

AVALIAÇÃO SENSORIAL E MICROBIOLÓGICA DE BEBIDA MISTA DE VEGETAIS ADICIONADA DE PROBIÓTICO.

Shimemy Ramos Montanari

Eliane Maurício Furtado Martins

Bruno Ricardo de Castro Leite Júnior

Maurilio Lopes Martins ✉

Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais. Rio Pomba, MG.

✉ maurilio.martins@ifsudestemg.edu.br

RESUMO

Bebidas de origem vegetal vêm sendo estudadas como carreadoras de bactérias probióticas. Neste estudo objetivou-se elaborar duas bebidas mistas probióticas sabor goiaba e beterraba: BMAP (bebida mista à base de extrato de amendoim) e BMSP (à base de extrato de soja), que foram adicionadas de *Lactobacillus rhamnosus* GG. Avaliaram-se características sensoriais e microbiológicas das bebidas elaboradas e de uma bebida comercial a base de soja disponível no mercado (BSC). Verificou-se que, após o processamento, as bebidas BMAP, BMSP e a BSC apresentaram escores equivalentes a “gostei ligeiramente” e “gostei muito” para os atributos acidez, cor, sabor, aroma, textura e impressão global, e escores equivalentes a “talvez comprasse, talvez não comprasse” e “provavelmente compraria” na avaliação de intenção de compra, não havendo diferença das bebidas elaboradas para a comercial. Verificaram-se contagens de LGG superiores a 6,8 Log UFC.

mL⁻¹ nas bebidas. Todas as amostras estavam de acordo com os padrões microbiológicos exigidos pela legislação brasileira. As bebidas apresentam potencial de mercado e são consideradas um excelente veículo de LGG, além de uma nova opção de bebida funcional, não láctea, acessível à população.

Palavras-chave: Amendoim. Soja. *Lactobacillus rhamnosus*. Bebida funcional.

ABSTRACT

*Vegetable beverages have been studied as carriers of probiotic bacteria. The objective of this study was to elaborate two probiotic mixed beverages from guava and beet: BMAP (mixed beverage based on peanut extract) and BMSP (based on soy extract), which were added of *Lactobacillus rhamnosus* GG. Beverages from both matrices, without addition of probiotic, were denominated control (BMAC and BMSC). Sensory and microbiological characteristics of the*

elaborated beverages and a commercially available commercial soybean drink (BSC) were evaluated. It was verified that, after the processing, the BMAP, BMSP and BSC beverages presented "slightly liked" and "liked" scores for the attributes of acidity, color, flavor, aroma, texture and overall impression, and "maybe buy, maybe not buy" and "would probably buy" in the evaluation of the intention to buy, there being no difference of the beverages from to the commercial. LGG counts were above 6.8 Log UFC.mL⁻¹ in the beverages. All samples were in accordance with the microbiological standards required by Brazilian legislation. The beverages present market potential and are considered a excellent vehicle of LGG and a new functional beverage option, not dairy, accessible to the population.

Keywords: Peanut. Soy. *Lactobacillus rhamnosus*. Functional beverage.

INTRODUÇÃO

A demanda por produtos funcionais, que exercem efeito específico sobre a dieta devido a sua constituição química, tem sido prioridade de alguns consumidores (FOLIGNÉ; DANIEL; POT, 2013; BEZERRA et al., 2015). A busca por hábitos de vida saudáveis vem impulsionando os pesquisadores a desenvolverem produtos com apelo funcional, o que vai ao encontro das expectativas dos consumidores que buscam alimentos que, além de saborosos, de rápido e fácil preparo e consumo, tragam algum benefício à saúde.

Os brasileiros têm aumentado o consumo de sucos prontos para beber e, segundo Almeida (2012), estes são sugeridos como meio apropriado para adição de ingredientes ativos, como as culturas probióticas, pois são produtos saudáveis e consumidos por larga parcela da população. De acordo com Antunes et al. (2013), sucos de frutas podem representar um meio ideal para veicular probióticos aos consumidores, pois são consumidos regularmente, sendo este fator essencial para que os probióticos exerçam suas funções.

Além das frutas, hortaliças do grupo das raízes e leguminosas também podem ser usadas no processamento de bebidas, assim como culturas probióticas (ESPIRITO-SANTO et al., 2014; SANTOS; LIBECK; SCHWAN, 2014) sendo que as fibras dietéticas, antioxidantes, vitaminas e minerais atuam como substrato para o crescimento dessas bactérias (BASODE et al., 2012; BANSAL et al., 2016, COSTA et al., 2017).

