

## Bebida láctea fermentada com semente de chia e xarope de acerola: caracterização físico-química, microbiológica e sensorial

*Dairy drink fermented with chia seed and acerola syrup: physicochemical, microbiological, and sensory characterization*

Juliana de Abreu Costa<sup>1\*</sup> , Julliet Teixeira de Oliveira Santos<sup>1</sup> , Rafael Gomes Abreu Bacelar<sup>1</sup> , Rosana Martins Carneiro<sup>1</sup> , Darlisson Slag Neri Silva<sup>1</sup> , Maria Marlúcia Gomes Pereira Nóbrega<sup>1</sup> , Maria Christina Sanches Muratori<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil

\*Correspondente: [juliana.abreu04@hotmail.com](mailto:juliana.abreu04@hotmail.com)

### Resumo

O objetivo desta pesquisa foi desenvolver uma bebida láctea fermentada utilizando o soro de leite como base láctea com semente de chia (*Salvia hispanica* L.) e xarope de acerola (*Malpighia emarginata*), avaliar parâmetros físico-químicos (pH, atividade de água, sólidos solúveis totais, acidez, sinérese), composição centesimal (umidade, cinzas, proteínas, matéria gorda láctea, carboidratos e valor energético),  $\beta$ -caroteno, ácido ascórbico, parâmetros microbiológicos e sensorial. Os resultados de acidez variaram de 1% a 1,27%; pH de 3,86 a 4,11; sólidos solúveis de 15,67 a 21,6; atividade de água de 0,93 a 0,99; sinérese de 46,67 a 68,08. Apresentaram condições satisfatórias para Coliformes termotolerantes e *Salmonella* spp., apresentou viabilidade celular de *L. acidophilus*: E4 ( $2,9 \times 10^7$  a  $9,7 \times 10^7$ ) e E8 ( $1,3 \times 10^7$  a  $8,6 \times 10^7$ ), porém *Bifidobacterium* spp. não apresentou viabilidade. As bebidas tiveram bom índice de aceitação pelos provadores (7,0). Os resultados de umidade foram de 74,21% a 74,34%; cinzas de 0,42% a 0,55%; proteínas de 2,93% a 2,99%, matéria gorda láctea de 1,47% a 0,93%; carboidrato de 20,97% a 21,19%; valor energético de 108,83% a 105,09% e  $\beta$ -caroteno de 12,33% a 8,19%; e o ácido ascórbico variou de 222,23 (mg/100g) a 418,10 (mg/100g). Conclui-se que as bebidas lácteas formuladas são consideradas uma alternativa viável para indústria de alimentos, com o diferencial da inclusão da semente de chia e polpa de acerola, devido a sua boa aceitação sensorial, estabilidade físico-química, análise sensorial satisfatória, padrões microbiológicos adequados durante o período de estocagem de 21 dias.

**Palavras-chaves:** Indústria; qualidade; soro de leite; *Salvia hispanica* L.; *Malpighia emarginata*.

### Abstract

This research aimed to develop a fermented dairy beverage using whey as a dairy base with chia seed (*Salvia hispanica* L.) and acerola syrup (*Malpighia emarginata*) and to evaluate physicochemical parameters (pH, water activity, total soluble solids, acidity, syneresis), proximate composition (moisture, ash, proteins, milk fat, carbohydrates, and energy value),  $\beta$ -carotene, ascorbic acid, microbiological and sensory parameters. The acidity results ranged from 1% to 1.27%; pH from 3.86 to 4.11; soluble solids from 15.67 to 21.6; water activity from 0.93 to 0.99; syneresis from 46.67 to 68.08; they presented satisfactory conditions for thermotolerant coliforms. *Salmonella* spp. showed cell viability of *L. acidophilus*: E4 ( $2.9 \times 10^7$  to  $9.7 \times 10^7$ ) and E8 ( $1.3 \times 10^7$  to  $8.6 \times 10^7$ ), however *Bifidobacterium* spp. did not show any viability. The drinks had a good acceptance rate by the tasters (7.0). The humidity results were from 74.21% to 74.34%; ash from 0.42% to 0.55%; proteins from 2.93% to 2.99%, milk fat from 1.47% to 0.93%; carbohydrate from 20.97% to 21.19%; energy value from 108.83% to 105.09% and  $\beta$ -carotene from 12.33% to 8.19%; and ascorbic acid ranged from 222.23 (mg/100g) to 418.10 (mg/100g). It is concluded that formulated dairy drinks are considered a viable alternative for the food industry, with the differential of including chia seed and acerola pulp, due to their good sensory acceptance, physical-chemical stability, satisfactory sensory analysis, microbiological standards suitable in the 21-day storage period.

**Keywords:** Industry; quality; whey; *Salvia hispanica* L.; *Malpighia emarginata*.

Recebido: 29 de março de 2022. Aceito: 13 de junho de 2022. Publicado: 22 de julho de 2022.



## Introdução

O termo “bebida láctea” possui amplo sentido, englobando diferentes produtos elaborados a partir do leite e do soro do leite. O soro do leite é amplamente utilizado para elaborar a bebida láctea no Brasil, sendo que essa prática foi regulamentada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, com a publicação da Instrução Normativa Nº 16, de 23 de agosto de 2005, que aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea <sup>(1)</sup>.

No processo de fabricação do queijo há geração do soro de leite, que possui significativa ação poluente, ou seja, se destinado ao descarte, pode causar graves danos ambientais quando lançado no meio ambiente de forma não tratada, dada sua significativa taxa de matéria orgânica representada principalmente pela lactose e proteínas <sup>(2)</sup>. A proteína do soro vem chamando bastante atenção em virtude do seu excelente valor biológico, por apresentar em sua composição alto conteúdo de aminoácidos essenciais, que podem aumentar o valor nutricional dos alimentos usados na dieta humana e podem liberar uma variedade de peptídeos bioativos, que possuem atividades antioxidante, antibacteriana, imunomoduladora, assim como a inibição da enzima conversora da angiotensina-I <sup>(3,4)</sup>. O aproveitamento desse coproduto lácteo no preparo de alimentos para consumo humano, reduz o impacto ambiental e favorece economicamente às indústrias, através da exclusão de gastos com tratamento de efluentes e do retorno econômico com a venda desses alimentos <sup>(5)</sup>.

A busca por alimentos saudáveis vem ocasionando o aumento da preferência pela ingestão de frutas e polpas de frutas. Atualmente o uso de frutas na elaboração de bebidas lácteas, está relacionado com as estratégias de marketing focadas para esses produtos, que tem como objetivo melhoria das características sensoriais, e o oferecimento de novas formas de alimentos saudáveis <sup>(6)</sup>. A acerola é uma fruta tropical com grande potencial econômico e nutricional, alta concentração de vitamina C em sua composição, carotenoides, antocianinas, ferro e cálcio. Seu consumo é feito in natura e processado na forma de sucos, geleias, sorvetes, xaropes, licores, entre outros produtos <sup>(7)</sup>. A adição da semente de chia em bebidas lácteas é uma alternativa de incremento nutricional em função do seu teor de proteínas e ácidos graxos poliinsaturados que atuam promovendo benefícios para indivíduos que sofrem de doenças cardiovasculares, diabetes e distúrbios da resposta imune <sup>(8,9)</sup>.

