onde foram adicionados 300 mL de caldo MRS e 3 mL da cepa estoque. O processo ocorreu sob condições constantes de temperatura (37 °C) e agitação (150 rpm). O pH foi controlado em $5,50 \pm 0,20$ com o auxílio de solução NaOH 3M, contendo sacarose 300 g/L. O processo foi realizado pelo período necessário (aproximadamente 16 horas) até atingir a absorbância de 0,600 em espectrofotômetro a 590 nm, sendo equivalente a 9 log UFC/mL, na escala de McFarland (Pereira; Maciel; Rodrigues, 2011; Mariano, 2000).

Para o preparo do inóculo, a suspensão de ativação foi centrifugada a 10000 g por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e a biomassa obtida foi ressuspensa em solução salina 0,9% estéril e novamente centrifugada a 10000 g por 10 minutos. O sobrenadante, mais uma vez, foi descartado e a biomassa úmida foi coletada (Figura 6).

Figura 6 – Biomassa úmida de *L. casei* NRRL B-442



Fonte: elaborado pela autora.

4.3 Fermentação da bebida vegetal e estudo da cinética

Antes da fermentação, adicionou-se glicose (10 g/L) à bebida vegetal anteriormente preparada. Em um biorreator BIO-TEC-PRO (Tecnal®, Piracicaba, Brasil), retratado na Figura 7, foram adicionados 300 mL do ECC incorporado de glicose. Em seguida, o extrato foi inoculado na concentração de 0,4 g/L da biomassa de *L. casei* NRRL B-442 (correspondendo à 8 log UFC/mL). A fermentação foi realizada sob temperatura de 37 °C e agitação de 150 rpm. Ao atingir pH 4,5 (aproximadamente 7 horas), o processo foi finalizado e a bebida fermentada foi armazenada em refrigerador (4 °C). A cada 2 horas de fermentação, uma alíquota foi coletada para as análises de pH, viabilidade, ácidos orgânicos e açúcares.

Figura 7 – Biorreator BIO-TEC-PRO. a) Sistema de biorreatores, controlador e banho termostático; b) Biorreator acoplado aos sensores de pH e temperatura



Fonte: elaborado pela autora.

4.4 Estabilidade durante o armazenamento da bebida fermentada

Após a fermentação, 150 mL da bebida foram armazenados em frasco SCHOTT (250 mL), o qual foi armazenado sob refrigeração a 4 °C por 42 dias. A cada 7 dias foram coletadas amostras para a realização das análises do pH e viabilidade do microrganismo. Amostras também foram centrifugadas e armazenadas para análises de açúcares e ácidos orgânicos (Santos Filho *et al.*, 2019).

4.5 Digestão gastrointestinal simulada

A bebida fermentada foi submetida à digestão gastrointestinal *in vitro*, de acordo com o método INFOGEST 2.0 (Brodkorb *et al.*, 2019). A metodologia consiste na simulação estática das fases salivar, gástrica e intestinal do aparelho digestivo do organismo humano.

Os fluidos salivar, gástrico e intestinal simulados foram preparados de acordo com o descrito na Tabela 2.

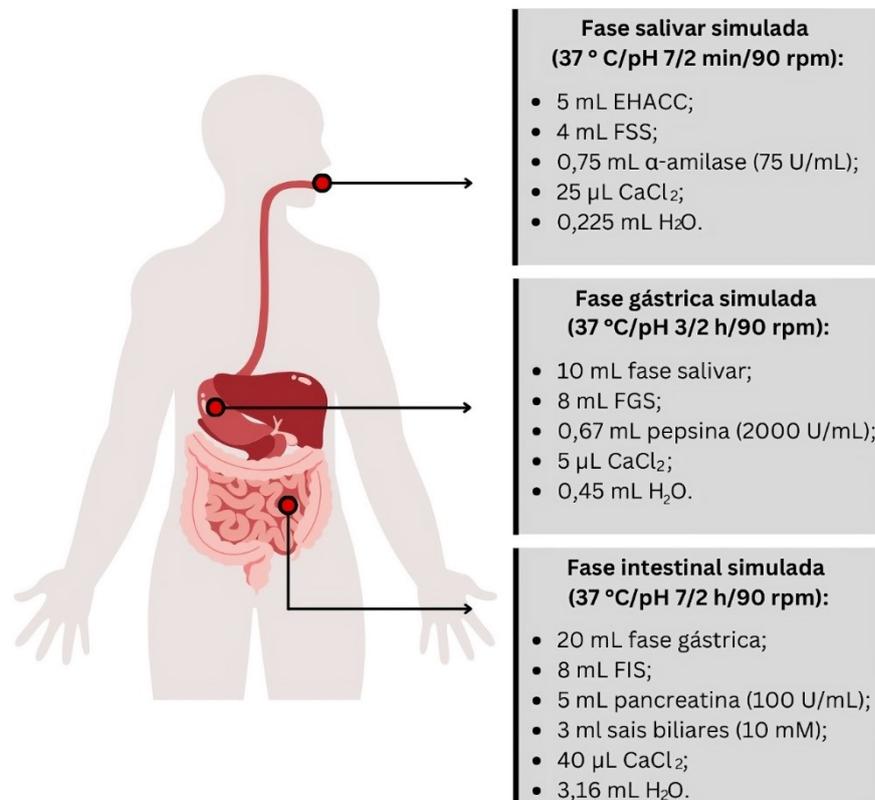
Tabela 2 – Composição dos fluidos simulados de acordo com protocolo INFOGEST 2.0 para o preparo de 400 mL de solução

Componente	Fluido Salivar Simulado (FSS) pH 7	Fluido Gástrico Simulado (FGS) pH 3	Fluido Intestinal Simulado (FIS) pH 7
	Concentração em mM	Concentração em mM	Concentração em mM
KCl	15,1	6,9	6,8
KH₂PO₄	3,7	0,9	0,8
NaHCO₃	6,8	12,5	85
NaCl	-	11,8	38,4
MgCl₂(H₂O)₆	0,5	0,4	0,33
(NH₄)₂CO₃	0,06	0,5	-
HCl	0,09	1,3	8,4
CaCl₂(H₂O)₂	0,025	0,005	0,6

Fonte: Adaptado de Brodkorb (2019).

Inicialmente na fase salivar, 5 mL da bebida fermentada foram diluídos em 4 mL do FSS, adicionou-se 0,75 mL de solução α -amilase (75 U/mL, Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, EUA), 25 μ L de CaCl₂ 0,3 M e 0,225 mL de H₂O. O pH da mistura foi ajustado para 7 com NaOH 5M e a mesma foi incubada por 2 minutos a 37 °C e 90 rpm. Em seguida, a fase salivar (10 mL) foi diluída em 8 mL do FGS. Foram adicionados 0,67 mL de solução de pepsina (2000 U/mL, P7000, Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, EUA), 5 μ L de CaCl₂ 0,3M e 0,45 mL de H₂O. O pH da fase gástrica foi ajustado para 3 com a adição de HCl 5M. A mistura foi incubada por 2 horas a 37 °C e 90 rpm. Por fim, a mistura gástrica (20 mL) foi diluída em 8 mL de FIS e adicionou-se 5 mL de solução de pancreatina (100 U/mL, P3292, Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, EUA), 3 mL de solução de sais biliares (10 mM, B8756, Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, EUA), 40 μ L de CaCl₂ 0,3M e 3,16 mL de H₂O. O pH da fase intestinal foi ajustado para 7 com NaOH 5M e incubou-se por 2 horas a 37 °C e 90 rpm. O procedimento descrito pode ser observado na Figura 8.

Figura 8 – Digestão gastrointestinal simulada de acordo com método INFOGEST 2.0



Fonte: Elaborado pela autora.

Após cada fase, uma amostra foi coletada para a determinação da viabilidade do microrganismo e, ao final do processo, para a quantificação da taxa de sobrevivência das células (Eq. 1). Neste processo, foram analisadas amostras do 1º, 21º e 42º dias do período de armazenamento.

$$\text{Taxa de sobrevivência (\%)} = (\log \text{ final} / \log \text{ inicial}) * 100 \quad (1)$$

4.6 Métodos analíticos

4.6.1 pH

Os valores de pH foram obtidos através de medida direta em potenciômetro (MS Tecnopon®, Piracicaba, São Paulo, BR) calibrado com tampões de pH 4,0 e 7,0 (IAL, 2008).

4.6.2 Contagem de células viáveis

O número de células viáveis foi quantificado por diluição seriada do extrato fermentado em água peptonada estéril. Aliquotas de 10 µL das diluições do extrato foram inoculadas em placas de Petri contendo ágar MRS através do método da gota (Herigstad; Hamilton; Heersink, 2001). Em seguida, as placas foram incubadas em estufa BOD a 37 °C por 48 horas. Após o período de incubação, o número de colônias foi contabilizado e o resultado expresso em logaritmo de unidades formadoras de colônias por mililitros (log UFC/mL). Segundo Vinderola e Reinheimer (2000), as colônias de *L. casei* são caracteristicamente redondas, de cor branco cremoso e variam entre 0,9 e 1,3 mm de diâmetro.

4.6.3 Determinação de ácido lático e açúcares

Aliquotas de 10 mL do extrato fermentado foram centrifugadas a 10000 g e 26 °C por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado e diluído em água ultrapura (UHQ) na proporção de 1:5. As amostras diluídas foram filtradas em filtro seringa de membrana de nylon (0,45 µm) antes das análises.

Para as análises de ácido lático e açúcares foi utilizada a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC - *High performance liquid chromatography*). Para tal, foi utilizado um sistema LC quaternário 1260 Infinity (Agilent technologies, EUA) acoplado a um detector de índice de refração por infravermelho (IR) e um detector UV-VIS. Foram injetados 40 µL de cada amostra no equipamento.

Para análise dos ácidos orgânicos, utilizou-se solução de ácido sulfúrico (5 mM) como eluente, a uma vazão de 0,4 mL/min. A separação dos compostos ocorreu em coluna Aminex HPX 87H (300 ~ 7,8 mm), da marca Bio-Rad (Hercules, Califórnia, EUA), termostaticada a 50°C. Os ácidos foram detectados a 210 nm por detector UV-Vis (Costa *et al.*, 2013).

Os perfis de açúcares das amostras foram analisados através do detector de IR em uma temperatura de 35 °C. A separação dos compostos ocorreu em coluna de gel de cálcio (Supelco), a qual teve a temperatura controlada em 80°C. Como fase móvel, utilizou-se água UHQ, em um fluxo de 0,5 mL/min (Costa *et al.*, 2013).

Curvas padrões foram construídas para a correta identificação e quantificação dos compostos analisados. Os padrões utilizados foram ácido lático, glicose e sacarose.

4.7 Análise sensorial

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Maranhão (CEP/UFMA; CAAE 70904717.0.0000.5087), respeitando a Resolução nº 466 do Ministério da Saúde sobre pesquisas com seres humanos (Brasil, 2012). Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e afirmaram não possuir aversão ou alergias aos ingredientes utilizados na elaboração dos produtos.

A análise sensorial foi realizada com 100 julgadores não-treinados, de ambos os sexos (70% do sexo feminino e 30% do sexo masculino). Seguindo metodologia descrita por Vidal, Ares e Giménez (2013), solicitou-se aos participantes que escrevessem quatro palavras, descrições, associações, pensamentos ou sentimentos que viessem à mente ao imaginarem o produto “bebida de castanha de caju fermentada”. Foram consideradas para análise as palavras registradas por no mínimo 5% dos participantes.

Em seguida, foram entregues a cada julgador três amostras, sendo estas: leite fermentado comercial (13,5% de açúcares totais), ECC fermentado adicionado de sacarose (ECC-SAC; 7% m/v) e ECC fermentado adicionado de sucralose (ECC-SUC; 0,2% v/v). Por ser um adoçante não-nutritivo, a sucralose é considerada uma opção adequada para a substituição de açúcares, provocando mínimas alterações sensoriais no alimento (Freitas *et al.*, 2021). A quantidade de sucralose foi adicionada de acordo com as recomendações determinadas pelo fabricante, visando alcançar um nível de doçura semelhante ao da formulação adoçada com sacarose. As bebidas de xerém de castanha de caju foram submetidas aos testes sensoriais com um tempo de 10 dias de armazenamento refrigerado (4 °C).

As amostras foram servidas em copos descartáveis, contendo 40 mL das bebidas a 7 °C, codificadas com números de três dígitos. Um copo descartável com água (200 mL) também foi oferecido para que os participantes pudessem limpar o paladar entre as degustações. A avaliação foi realizada em cabines individuais, sob temperatura ambiente e iluminação branca. A escala hedônica estruturada mista de nove pontos ancorada nos extremos por “(1 = desgostei muitíssimo)”, “(5 = nem gostei e nem desgostei)” e “(9 = gostei muitíssimo)” foi utilizada para avaliar os atributos cor, aparência, aroma, sabor e impressão global (Lawless; Heymann, 2010).

Para a análise descritiva quantitativa das amostras, uma ficha para o teste *Check-All-That-Apply* (CATA) foi elaborada baseada em descritores apresentados em outros estudos

com bebidas probióticas (Freitas *et al.*, 2021; Pereira *et al.*, 2017), totalizando 21 termos descritivos (Lado *et al.*, 2010). Os julgadores foram instruídos a preencher a ficha do CATA assinalando os termos descritivos que considerassem estar relacionados às bebidas. Os termos considerados foram os seguintes: brilhoso, cor esbranquiçada, cor escura, cor amarronzada, cor de caramelo, aroma característico de leite fermentado, aroma de castanha de caju, aroma de baunilha, sabor característico de leite fermentado, sabor de castanha de caju, gosto doce ideal, pouco doce, muito doce, gosto amargo, sabor residual, gosto salgado, gosto ácido, textura ideal, concentrado, leitoso e gostoso.