A avaliação da qualidade sensorial e microbiológica é fundamental no desenvolvimento de produtos, portanto, tendo em vista a demanda dos consumidores por alimentos funcionais, que conferem benefícios à saúde, objetivou-se elaborar bebidas

mistas de leguminosas (amendoim e soja), sabor goiaba e beterraba, como veículos de *Lactobacillus rhamnosus* GG e avaliar os produtos do ponto de vista sensorial e microbiológico.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos extratos hidrossolúveis de amendoim e soja

A obtenção do extrato de amendoim variedade Tatu foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Bechaut; Nail (1978), em que 1 kg de amendoim com pele foi imerso em 2 L de água potável contendo 0,2% de ácido cítrico e mantidos por um período de 16 a 18 horas à temperatura ambiente. Após este período, o líquido foi drenado e os amendoins foram lavados e moídos com adição de 5 L de água, sendo a mistura triturada mantida à temperatura ambiente por 4 a 5 horas antes da filtração em tecido dessorador. O filtrado obtido foi chamado como extrato hidrossolúvel de amendoim.

Já o extrato hidrossolúvel de soja (cultivar BRS 284) foi adquirido em um centro de distribuição gratuito no município de Rio Pomba/MG, sendo a extração realizada em um equipamento Vaca Mecânica, com capacidade de 200 litros, construído em aço inox, mediante moagem úmida e a quente do grão de soja cozido a aproximadamente 80 °C por 15 minutos. Em seguida, os grãos de soja foram triturados e seu extrato tratado termicamente a 100 °C /15 minutos; posteriormente, centrifugado para separar o extrato hidrossolúvel de soja do *okara* (resíduo sólido).

Obtenção da polpa de goiaba e beterraba para preparo das bebidas

As goiabas (Paluma) e as beterrabas (*Rubius* híbrida) foram adquiridas no município de Rio Pomba, MG. Inicialmente, elas foram lavadas em água corrente para retirada de sujidades e, então, sanitizadas em

solução clorada contendo 100 mg.L⁻¹ de cloro ativo para promover a redução da população microbiana. Após a sanitização, procedeu-se à trituração em liquidificador doméstico por, aproximadamente, 45 segundos sendo a mistura obtida, filtrada em tecido de nylon, para obtenção das polpas usadas na elaboração das bebidas mistas.

As formulações das bebidas foram determinadas por ensaios preliminares e consistiram de: 53% de extrato de soja, 30% de polpa de goiaba, 10% de polpa de beterraba, 7% de sacarose e 53% de extrato de amendoim, 30% de polpa de goiaba, 10% de polpa de beterraba e 7% de sacarose. O pH das bebidas foi acidificado para 4,0 com solução de ácido cítrico 1% e o produto pasteurizado a 85°C por 20 segundos e resfriado a 36°C, procedendo-se à adição da cultura liofilizada de *L. rhamnosus* GG conforme descrito no próximo item.

As formulações foram denominadas de BMAP (bebida mista contendo amendoim probiótica) e BMSP (bebida mista contendo soja probiótica). Os experimentos foram realizados em 3 repetições.

Inoculação de L. rhamnosus GG às bebidas mistas

Inicialmente, em 200 mL das formulações das bebidas mistas foi adicionada uma cápsula contendo 10¹⁰ células de *L. rhamnosus* GG liofilizado. Estas formulações foram denominadas pré-inóculos e foram incubadas em estufa por 24 horas a 36 °C, caracterizando a fase de adaptação do micro-organismo. Após o período de incubação, foram inoculados 10 mL do pré-inóculo em frascos contendo 200 mL das bebidas mistas, que, juntamente com o tratamento controle (sem adição da bactéria probiótica) foram analisadas pós-processamento (tempo 0).

Análise sensorial

O Projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa

com Seres Humanos sob o número do parecer 2.126.616, sendo o estudo realizado conforme preconiza a Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 1996).

Foi realizado teste de aceitação para os atributos cor, sabor, textura, aroma, impressão global e intenção de compra das BMAP e BMSP por meio de escala hedônica de nove pontos, variando-se de “gostei extremamente” (escore 9) a “desgostei extremamente” (escore 1) e de escala de cinco pontos, variando-se de “certamente compraria” (escore 5) a “certamente não compraria” (escore 1), respectivamente, segundo Minim (2013). A análise sensorial foi conduzida após elaboração das bebidas (tempo 0) e as amostras foram avaliadas por 50 julgadores não treinados. A fim de comparar a aceitabilidade das bebidas elaboradas com uma bebida de soja de marca renomada no mercado (BSC), foi realizado o teste cego, sem identificação de sabor e marca.