Com base nesse contexto, esta pesquisa foi conduzida visando desenvolver uma bebida láctea fermentada, acrescida de semente de chia (*Salvia hispanica* L.) e saborizada com xarope de acerola (*Malpighia emarginata*) e avaliar suas características físico-químicas, microbiológicas e sensorial.

## Material e métodos

As bebidas lácteas fermentadas foram formuladas no Laboratório do Setor de Laticínios, do Núcleo de Estudos, Pesquisa e Processamento de Alimentos (NUEPPA) da Universidade Federal do Piauí (UFPI). O experimento foi dividido em 2 etapas, sendo a primeira etapa caracterizada para a definição das melhores formulações, com base nas análises físico-químicas das bebidas lácteas desenvolvidas. Na segunda etapa, as formulações otimizadas foram caracterizadas com base nas análises centesimais, ácido ascórbico,  $\beta$ -caroteno, microbiológicas, viabilidade de bactérias probióticas e sensorial.

Para elaboração das bebidas lácteas fermentadas, foram utilizados 1500mL de soro de leite doce proveniente da fabricação de queijo coalho cedido por uma indústria de laticínios em Teresina, Piauí, Brasil. Os demais ingredientes foram adquiridos no comércio local em suas embalagens convencionais: a) polpa congelada de acerola (NutriVita<sup>®</sup>, Porto Alegre/RS, Brasil) envasados individualmente em sacos plásticos (100g) acondicionados em embalagens de 500g; b) semente de chia (Produza Foods<sup>®</sup>) em sachês com 250g; c) leite em pó integral Itambé<sup>®</sup> em sachês com 200g; d) leite pasteurizado integral Longá<sup>®</sup> em embalagens plásticas de 1000mL e e) açúcar cristal Olho D'água<sup>®</sup> em embalagens plásticas de 1000g. Antes da compra foram observados: integridade da embalagem e prazo de validade. Para fermentação da bebida foi utilizada, de acordo com as recomendações do fabricante, a cultura mista liofilizada DVS ABT-4 (Chr Hansen<sup>®</sup>) de uso direto, contendo *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* Bb-12 e *Streptococcus thermophilus*.

### Planejamento experimental

As formulações partiram de um valor mínimo de base láctea (51% do total de ingredientes) que a legislação determina para que a bebida se enquadre como bebida láctea (BRASIL, 2005a), e uma quantidade mínima de polpa de acerola, para que a bebida apresentasse um teor de ácido ascórbico a suprir o índice de ingestão diária recomendado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária através da portaria Nº 33, 1998 <sup>(10)</sup>, em 60 mg/100g (Adultos). Após avaliação preliminar, o delineamento experimental foi constituído de 8 ensaios (E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7 e E8), considerando as variáveis: base láctea (X1), xarope (X2) e semente de chia (X3), cujas proporções estão apresentadas na tabela 1, assim como as formulações obtidas. A base láctea (X1) foi composta por 70% de leite pasteurizado integral, 30% de soro de leite e de 3% de leite integral em pó. O xarope (X2) foi composto por 80% de polpa de acerola e 20% de açúcar cristal. A chia (X3) foi composto por 100% das sementes.

**Tabela 1.** Planejamento experimental para bebida láctea fermentada adicionada de sementes de chia (*Salvia hispanica* L.) e xarope de acerola (*Malpighia emarginata*)

Ensaio	Base láctea * (X1)		Xarope ** (X2)		Chia (X3)	
	g	%	g	%	g	%
E1	700	70	290	29	10	1
E2	700	70	280	28	20	2
E3	650	65	340	34	10	1
E4	650	65	330	33	20	2
E5	600	60	390	39	10	1
E6	600	60	380	38	20	2
E7	550	55	440	44	10	1
E8	550	55	430	43	20	2

\*Base láctea (X1) composta por 70% de leite pasteurizado integral, 30% de soro de leite e de 3,0% de leite integral em pó. \*\*Xarope (X) composto por 80% de polpa de acerola e 20% de açúcar cristal.

#### Processamento da bebida láctea fermentada

Inicialmente foi formulada a base láctea, a partir da mistura de leite pasteurizado integral, soro de leite e leite em pó integral. O soro de leite foi submetido a uma pasteurização lenta, sob agitação constante até atingir a temperatura entre 63 a 65°C, permanecendo por 30 minutos sob essa condição. Ao mesmo tempo, dissolveu-se o leite em pó no leite pasteurizado integral, e procedeu-se o aquecimento até atingir a temperatura de 50°C. Após esses procedimentos, misturou-se as duas partes, e procedeu-se o resfriamento até a temperatura de inoculação (42°C - 45°C). Em seguida, foi adicionada a cultura mista liofilizada DVS ABT-4 (Chr Hansen®) de uso direto, contendo *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* Bb-12 e *Streptococcus thermophilus*. A fermentação foi conduzida em estufa a 42°C e finalizada após o atingir a média de pH 4,5, aproximadamente quatro horas após o início do processo. Finalizada essa etapa, o produto foi resfriado em temperatura de refrigeração de aproximadamente de 10°C. Após o resfriamento, procedeu-se o rompimento do coágulo.

Após a produção da base láctea foi formulado o xarope de acerola homogeneizando a polpa de acerola com açúcar cristal. Em seguida, a mistura foi fervida, sob agitação constante, por aproximadamente 30 minutos, para a evaporação da água residual da polpa de acerola. Após resfriamento do xarope de acerola em temperatura ambiente, procedeu-se a mistura da base láctea, xarope e

semente de chia, para preparo das formulações conforme planejamento experimental (Tabela 1).

As formulações de bebida láctea fermentada foram homogeneizadas, armazenadas em potes de vidro com tampa metálica de capacidade para 1.200 mL, previamente identificados, higienizados com solução clorada (100ppm/20 minutos) e submetidos a irradiação de lâmpada UV por 20 minutos. O conteúdo de cada pote de vidro foi fracionado para frascos plásticos com capacidade de 250 mL, previamente identificados. Na sequência, os frascos de cada tratamento foram separados para realização das análises em tempo de análise imediata (controle), 7, 14 e 21 dias de armazenamento, sob refrigeração a  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ .

#### Análises físico-químicas dos ingredientes e das formulações de bebidas lácteas

A base láctea (leite pasteurizado integral, soro de leite e leite integral em pó), sementes de chia e xarope (polpa de acerola e açúcar) foram submetidas às análises de umidade (%), proteínas (%), lipídeos (%), cinzas (%), e carboidratos. O soro de leite, sementes de chia, polpa de acerola, açúcar e o xarope foram submetidas às análises de quantificação de acidez titulável (% ácido láctico), análise de pH, leituras de sólidos solúveis totais (°Brix) e atividade de água. As amostras de bebidas lácteas fermentadas foram submetidas às análises de acidez titulável, pH, sólidos solúveis totais, atividade de água e sinérese, onde todos os parâmetros foram avaliados em triplicata <sup>(11)</sup>.

As formulações otimizadas (E4 e E8), apresentaram os melhores valores de pH (médias de 4,01 e 3,91, respectivamente) e dessa maneira foram escolhidas para dar continuidade ao estudo, sendo caracterizadas com base na análise centesimal (umidade, cinzas, proteínas, lipídios, carboidratos, valor calórico), ácido ascórbico,  $\beta$ -caroteno, microbiológicas, viabilidade de bactérias probióticas e análise sensorial.