4.8 Análise estatística

Os resultados encontrados neste estudo foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p < 0,05$) através do software Statistica® versão 10. Os resultados foram descritos como média \pm desvio padrão. Os gráficos foram elaborados com auxílio do software Origin 8.5.

A análise dos dados sensoriais foi conduzida por meio do software XLSTAT (Addinsoft Paris, France), considerando o nível de 5% de significância. Em relação aos dados avaliados mediante escala hedônica, os tratamentos foram ponderados como fonte fixa de variação e o consumidor como efeito aleatório. Os atributos foram analisados pelo teste não paramétrico de *Friedman*, no nível de confiança de 95%. Quanto à análise dos dados do teste CATA, a frequência da menção de cada termo foi determinada através da contagem do número de consumidores que o utilizaram para descrever cada amostra das bebidas fermentadas, utilizando-se o teste *Q de Cochran* para comparar os tratamentos entre si.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

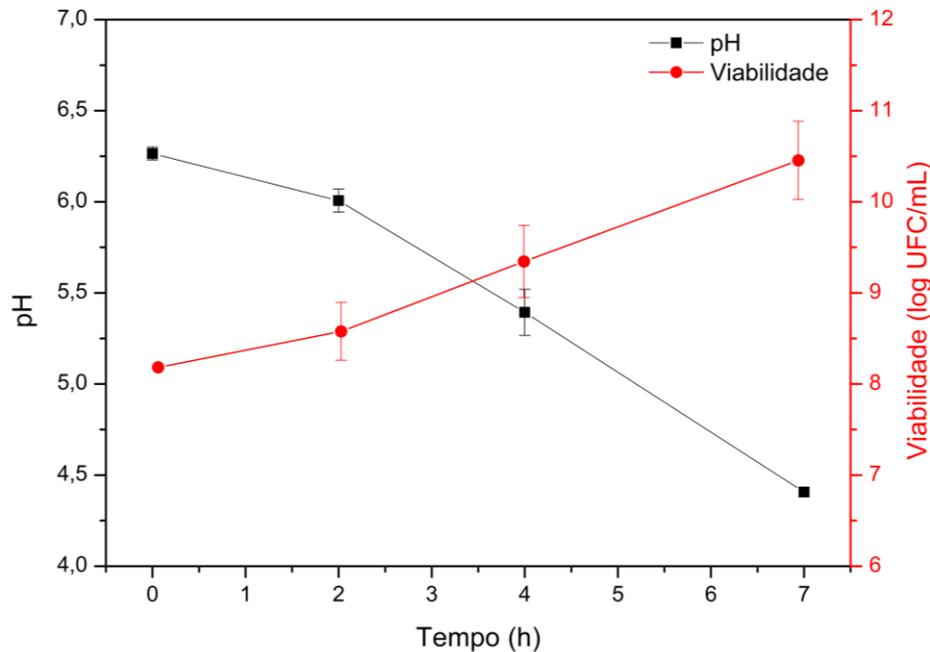
5.1 Cinética da fermentação

Os parâmetros empregados durante o processo de fermentação, como a temperatura, possuem capacidade de influenciar o desenvolvimento do microrganismo. Em um estudo realizado por Pereira *et al.* (2017) foram avaliadas as condições de crescimento da cepa *Lactocaseibacillus casei* B-442 na fermentação de um suco de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). Os autores reportaram que a faixa de temperatura entre 26 °C e 37 °C proporcionou as melhores condições para o crescimento das bactérias, indicando o seu comportamento mesófilo. Esses achados concordam com o descrito por Costa *et al.* (2013), ao estudarem o comportamento da mesma cepa na fermentação de um suco de abacaxi (*Ananas comosus* L.). Os autores ressaltaram que o microrganismo se desenvolveu adequadamente na faixa de temperatura entre 30 °C e 40 °C, com temperatura ideal a 34,5 °C. Assim, a temperatura (37 °C) aplicada no presente estudo se adequou otimamente na fermentação da matriz à base de ECC com a cepa de *L. casei* empregada.

Após 7 horas de processo fermentativo, foi observado um aumento das células viáveis na bebida produzida neste estudo, variando de $8,18 \pm 0,01$ para $10,46 \pm 0,43$ log UFC/mL (Figura 9). Para ser considerado um produto potencialmente probiótico, este deve conter no mínimo 6-7 log UFC/mL de células viáveis (Hill *et al.*, 2014). Dessa forma, a bebida elaborada neste estudo apresentou valores superiores ao recomendado na literatura.

O desenvolvimento adequado do microrganismo é dependente da matriz utilizada na elaboração do produto (Naseem *et al.*, 2023). A utilização da cepa *L. casei* NRRL B-442 foi bem reportada na fermentação de diferentes matérias-primas, como suco de melão (Fonteles *et al.*, 2012), suco de abacaxi (Costa *et al.*, 2013), suco de cupuaçu (Pereira *et al.*, 2017) e suco de açaí (Freitas *et al.*, 2021). De forma semelhante, este estudo revelou que o microrganismo se adaptou satisfatoriamente na matriz à base de xerém de castanha de caju utilizada.

Figura 9 – Acidificação e viabilidade das células de *L. casei* NRRL B-442 durante a fermentação do ECC



Fonte: elaborado pela autora.

O uso de extratos vegetais como substrato para o crescimento de microrganismos probióticos também foi relatado por outros autores. Hati, Patel e Mandal (2018) avaliaram o crescimento de diversas espécies de *Lactobacillus* durante a fermentação de um extrato vegetal à base de soja. Os autores descreveram que a viabilidade das amostras permaneceu acima do recomendado, variando entre 6 e 9 log UFC/mL. Szparaga *et al.* (2019) também encontraram bons resultados ao fermentarem extratos de coco e de sementes de cânhamo (*Cannabis sativa* L.) por 6 horas. O estudo mostrou que a cepa de *L. casei* subsp. *rhamnosus* utilizada apresentou um crescimento de 11,72 para 13,26 log UFC/mL e de 8,41 para 10,92 log UFC/mL nas bebidas de coco e sementes de cânhamo, respectivamente.

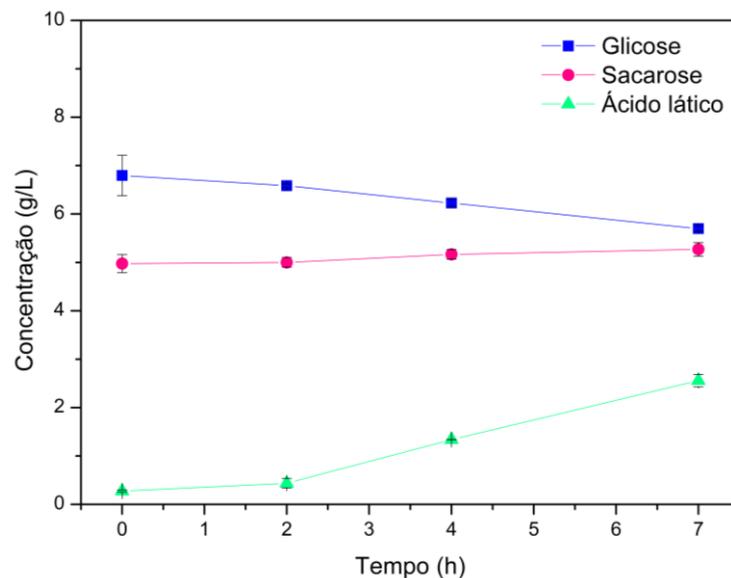
De todo modo, a viabilidade também é afetada pela cepa do microrganismo empregada na elaboração do produto (Bernal-Castro *et al.*, 2023). Pereira, Maciel e Rodrigues (2011) ao utilizarem a mesma cepa de *L. casei* NRRL B-442 aplicada no presente trabalho relataram resultados satisfatórios. Os autores produziram um suco de caju probiótico e observaram um aumento das células viáveis de 7,48 para 8,41 log UFC/mL ao final de 16 horas de fermentação. Em contramão, uma pesquisa desenvolvida por Kaprasob *et al.* (2017) apresentou uma redução de 8,18 para 6,2 log UFC/mL das células viáveis da cepa *L. casei* TISTR 390 após a fermentação de um suco de caju por 24 horas.

O pH do meio também é um fator de influência no crescimento do microrganismo. Comumente, as espécies de *Lacticaseibacillus* apresentam crescimento ótimo em pH em torno de 6,5 (Costa *et al.*, 2013). O pH inicial do ECC se mostrou próximo ao de crescimento ideal ($6,27 \pm 0,03$), favorecendo uma maior sobrevivência da bactéria potencialmente probiótica, em relação a meios inicialmente ácidos, que causam estresse nas células (Fonteles *et al.*, 2012; Pimentel *et al.*, 2021a).

Ao longo do processo fermentativo do ECC, o pH do meio declinou gradualmente, partindo de $6,27 \pm 0,03$ e chegando a $4,41 \pm 0,02$ (Figura 9). A fermentação foi encerrada após 7 horas, momento em que o pH atingiu um valor abaixo de 4,5. Valores inferiores a esta faixa garantem a segurança microbiológica do produto, impedindo a proliferação de microrganismos indesejados (Pereira *et al.*, 2017). À medida que a quantidade de células viáveis aumenta, o pH diminui. Este comportamento pode ser explicado pelo metabolismo das bactérias ácido láticas. Ao se multiplicarem, as células de *L. casei* produzem ácido lático, que acidifica o meio e reduz o seu pH, tornando o ambiente desfavorável para o desenvolvimento de outros microrganismos patogênicos e deteriorantes (Naseem *et al.*, 2023).

Durante a fermentação, os microrganismos probióticos utilizam os carboidratos disponíveis no meio como fonte de carbono e convertem esses compostos em produtos como ácidos orgânicos, etanol e gás carbônico (Kapasob *et al.*, 2018). A Figura 10 mostra o perfil de consumo dos açúcares e a produção de ácido lático da bebida fermentada.

Figura 10 – Perfil de consumo de açúcares e produção de ácido lático durante a fermentação do ECC pelo *L. casei* NRRL B-442



Fonte: elaborado pela autora.

Ao serem analisados os perfis de açúcares ao longo da fermentação, os resultados demonstraram que, apesar de a sacarose estar naturalmente presente na composição do ECC, a cepa de *L. casei* empregada demonstrou uma preferência pelo consumo da glicose adicionada durante a produção da bebida. Ao final do processo, o microrganismo consumiu em torno de 16% da glicose presente, variando de $6,80 \pm 0,42$ para $5,70 \pm 0,06$ g/L, enquanto a sacarose não apresentou uma variação significativa, no intervalo de confiança de 95% (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores de pH, viabilidade, glicose, sacarose e ácido lático obtidos durante o processo de fermentação do ECC pelo *L. casei* NRRL B-442

Tempo (h)	pH	Viabilidade (log UFC/mL)	Glicose (g/L)	Sacarose (g/L)	Ácido lático (g/L)
0	$6,27 \pm 0,03$ a	$8,18 \pm 0,01$ a	$6,80 \pm 0,42$ a	$4,98 \pm 0,18$ a	$0,27 \pm 0,02$ a
2	$6,01 \pm 0,06$ b	$8,58 \pm 0,32$ ab	$6,58 \pm 0,04$ ab	$5,00 \pm 0,10$ a	$0,44 \pm 0,10$ a
4	$5,39 \pm 0,13$ c	$9,35 \pm 0,40$ b	$6,23 \pm 0,07$ bc	$5,17 \pm 0,10$ a	$1,34 \pm 0,02$ b
7	$4,41 \pm 0,02$ d	$10,46 \pm 0,43$ c	$5,70 \pm 0,06$ c	$5,27 \pm 0,14$ a	$2,56 \pm 0,13$ c

Fonte: elaborado pela autora.

^{a-d} Médias seguidas de letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa entre os resultados pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Esses resultados corroboram com o descrito por Santos Filho *et al.* (2019) ao quantificarem o consumo de açúcares após 12 horas de fermentação de uma bebida de cacau (*Theobroma cacao* L.). Os autores revelaram que a cepa de *L. casei* NRRL B-442 consumiu cerca de 23% da glicose presente no meio e não houve consumo da frutose, ocorrendo um aumento de 3% desse açúcar. O consumo de glicose também foi descrito por Szparaga *et al.* (2019), que observaram uma redução desse açúcar em 33% e 34% após 6 horas de fermentação pela cepa *L. casei* subsp. *rhamnosus* LCR 3013, em bebidas de coco e de sementes de cânhamo (*Cannabis sativa* L.), respectivamente.

A quantificação de açúcares em alimentos fermentados é um fator importante para a elucidação do comportamento metabólico do microrganismo durante o processo fermentativo, assim como, da sua atividade ao longo do período de armazenamento (Bernat *et al.*, 2014). Ao metabolizar os açúcares, o microrganismo produz ATP que é biossintetizada em ácido lático (Freitas *et al.*, 2021). Essa transformação é mediada pela enzima d-lactato ou l-lactato desidrogenase, que converte uma molécula de glicose em duas moléculas de ácido lático (Manoj *et al.*, 2023).

A concentração de ácido lático da bebida de xerém de castanha de caju aumentou de $0,27 \pm 0,02$ para $2,56 \pm 0,13$ g/L, após 7 horas de fermentação. Esse resultado foi menor que o observado por Kokwar *et al.* (2022) que obteve uma concentração de 3,6 g/L de ácido lático

ao final de 6 horas de fermentação de uma bebida multigrãos (aveia, cevada, trigo sarraceno e arroz vermelho) com a espécie *Lactiplantibacillus plantarum*. No entanto, o valor de ácido láctico encontrado nesse trabalho foi maior que o descrito por Fernandes *et al.* (2021). Os autores obtiveram uma concentração de 0,8 g/L de ácido láctico após 5 horas de fermentação de uma bebida probiótica de extrato de amêndoas de Baru (*Dipteryx alata* Vog.) com a cepa *L. casei* 01.