Avaliação microbiológica das bebidas mistas ao longo da vida de prateleira

A viabilidade de LGG foi avaliada em 25 mL das bebidas mistas contendo amendoim e soja as quais foram homogeneizadas em 225 mL de solução salina peptonada (0,85% de NaCl e 0,1% de peptona), obtendo-se a diluição 10^{-1} . Posteriormente, foram realizadas diluições seriadas. A contagem foi efetuada pelo método de plaqueamento em profundidade adicionando 1,0 mL das respectivas diluições e derramando pequena quantidade de Ágar Man, Rogosa and Sharpe (MRS) em placas de Petri que foram mantidas em jarras de anaerobiose a 37 °C por 72 horas (RICHER; VEDAMUTHU, 2001).

A microbiota contaminante de BMAP, BMSP e BSC foi avaliada para checar se o produto atendia aos padrões de qualidade microbiológica preconizados pela legislação

brasileira (BRASIL, 2001).

As análises foram efetuadas em porções de 25 mL das bebidas, que foram pesadas assepticamente e homogeneizadas com 225 mL de solução salina peptonada (0,85% de NaCl e 0,1% de peptona) em Stomacher. Posteriormente, diluições decimais foram realizadas para prosseguir com o plaqueamento (SWANSON et al., 2001). A determinação de *Salmonella* sp. foi feita em 25 mL dos produtos homogeneizados com 225 mL de caldo lactosado, seguindo metodologia descrita por Andrews et al. (2001).

A análise de *B. cereus* foi realizada de acordo com Bennett; Belay (2001), em que 25 mL das amostras foram diluídas em 225 mL de solução salina peptonada (0,85% de NaCl) e 0,1% de peptona e homogeneizadas. Foi distribuído 1 mL da diluição 10^{-1} em três placas (0,4 mL, 0,3 mL e 0,3 mL) em duplicata e então, feitas diluições sucessivas das amostras (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) que foram inoculadas em placas de Petri contendo ágar MYP (*Mannitol yeast polymixin Agar*), mantidas a 30°C/24 h.

Coliformes totais e *E. coli* foram analisados utilizando-se Petrifilm™, segundo instruções do fabricante. Com a pipeta posicionada perpendicularmente à placa Petrifilm™, foi inoculado 1 mL da diluição 10^{-1} das BMAP e BMAP, BMSP e BMSC e BSA no centro do filme inferior, sendo cuidadosamente posicionado o filme superior de forma a evitar a formação de bolhas de ar, com auxílio de difusor. As placas foram incubadas por 24 h a 36 °C. Colônias azuis com bolhas foram consideradas como *E. coli*.

Posteriormente, foi calculado o número de UFC (Unidades Formadoras de Colônias) por mililitro das bebidas. Estas análises foram realizadas em duplicata, logo após o processamento das bebidas.

Análise estatística

Os dados do teste de aceitação para os atributos cor, sabor, textura, aroma, impressão global e de intenção de compra foram avaliados utilizando delineamento em blocos casualizados. Nos experimentos de caracterização microbiológica das bebidas analisadas foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial em três repetições. Os resultados de todos os testes foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparações entre as médias.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o pacote ExpDes (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2013) no ambiente “R” (R Core Team, 2014) e Statistica 13.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise sensorial

Na Tabela 1 são apresentados os escores médios obtidos para os atributos sensoriais de acidez, cor, sabor, aroma, textura, impressão global e intenção de compra das diferentes bebidas, avaliadas logo após o processamento (tempo 0).

Todos os atributos avaliados após o processamento das bebidas apresentaram médias correspondentes aos termos “gostei ligeiramente” e “gostei muito” na escala hedônica, demonstrando o potencial de mercado das bebidas no início da vida de prateleira (Tabela 1).

A aceitabilidade do extrato hidrossolúvel de soja é um desafio, uma vez que este apresenta características sensoriais semelhantes às do feijão cru, devido à presença de compostos voláteis de baixa massa molecular que são produtos da ação das lipoxigenases, enzimas ativadas na presença de água que catalisam a oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados. Os produtos finais desta reação são

Tabela 1 - Escores médios para os atributos sensoriais das BMAP, BMSP e BSC.