Para análise de umidade foi utilizado o medidor de umidade (OHAUS®, Parsippany, New Jersey, USA), seguindo as orientações do fabricante. Na análise de cinzas, a amostra foi incinerada em mufla a 550 °C, durante 5 horas <sup>(11)</sup>. A análise de proteínas foi realizada pelo método de Kjeldahl, com o processo de digestão, destilação e titulação das amostras. O resultado obtido após a titulação foi calculado em fórmula para obtenção do valor de nitrogênio total <sup>(12)</sup>. Determinou-se o teor de lipídios pelo método de Gerber <sup>(11)</sup>. O conteúdo de carboidratos foi determinado como a diferença entre 100 e a soma do conteúdo de proteínas, gorduras, umidade e cinzas. O valor energético foi calculado considerando carboidratos e proteínas com 4 kcal/g e lipídeos com 9 kcal/g <sup>(13)</sup>.

A análise de atividade de água foi feita com o

aparelho previamente calibrado, conforme determinações do fabricante (PawKit Decagon®, São Paulo/ SP, Brasil). Na análise de pH, pesou-se 10g da amostra em um béquer de 100mL, diluído em 100mL de água destilada e realizado a medição utilizando um aparelho de bancada, modelo K39-2014B, da marca Kasvi®, previamente calibrado. As leituras de sólidos solúveis totais (°Brix) foram feitas por refratometria, utilizando o refratômetro de Abbé da marca Biobrix®, escala de 0% a 95% corrigido para 20°C, conforme determinações do fabricante. A acidez titulável foi determinada utilizando solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1 mol/L (fator de correção=1) e fenolftaleína a 1% como solução indicadora, expressa em g de ácido láctico/100g<sup>(11)</sup>.

O percentual de sinérese foi calculado pela massa do soro de leite separada da rede de gel, durante a centrifugação, dividido pela massa de bebida láctea, multiplicado por 100<sup>(14)</sup>. Foi realizada a análise de ácido ascórbico durante 21 dias de estocagem através do método titulométrico, até a viragem para coloração rósea, obtendo-se o teor de ácido ascórbico em miligramas a partir do volume gasto na titulação<sup>(15)</sup>.

Para a análise de  $\beta$ -caroteno, a bebida láctea fermentada foi liofilizada por 48h em liofilizador (LIOTOP®, L101, São Paulo, Brasil). Os solventes e reagentes empregados para quantificação dos carotenoides foram padrão de  $\beta$ -caroteno e acetona. A concentração total de carotenoides foi determinada espectrofotometricamente como descrito por<sup>(16,17)</sup>, com adaptações. As análises foram realizadas em duplicata e sob luz fraca.

#### Análises microbiológicas

Foram realizadas análises microbiológicas de *Salmonella* spp. e número mais prováveis (NMP/g) de Coliformes termotolerantes, segundo os padrões recomendados<sup>(18)</sup>. Inicialmente pesou-se de 25g da amostra e diluição em 225mL de água peptonada (Ion®) a 0,1%, formando a diluição inicial ( $10^{-1}$ ). A partir desta, foram preparadas diluições decimais seriadas até  $10^{-3}$ . Para pesquisa de *Salmonella* spp., as amostras nos frascos contendo água peptonada foram incubadas a 37°C por 24 horas, para pré-enriquecimento. Para pesquisa de Coliformes termotolerantes, inoculou-se 1,0 mL da amostra nas três séries de três tubos contendo Caldo Lauril Sulfato de Sódio (Tmmedia®, Delhi, República da Índia)<sup>(13)</sup>.

#### Viabilidade probiótica

Para contagem de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* foi utilizado Ágar MRS (Kasvi®, São José do Pinhais/PR, Brasil) com modificações por adição de solução de maltose (Dinâmica®, São Paulo/SP, Brasil) e compostos

inibitórios de cloreto de lítio (Dinâmica® São Paulo/SP, Brasil) e propionato de sódio (Sigma®, Missouri, USA). O procedimento foi iniciado com a pesagem de 25g da amostra e diluição em 225mL de água peptonada (Ion®) a 0,1%, formando diluição inicial ( $10^{-1}$ ). A partir desta, foram preparadas diluições decimais seriadas até  $10^{-6}$ . Para as análises, foram utilizadas as diluições a partir da  $10^{-4}$  até  $10^{-6}$ .

Para a contagem de *L. acidophilus*, o MRS (Kasvi®) foi esterilizado a 121°C por 15 minutos, e após isso, modificado com adição de solução de maltose. A solução de maltose (Dinâmica®), foi preparada usando 25g de maltose dissolvidos em 50mL de água destilada, e esterilizada em filtro de membrana de 25 $\mu$ m. 4mL da solução foram adicionados em 100ml de ágar base à temperatura de aproximadamente 50°C. A mistura foi cuidadosamente homogeneizada, para evitar incorporação de ar<sup>(19)</sup>.

Para a quantificação de *B. animalis* o MRS (Kasvi®) foi usado como meio base e acrescido de compostos inibitórios, sendo 0,002g/mL de cloreto de lítio (Dinâmica®) e 0,003 g/mL de propionato de sódio (Sigma®)<sup>(20)</sup>. Para ambos os microrganismos, as placas foram avaliadas em duplicatas com inoculação em profundidade, incubadas em anaerobiose a 37°C por 72 h. As contagens foram expressas em unidades formadoras de colônias por mililitros (UFC/mL em log10).

#### Análise sensorial

Essa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Piauí (UFPI) sob o Parecer Consubstanciado número 2.640.867. Realizou-se o teste de aceitação com uma escala hedônica de nove pontos (variando de 1- “desgostei muitíssimo”, 9- “gostei muitíssimo”), na qual foram avaliados os parâmetros de textura, sabor, aroma e impressão global, e teste de intenção de compra do produto de 5 pontos (variando de 1 - “certamente não compraria” ao 5 - “certamente compraria”)<sup>(11,21)</sup>. Previamente foi solicitado de cada participante a anuência ao estudo, mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), que informou quanto aos objetivos do projeto e metodologia. Para participar do painel sensorial, foram considerados 120 provadores não treinados, integrantes do IFPI, com faixa etária de 18 a 55 anos de idade e de ambos os sexos os quais receberam orientações específicas sobre os testes antes de serem submetidos a eles. Cada provador recebeu as duas formulações da bebida láctea em copos descartáveis, contendo 20 mL, codificadas com números de três dígitos aleatórios e servidas sob condições controladas.

#### Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de

variância (ANOVA) e ao Teste de Tukey para comparação das médias, estabelecendo significância estatística para 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ). Para a análise de ácido ascórbico foi utilizado o teste t-Student ( $p < 0,05$ ). Os cálculos foram realizados com auxílio dos programas Statistica® e Excel® 2010 (Windows).

## Resultados e discussão

### Caracterização dos ingredientes

A caracterização centesimal e físico-química dos ingredientes utilizados nas formulações das bebidas lácteas estão representadas na tabela 2.