A presença deste ácido proporciona um sabor ácido que, juntamente com compostos aromáticos voláteis, caracterizam um leite fermentado. Contudo, a cepa da bactéria probiótica e a matéria-prima utilizadas impactam diretamente na quantidade de ácido láctico produzido na fermentação (Comak Gocer; Koptagel, 2023).

5.2 Estabilidade durante o armazenamento refrigerado da bebida fermentada

Após a fermentação, a bebida produzida foi armazenada sob refrigeração (4°C) por 42 dias. A aplicação de baixas temperaturas auxilia na manutenção da viabilidade do microrganismo, contribuindo para o prolongamento da vida de prateleira do produto. Além da temperatura, a sobrevivência do probiótico ao longo do armazenamento é também influenciada por outros fatores, como a exposição ao oxigênio, o tipo de material da embalagem e as características intrínsecas do alimento (Naseem *et al.*, 2023).

A cepa de *L. casei* NRRL B-442 permaneceu viável durante todo o período de armazenamento refrigerado (4 °C) da bebida fermentada, variando de $10,46 \pm 0,43$ para $12,23 \pm 0,03$ log UFC/mL (Tabela 4). Após a primeira semana, observou-se um aumento na viabilidade em torno de 3,4 ciclos log, mantendo-se estável nas duas semanas seguintes. No 28º dia, houve uma perda significativa das células viáveis, seguida por uma recuperação completa aos 35 dias de armazenamento. Entretanto, ao fim da vida de prateleira houve uma redução de aproximadamente 1,7 ciclos log na viabilidade microbiana, comparada a semana anterior. Todavia, o microrganismo apresentou valores de células viáveis superiores ao recomendado (10^6 log UFC/mL) ao longo de toda a estocagem do alimento. Essa variação pode estar relacionada à capacidade das células se recuperarem em um meio nutritivo e ao desenvolvimento de estados fisiológicos latentes como reação ao estresse ambiental (Silva; Campelo; Rodrigues, 2022).

Outros estudos foram realizados explorando o uso de extratos vegetais na veiculação de probióticos. AL Zahrani e Shori (2023) fermentaram uma bebida à base de soja e amêndoas com diferentes espécies de *Lactobacillus* spp. e relataram que a viabilidade em

todas as amostras foi mantida acima de 6 log UFC/mL ao longo do armazenamento de 21 dias. Kokwar, Arya e Bhat (2022) fermentaram uma bebida multigrãos (aveia, cevada, trigo sarraceno e arroz vermelho) com a espécie *Lactiplantibacillus plantarum* e obtiveram contagens acima de 7 log UFC/mL ao fim do período de 20 dias de armazenamento. A existência de componentes categorizados como prebióticos nas matérias-primas vegetais favorece o desenvolvimento adequado dos microrganismos. As fibras e o amido contidos nesses alimentos promovem a estabilidade do extrato vegetal após o processo de fermentação, atuando como barreiras protetoras no sistema digestivo em virtude da resistência das fibras à acidez estomacal (Comak Gocer; Koptagel, 2023b).

Tabela 4 – Valores de pH, viabilidade, glicose, sacarose e ácido lático obtidos durante os 42 dias de armazenamento refrigerado (4 °C) do ECC fermentado pelo *L. casei* NRRL B-442

Tempo (dias)	pH	Viabilidade (log UFC/mL)	Glicose (g/L)	Sacarose (g/L)	Ácido lático (g/L)
0	4,41 ± 0,02 a	10,46 ± 0,43 a	5,70 ± 0,06 a	5,27 ± 0,14 a	2,68 ± 0,28 a
7	3,82 ± 0,16 b	13,92 ± 0,08 b	1,98 ± 0,03 b	5,91 ± 0,05 bc	4,92 ± 0,08 b
14	3,51 ± 0,04 c	13,86 ± 0,17 b	0,60 ± 0,16 c	6,24 ± 0,35 c	7,20 ± 0,23 c
21	3,39 ± 0,05 d	13,98 ± 0,07 b	0,00 ± 0,00 d	5,89 ± 0,02 bc	8,51 ± 0,06 d
28	3,36 ± 0,01 e	13,39 ± 0,02 c	0,00 ± 0,00 d	5,35 ± 0,52 b	8,48 ± 0,33 d
35	3,35 ± 0,02 e	13,97 ± 0,12 b	0,00 ± 0,00 d	6,14 ± 0,04 bc	9,23 ± 0,11 e
42	3,34 ± 0,01 e	12,23 ± 0,03 d	0,00 ± 0,00 d	6,53 ± 0,20 c	9,34 ± 0,01 e

Fonte: elaborado pela autora.

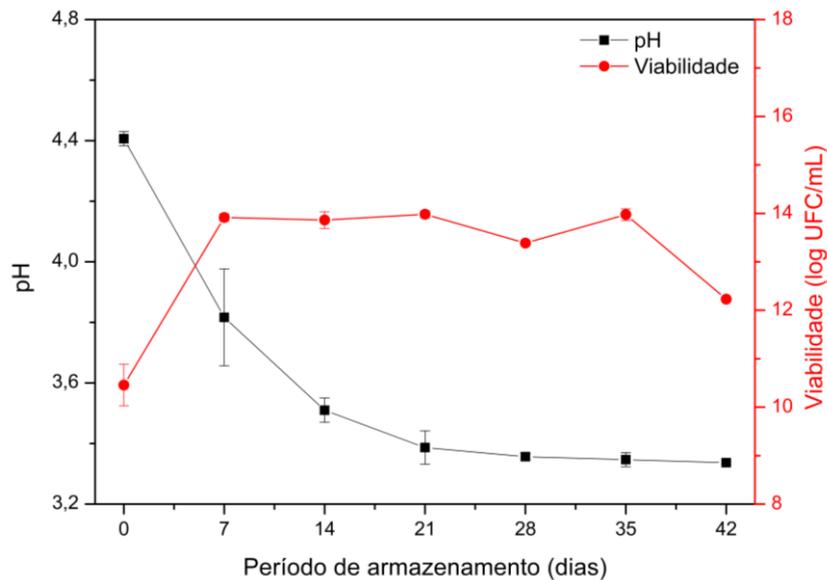
^{a-c} Médias seguidas de letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa entre os resultados pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os nutrientes presentes no meio podem favorecer a multiplicação do microrganismo, ocasionando um acúmulo de ácidos e resultando na pós-acidificação do meio (AL Zahrani; Shori, 2023). Ao longo do intervalo de 42 dias de armazenamento, observou-se uma redução do pH inicial de $4,41 \pm 0,02$ para o final de $3,34 \pm 0,01$ (Figura 11), com uma queda significativa ($p < 0,05$) nos primeiros 21 dias (Tabela 4). Esse resultado indica que houve uma pós-acidificação do meio, relacionada ao metabolismo das BAL, que mesmo em baixas temperaturas continuaram produzindo ácido lático durante esse período (Mantovani *et al.*, 2020).

Um baixo pH pode desempenhar um papel protetor no alimento ao inibir a proliferação de microrganismos deteriorantes, estendendo sua validade (Costa *et al.*, 2017). No entanto, em condições de acidez mais elevada, o microrganismo probiótico requer uma maior quantidade de energia para a manutenção do pH intracelular, resultando em uma deficiência de

ATP e levando à morte celular (Manoj *et al.*, 2023). Esse fenômeno pode explicar a redução na viabilidade das células de *L. casei* observada na última semana do armazenamento do ECC.

Figura 11 – Comportamento do pH e viabilidade das células durante os 42 dias de armazenamento refrigerado (4 °C) do ECC fermentado pelo *L. casei* NRRL B-442



Fonte: elaborado pela autora.

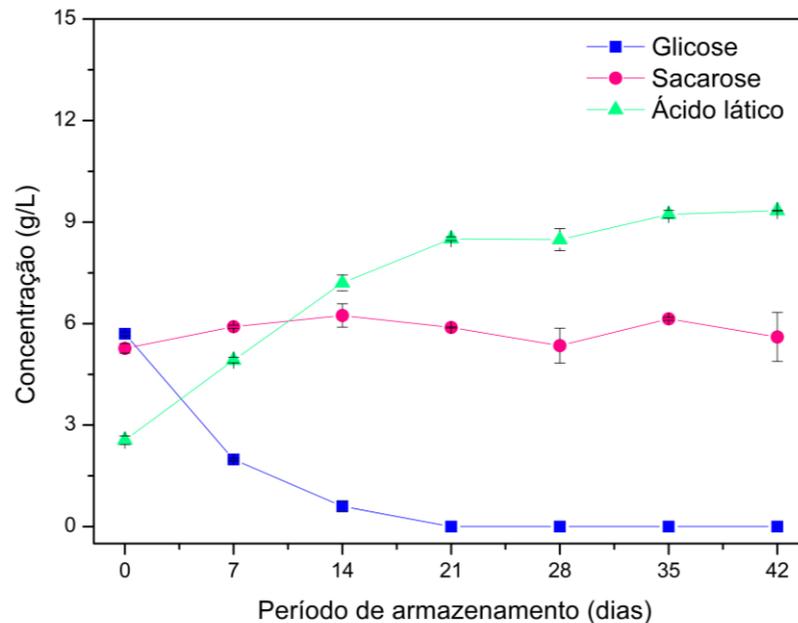
A pós-acidificação também foi reportada por Sultana *et al.* (2023), ao investigar uma amostra de suco de laranja durante 30 dias de armazenamento sob 4 °C. Os pesquisadores relataram que o fato pode ser atribuído à produção de ácido lático pelo microrganismo probiótico. No entanto, foi ressaltado que a redução observada na viabilidade do microrganismo pode ter contribuído para a diminuição do pH, dada a liberação de enzimas e hidrólise dos açúcares pelas células mortas.

Em contraste, Comak Gocer e Koptagel (2023) observaram que durante o armazenamento de 30 dias de amostras de kefir ocorreu um aumento nos valores de pH. Os autores sugerem que as bactérias e leveduras consumiram os ácidos presentes como fonte de energia, indicando tal comportamento como um mecanismo de defesa para a sobrevivência ao ambiente ácido. Especificamente, as BAL demonstram a habilidade de metabolizar ácidos orgânicos.

Os perfis de açúcares também foram analisados no decorrer do período do armazenamento refrigerado (Figura 12). A linhagem de *L. casei* NRRL B-442 exibiu um comportamento semelhante ao observado durante a fermentação em termos de consumo dos

açúcares disponíveis no meio. A glicose foi completamente consumida, enquanto a sacarose sofreu uma variação discreta. Considerando que a glicose é a principal fonte de substrato para a cepa de *L. casei* empregada, o seu esgotamento pode ter influenciado a viabilidade do microrganismo, resultando em perdas nas células viáveis. Um estudo conduzido por Bernat *et al.* (2014a) descreveu que a cepa de *L. rhamnosus* utilizada na elaboração de uma bebida probiótica de avelã (*Corylus avellana* L. cv. comuna), também consumiu totalmente a glicose disponível na matriz após os primeiros 14 dias de armazenamento, enquanto a sacarose permaneceu estável durante todo o período de 28 dias.

Figura 12 – Perfil de consumo de açúcares e produção de ácido láctico durante os 42 dias de armazenamento refrigerado (4 °C) do ECC fermentado *L. casei* NRRL B-442



Fonte: elaborado pela autora.

O ácido láctico é o principal produto do metabolismo do *L. casei* e proporciona uma maior resistência ao estresse ácido, contribuindo para a sobrevivência da bactéria até o final do período de armazenamento (Silva; Campelo; Rodrigues, 2022). No presente estudo, foi observado um aumento na concentração de ácido láctico durante o armazenamento, variando de $2,68 \pm 0,28$ g/L para $9,34 \pm 0,01$ g/L (Figura 12).

Em consonância, Cunha Júnior *et al.* (2021) também identificaram uma elevação dos valores de ácido láctico ao longo dos 28 dias de armazenamento de uma bebida simbiótica de castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K). Resultados semelhantes foram relatados por Bernat *et al.* (2014a) ao estudarem a estabilidade de uma bebida probiótica de avelã

(*Corylus avellana* L. cv. comuna) durante o intervalo de 28 dias. Os autores reforçaram que esse comportamento era previsível devido à atividade do microrganismo, no entanto o aumento da acidez pode impactar negativamente na aceitação sensorial do produto.

No presente trabalho, não foram identificados indícios de contaminação durante o armazenamento refrigerado. A alta concentração de ácido láctico leva a acidificação do ambiente, inibindo o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e patógenos no produto (Pereira; Maciel; Rodrigues, 2011). Além da produção de ácidos orgânicos, as cepas de *Lactocaseibacillus* sintetizam bacteriocinas e peptídeos antifúngicos, substâncias antimicrobianas que desempenham papel importante na preservação do alimento (Fonteles *et al.*, 2012).