Atributos	BMAP	BMSP	BSC
Acidez	7,0a	6,7a	7,1a
Cor	7,6 ^a	7,5a	7,1a
Sabor	6,1 ^a	6,7a	7,3a
Aroma	7,0a	7,0a	7,6a
Textura	7,3 ^a	7,4a	7,1a
Impressão Global	6,8a	7,2a	7,2a
Intenção de Compra	3,3a	3,4a	3,8a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade. BMAP: bebida mista contendo extrato de amendoim probiótica; BMSP: bebida mista contendo extrato de soja probiótica; BSC: bebida já consolidada no mercado. As letras minúsculas indicam a comparação das diferentes bebidas no mesmo tempo de armazenamento.

compostos carboxílicos responsáveis por sabores e odores desagradáveis (OLIVEIRA et al., 2010), levando a uma baixa aceitabilidade pelos consumidores. Em função disso, optou-se, no presente trabalho, adicionar polpa de goiaba e beterraba, com o intuito de melhorar a aceitabilidade do produto final.

Zhao; Shah (2014) afirmaram que existem dificuldades tecnológicas no desenvolvimento de bebidas à base de extrato de soja, em relação aos aspectos sensoriais indesejáveis desta leguminosa, quando se trabalha com percentuais de extrato mais elevados.

Ao avaliarem a aceitabilidade de bebida à base de extrato de soja com 25% de polpa de morango e 15% de sacarose, Branco et al. (2007) constataram média de 6,47 (“gostei ligeiramente” e “moderadamente”), e Oliveira (2013) obteve média de 6,5 na análise sensorial de bebida à base de extrato hidrossolúvel de milho, arroz e soja, para o atributo sabor, semelhante ao resultado encontrado no presente estudo para bebidas mistas contendo extrato de amendoim e soja, logo após elaboração.

Quanto à intenção de compra, não houve diferença ($p > 0,05$) entre as amostras (Tabela 1). Ambas as bebidas, apresentaram boa intenção de compra, indicando que os provadores “talvez comprassem, talvez

não comprassem” e “provavelmente comprariam” as diferentes bebidas.

Avaliação microbiológica das bebidas mistas ao longo da vida de prateleira

Verificaram-se contagens de LGG superiores a 7,4 Log UFC.mL⁻¹ na BMAP e a 6,8 Log UFC.mL⁻¹ na BMSP, logo após o processamento. Assim, a ingestão de 100 mL da bebida mista de soja contendo LGG, poderá fornecer ao consumidor, no mínimo, 8,8 Log UFC por porção, enquanto a de amendoim poderá oferecer até 9,4 Log UFC, portanto, as bebidas mistas desenvolvidas são um excelente veículo de LGG.

É essencial que as estirpes probióticas mantenham a viabilidade e a atividade funcional ao longo da vida útil dos alimentos. Algumas estirpes probióticas não crescem bem em base láctea. Em tais casos, a presença de ingredientes de base vegetal pode melhorar o crescimento de culturas probióticas nessa matriz, o que já foi relatado em suco de tomate, extrato de amendoim, extrato hidrossolúvel de soja, suco de cenoura e de couve (NADAL et al., 2010; BROCA et al., 2014).

De acordo com a RDC n° 12 (BRASIL, 2001) os padrões de segurança microbiológica para sucos, refrescos, refrigerantes e outras bebidas não alcoólicas são de, no máximo, 5,0 x

10² UFC.g⁻¹ de *B. cereus*, 10 UFC.mL⁻¹ de *E. coli* e ausência de *Salmonella* sp. em 25 mL ou g do produto.

No presente estudo, para as bebidas analisadas, verificou-se ausência de *Salmonella* sp. em 25 mL das amostras, contagens de <1,0 x 10¹ UFC.mL⁻¹ para *B. cereus*, coliformes e *E. coli*, indicando que as preparações estavam microbiologicamente seguras para consumo humano, pois foram usadas matérias-primas de boa qualidade, além de terem sido adotadas boas práticas de fabricação durante o processamento, assegurando a qualidade das bebidas.

CONCLUSÃO

As bebidas mistas de leguminosas, goiaba e beterraba são sensorialmente promissoras por possuírem apelo funcional indo ao encontro das novas exigências dos consumidores que buscam alimentos saborosos e que sejam saudáveis, além de apresentar escores semelhantes aos da bebida já consolidada no mercado. As bebidas são um produto de dupla funcionalidade, pela presença do probiótico e das características da matriz, além de ser uma nova opção de bebida de base não láctea, adequada a toda população, desde indivíduos vegetarianos e com restrições alimentares até crianças e idosos, aumentando,