**Tabela 2.** Caracterização centesimal e físico-química dos ingredientes utilizados nas formulações das bebidas lácteas

Parâmetros	Ingredientes					
	Xarope*	Chia	Base láctea**	Polpa de acerola	Açúcar	Soro de leite
Umidade (%)	63,11	6,62	85,62	-	-	-
Lipídios (%)	0,27	25,49	2,27	-	-	-
Proteína (%)	0,54	19,71	3,13	-	-	-
Cinzas (%)	0,25	10,07	0,06	-	-	-
Carboidrato (%)	35,83	38,11	8,92	-	-	-
Valor energético (Kcal)	147,91	460,69	68,63	-	-	-
Acidez	-	-	-	-	-	0,12
pH	3,76	6,87	-	3,67	7,73	6,5
°Brix	44,1	2,2	-	6,3	-	6,4
Aw	0,83	0,61	-	0,75	0,45	0,99

\* Xarope preparado com a polpa de acerola e açúcar. \*\* Base láctea composta por leite pasteurizado integral, soro de leite e leite integral em pó. - Não realizado.

O teor de umidade observado no xarope pode ser explicado pela água presente na polpa de acerola. Os valores de cinzas e carboidratos, pode ter sido influenciado pela adição de açúcar na polpa de acerola, dada a quantidade de sólidos adicionado no produto. A chia apresentou os maiores valores de lipídios, proteínas, cinzas, carboidratos e valor energético dentre os ingredientes analisados. O teor lipídico apresentado pela chia de 25,49%. A porção proteica da semente também apresentou valor significativo, 19,71%, sendo superior a outros alimentos tradicionais como o trigo, arroz, milho e cevada<sup>(22)</sup>, consequentemente o teor de cinza também apresentou valor elevado, 10,07%. A alta concentração de cinzas fornece um indicativo da sua importância como fonte de minerais.

A base láctea apresentou teor de umidade de 85,62%, devido a presença do leite pasteurizado integral e soro de leite. A umidade de um alimento está relacionada com sua estabilidade, qualidade, composição e vida útil<sup>(23)</sup>. A polpa apresentou 6,3 °Brix e pH 3,67, atendendo aos valores estabelecidos pela legislação<sup>(24)</sup>. O soro de leite apresentou valores dentro do Padrão de Identidade e Qualidade do Soro do Leite,

que determina valor de pH entre 6,0 e 6,8; acidez titulável em ácido láctico (g/100g) de no mínimo 0,08 a 0,14; teor de sólidos totais (g/100mL) de no mínimo 5,0<sup>(25)</sup>. A composição do soro varia devido a diversos fatores, como o tipo de queijo produzido, tratamento térmico recebido, manipulação, entre outros.

### Caracterização das bebidas lácteas fermentadas

A tabela 3 apresenta os valores médios de acidez, pH, °Brix, Atividade de água e sinérese obtidos nas formulações de bebidas lácteas fermentadas.

Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ), nos valores de acidez tanto entre as formulações, como entre o tempo de armazenamento, ou seja, a acidez tendeu a uma estabilização. Tal resultado pode ser interpretado pela não interferência do soro de leite na atividade das culturas lácticas. A acidez das formulações variou de 1,0 a 1,3 g de ácido láctico/100g, atendendo ao estabelecido pela legislação, que indica 0,6 a 2,0 g de ácido láctico/100g<sup>(26)</sup>.

Analisando os resultados do pH das bebidas lácteas fermentadas, pode-se afirmar que não houve interação significativa entre a quantidade de base láctea, xarope e semente de chia dentro dos tratamentos e entre os tempos de estocagem. A utilização de diferentes concentrações de base láctea influenciou o tempo de fermentação, e o final do processo fermentativo foi determinado quando as bebidas lácteas atingiram a faixa de pH entre 3,86 e 4,02, o que ocorreu após 4 horas de fermentação. A análise de pH das matérias-primas (Tabela 2), apresentou índices médios de: 3,67 para polpa de acerola, em conformidade ao estabelecido pela legislação<sup>(24)</sup>; 6,5 para o soro do leite, estando no intervalo entre 5,3 a 6,6 obtido por<sup>(27)</sup>; 7,73 para açúcar; e 3,76 para o xarope. Deste modo, a polpa de acerola, pode ter sido o ingrediente que influenciou nos baixos valores de pH obtidos na bebida láctea testada.

Analisando os resultados desta pesquisa, pode-se afirmar que houve diferença significativa no tempo de ensaio dentro E1, entre o dia 0 e o dia 21, com o aumento do teor de sólidos solúveis. Também foi observado interação significativa entre os tratamentos dentre todos os ensaios. Notou-se que no dia 0, houve diferença significativa nos valores de sólidos solúveis totais (°Brix) entre o ensaio E1 e os ensaios E5, E6, E7 e E8. No dia 7, houve diferença significativa nos valores entre o ensaio E7 e os ensaios E1, E2, E3, E4, E5, E6 e E8. No 14° dia houve diferença significativa entre o ensaio E8 e os ensaios E4, E3, E2 e E1, no 21° dia, notou-se diferença significativa entre o ensaio E1 e os ensaios E7 e E8.

**Tabela 3.** Valores médios de acidez (g de ácido láctico/100g), pH, grau Brix, Atividade de água (Aw) e sinérese das amostras de bebidas lácteas fermentadas ao longo de 21 dias de armazenamento.