5.3 Sobrevivência do microrganismo após digestão simulada

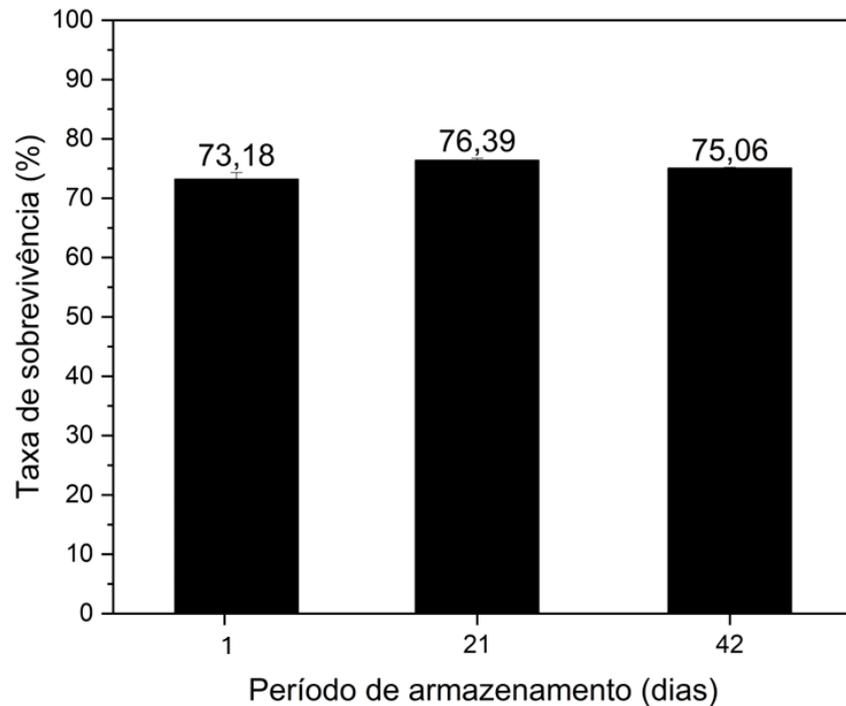
Para resistir às condições gastrointestinais é importante que o microrganismo mantenha a sua viabilidade mínima recomendada (6-7 log UFC/mL) durante todo o período do armazenamento (Naseem *et al.*, 2023). Essa recomendação é baseada nas adversidades intensas que os microrganismos enfrentam no TGI, relacionadas à presença de enzimas na boca, pH ácido do estômago e à presença de bile no intestino, que causam grande estresse nas células (Emiliano *et al.*, 2022). Dentre outros fatores, a cepa não poderá ser classificada como probiótica se, durante as condições gastrointestinais, sofrer perdas que comprometam a sua capacidade funcional (Almada-Érix *et al.*, 2021).

A maior taxa de sobrevivência após a digestão *in vitro* do ECC fermentado foi observada no 21º dia de armazenamento refrigerado, com $76,39 \pm 0,32\%$ (Figura 13). Este valor foi aproximadamente 3% e 1% maior do que os encontrados no 1º e 42º dia, respectivamente. No primeiro dia de armazenamento, as células potencialmente probióticas submetidas a digestão simulada sofreram uma perda de 3,5 ciclos log, apresentando taxa de sobrevivência de $73,18 \pm 1,13\%$. Enquanto no último dia, apresentou uma perda de cerca de 3 ciclos log, com $75,06 \pm 0,15\%$ de células sobreviventes.

Costa *et al.* (2017) avaliaram a resistência probiótica de amostras de um extrato misto de soja e arroz sob a simulação das condições gastrointestinais. Os pesquisadores revelaram que as taxas de sobrevivência dos microrganismos *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium sp.* foram 41% e 29%, respectivamente. Semelhantemente, em um trabalho publicado por Silva, Campelo e Rodrigues (2022), o microrganismo *L. casei* B-442 apresentou

cerca de 40% de sobrevivência após a digestão simulada de um suco probiótico de sapota-dosolimões (*Quararibea cordata*), ao final dos 30 dias de armazenamento refrigerado (4 °C).

Figura 13 –Taxa de sobrevivência do microrganismo nos dias 1, 21 e 42 de armazenamento refrigerado (4 °C) do ECC fermentado após digestão simulada



Fonte: elaborado pela autora.

Em comparação com os estudos citados, a cepa de *L. casei* presente na bebida fermentada de ECC mostrou uma maior resistência às condições gastrointestinais. A presença de lipídeos na castanha de caju pode ter contribuído para a preservação das células devido ao seu efeito protetor diante das condições de estresse do ambiente (Lillo-Pérez *et al.*, 2021).

O comportamento dos microrganismos *Lactiplantibacillus plantarum* e *Bifidobacterium longum* durante a digestão simulada de bebidas fermentadas à base quinoa vermelha (*Chenopodium quinoa*, L.) foi investigado por Cerdá-Bernad *et al.* (2022). O grupo informou que as cepas mantiveram uma viabilidade maior que 6 log UFC/mL ao final da digestão *in vitro*, enfatizando que bebidas de quinoa vermelha são matrizes adequadas para a veiculação de probióticos. De forma semelhante, a bebida fermentada de castanha de caju proporcionou ao microrganismo estudado uma viabilidade superior a 9 log UFC/mL após a digestão simulada em todo o período de armazenamento. O processo de fermentação confere

ao microrganismo uma melhor adaptação à matriz alimentar, resultando em um aumento na resistência gastrointestinal (Silva; Campelo; Rodrigues, 2022).

A tabela 5 apresenta os resultados da viabilidade da cepa *L. casei* NRRL B-442 nas amostras de ECC fermentado, após cada fase da digestão *in vitro*, em diferentes dias do armazenamento. No primeiro dia, foi notada uma maior perda das células viáveis após as fases salivar e gástrica, enquanto não houve uma redução significativa ($p > 0,05$) após a fase intestinal. No entanto, nos dias 21 e 42, a queda na viabilidade foi significativa após todas as etapas da digestão simulada.

Tabela 5 – Viabilidade após as fases da digestão *in vitro* nos dias 1, 21 e 42 de armazenamento refrigerado (4 °C) do ECC fermentado pelo *L. casei* NRRL B-442

Fase da digestão <i>in vitro</i>	Viabilidade (log UFC/mL)		
	Dia 1	Dia 21	Dia 42
Não digerido	13,05 ± 0,05 a	13,98 ± 0,07 a	12,23 ± 0,03 a
Salivar	11,09 ± 0,16 b	13,10 ± 0,03 b	10,99 ± 0,07 b
Gástrica	9,66 ± 0,06 c	12,08 ± 0,01 c	9,75 ± 0,05 c
Intestinal	9,55 ± 0,13 c	10,68 ± 0,01 d	9,18 ± 0,02 d

Fonte: elaborado pela autora.

^{a-d} Médias seguidas de letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa entre os resultados pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

A exposição das células a um ambiente de baixo pH compromete a sua viabilidade, demandando uma maior quantidade de energia para a manutenção do pH intracelular. Isso resulta na escassez de ATP para o desenvolvimento de outras funções vitais, ocasionando a morte celular. Em adição, a presença dos ácidos biliares causa perturbação na homeostase da célula, levando a separação da camada lipídica e da proteína integral da membrana celular. Fato que resulta no vazamento do conteúdo bacteriano e, na consequente, morte do microrganismo (Costa *et al.*, 2017; Pimentel *et al.*, 2021b).

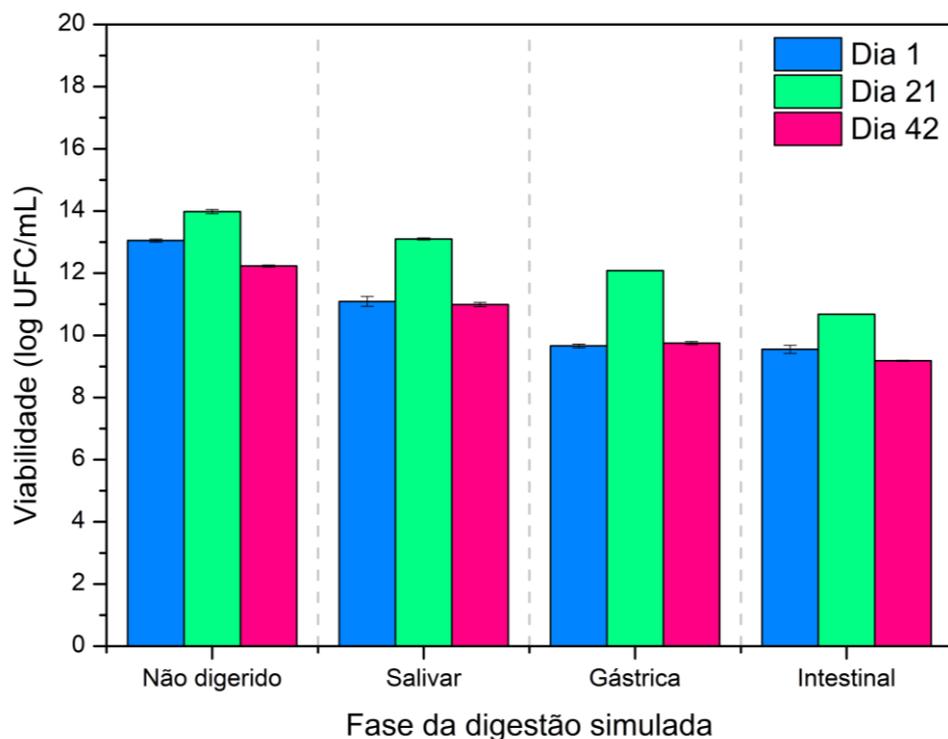
Entretanto, quando as células são expostas previamente a níveis sub letais de um agente estressante, possibilita-se uma melhor adaptação a posteriores exposições a níveis mais altos do mesmo agente ou outros fatores de estresse. Esse fenômeno é caracterizado por adaptação cruzada e auxilia na compreensão da resistência microbiana observada nas amostras de ECC que apresentaram um baixo pH durante o armazenamento refrigerado (Céspedes *et al.*, 2013).

Mantovani *et al.* (2020) avaliaram a sobrevivência probiótica da cepa *L. casei* Lc - 1 em um leite fermentado com chocolate, observando uma redução de aproximadamente 5 ciclos log ao submeter a amostra à digestão simulada. A queda na

viabilidade foi atribuída à exposição do microrganismo a um baixo pH, que sensibiliza as células, tornando-as mais frágeis. Além disso, a baixa concentração de gorduras contribui para uma menor resistência das bactérias. A maior redução ocorreu após a fase gástrica sob pH 2, enquanto na fase intestinal (pH 7) não foi registrada variação da população microbiana. No entanto, o pH mais elevado na fase intestinal não foi suficiente para a recuperação das células perdidas na fase gástrica.

Em contramão, Silva, Campelo e Rodrigues (2022) relataram uma recuperação das células após a fase intestinal em um suco simbiótico de sapota-do-solimões (*Quararibea cordata*). O grupo de autores observou que houve uma redução em torno de 4 ciclos log após a fase gástrica, que foi totalmente recuperada após a fase intestinal. Esse aumento foi atribuído à capacidade das células de retornarem a um estado cultivável quando expostas a condições intestinais mais permissivas e favoráveis, como um pH 7. Como pode ser visto na Figura 14, não foi verificado um aumento na viabilidade após a fase intestinal das amostras de ECC. Contudo, a mesma se manteve acima de 10^6 log UFC/mL, valor comumente recomendado (Szutowska, 2020).

Figura 14 – Viabilidade após as fases da digestão *in vitro* nos dias 1, 21 e 42 de armazenamento refrigerado (4 °C) do ECC fermentado *L. casei* NRRL B-442



Fonte: elaborado pela autora.

Os *Lacticaseibacillus* são residentes naturais do trato intestinal superior e inferior, ambiente com uma alta concentração de bile, fator que pode contribuir para uma maior resistência microbiana após essa etapa (Costa *et al.*, 2017). Vale ressaltar que, os sais biliares atuam como detergentes e causam danos às células por toxicidade. Contudo, o conteúdo lipídico da matriz à base de ECC pode agir como emulsificante e, assim, proteger a célula contra a ação da bile (Silva; Campelo; Rodrigues, 2022). Assim, os resultados obtidos neste trabalho indicam que a matriz à base de extrato de xerém de castanha de caju utilizada se mostrou uma boa alternativa na veiculação de microrganismos potencialmente probióticos, permitindo a chegada de uma elevada concentração de células viáveis após a fase intestinal sem grandes perdas na viabilidade ao longo do processo digestivo.

5.4 Análise sensorial

5.4.1 Associação de palavras

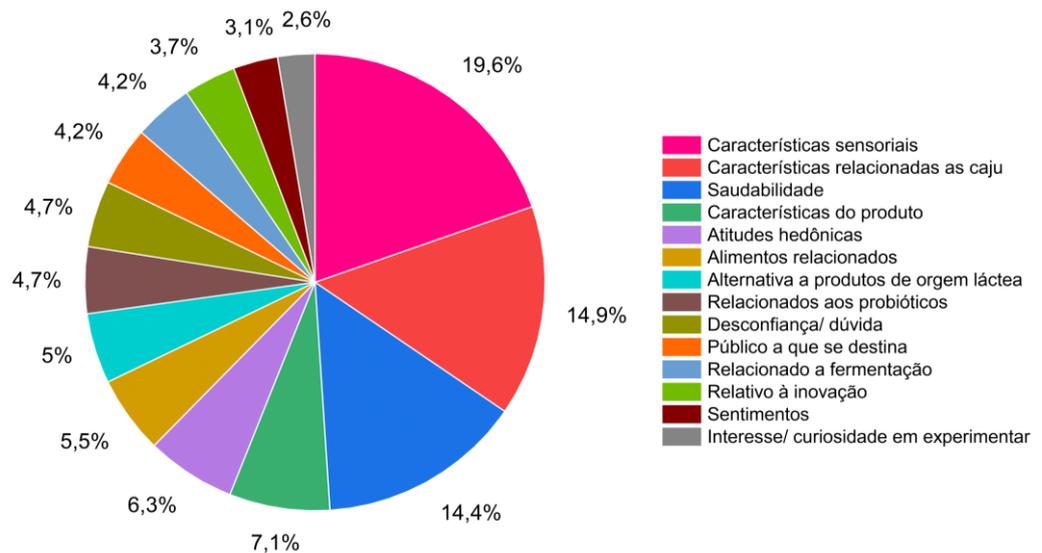
Entender a concepção dos consumidores em relação aos alimentos é fundamental no desenvolvimento de novas formulações. A técnica de associação de palavras permite identificar os motivos que influenciam as decisões dos compradores ao adquirir um produto (Moss *et al.*, 2022). No ensaio realizado neste estudo, um total de 129 diferentes palavras foram mencionadas pelos participantes ao serem questionados quais as primeiras quatro palavras vinham a sua mente com relação ao produto “Bebida de castanha de caju fermentada”. Ao todo, 400 palavras foram contabilizadas a partir dos dados obtidos dos 100 participantes.