assim, a oferta de produtos probióticos. O produto é seguro para consumo humano por atender o padrão microbiológico estabelecido pela legislação brasileira.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, FDL. **Desidratação de suco de abacaxi probiótico por spray-dryer**. 2012. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.
- ANDREWS, WH; FLOWER, RS; SILLIKER, J; BAILEY, JS. *Salmonella*. In: DOWNES, FP; ITO, K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association – APHA, p. 357-380, 2001.
- ANTUNES, AEC et al. Acerola nectar with added microencapsulated probiotic. **Food Science and Technology**, v.54, p.125-131, 2013.
- BANSAL, S et al. Optimization of process conditions for developing yoghurt like probiotic product from peanut. **LWT - Food Science and Technology**, v.73, p.6-12, 2016.
- BASODE, RR; RANDOLPH, P; HURLEY, S; AHMEDNA, M. Evaluation of hypolipidemic effects of peanut skin-derived polyphenols in rats on Western-diet. **Food Chemistry**, v.135, p.1659-1666, 2012.
- BECHAUT, LR; NAIL, BJ. Fermentation of peanut milk with *Lactobacillus bulgaricus* and *L. acidophilus*. **Journal of Food Science**, v.43, p.1109-1112, 1978.
- BENNETT, RW; BELAY, N. *Bacillus cereus*. In: DOWNES, FP; ITO, K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association - APHA, p. 311-316, 2001.
- BEZERRA, M; ARAUJO, A; SANTOS, K; CORREIA, R. Caprine frozen yoghurt produced with fresh and spray dried jambolan fruit pulp (*Eugenia jambolana* Lam) and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BI-07. **Food Science and Technology**, 1, 1-6, 2015.
- BRANCO, IG et al. Avaliação da aceitabilidade sensorial de uma bebida à base de extrato hidrossolúvel de soja, polpa de morango e sacarose. **Rev Ciências Exatas e Naturais**, v.9, n.1, p.129-141, 2007.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **DOU**, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº196, de 10 de outubro de 1996. Aprova Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. **DOU**, Brasília, 1996.
- BROCA, CLC et al. Elaboração e Armazenamento de uma Bebida à Base de soja sabor limão. **UNICIÊNCIAS**, v.18, n.1, p.33-38, 2014.
- COSTA, KKFD et al. Changes of probiotic fermented drink obtained from soy and rice byproducts during cold storage. **LWT - Food Science and Technology**, v.78, p.23-30, 2017.
- ESPIRITO-SANTO, AP et al. Influence of cofermentation by amylolytic *Lactobacillus* strains and probiotic bacteria on the fermentation process, viscosity and microstructure of gruels made of rice, soy milk and passion fruit fiber. **Food Research International**, v.57, p.104-113, 2014.
- FERREIRA, EB; CAVALCANTI, PP; NOGUEIRA, DA. **ExpDes.pt: Experimental Designs package** (Portuguese). R package version 1.1.2, 2013.
- FOLIGNÉ, B; DANIEL, C; POT, B. Probiotics from research to market: the possibilities, risks and challenges. **Current Opinion in Microbiology**, v.16, p.284-292, 2013.
- MINIM, VPR. **Análise Sensorial - Estudos com Consumidores**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2013.
- NADAL, E; BARBERÁ, E; LOPEZ, J; ÁLVAREZ, J. Food formulation to increase probiotic bacteria action or population. In: WATSON, RR. and PREEDY, VC. (Ed.). **Bioactive foods in promoting health: Probiotics and Prebiotics**. Academic Press, Elsevier, London, UK, p. 342, 2010.
- OLIVEIRA, MA et al. Development of an acai-soymilk beverage: Characterization and consumer acceptance. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.13, p.306-312, 2010.
- OLIVEIRA, PHP. **Bebida à base de extrato hidrossolúvel de milho, arroz e soja**. 2013. 32f. Monografia (Graduação em Agronomia). Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Distrito Federal, 2013.
- R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing**. Vienna, Austria, 2014.
- RICHER, RL; VEDAMUTHU, ER. Milk and milk products. DOWNES, FP; ITO, K. (Ed.). In: **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association - APHA, p. 483-496, 2001.
- SANTOS, CCAA; LIBECK, BS; SCHWAN, RF. Co-culture fermentation of peanut-soy milk for the development of a novel functional beverage. **International Journal of Food Microbiology**, v.186, p.32-41, 2014.
- SWANSON, KMJ; PETRAN, RL; HANLIN, JH. Culture methods for enumeration of microorganisms. In: DOWNES, FP; ITO, K. (Eds.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4. ed. Washington, DC: American Public Health Association – APHA, p. 53-62, 2001.
- ZHAO, D; SHAH, NP. Changes in antioxidant capacity, isoflavone profile, phenolic and vitamin contents in soymilk during extended fermentation. **Food Science and Technology**, v.58, p.454-462, 2014.