Formulação	Parâmetro	Tempo (em dias)			
		0	7	15	21
E1	Acidez	1,0 <sup>Aa</sup> ± 0,05	1,1 <sup>Aa</sup> ± 0,05	1,2 <sup>Aa</sup> ± 0,08	1,2 <sup>Aa</sup> ± 0,17
	pH	4,02 <sup>Aa</sup> ± 0,06	4,02 <sup>Aa</sup> ± 0,06	4,03 <sup>Aab</sup> ± 0,01	4,07 <sup>Aab</sup> ± 0,05
	°Brix	15,67 <sup>Aa</sup> ± 0,80	17,00 <sup>ABa</sup> ± 0,43	17,13 <sup>ABa</sup> ± 0,77	17,73 <sup>Ba</sup> ± 0,80
	Aw	0,97 <sup>Aa</sup> ± 0,02	0,98 <sup>Aa</sup> ± 0,01	0,97 <sup>Aa</sup> ± 0,01	0,93 <sup>Aa</sup> ± 0,03
	Sinérese	51,1 <sup>aA</sup> ± 5,39	54,16 <sup>aA</sup> ± 7,34	51,84 <sup>aA</sup> ± 8,99	63,43 <sup>aA</sup> ± 8,75
E2	Acidez	1,0 <sup>Aa</sup> ± 0,02	1,0 <sup>Aa</sup> ± 0,09	1,1 <sup>Aa</sup> ± 0,11	1,2 <sup>Aa</sup> ± 0,24
	pH	4,03 <sup>Aa</sup> ± 0,08	4,05 <sup>Aa</sup> ± 0,05	4,09 <sup>Aa</sup> ± 0,03	4,11 <sup>Aa</sup> ± 0,04
	°Brix	16,87 <sup>Aa</sup> ± 0,77	16,27 <sup>Aa</sup> ± 1,14	17,13 <sup>Aa</sup> ± 0,30	17,27 <sup>Aa</sup> ± 0,66
	Aw	0,96 <sup>Aa</sup> ± 0,04	0,98 <sup>Aa</sup> ± 0,02	0,98 <sup>Aa</sup> ± 0,01	0,94 <sup>Aa</sup> ± 0,02
	Sinérese	51,84 <sup>aA</sup> ± 14,13	50,22 <sup>Aa</sup> ± 6,14	47,78 <sup>aA</sup> ± 5,57	50,00 <sup>aA</sup> ± 9,10
E3	Acidez	1,0 <sup>Aa</sup> ± 0,07	1,1 <sup>Aa</sup> ± 0,09	1,1 <sup>Aa</sup> ± 0,14	1,2 <sup>Aa</sup> ± 0,17
	pH	3,93 <sup>Aab</sup> ± 0,09	3,97 <sup>Aab</sup> ± 0,02	4,00 <sup>Aab</sup> ± 0,08	4,02 <sup>Aab</sup> ± 0,04
	°Brix	17,63 <sup>Aa</sup> ± 0,70	17,73 <sup>Aa</sup> ± 1,20	18,47 <sup>Aa</sup> ± 0,86	18,00 <sup>Aa</sup> ± 0,93
	Aw	0,96 <sup>Aa</sup> ± 0,04	0,98 <sup>Aa</sup> ± 0,01	0,98 <sup>Aa</sup> ± 0,01	0,94 <sup>Aa</sup> ± 0,03
	Sinérese	51,84 <sup>aA</sup> ± 14,13	50,38 <sup>aA</sup> ± 6,13	49,64 <sup>aA</sup> ± 5,72	50,73 <sup>aA</sup> ± 8,96
E4	Acidez	1,0 <sup>Aa</sup> ± 0,08	1,0 <sup>Aa</sup> ± 0,11	1,2 <sup>Aa</sup> ± 0,15	1,2 <sup>Aa</sup> ± 0,14
	pH	3,97 <sup>Aab</sup> ± 0,07	4,00 <sup>Aab</sup> ± 0,08	4,04 <sup>Aab</sup> ± 0,02	4,06 <sup>Aab</sup> ± 0,01
	°Brix	18,03 <sup>Aab</sup> ± 0,77	18,20 <sup>Aa</sup> ± 0,70	18,27 <sup>Aa</sup> ± 0,63	18,13 <sup>Aa</sup> ± 0,96
	Aw	0,96 <sup>Aa</sup> ± 0,05	0,98 <sup>Aa</sup> ± 0	0,99 <sup>Aa</sup> ± 0,01	0,95 <sup>Aa</sup> ± 0,02
	Sinérese	50,02 <sup>aA</sup> ± 13,47	48,16 <sup>aA</sup> ± 7,41	50,05 <sup>aA</sup> ± 7,75	48,13 <sup>aA</sup> ± 4,48
E5	Acidez	1,1 <sup>Aa</sup> ± 0,03	1,1 <sup>Aa</sup> ± 0,05	1,3 <sup>Aa</sup> ± 0,14	1,2 <sup>Aa</sup> ± 0,18
	pH	3,90 <sup>Aab</sup> ± 0,12	3,92 <sup>Aab</sup> ± 0,06	3,94 <sup>Ab</sup> ± 0,03	3,98 <sup>Aab</sup> ± 0,03
	°Brix	19,10 <sup>Ab</sup> ± 1,17	19,73 <sup>Aab</sup> ± 0,83	19,67 <sup>Aab</sup> ± 1,43	18,60 <sup>Aa</sup> ± 0,86
	Aw	0,94 <sup>Aa</sup> ± 0,07	0,98 <sup>Aa</sup> ± 0,01	0,99 <sup>Aa</sup> ± 0,01	0,96 <sup>Aa</sup> ± 0,02
	Sinérese	49,27 <sup>aA</sup> ± 12,82	50,38 <sup>aA</sup> ± 5,57	47,78 <sup>aA</sup> ± 6,21	53,69 <sup>aA</sup> ± 8,46
E6	Acidez	1,1 <sup>Aa</sup> ± 0,04	1,1 <sup>Aa</sup> ± 0,07	1,2 <sup>Aa</sup> ± 0,16	1,2 <sup>Aa</sup> ± 0,16
	pH	3,90 <sup>Aab</sup> ± 0,07	3,95 <sup>Aab</sup> ± 0,06	3,98 <sup>Aab</sup> ± 0,01	3,99 <sup>Aab</sup> ± 0,02
	°Brix	19,33 <sup>Ab</sup> ± 0,50	19,87 <sup>Aab</sup> ± 0,84	19,67 <sup>Aab</sup> ± 1,17	20,00 <sup>Aab</sup> ± 1,27
	Aw	0,95 <sup>Aa</sup> ± 0,07	0,98 <sup>Aa</sup> ± 0	0,97 <sup>Aa</sup> ± 0,02	0,96 <sup>Aa</sup> ± 0,02
	Sinérese	48,89 <sup>aA</sup> ± 13,48	49,64 <sup>aA</sup> ± 4,61	48,87 <sup>aA</sup> ± 14,17	45,93 <sup>aA</sup> ± 4,48
E7	Acidez	1,1 <sup>Aa</sup> ± 0,01	1,1 <sup>Aa</sup> ± 0,07	1,2 <sup>Aa</sup> ± 0,14	1,3 <sup>Aa</sup> ± 0,21
	pH	3,86 <sup>Ab</sup> ± 0,08	3,86 <sup>Ab</sup> ± 0,06	3,90 <sup>Ab</sup> ± 0,04	3,94 <sup>Ab</sup> ± 0,03
	°Brix	19,63 <sup>Ab</sup> ± 0,77	21,40 <sup>Ab</sup> ± 0,84	20,80 <sup>Aab</sup> ± 1,30	21,07 <sup>Ab</sup> ± 1,36
	Aw	0,94 <sup>Aa</sup> ± 0,07	0,98 <sup>Aa</sup> ± 0,01	0,98 <sup>Aa</sup> ± 0,01	0,96 <sup>Aa</sup> ± 0,02
	Sinérese	51,84 <sup>aA</sup> ± 14,12	47,78 <sup>aA</sup> ± 9,62	51,75 <sup>aA</sup> ± 14,36	52,58 <sup>aA</sup> ± 10,30
E8	Acidez	1,1 <sup>Aa</sup> ± 0,06	1,2 <sup>Aa</sup> ± 0,09	1,2 <sup>Aa</sup> ± 0,14	1,2 <sup>Aa</sup> ± 0,20
	pH	3,87 <sup>Ab</sup> ± 0,08	3,89 <sup>Ab</sup> ± 0,06	3,92 <sup>Ab</sup> ± 0,03	3,97 <sup>Aab</sup> ± 0,04
	°Brix	20,40 <sup>Ab</sup> ± 0,87	20,20 <sup>Aab</sup> ± 0,66	21,20 <sup>Ab</sup> ± 0,90	21,60 <sup>Ab</sup> ± 1,37
	Aw	0,95 <sup>Aa</sup> ± 0,07	0,98 <sup>Aa</sup> ± 0,01	0,98 <sup>Aa</sup> ± 0,01	0,96 <sup>Aa</sup> ± 0,02
	Sinérese	49,62 <sup>aA</sup> ± 12,21	44,87 <sup>aA</sup> ± 5,29	44,45 <sup>aA</sup> ± 6,94	45,56 <sup>aA</sup> ± 5,09

\*Teste de Tukey, com 5% de probabilidade (P>0,05). X1: Base láctea; X2: xarope; X3: sementes de chia. Nota: Letras maiúsculas diferentes refletem diferenças significativas entre tempos de armazenamento, para a mesma formulação. Letras minúsculas diferentes refletem diferenças significativas entre formulações, para o mesmo tempo de armazenamento.

Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ), nos valores de acidez tanto entre as formulações, como entre o tempo de armazenamento, ou seja, a acidez tendeu a uma estabilização. Tal resultado pode ser interpretado pela não interferência do soro de leite na atividade das culturas lácticas. A acidez das formulações variou de 1,0 a 1,3 g de ácido láctico/100g, atendendo ao estabelecido pela legislação, que indica 0,6 a 2,0 g de ácido láctico/100g <sup>(26)</sup>.

Analisando os resultados do pH das bebidas lácteas fermentadas, pode-se afirmar que não houve interação significativa entre a quantidade de base láctea, xarope e semente de chia dentro dos tratamentos e entre os tempos de estocagem. A utilização de diferentes concentrações de base láctea influenciou o tempo de fermentação, e o final do processo fermentativo foi determinado quando as bebidas lácteas atingiram a faixa de pH entre 3,86 e 4,02, o que ocorreu após 4 horas de fermentação. A análise de pH das matérias-primas (Tabela 2), apresentou índices médios de: 3,67 para polpa de acerola, em conformidade ao estabelecido pela legislação <sup>(24)</sup>; 6,5 para o soro de leite, estando no intervalo entre 5,3 a 6,6 obtido por <sup>(27)</sup>; 7,73 para açúcar; e 3,76 para o xarope. Deste modo, a polpa de acerola, pode ter sido o ingrediente que influenciou nos baixos valores de pH obtidos na bebida láctea testada.

Analisando os resultados desta pesquisa, pode-se afirmar que houve diferença significativa no tempo de ensaio dentro E1, entre o dia 0 e o dia 21, com o aumento do teor de sólidos solúveis. Também foi observado interação significativa entre os tratamentos dentre todos os ensaios. Notou-se que no dia 0, houve diferença significativa nos valores de sólidos solúveis totais (°Brix) entre o ensaio E1 e os ensaios E5, E6, E7 e E8. No dia 7, houve diferença significativa nos valores entre o ensaio E7 e os ensaios E1, E2, E3, E4,

E5, E6 e E8. No 14° dia houve diferença significativa entre o ensaio E8 e os ensaios E4, E3, E2 e E1, no 21° dia, notou-se diferença significativa entre o ensaio E1 e os ensaios E7 e E8.

As variações dos ensaios E5, E6, E7 e E8 em relação aos demais, pode ser explicado pelos seus maiores valores de sólidos solúveis totais por conterem maiores concentrações de xarope (Tabela 1), o que pode ter causado o aumento do valor de °Brix. Neste experimento, a atividade de água foi semelhante ( $P < 0,05$ ) em todos os tratamentos utilizados, obtendo-se valores constante durante os 21 dias de estocagem sob refrigeração.

Em média, na atividade de água, para que haja ação metabólica da maioria dos micro-organismos é na faixa de 0,90–0,99, mostrando assim que o produto elaborado tem alta atividade de água e favorável ao desenvolvimento microbiano a longo prazo <sup>(28)</sup>. Nesta pesquisa, a sinérese foi semelhante ( $P < 0,05$ ) em todos os tratamentos utilizados, obtendo-se valores constante durante os 21 dias de estocagem sob refrigeração. Os valores de sinérese demonstrados podem ser explicados pelo percentual da base láctea, que apresentou 85,62% de umidade; por não ter sido utilizado espessante, para aumento da consistência e viscosidade da bebida e pelos baixos valores de pH encontrados nas formulações.

#### Caracterização das formulações otimizadas

A Tabela 4 mostra os resultados obtidos nas análises microbiológicas, e de viabilidade do *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp. das formulações de bebidas lácteas fermentadas e armazenadas durante 21 dias de estocagem.

**Tabela 4.** Pesquisa de Coliformes termotolerantes e *Salmonella* spp.; viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp. nas formulações de bebida láctea fermentada durante 21 dias e estocadas em refrigeração (4,0°C)

Microrganismo	Tratamentos	Tempo (Dias)			
		0	7	14	21
Coliformes termotolerantes (NMP/g)	E4	< 3	< 3	< 3	< 3
	E8	< 3	< 3	< 3	< 3
<i>Salmonella</i> spp.	E4	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
	E8	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (UFC/mL)	E4	9,7 x 10 <sup>7</sup>	2,9 x 10 <sup>7</sup>	6,9 x 10 <sup>7</sup>	4,0 x 10 <sup>7</sup>
	E8	8,6 x 10 <sup>7</sup>	1,3 x 10 <sup>7</sup>	7,7 x 10 <sup>7</sup>	1,5 x 10 <sup>7</sup>
<i>Bifidobacterium</i> spp. (UFC/mL)	E4	< 10 est.	< 10 est.	< 10 est.	< 10 est.
	E8	< 10 est.	< 10 est.	< 10 est.	< 10 est.

Legenda: E4=ensaio 4; E8=ensaio 8; NMP/g = número mais provável por grama.

As análises microbiológicas das bebidas elaboradas são preconizadas pela Instrução Normativa N°. 60, de 26 de dezembro de 2019<sup>(18)</sup>. Os resultados da pesquisa de Coliformes termotolerantes e *Salmonella* spp. mostraram que não houve crescimento nas amostras analisadas. Deste modo, a bebida láctea testada está dentro do esperado pelos padrões normativos. Na presente pesquisa não foi observada a viabilidade do *Bifidobacterium* spp. nos tratamentos da bebida láctea fermentada analisada. A viabilidade celular do *L. acidophilus* na bebida mostrou-se eficiente, com resultados variando de  $9,7 \times 10^7$  a  $1,3 \times 10^7$ . Deste modo, as duas diferentes formulações (E4 e E8) podem ser considerada bebida láctea fermentada, pois atenderam aos requisitos descritos na legislação brasileira para bebidas lácteas<sup>(1)</sup>, que preconiza que os micro-organismo específico no produto final e durante todo o prazo de

validade para bebidas lácticas fermentadas devem ser viáveis e estar presentes no produto em quantidades mínimas de  $10^6$  UFC/mL.

#### Análise sensorial

Na análise sensorial, não houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre as formulações quanto aos parâmetros avaliados (Tabela 5). Nas avaliações dos parâmetros cor, sabor, textura e aceitação global, observou-se que todas as formulações apresentaram mediana 7, representando na escala o termo hedônico “gostei regularmente”. Na intenção de compra, todas as formulações apresentaram mediana 4, representando o termo hedônico “Possivelmente compraria”, revelando que o produto teve regular aceitação pelos provedores.