As palavras mencionadas pelos consumidores foram agrupadas em categorias, considerando-se para análise aquelas que foram mencionadas por 5% dos consumidores. A Figura 15 ilustra as categorias definidas, evidenciando, que as classificações relacionadas às características sensoriais, ao caju e à saudabilidade foram as mais relevantes, refletindo as expectativas dos consumidores nesses aspectos.

A Tabela 6 apresenta as 14 categorias identificadas, bem como exemplos de associações individuais e os percentuais de frequência de menção. A categoria mais mencionada foi “Características sensoriais” (19,58%), sendo os atributos sabor e textura, os mais citados. Esse resultado reforça a importância das características sensoriais para a aceitação da bebida. No atributo sabor, o termo mais mencionado foi acidez, evidenciando o conhecimento dos participantes dessa característica sensorial típica das bebidas fermentadas.

Outro termo mencionado foi sabor de leite fermentado, indicando que os julgadores esperam que a bebida de castanha de caju tenha característica similar. Além disso, os consumidores esperam que a bebida tenha uma textura encorpada e cremosa. Segundo Moss *et al.* (2022), as bebidas vegetais à base de amêndoas/nozes são frequentemente associadas a uma textura mais espessa.

Figura 15 – Categorias mais frequentemente citadas no teste de associação de palavras relacionadas à bebida de castanha de caju fermentada



Fonte: elaborado pela autora.

A bebida foi bastante associada com o caju, tendo a categoria “Características relacionadas ao caju” apresentado 14,88% das menções. Indicando, que os participantes conhecem a matéria-prima para elaboração desta bebida, associando com maior frequência os termos castanha de caju assada e farelo da castanha de caju.

A terceira categoria mais mencionada foi “Saudabilidade” (14,36%), sendo essa associada ao valor nutricional e a saúde intestinal, que são características relacionadas ao consumo de alimentos contendo probióticos. Desta forma, pode-se afirmar que os participantes do presente estudo têm uma ideia clara de que o produto apresentado tem a característica saudável. A associação de aspectos saudáveis com o consumo de alimentos de origem vegetal também é recorrente na literatura (Lee; Leong; Oey, 2023).

A categoria “Características do produto” recebeu 7,05% das menções. Com isto, percebeu-se que os consumidores esperam que a bebida seja servida gelada e tenha característica refrescante. Nessa categoria, os participantes também mencionaram o termo bebida gordurosa, relacionado ao teor lipídico da castanha de caju. Adicionalmente, os

integrantes atribuíram ao produto atitudes hedônicas (6,27%) principalmente características positivas (saborosa, gostosa, bom aroma, cor bonita, gosto agradável). Essas características positivas podem ser confirmadas pelos sentimentos proporcionados pela bebida (leveza, infância e agradável).

Tabela 6 – Resultado da associação de palavras da bebida de castanha de caju fermentada, exemplos de associações individuais e frequência de menção das categorias

Categoria	Associações individuais	Percentual das menções
Características sensoriais	Aparência (cor âmbar, marrom), aroma (aroma de fruta), sabor (ácido, doce, salgado, amargo, sabor de leite fermentado) e textura (concentrada, encorpada, cremosa)	19,58%
Características relacionadas ao caju	Castanha de caju assada, fruto, farelo de castanha, picolé de castanha	14,88%
Saudabilidade	Saúde intestinal, saudável, benéfico, valor nutricional	14,36%
Características do produto	Bebida gordurosa, gelado, refrescante, bebida em caixinha, bebida em garrafa	7,05%
Atitudes hedônicas	Positivas (saborosa, gostosa, bom aroma, cor bonita, gosto agradável), negativas (ranço, pouco sabor, sabor desagradável)	6,27%
Alimentos relacionados	Leites fermentados, iogurte, leite coalhado, leite	5,48%
Alternativa a produtos de origem láctea	Alternativa vegetal, bebida vegetal, leite de castanha	4,96%
Relacionados aos probióticos	Microrganismos benéficos, bactérias boas	4,70%
Desconfiança/ dúvida	Diferente, estranho, exótico, porque não?	4,69%
Público a que se destina	Intolerantes a lactose, veganos, bebida infantil	4,18%
Relacionado a fermentação	Fermentação, alimento fermentado	4,18%
Relativo à inovação	Inovador, novidade, produto novo	3,66%
Sentimentos	Leveza, infância, agradável	3,13%
Interesse/ curiosidade em experimentar	Curiosidade, interessante, vontade de experimentar	2,60%

Fonte: elaborado pela autora.

Os consumidores também demonstraram ter conhecimento sobre os alimentos probióticos visto que mencionaram termos como microrganismos benéficos e bactérias boas, na categoria “Relacionados aos probióticos” (4,70%). Além disso, através da categoria “Alternativa a produtos de origem láctea”, os participantes evidenciaram compreender que esse produto é uma alternativa de consumo de alimentos potencialmente probióticos de origem não láctea visto que relataram termos como alternativa vegetal, bebida vegetal e leite de castanha. Esse entendimento também é evidenciado pela categoria “Público a que se destina”, em que a maioria dos termos foram para intolerantes à lactose e veganos. Nessa categoria, parte dos consumidores também citaram que essa bebida deve ser direcionada ao público infantil. Esse direcionamento ao público infantil pode estar relacionado ao fato de considerarem essa bebida mais saudável.

A categoria “Desconfiança/ dúvida” teve 4,69% de menções, tendo como principais palavras “diferente, estranho, exótico e porque não?”. Por ser um produto novo justifica-se a dúvida por parte dos consumidores. O fato de ser um produto novo foi mencionado pelos participantes na categoria inovação (3,66%). Apesar da desconfiança, parte dos consumidores demonstraram interesse em conhecer o produto com menções na categoria “Interesse/ curiosidade em experimentar”.

5.4.2 Aceitação sensorial por escala hedônica

Para os atributos sensoriais avaliados pela escala hedônica, o leite fermentado comercial teve médias variando de 8,31 a 8,52, permanecendo entre os termos “gostei muito” e “gostei muitíssimo” da escala hedônica. Já as médias das bebidas fermentadas de ECC apresentaram valores entre 7,00 e 7,35, se encaixando entre os termos “gostei moderadamente” e “gostei muito”. Desta forma, observa-se que todas as bebidas tiveram boa aceitação por terem médias na região de aceitação da escala hedônica (Tabela 7). Esse resultado é positivo visto que a maioria dos consumidores (58%), nunca tinha consumido bebida de castanha de caju. Enquanto para o leite fermentado, quando questionados, a maioria dos julgadores (62%) respondeu gostar e consumir. Esses achados sugerem que as expectativas geradas antes do consumo do alimento foram correspondidas, contribuindo para a satisfação dos consumidores (Lee; Leong; Oey, 2023).

O teste de médias mostrou que para todos os atributos foi observada uma maior aceitação ($p < 0,05$) para o leite fermentado (Figura 16). No entanto, as bebidas fermentadas de

ECC não se diferenciam entre si ($p>0,05$) (Tabela 7). Portanto, o tipo de substância adoçante não alterou a aceitação das bebidas fermentadas de castanha de caju. Esse resultado evidencia a semelhança sensorial entre a sacarose e a sucralose, indicando que o uso do edulcorante não-nutritivo não influenciou negativamente as características do produto. Tal fato é pertinente diante da crescente preocupação com o consumo excessivo de açúcares (Pimentel; Madrona; Prudêncio, 2015).

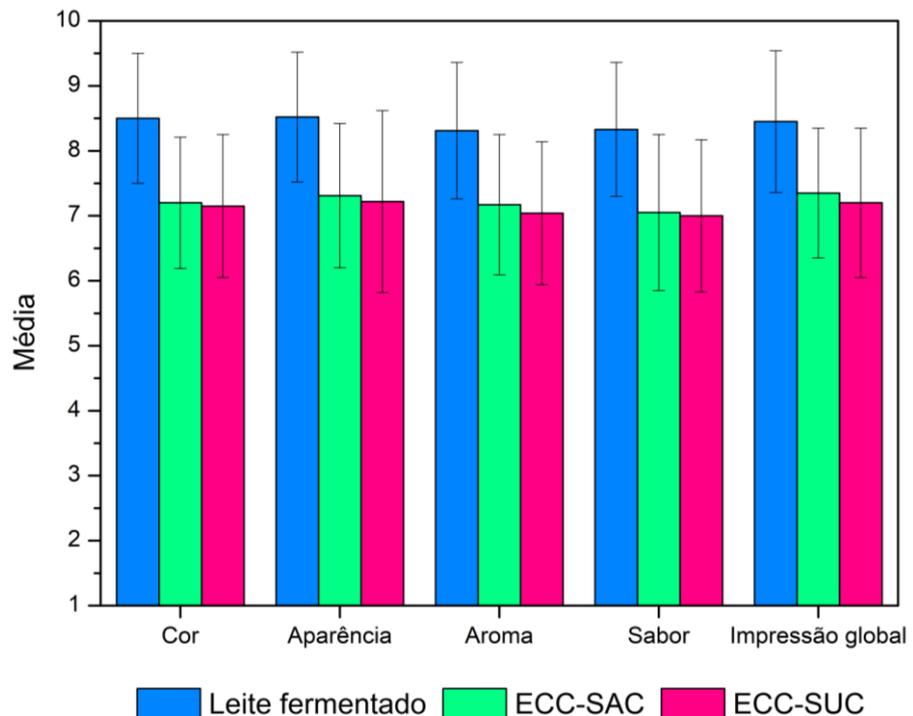
Tabela 7 – Aceitação sensorial dos atributos medidos das amostras usando escala hedônica

Atributo	Leite fermentado	ECC-SAC	ECC-SUC
Cor	8,50 ± 1,00 a	7,20 ± 1,01 b	7,15 ± 1,10 b
Aparência	8,52 ± 1,00 a	7,31 ± 1,11 b	7,22 ± 1,40 b
Aroma	8,31 ± 1,05 a	7,17 ± 1,08 b	7,04 ± 1,10 b
Sabor	8,33 ± 1,03 a	7,05 ± 1,20 b	7,00 ± 1,17 b
Impressão global	8,45 ± 1,09 a	7,35 ± 1,00 b	7,20 ± 1,15 b

Fonte: elaborado pela autora.

^{a-b} Médias seguidas de letras diferentes, nas linhas, indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo Teste de *Friedman* ($p<0,05$).

Figura 16 – Aceitação sensorial dos atributos cor, aparência, aroma, sabor e impressão global medidos usando escala hedônica das bebidas estudadas



Fonte: elaborado pela autora.

5.4.3 Teste Check-All-That-Apply (CATA)

A utilização do método CATA permitiu a coleta de informações sobre a aceitação dos consumidores quanto às características sensoriais das bebidas fermentadas (Moss *et al.*, 2022). A Tabela 8 apresenta os percentuais de frequência dos descritores mais utilizados pelos avaliadores. O teste Q de Cochran revelou que houve diferença significativa na frequência de 14 dos 21 termos apresentados na ficha CATA, sugerindo que os consumidores notaram diferenças nas características sensoriais entre as bebidas. Esses termos podem ser considerados os mais apropriados na descrição das amostras pelos consumidores (Figura 17).

Tabela 8 – Percentuais de frequência dos descritores mais utilizadas pelos avaliadores na metodologia do CATA, para descrever as bebidas de ECC fermentado adicionadas de sacarose (ECC-SAC) e sucralose (ECC-SUC) em comparação com o leite fermentado comercial

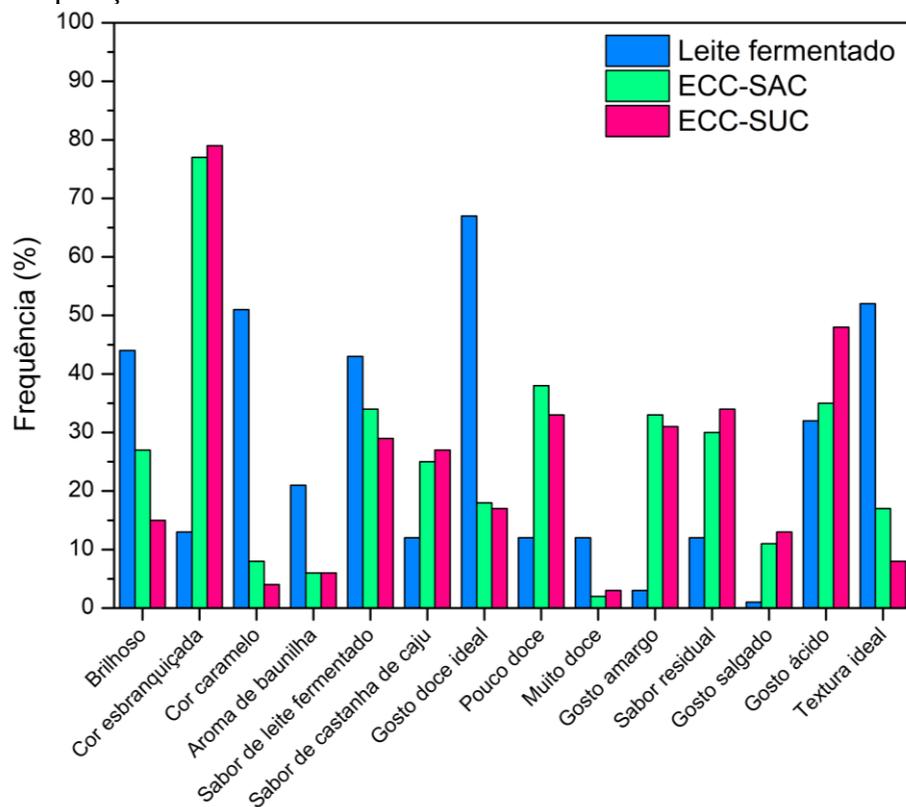
Atributos	p-valores	Leite fermentado	ECC-SAC	ECC-SUC
Brilhoso	<0,0001	44 a	27 b	15 b
Cor esbranquiçada	<0,0001	13 b	77 a	79 a
Cor escura	0,282	6 a	3 a	8 a
Cor amarronzada	0,350	11 a	6 a	7 a
Cor caramelo	<0,0001	51 a	8 b	4 b
Aroma característico de leite fermentado	0,133	53 a	40 a	48 a
Aroma de castanha de caju	0,247	18 a	27 a	24 a
Aroma de baunilha	0,000	21 a	6 b	6 b
Sabor característico de leite fermentado	0,046	43 a	34 a	29 b
Sabor de castanha de caju	0,014	12 b	25 a	27 a
Gosto doce ideal	<0,0001	67 a	18 b	17 b
Pouco doce	<0,0001	12 b	38 a	33 a
Muito doce	0,028	12 a	2 b	3 b
Gosto amargo	<0,0001	3 b	33 a	31 a
Sabor residual	0,000	12 b	30 a	34 a
Gosto salgado	0,001	1 b	11 a	13 a
Gosto ácido	0,027	32 b	35 b	48 a
Textura ideal	<0,0001	52 a	17 b	8 c
Concentrado	0,049	26 a	14 a	24 a
Leitoso	0,623	41 a	38 a	44 a
Gostoso	0,550	52 a	45 a	50 a

Fonte: elaborado pela autora.

^{a-c} Médias seguidas de letras diferentes, nas linhas, indicam diferença significativa entre as bebidas fermentadas pelo Teste de Cochran ($p < 0,05$).

Para a aparência, os termos “brilhoso” e “cor de caramelo” tiveram maior frequência ($p < 0,05$) para bebida comercial enquanto o termo “cor esbranquiçada” apresentou maior frequência ($p < 0,05$) para as bebidas fermentadas de ECC. Portanto, observa-se que as bebidas de castanha de caju possuem uma aparência mais esbranquiçada e opaca. A brancura é um parâmetro importante na caracterização da qualidade de bebidas vegetais, visto que as mesmas buscam se assemelhar com a aparência do leite de vaca (Tobolková; Durec, 2023).

Figura 17 – Percentuais de frequência dos descritores que apresentaram diferença significativa na avaliação CATA das bebidas fermentadas à base de ECC adicionadas de sacarose (ECC-SAC) e sucralose (ECC-SUC) em comparação com o leite fermentado comercial



Fonte: elaborado pela autora.

Com relação ao aroma, o termo “aroma de baunilha” teve maior frequência ($p < 0,05$) no leite fermentado comercial. Esse resultado era esperado visto que na bebida comercial é adicionado o aroma de baunilha. O termo “aroma de castanha de caju”, também não se diferenciou entre as amostras, mostrando que este não foi percebido pelos consumidores nas amostras contendo castanha de caju. O atributo “aroma característico de leite fermentado” apresentou uma elevada frequência. Porém, as amostras não foram significativamente diferentes (Tabela 8), indicando que as bebidas fermentadas de castanha de caju apresentaram

aroma fermentado similar ao produto comercial. Isto pode ser atribuído ao metabolismo das bactérias ácido lácticas, que durante a fermentação produzem compostos aromáticos e outros metabólitos que contribuem para o aroma abundante (Sousa *et al.*, 2022).

No entanto, o termo “sabor de castanha de caju” teve maior frequência ($p < 0,05$) para as bebidas fermentadas à base de ECC, evidenciando a percepção dos julgadores. Quanto ao termo “sabor característico de leite fermentado”, este teve maior frequência ($p < 0,05$) no leite fermentado comercial e na bebida fermentada de castanha de caju adicionada de sacarose. Essa observação pode estar relacionada ao metabolismo dos microrganismos, os quais convertem os açúcares presentes nas bebidas em ácidos orgânicos e outros compostos que caracterizam o sabor fermentado. Isso pode resultar em uma concentração mais elevada desses compostos nessas bebidas em relação à bebida adicionada de sucralose, refletindo na baixa percepção dessa característica na bebida sem adição de sacarose.

Para a doçura, os termos “gosto doce ideal” e “muito doce” tiveram maiores ($p < 0,05$) frequências no leite fermentado. O gosto muito doce da amostra comercial era esperado visto que esta apresentava conteúdo de açúcares bem maior (135 g/ L) quando comparada a amostra de bebida vegetal adicionada de sacarose (70 g/L). Portanto, observa-se que os julgadores estão acostumados a consumir bebidas mais doces e esperavam característica similar nas amostras de castanha de caju. Com relação ao termo “gosto ácido”, este teve maior frequência ($p < 0,05$) para a bebida fermentada de ECC adicionada de sucralose. Como presumido, esse resultado pode indicar que a adição de sacarose auxiliou na redução da percepção de acidez nas demais bebidas.

Os termos “gosto amargo” e “sabor residual” tiveram maiores frequências ($p < 0,05$) nas bebidas fermentadas de ECC. Em geral, o amargor presente em bebidas vegetais é atribuído a presença de compostos fenólicos e glucosinolatos (Moss *et al.*, 2022). Os julgadores afirmaram que o sabor residual presente nas bebidas de castanha de caju estava relacionado a um “gosto salgado” ($p < 0,05$). Cardello *et al.* (2022) destacaram que um sabor salgado e notas umami são comumente relatados em bebidas à base de castanha de caju e castanha-do-Brasil. Tamuno (2019) reportou que a adição de açúcar e do aroma de baunilha pode ser aplicado como um artifício para reduzir o gosto residual e elevar a aceitação de uma bebida de castanha de caju.

Para o termo “textura ideal”, as maiores frequências ($p < 0,05$) foram para o leite fermentado comercial, seguido da bebida fermentada de castanha de caju adicionada de sacarose e por fim daquela adicionada de sucralose. Os julgadores mencionaram que esperavam

uma maior consistência das bebidas fermentadas à base de ECC, principalmente daquela adicionada de sucralose. A incorporação de emulsificantes e estabilizantes pode ser uma ferramenta utilizada para melhorar a textura e evitar a separação de fases da bebida vegetal. Todavia, a inclusão desses aditivos pode entrar em conflito com as expectativas dos consumidores por alimentos mais naturais e lista reduzida de ingredientes (Lee; Leong; Oey, 2023).

Os termos “concentrado”, “leitoso” e “gostoso” não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as bebidas. Portanto, os consumidores associaram esses termos de modo equivalente em todas as amostras, reforçando a boa aceitação das bebidas preparadas neste estudo.

6 CONCLUSÃO

Diante do crescente interesse por produtos funcionais de origem vegetal, a produção de extratos vegetais probióticos emerge como uma alternativa promissora para atender essa demanda no mercado. O desenvolvimento desse trabalho possibilitou a obtenção de uma bebida à base de extrato de xerém de castanha de caju fermentada pela cepa potencialmente probiótica *L. casei* NRRL B-442.

A bebida apresentou uma contagem elevada de células viáveis do microrganismo após a fermentação, mantendo a sua viabilidade acima do recomendado ao longo do período de 42 dias de armazenamento refrigerado, variando de 10,46 a 12,23 log UFC/mL. Durante a fermentação, o microrganismo metabolizou parte da glicose disponível, produzindo ácido láctico. Esse comportamento também foi observado no decorrer do armazenamento, com o esgotamento gradual desse açúcar, resultando na pós-acidificação do meio devido ao acúmulo de ácido láctico. Ao ser submetida a digestão simulada, a cepa potencialmente probiótica se mostrou resistente às condições gastrointestinais em diferentes estágios do período de armazenamento, com valores acima de 9,18 log UFC/mL. As formulações adicionadas de adoçantes foram bem avaliadas pelos consumidores, sem distinção significativa na aceitação sensorial entre as amostras adoçadas com sacarose ou sucralose. Isso destaca o potencial da sucralose no preparo de uma bebida vegetal fermentada com menor teor calórico.

Dessa forma, a matriz à base de xerém de castanha de caju se mostrou uma opção viável para a elaboração de um extrato vegetal fermentado com um notável potencial funcional. Para uma compreensão mais aprofundada da funcionalidade do produto, sugere-se a realização de estudos futuros que investiguem os impactos da bebida potencialmente probiótica na microbiota intestinal, assim como, estudos clínicos que possam comprovar a sua eficácia.

REFERÊNCIAS

- AL ZAHRANI, Ashwag Jaman; SHORI, Amal Bakr. Viability of probiotics and antioxidant activity of soy and almond milk fermented with selected strains of probiotic *Lactobacillus* spp. **LWT**, [s.l.], v. 176, p. 114531, 2023.
- ALLI, Sauliha R. *et al.* The Gut Microbiome in Depression and Potential Benefit of Prebiotics, Probiotics and Synbiotics: A Systematic Review of Clinical Trials and Observational Studies. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 23, n. 9, p. 4494, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/9/4494>. Acesso em: 01 jul. 2022.
- ALMADA-ÉRIX, Carine N. *et al.* Development of a semi-dynamic in vitro model and its testing using probiotic *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 in orange juice and yogurt. **Journal of Microbiological Methods**, [s.l.], v. 183, p. 106187, 2021.
- AMORIM, Manuela. *et al.* Use of whey peptide fraction in coated cashew nut as functional ingredient and salt replacer. **LWT**, [s.l.], v. 92, n. January, p. 204–211, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.075>. Acesso em: 13 set. 2022.
- ARAÚJO FILHO, Antonio Augusto Lima *et al.* Kombucha and kefir fermentation dynamics on cashew nut beverage (*Anacardium occidentale* L.). **International Journal of Gastronomy and Food Science**, [s.l.], v. 33, p. 100778, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878450X23001208>. Acesso em: 27 set. 2023.
- BRASIL. **Resolução do Ministério da Saúde: nº 466, de 12 de dezembro de 2012**. Dispõe sobre diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília, DF: Presidência da República. 2012.
- BERNAL-CASTRO, Camila *et al.* Vegetable substrates as an alternative for the inclusion of lactic acid bacteria with probiotic potential in food matrices. **Journal of Food Science and Technology**, [s.l.], v. 61, n. 5, p. 833–846, 2023.
- BERNAT, Neus *et al.* Hazelnut milk fermentation using probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG and inulin. **International Journal of Food Science & Technology**, [s.l.], v. 49, n. 12, p. 2553–2562, 2014a. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijfs.12585>. Acesso em: 01 jul. 2022.
- BERNAT, Neus *et al.* Vegetable milks and their fermented derivative products. **International Journal of Food Studies**, [s.l.], v. 3, n. 1, p. 93–124, 2014b.
- BISINOTTO, Mariana Siconeto *et al.* Bioaccessibility of cashew nut kernel flour compounds released after simulated in vitro human gastrointestinal digestion. **Food Research International**, [s.l.], v. 139, p. 109906, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996920309315>. Acesso em: 05 set. 2022.

BRODKORB, André *et al.* INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. **Nature Protocols**, [s.l.], v. 14, n. 4, p. 991–1014, 2019.

BROOKER, Paige G. *et al.* Nutrient composition of milk and plant-based milk alternatives: A cross-sectional study of products sold in Australia and Singapore. **Food Research International**, [s.l.], v. 173, p. 113475, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996923010232>. Acesso em: 18 set. 2023.

CANAVIRI PAZ, Pamela; JANNY, Rownoke Jannat; HÅKANSSON, Åsa. Safeguarding of quinoa beverage production by fermentation with *Lactobacillus plantarum* DSM 9843. **International Journal of Food Microbiology**, [s.l.], v. 324, p. 108630, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160520301240>. Acesso em: 17 nov. 2023.

CARDELLO, Armand V. *et al.* Plant-based alternatives vs dairy milk: Consumer segments and their sensory, emotional, cognitive and situational use responses to tasted products. **Food Quality and Preference**, [s.l.], v. 100, p. 104599, 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095032932200074X>. Acesso em: 22 nov. 2023.

CARVALHO, Joelia Marques *et al.* Cashew nut oil: effect of kernel grade and a microwave preheating extraction step on chemical composition, oxidative stability and bioactivity. **International Journal of Food Science & Technology**, [s.l.], v. 53, n. 4, p. 930–937, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijfs.13665>. Acesso em: 24 set. 2022.

CAVALLINI, Daniela Cardoso Umbelino *et al.* Probiotic Soy Product Supplemented with Isoflavones Improves the Lipid Profile of Moderately Hypercholesterolemic Men: A Randomized Controlled Trial. **Nutrients**, [s.l.], v. 8, n. 1, p. 52, 2016. Disponível em: <http://www.mdpi.com/2072-6643/8/1/52>. Acesso em: 16 nov. 2023.

CERDÁ-BERNAD, Débora *et al.* Probiotic red quinoa drinks for celiacs and lactose intolerant people: study of functional, physicochemical and probiotic properties during fermentation and gastrointestinal digestion. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, [s.l.], v. 73, n. 1, p. 49–59, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09637486.2021.1921707>. Acesso em: 17 jun. 2022.