**Tabela 5.** Descrição estatística dos parâmetros avaliados na análise sensorial de bebida láctea fermentada

Parâmetros	E4	E8	Valor de p*	
Cor	Mediana (IIQ)	7 (2)	7 (2)	
	Média (DP)	6,85 (1,38)	6,89 (1,66)	0,494
	Min – Max	3 – 9	1 – 9	
Aroma	Mediana (IIQ)	7 (3)	7 (3)	0,775
	Média (DP)	6,38 (1,94)	6,34 (1,88)	
	Min – Max	1 – 9	1 – 9	
Sabor	Mediana (IIQ)	7 (2)	7 (2)	0,746
	Média (DP)	6,84 (1,78)	6,82 (1,84)	
	Min – Max	2 – 9	2 – 9	
Textura	Mediana (IIQ)	7 (2)	7 (2)	0,582
	Média (DP)	6,58 (1,93)	6,82 (1,84)	
	Min – Max	1 – 9	1 – 9	
Aceitação global	Mediana (IIQ)	7 (2)	7 (2)	0,39
	Média (DP)	6,9 (1,7)	7,01 (1,73)	
	Min – Max	2 – 9	2 – 9	
Intenção de compra	Mediana (IIQ)	4 (1)	4 (2)	0,729
	Média (DP)	3,46 (1,21)	3,55 (1,28)	
	Min – Max	1 – 5	1 – 5	

\*Teste de Kruskal-Walls, com 0,05% de significância. IIQ: Intervalo Interquartilico; DP: Desvio Padrão; Min: Valor mínimo; e Max: Valor máximo. E4=ensaio 4; E8=ensaio 8.

Pode-se afirmar que as formulações trabalhadas apresentaram boa aceitação entre os julgadores, uma vez que cada uma das formulações apresentou índice de aceitação (IA) de 80%, demonstrando que há intenção de compra do produto. Entre os comentários registrados pelos provedores, os mais recorrentes foram sobre o sabor e a textura das amostras. Foram relatados comentários referentes às formulações como sendo “muito boa”, “muito azeda”, “pouco cremosa” e “pouco consistente”. Os comentários sobre o sabor da amostra degustada podem ser explicados pela acidez natural da acerola, e

sobre a textura, como a pouca cremosidade e consistência, embora se tenha utilizado a semente de chia, que poderia ter aumentado a consistência, o uso do soro de leite, que possui maior concentração de água, causou diminuição a consistência do coágulo. Os valores obtidos nas análises centesimais das formulações da bebida láctea fermentada estão apresentados na tabela 6.

Os valores encontrados para o teor de umidade foram semelhantes ( $p < 0,05$ ) nos dois tratamentos analisados. A umidade e a atividade de água elevadas (tabela 3), obtidas nas formulações testadas favorecem a

multiplicação microbiana e deterioração, portanto, essas bebidas devem ser estocadas em refrigeração. A substituição do leite pelo soro na bebida láctea favorece que o teor de umidade seja maior devido à redução de sólidos totais e consequente aumento da quantidade de água na formulação <sup>(29)</sup>. Apesar do uso de 70% de soro de leite para elaborar a base láctea utilizada na preparação

das formulações, a bebida láctea fermentada apresentou médias de umidade mais próximas as do leite do que as do soro. Possivelmente o xarope de acerola e a semente de chia interferiram para que a umidade observada na bebida láctea fermentada pronta fosse menor do que a da base láctea (Tabela 2).

**Tabela 6.** Composição centesimal e valor energético das formulações da bebida láctea fermentada

Parâmetros	Tratamento	
	E4 (70% X1 + 29% X2 + 1% X3)	E8 (70% X1 + 28% X2 + 2% X3)
Umidade (%)	74,21 <sup>a</sup> ± 3,746	74,34 <sup>a</sup> ± 0,453
Cinzas (%)	0,42 <sup>a</sup> ± 0,012	0,55 <sup>b</sup> ± 0,032
Proteína (%)	2,93 <sup>a</sup> ± 0,075	2,99 <sup>a</sup> ± 0,180
Matéria gorda láctea (%)	1,47 <sup>a</sup> ± 0,047	0,93 <sup>b</sup> ± 0,047
Carboidrato (%)	20,97 <sup>a</sup> ± 0,87	21,19 <sup>a</sup> ± 0,97
Valor energético (Kcal)	108,83 <sup>a</sup> ± 0,17	105,09 <sup>a</sup> ± 0,13

\*Teste de *t-Student* (p<0,05). Legenda: E4=ensaio 4; E8=ensaio 8. X1: Base láctea; X2: xarope; X3: sementes de chia. g = grama; % - percentual. Médias seguidas da mesma letra nas linhas não diferem entre si.

Pode-se observar que houve diferença significativa (p<0,05) nas formulações quanto aos teores de cinza. O fato do tratamento E4 apresentar menor percentual de cinzas pode ser explicado por que a formulação apresenta o maior percentual de base láctea, e esse ingrediente possui baixo percentual de cinzas (0,06%). Não foi observado diferença significativa (p<0,05) entre as formulações, quanto ao valor de proteína. Todas as formulações apresentaram teores de proteína de origem láctea superiores ao mínimo recomendado pela legislação, que estabelece o mínimo de 1g/100g de teor de proteínas de origem láctea em bebida láctea fermentada com adição <sup>(1)</sup>. Os valores encontrados nesta pesquisa podem ser explicados pelo valor de proteína encontrado na base láctea (tabela 2).

Nesta pesquisa, a adição da semente de chia nas formulações testadas não causou aumento considerável dos valores de proteínas na bebida láctea, mesmo a semente apresentando considerável valor proteico (tabela 2). Houve diferença estatística significativa (p<0,05) entre as formulações E4 e E8, para valores de matéria gorda láctea. A possível explicação para que a formulação E4 apresente maior valor de matéria gorda láctea, pode ser pelo fato dessa formulação apresentar o maior percentual de base láctea, e esse ingrediente possui maior percentual de gordura que o xarope (tabela 2).

A chia utilizada neste experimento apresentou um teor de lipídeos de 25,49% (tabela 2). A adição de semente de chia não influenciou no aumento do teor da matéria gorda da bebida testada. A semente de chia é rica em ômega 3, correspondendo a um total de 60,35 a

64,35% do total de ácidos graxos. Não foram encontradas diferenças significativas (p<0,05) entre os valores de carboidratos. Segundo <sup>(30)</sup>, quanto maior o teor de soro de leite, rico em lactose, açúcar e frutooligossacarídeos, maior o teor de carboidratos. O percentual de soro de leite (70%), utilizado no preparo da base láctea, e o de xarope pode explicar os valores de carboidratos encontrados nas formulações testadas nesta pesquisa.

Não foram encontradas diferenças significativas (p<0,05) entre os resultados encontrados para o valor energético. O aumento no valor energético de um produto pode ocorrer devido a adição do soro de leite e da quantidade de açúcar adicionadas durante a preparação do produto <sup>(31)</sup>. Analisando os valores de percentual de soro de leite e de xarope utilizados na formulação dessa bebida, pode-se explicar os valores energéticos encontrados nesta pesquisa. Os resultados da análise de ácido ascórbico do produto estão descritos na tabela 7.