CÉSPEDES, Mario *et al.* Performance in nondairy drinks of Probiotic L. Casei strains usually employed in dairy products. **Journal of Food Science**, [s.l.], v. 78, n. 5, 2013.

CHEN, Nan *et al.* Characterization of the physicochemical, thermal and rheological properties of cashew kernel starch. **Food Chemistry: X**, [s.l.], v. 15, p. 100432, 2022.

CHEN, Chen *et al.* Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review. **International Journal of Food Properties**, [s.l.], v. 20, n. sup1, p. S316–S330, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1295988>. Acesso em: 26 jun. 2022.

COLLIER, Elizabeth S. *et al.* Just a matter of taste? Understanding rationalizations for dairy consumption and their associations with sensory expectations of plant-based milk alternatives. **Food Quality and Preference**, [s.l.], v. 104, n. October 2022, p. 104745, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2022.104745>. Acesso em: 03 nov. 2022.

COMAK GOCER, Emine Mine; KOPTAGEL, Ebru. Production of milks and kefir beverages from nuts and certain physicochemical analysis. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 402, n. August 2022, p. 134252, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814622022142>. Acesso em: 17 fev. 2023.

COSTA, Kassia Kiss Firmino Dourado *et al.* Changes of probiotic fermented drink obtained from soy and rice byproducts during cold storage. **LWT**, [s.l.], v. 78, p. 23–30, 2017.

COSTA, Mayra Garcia Maia *et al.* Sonicated pineapple juice as substrate for *L. casei* cultivation for probiotic beverage development: Process optimisation and product stability. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 139, n. 1–4, p. 261–266, 2013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814613000836>. Acesso em: 16 jun. 2022.

CUNHA JÚNIOR, Paulo Cezar da *et al.* Symbiotic drink based on Brazil nuts (*Bertholletia excelsa* H.B.K): production, characterization, probiotic viability and sensory acceptance. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 51, n. 2, p. 1–14, 2021. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782021000200751&tlng=en. Acesso em: 06 jun. 2022.

D'AMICO, Ramona *et al.* Consumption of Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nuts Counteracts Oxidative Stress and Tissue Inflammation in Mild Hyperhomocysteinemia in Rats. **Nutrients**, [s.l.], v. 14, n. 7, p. 1474, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/14/7/1474>. Acesso em: 28 set. 2023.

DOYON, Maurice; LABRECQUE, JoAnne. Functional foods: a conceptual definition. **British Food Journal**, [s.l.], v. 110, n. 11, p. 1133–1149, 2008.

EL DIB, Regina *et al.* Probiotics for the treatment of depression and anxiety: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Clinical Nutrition ESPEN**, [s.l.], v. 45, p. 75–90, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405457721002825>. Acesso em: 06 jun. 2022.

EMILIANO, Gustavo dos Santos *et al.* Resistência gastrointestinal in vitro de *Lactobacillus rhamnosus* GG em bebidas de maracujá adicionadas de soro. **Research, Society and Development**, [s.l.], v. 11, n. 16, p. e105111637763, 2022.

FAOSTAT (2023). Food and agriculture organization of the United Nations. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#home>. Acesso em: 18 nov. 2023.

FAO/WHO. Food and Agricultural Organization/World Health Organization. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Londres: FAO/WHO.

FERNANDES, Ana Beatriz Costa *et al.* Potentially synbiotic fermented beverages processed with water-soluble extract of Baru almond. **Food Bioscience**, [s.l.], v. 42, n. March, p. 101200, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212429221003254>. Acesso em: 10 out. 2022.

FONTELES, Thatyane Vidal *et al.* Optimization of the Fermentation of Cantaloupe Juice by *Lactobacillus casei* NRRL B-442. **Food and Bioprocess Technology**, [s.l.], v. 5, n. 7, p. 2819–2826, 2012.

FREITAS, Hildeane Veloso *et al.* Synbiotic açai juice (*Euterpe oleracea*) containing sucralose as noncaloric sweetener: Processing optimization, bioactive compounds, and acceptance during storage. **Journal of Food Science**, [s.l.], v. 86, n. 3, p. 730–739, 2021. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1750-3841.15617>. Acesso em: 11 abr. 2022.

HASAN, Muzaffar *et al.* Research trends and approaches for the nutritional and bio-functionality enhancement of fermented soymilk. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 107, p. 105698, 2023.

HATI, Subrota; PATEL, Nikita; MANDAL, Surajit. Comparative Growth Behaviour and Biofunctionality of Lactic Acid Bacteria During Fermentation of Soy Milk and Bovine Milk. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, [s.l.], v. 10, n. 2, p. 277–283, 2018.

HERIGSTAD, Becky; HAMILTON, Martin; HEERSINK, Joanna. How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria *Journal of Microbiological Methods*. **Journal of Microbiological Methods**, [s.l.], v. 44, n. 2, p. 121-129, 2001.

HILL, Colin *et al.* Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, [s.l.], v. 11, n. 8, p. 506–514, 2014.

HUANG, Wenkang *et al.* Evaluation of the fermentation potential of lactic acid bacteria isolated from herbs, fruits and vegetables as starter cultures in nut-based milk alternatives. **Food Microbiology**, [s.l.], v. 112, p. 104243, 2023.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. ZENEON, Odair; PASCUET, Neus Sadocco; TIGLEA, Paulo. (Coord). São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p.1020, 2008.

ILLIKOUD, Nassima *et al.* Development of innovative fermented products by exploiting the diversity of immunomodulatory properties and fermentative activity of lactic and propionic acid bacteria. **Food Research International**, [s.l.], v. 166, p. 112557, 2023.

JAMES, Armachius; WANG, Yousheng. Characterization, health benefits and applications of fruits and vegetable probiotics. **CyTA - Journal of Food**, [s.l.], v. 17, n. 1, p. 770–780, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1652693>. Acesso em: 01 jul. 2022.

JESKE, Stephanie; ZANNINI, Emanuele; ARENDT, Elke K. Evaluation of Physicochemical and Glycaemic Properties of Commercial Plant-Based Milk Substitutes. **Plant Foods for Human Nutrition**, [s.l.], v. 72, n. 1, p. 26–33, 2017. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s11130-016-0583-0>. Acesso em: 06 jun. 2022.

JESKE, Stephanie; ZANNINI, Emanuele; ARENDT, Elke K. Past, present and future: The strength of plant-based dairy substitutes based on gluten-free raw materials. **Food Research International**, [s.l.], v. 110, p. 42–51, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.045>. Acesso em: 06 jun. 2022.

KAPRASOB, Ratchadaporn *et al.* B vitamins and prebiotic fructooligosaccharides of cashew apple fermented with probiotic strains *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc mesenteroides* and *Bifidobacterium longum*. **Process Biochemistry**, [s.l.], v. 70, p. 9–19, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.04.009>. Acesso em: 01 jul. 2022.

KAPRASOB, Ratchadaporn *et al.* Fermentation-based biotransformation of bioactive phenolics and volatile compounds from cashew apple juice by select lactic acid bacteria. **Process Biochemistry**, [s.l.], v. 59, n. April, p. 141–149, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2017.05.019>. Acesso em: 11 jun. 2022.

KOKWAR, Mona Arun; ARYA, Shalini Subhash; BHAT, Mohmad Sayeed. A cereal-based nondairy probiotic functional beverage: An insight into the improvement in quality characteristics, sensory profile, and shelf-life. **Journal of Food Processing and Preservation**, [s.l.], v. 46, n. 1, 2022. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfpp.16147>. Acesso em: 04 out. 2022.

KOUAMÉ, Kouadio Jean Eric-Parfait *et al.* New insights into functional cereal foods as an alternative for dairy products: A review. **Food Bioscience**, [s.l.], v. 55, p. 102840, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212429223004911>. Acesso em: 27 jun. 2022.

KÜÇÜKGÖZ, Kübra; TRZĄSKOWSKA, Monika. Nondairy Probiotic Products: Functional Foods That Require More Attention. **Nutrients**, [s.l.], v. 14, n. 4, p. 753, 2022.

LADO, Joanna *et al.* Application of a check-all-that-apply question for the evaluation of strawberry cultivars from a breeding program. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s.l.], v. 90, n. 13, p. 2268–2275, 2010.

LARKIN, Theresa A.; ASTHEIMER, Lee B.; PRICE, William E. Dietary combination of soy with a probiotic or prebiotic food significantly reduces total and LDL cholesterol in mildly hypercholesterolaemic subjects. **European Journal of Clinical Nutrition**, [s.l.], v. 63, n. 2,

p. 238–245, 2009. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/1602910>. Acesso em: 06 ago. 2022.

LAWLESS, Harry T.; HEYMANN, Hildegard. **Sensory evaluation of food: principles of good practice**. 2. ed. 2010.

LEE, Pui Yee; LEONG, Sze Ying; OEY, Indrawati. The role of protein blends in plant-based milk alternative: A review through the consumer lens. **Trends in Food Science & Technology**, p. 104268, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224423003837>. Acesso em: 22 nov. 2023.

LEEuwendaal, N.K. *et al.* Protection of candidate probiotic lactobacilli by Cheddar cheese matrix during simulated gastrointestinal digestion. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 92, p. 105042, 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464622001128>. Acesso em: 15 ago. 2023.

LILLO-PÉREZ, Siegfried *et al.* Probiotics in fruit and vegetable matrices: Opportunities for nondairy consumers. **LWT**, [s.l.], v. 151, n. April, p. 112106, 2021.

LIMA, Janice Ribeiro *et al.* Cashew nut-based beverage: development, characteristics and stability during refrigerated storage. **Food Science and Technology**, [s.l.], v. 41, n. suppl 1, p. 60–64, 2021. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612021000500060&tlng=en. Acesso em: 05 mai. 2022.

LIMA, Janice Ribeiro *et al.* **Comunicado Técnico 232. Obtenção de Extrato Hidrossolúvel de Amêndoa de Castanha-de-caju**. Fortaleza, 2017.

LIMA, Janice R.; GARRUTI, Deborah S.; BRUNO, Laura M. Physicochemical, microbiological and sensory characteristics of cashew nut butter made from different kernel grades-quality. **LWT - Food Science and Technology**, [s.l.], v. 45, n. 2, p. 180–185, 2012.

LUDENA URQUIZO, Fanny Emma *et al.* Development of a fermented quinoa-based beverage. **Food Science and Nutrition**, [s.l.], v. 5, n. 3, p. 602–608, 2017. Disponível em: www.foodscience-nutrition.com. Acesso em: 09 set. 2022.

MANOJ, Pawade Mohit *et al.* Fruit based probiotic functional beverages: A review. **Journal of Agriculture and Food Research**, [s.l.], v. 14, p. 100729, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666154323002363>. Acesso em: 03 nov. 2023.

MANTOVANI, Fernanda D *et al.* Is there an impact of the dairy matrix on the survival of *Lactobacillus casei* Lc-1 during shelf life and simulated gastrointestinal conditions?. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s.l.], v. 100, n. 1, p. 32–37, 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.9988>. Acesso em: 29 out. 2023.

MARIANO, R. L. R. **Manual de práticas em fitobacteriologia**. Recife: Editora Universitária UFPE 171 pp, 2000.

MARKETS AND MARKETS. **Dairy Alternatives Market by Source (Soy, Almond, Coconut, Oats, Hemp), Application (Milk, Cheese, Yogurt, Ice Creams, Creamers), Distribution Channel (Retail, Online Stores, Foodservice), Formulation and Region – Global Forecast to 2028**. 2023. Disponível em: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/dairy-alternatives-market-677.html>. Acesso em: 17 nov. 2023.

MATTISON, Christopher P. *et al.* Microbiological, Physicochemical, and Immunological Analysis of a Commercial Cashew Nut-Based Yogurt. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 21, n. 21, p. 8267, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/21/8267>. Acesso em: 07 jul. 2022.

MESQUITA, Maria Carolina *et al.* Fermentation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and coconut (*Coccus nucifera* L.) beverages by *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* LBC 81: The influence of sugar content on growth and stability during storage. **LWT**, [s.l.], v. 132, n. Jun, p. 109834, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643820308239>. Acesso em: 10 out. 2022.

MIN, Min *et al.* Non-dairy probiotic food products: An emerging group of functional foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s.l.], v. 59, n. 16, p. 2626–2641, 2019.

MINEKUS, Mans. *et al.* A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. **Food Funct.**, [s.l.], v. 5, n. 6, p. 1113–1124, 2014. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C3FO60702J>. Acesso em: 03 nov. 2022.

MOHAN, Viswanathan *et al.* Cashew Nut Consumption Increases HDL Cholesterol and Reduces Systolic Blood Pressure in Asian Indians with Type 2 Diabetes: A 12-Week Randomized Controlled Trial. **The Journal of Nutrition**, [s.l.], v. 148, n. 1, p. 63–69, 2018.

MOSS, Rachael *et al.* An investigation into consumer perception and attitudes towards plant-based alternatives to milk. **Food Research International**, [s.l.], v. 159, n. July, p. 111648, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111648>. Acesso em: 17 fev. 2023.

NASEEM, Zahida *et al.* Probiotic-fortified fruit juices: Health benefits, challenges, and future perspective. **Nutrition**, [s.l.], v. 115, p. 112154, 2023.

OLIVEIRA, Nathalia Nogueira *et al.* Cashew nut and cashew apple: a scientific and technological monitoring worldwide review. **Journal of Food Science and Technology**, [s.l.], v. 57, n. 1, p. 12–21, 2020.

ONVIT. Castanha de caju: nossos produtos. Nossos produtos. Disponível em: <https://www.onvit.com.br/castanha-de-caju>. Acesso em: 02 out. 2023.

PADILHA, Marina *et al.* A probiotic mixture improved *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* gastrointestinal in vitro resistance in petit-suisse. **Food & Function**, [s.l.], v. 7, n. 5, p. 2312–2319, 2016.

PAREDES, Jorge Luís; ESCUDERO-GILETE, María Luisa; VICARIO, Isabel María. A new functional kefir fermented beverage obtained from fruit and vegetable juice: Development and characterization. **LWT**, [s.l.], v. 154, p. 112728, 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643821018818>. Acesso em: 03 abr. 2022.

PEREIRA, Ana Lúcia Fernandes *et al.* Impact of fermentation conditions on the quality and sensory properties of a probiotic cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) beverage. **Food Research International**, [s.l.], v. 100, n. May, p. 603–611, 2017. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996917303952>. Acesso em: 06 jun. 2022.

PEREIRA, Ana Lúcia F.; MACIEL, Tatiane C.; RODRIGUES, Sueli. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. **Food Research International**, [s.l.], v. 44, n. 5, p. 1276–1283, 2011. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996910004680>. Acesso em: 12 mai. 2022.

PIMENTEL, Tatiana Colombo *et al.* Health benefits and technological effects of *Lactocaseibacillus casei*-01: An overview of the scientific literature. **Trends in Food Science & Technology**, [s.l.], v. 114, p. 722–737, 2021.

PIMENTEL, Tatiana Colombo *et al.* Vegan probiotic products: A modern tendency or the newest challenge in functional foods. **Food Research International**, [s.l.], v. 140, p. 110033, 2021b.

PIMENTEL, Tatiana Colombo; MADRONA, Grasielle Scaramal; PRUDENCIO, Sandra Helena. Probiotic clarified apple juice with oligofructose or sucralose as sugar substitutes: Sensory profile and acceptability. **Lwt**, [s.l.], v. 62, n. 1, p. 838–846, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.001>. Acesso em: 26 out. 2023.

PRECEDENCE RESEARCH. **Functional Food Market (By Product: Dairy Products, Bakery & Cereals, Meat, Fish & Eggs, Fats & Oils, Soy Products, and Others; By Ingredient: Dietary Fibers, Carotenoids, Minerals, Fatty Acids, Vitamins, Prebiotics & Probiotics, and Others; By Application: Weight Management, Sports Nutrition, Digestive Health, Immunity, Cardio Health, Clinical Nutrition, and Others) - Global Market Size, Trends Analysis, Segment Forecasts, Regional Outlook 2023 - 2032**. 2023. Disponível em: <https://www.precedenceresearch.com/functional-food-market>. Acesso em: 08 ago. 2023.

RASIKA, Dissanayake. M. D. *et al.* Plant-based milk substitutes as emerging probiotic carriers. **Current Opinion in Food Science**, [s.l.], v. 38, p. 8-20, abr. 2021.

ROCHA, Caique dos Santos *et al.* High-intensity ultrasound influences the probiotic fermentation of Baru almond beverages and impacts the bioaccessibility of phenolics and

fatty acids, sensory properties, and in vitro biological activity. **Food Research International**, [s.l.], v. 173, p. 113372, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996923009171>. Acesso em: 18 set. 2023.

RODRIGUES, Vivian Cristina da Cruz *et al.* Survival, metabolic status and cellular morphology of probiotics in dairy products and dietary supplement after simulated digestion. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 55, p. 126–134, 2019.

SANTOS FILHO, Antonio Luiz dos *et al.* Production and stability of probiotic cocoa juice with sucralose as sugar substitute during refrigerated storage. **LWT**, [s.l.], v. 99, n. September 2018, p. 371–378, 2019.

SHORI, Amal Bakr *et al.* Viability of probiotics and antioxidant activity of cashew milk-based yogurt fermented with selected strains of probiotic *Lactobacillus* spp. **LWT**, [s.l.], v. 153, n. September 2021, p. 112482, 2022.

SILVA, Rhonyele Maciel da; CAMPELO, Pedro Henrique; RODRIGUES, Sueli. In vitro viability of *L. Casei* B-442 and fructooligosaccharides integrity in Amazonian sapota-do-solimões functional juice. **Food Research International**, [s.l.], v. 154, n. February, p. 111036, 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S096399692200093X>. Acesso em: 19 set. 2023.

SILVA, Aline R. A.; SILVA, Marselle M. N.; RIBEIRO, Bernardo D. Health issues and technological aspects of plant-based alternative milk. **Food Research International**, [s.l.], v. 131, n. December 2019, p. 108972, 2020.

SILVA, Beatriz Queiroz; SMETANA, Sergiy. Review on milk substitutes from an environmental and nutritional point of view. **Applied Food Research**, [s.l.], v. 2, n. 1, p. 100105, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100105>. Acesso em: 21 ago. 2022.

SINGH, Jaswinder *et al.* Impact of probiotics in alleviating type 2 diabetes risk in clinical trials: A meta-analysis study. **Human Gene**, [s.l.], v. 35, p. 201149, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2773044123000086>. Acesso em: 16 nov. 2023.

SOUSA, Thaynna Leocádio Trajano Lacerda *et al.* Drink with probiotic potential based on water-soluble extract from cashew nuts. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 52, n. 11, 2022.

SOUZA, Michelle *et al.* New functional non-dairy mixed tropical fruit juice microencapsulated by spray drying: Physicochemical characterization, bioaccessibility, genetic identification and stability. **LWT**, [s.l.], v. 152, n. August, p. 112271, 2021.

SRUTHI, Puzhakkal; NAIDU, Madeneni Madahava. Cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) testa as a potential source of bioactive compounds: A review on its functional properties and valorization. **Food Chemistry Advances**, [s.l.], v. 3, p. 100390, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2772753X23002113>. Acesso em: 28 set. 2023.

SUBHASHREE, Sridharan; KAVITA, Muthunayakam Sudersana. **A study on suitable non dairy food matrix for probiotic bacteria - A systematic review**. Enviro Research Publishers, 2019.

SULTANA, Marjia *et al.* Functional orange juice with *Lactobacillus casei* and tocotrienol-enriched flaxseed oil co-encapsulation: Physicochemical properties, probiotic viability, oxidative stability, and sensorial acceptability. **LWT**, [s.l.], v. 188, p. 115388, 2023.

SZPARAGA, Agnieszka *et al.* Survivability of Probiotic Bacteria in Model Systems of Non-Fermented and Fermented Coconut and Hemp Milks. **Sustainability**, [s.l.], v. 11, n. 21, p. 6093, 2019.

SZUTOWSKA, Julia. Functional properties of lactic acid bacteria in fermented fruit and vegetable juices: a systematic literature review. **European Food Research and Technology**, [s.l.], v. 246, n. 3, p. 357–372, 2020.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 7.2. São Paulo, 2022. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca>. Acesso em: 01 out. 2023.

TAMUNO, Emelike Nkechi Juliet. Physicochemical, Mineral and Sensory Characteristics of Cashew Nut Milk. **International Journal of Food Science and Biotechnology**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 1, 2019. Disponível em: <http://www.sciencepublishinggroup.com/journal/paperinfo?journalid=614&doi=10.11648/j.ijf.sb.20190401.11>. Acesso em: 21 out. 2022.

TANGYU, Muzi *et al.* Fermentation of plant-based milk alternatives for improved flavour and nutritional value. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v. 103, n. 23–24, p. 9263–9275, 2019.

TOBOLKOVÁ, Blanka; DUREC, Ján. Colour descriptors for plant-based milk alternatives discrimination. **Journal of Food Science and Technology**, [s.l.], v. 60, n. 9, p. 2497–2501, 2023. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s13197-023-05773-5>. Acesso em: 01 out. 2023.

TRIPATHI, Manoj Kumar; GIRI, Saroj Kumar. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 9, n. 1, p. 225–241, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030>. Acesso em: 23 jun. 2022.

VALERO-CASES, Estefanía *et al.* Non-Dairy Fermented Beverages as Potential Carriers to Ensure Probiotics, Prebiotics, and Bioactive Compounds Arrival to the Gut and Their Health Benefits. **Nutrients**, [s.l.], v. 12, n. 6, p. 1666, 2020.

VIDAL, Leticia; ARES, Gastón; GIMÉNEZ, Ana. Projective techniques to uncover consumer perception: Application of three methodologies to ready-to-eat salads. **Food Quality and Preference**, [s.l.], v. 28, n. 1, p. 1–7, 2013.

VINDEROLA, Celso Gabriel; REINHEIMER, Jorge Alberto. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. **International Dairy Journal**, [s.l.], v. 10, n. 4, p. 271–275, 2000. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694600000455>. Acesso em: 15 jul. 2022.

VIVEK, Kambhampati *et al.* A comprehensive review on microencapsulation of probiotics: technology, carriers and current trends. **Applied Food Research**, [s.l.], v. 3, n. 1, p. 100248, 2023.

WANG, Jicheng *et al.* Gene expression profile of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang during the late stage of milk fermentation. **Food Control**, [s.l.], v. 25, n. 1, p. 321–327, 2012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713511004403>. Acesso em: 16 nov. 2023.

Wikimedia Commons contributors, File: CAJÚ Valdison A Gil DSC0017.jpg, 2023. Licenciado sob CC BY-SA 4.0, via Wikimedia Commons. Disponível em: https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:CAJ%C3%9A_Valdison_A_Gil_DSC0017.jpg&oldid=763295959. Acesso em: 18 nov. 2023.

ZHENG, Jinshui *et al.* A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, [s.l.], v. 70, n. 4, p. 2782–2858, 2020.

APÊNDICE A – TESTE CHECK-ALL-THAT-APPLY (CATA)

Abaixo estão listados vários termos que podem caracterizar as amostras de **bebida de castanha de caju fermentada**. Marque **TODOS** os termos que **CHARACTERIZAM** essa amostra. Caso não existam opções, favor indicar no espaço abaixo.

Nº da amostra: _____

<input type="checkbox"/> . Brilhosa
<input type="checkbox"/> . Cor esbranquiçada
<input type="checkbox"/> . Cor escura
<input type="checkbox"/> . Cor amarronzada
<input type="checkbox"/> . Cor caramelo
<input type="checkbox"/> . Cor escura
<input type="checkbox"/> . Aroma característico de leite fermentado
<input type="checkbox"/> . Aroma de castanha de caju
<input type="checkbox"/> . Aroma de baunilha
<input type="checkbox"/> . Sabor característico de leite fermentado
<input type="checkbox"/> . Sabor de castanha de caju
<input type="checkbox"/> . Gosto doce ideal
<input type="checkbox"/> . Pouco doce
<input type="checkbox"/> . Muito doce
<input type="checkbox"/> . Gosto amargo
<input type="checkbox"/> . Sabor residual
<input type="checkbox"/> . Gosto salgado
<input type="checkbox"/> . Gosto ácido
<input type="checkbox"/> . Textura ideal
<input type="checkbox"/> . Concentrado
<input type="checkbox"/> . Leitoso
<input type="checkbox"/> . Gostoso
<input type="checkbox"/> .

APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

O Sr. (a) está sendo convidado (a) a participar como voluntário (a) em uma atividade do projeto de pesquisa “**BEBIDA FERMENTADA DE EXTRATO DO XERÉM DE CASTANHA DE CAJU**”.

O propósito desta pesquisa será avaliar a aceitação sensorial de bebidas fermentadas à base de extrato de xerém de castanha de caju. Para obtenção dos dados, lhe será solicitado comparecer ao Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Federal do Maranhão, onde em cerca de **15 minutos** realizará o teste sensorial. Leia atentamente as informações abaixo que explicam sobre o procedimento da pesquisa. Sua participação na pesquisa será avaliar sensorialmente bebidas fermentadas à base de extrato de xerém de castanha de caju. **Portanto, se você tiver alguma alergia com relação à ingestão de castanha de caju, microrganismos probióticos como *L. casei*, açúcar e sucralose, for gestante ou portador de doença crônica NÃO** poderá participar dos testes. Salvo esses casos, o consumo deste produto não oferece riscos à saúde, contudo se ocorrer algum desconforto durante ou até 12 h após a análise, você será encaminhado ao serviço público de saúde.

Se mesmo assim houver qualquer risco ou dano significativo ao Sr. (a), esse fato será comunicado imediatamente ao Sistema CEP/CONEP, e será avaliado, em caráter emergencial, a necessidade de adequar ou suspender o estudo.

O Sr.(a) não será remunerado por esta atividade, porém possibilitará no futuro próximo, o desenvolvimento de um novo produto e sua comercialização. Sua participação não é obrigatória e, a qualquer momento, o Sr. (a) poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com a professora ou com a instituição. Ainda lhe será garantido o sigilo que assegure a privacidade da sua identidade, como também a **confidencialidade** de todos os resultados obtidos, os quais somente serão divulgados dados diretamente relacionados aos objetivos da pesquisa pelos pesquisadores desse projeto.

Entre os benefícios, está opções de alimentos aos intolerantes à lactose, os quais não podem consumir alimentos contendo lactose.

Após ter sido esclarecido (a) sobre as informações acima, no caso de concordar em fazer parte do estudo, por favor assinar ao final do documento. O termo encontra-se em duas vias,

onde uma ficará com o pesquisador e a outra ficará com o Sr. (a). Neste termo consta o telefone e endereço da pesquisadora principal, podendo tirar dúvidas do projeto e de sua participação.

O abaixo-assinado, _____, ____ anos, RG nº _____ declara que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário da pesquisa. Eu declaro que li cuidadosamente este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após sua leitura tive oportunidade de fazer perguntas sobre o conteúdo do mesmo, como também sobre a pesquisa e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas. Sei que poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, sem nenhum prejuízo. Declaro ainda estar recebendo uma cópia assinada deste Termo.

Imperatriz, ____/____/____

Assinatura do Voluntário

Assinatura do Pesquisador

Assinatura do profissional que aplicou o T.C.L.E