Foram encontradas diferenças significativas (p<0,05) entre os tratamentos e em todos os tempos de análise. O tratamento E8 apresentou maiores teores de ácido ascórbico, e isso pode ser explicado pelo fato desse tratamento apresentar maior percentual do xarope contendo polpa de acerola. Já a análise estatística feita entre os tempos de análise, mostrou que existe diferença significativa (p<0,05) entre os tempos 0, 7, 14 e 21 no tratamento E4, e entre os tempos 0, 7 e 14 no tratamento E8. Não houve diferença significativa entre os tempos 14 e 21 no tratamento E8.

O valor mínimo padronizado para polpa de acerola pela legislação é de 800 (mg/100g) de ácido ascórbico <sup>(24)</sup>. A ingestão diária recomendada pela legislação é de 45 mg para crianças de 4 a 10 anos, e 60 mg para adultos <sup>(32)</sup>. Partindo desse ponto, pode-se afirmar que os valores de

ácido ascórbico encontrado nas formulações desenvolvidas são significativos nutricionalmente, e suficientes para beneficiar a saúde do consumidor. Os resultados da análise de  $\beta$ -caroteno do produto estão descritos nas tabelas 8.

**Tabela 7.** Ácido ascórbico (mg/100g) das bebidas lácteas fermentadas durante 21 dias de estocagem em refrigeração (4,0°C)

Variável	Tratamento	Tempo (Dias)				Média	CV%
		0	7	14	21		
Ácido ascórbico	E4	372,9 <sup>aA</sup> ±5,5	345,7 <sup>Ab</sup> ±8,0	241,8 <sup>aC</sup> ±6,3	222,2 <sup>ad</sup> ±2,8	295,6	41,10%
	E8	418,1 <sup>bA</sup> ±0,3	366,8 <sup>bb</sup> ±7,4	318,6 <sup>bC</sup> ±14,4	308,1 <sup>bc</sup> ±3,8	352,9	
Média		395,5	356,32	280,24	265,17		

\*Teste de *t-Student* ( $p < 0,05$ ). Legenda: E4=ensaio 4; E8=ensaio 8. Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna, para o mesmo tempo, diferem entre si. Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha, para o mesmo tratamento, diferem entre si.

**Tabela 8.**  $\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g/g}$ ) das bebidas lácteas fermentadas

Variável	Ensaio	
	E4 (70% X1 + 29% X2 + 1% X3)	E8 (70% X1 + 28% X2 + 2% X3)
$\beta$ -caroteno ( $\mu\text{g/g}$ )	12,33 <sup>a</sup> ±0,737	8,19 <sup>b</sup> ±0,214

\*Teste de *t-Student* ( $p < 0,05$ ). Legenda: E4=ensaio 4; E8=ensaio 8. X1: Base láctea; X2: xarope; X3: sementes de chia. g = grama.  $\mu\text{g}$  = micrograma. Médias seguidas de letra diferentes nas linhas diferem entre si.

Foi observado diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os dois ensaios. O ensaio E4 apresenta maior percentual de xarope, e essa diferença entre as formulações pode ter ocasionado a diferença significativa entre os valores de  $\beta$ -caroteno encontrados. Com base nesses dados encontrados, pode-se afirmar que o valor é suficiente e atende as expectativas de que a bebida láctea fermentada é fonte desse composto bioativo, em razão de estar dentro do valor encontrado na fruta *in natura* (4,0 a 25,8  $\mu\text{g/g}$ ), apesar do processamento passado pela polpa de acerola durante a formulação da bebida láctea fermentada.

## Conclusão

As bebidas lácteas fermentadas preparadas com base láctea de soro de leite adicionada de semente de chia e saborizada com xarope de acerola apresentaram estabilidade durante o período de armazenamento, com resultados satisfatórios para parâmetros físico-químicos e microbiológicos. Houve viabilidade celular de *L. acidophilus* e não houve viabilidade de *Bifidobacterium* no período de estocagem de 21 dias. A avaliação sensorial mostrou boa aceitabilidade sensorial e intenção de compra, o produto também mostrou ser fonte de ácido ascórbico e  $\beta$ -caroteno. Com base nisso, as bebidas lácteas formuladas são consideradas uma alternativa

viável e de baixo custo para indústria de alimentos, pois é uma forma para agregar valor ao soro de leite, evitando o seu descarte e poluição do meio ambiente e pelo diferencial da inclusão da semente de chia e polpa de acerola, por serem alimentos ricos em nutrientes e benéficos a saúde.

## Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

## Contribuições do autor

*Conceituação:* J. A. Costa, R. M. Carneiro e M. M. G. P. Nóbrega; *Curadoria de dados:* J. A. Costa, R. M. Carneiro e M. M. G. P. Nóbrega; *Análise formal:* J. A. Costa, R. M. Carneiro e M. M. G. P. Nóbrega; *Metodologia:* J. A. Costa, J. T. O. Santos, R. G. A. Bacelar e D. S. N. Silva; *Redação (esboço original):* J. A. Costa, R. M. Carneiro, J. T. O. Santos, R. G. A. Bacelar e D. S. N. Silva; *Redação (revisão e edição):* J. A. Costa, M. M. G. P. Nóbrega, R. G. A. Bacelar e M. C. S. Muratori; *Supervisão:* M. M. G. P. Nóbrega e M. C. S. Muratori.

## Referências

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n.16, de 23 de agosto de 2005a. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 24 ago.2005a. Seção 1, p.7.

2. Moro MF, Weise AD. Produção mais limpa como alternativa para o gerenciamento de resíduos em laticínios. *Revista Dellos Desarrollo Local Sostenible*. 2016; 9(27): 1-20.
3. Ma Y, Liu J, Shi H, Yu LL. Isolation and characterization of anti-inflammatory peptides derived from whey protein. *Journal of Dairy Science*. 2016; 99(9). Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11186>
4. Wijayanti HB, Bansal N, Deeth HC. Stability of Whey Proteins during Thermal Processing: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2014, 13. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12105>
5. De Paula JCJ, Almeida FA, Pinto MS, Rodrigues TF, Sobral D, Machado GM. Aproveitamento de soro de queijo de coalho na elaboração de bebida láctea fermentada. *Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes*. 2012. 388(67): 25-33. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/2238-6416.20120061>
6. Siqueira AMO, Machado ECL, Stamford TLM. Bebidas lácteas com soro de queijo e frutas. *Ciência Rural*. 2013; 43(9): 1693-1700. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782013000900025>
7. Malegori JC, Grassi S, Marques EJM, Freitas ST, Casiraghi E. Vitamin C distribution in acerola fruit by near infrared-hyperspectral imaging. *Journal of Spectral Imaging*. 2016; 5(1): 1-4. Disponível em: <https://doi.org/10.1255/jsi.2016.a6>
8. Segura-Campos MR., Ciau-Solis N, Rosado-Rubio G, Chel-Guerrero L, Betancur-Ancona D. Chemical and functional properties of chia seed (*Salvia hispanica* L.). *Gum. International Journal of Food Science*, 2014: Article ID 241053. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2014/241053>
9. Alcântara MA, Lima AEA, Braga, ALM, Tonon RV, Galdeano MC, Mattos MC, Brígida AIS, Rosenhaim R, Santos NA, Cordeiro AMTM. Influence of the emulsion homogenization method on the stability of chia oil microencapsulated by spray drying. *Powder Technology*. 2019; 354, 877-885. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2019.06.026>
10. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria Nº 33, de 13 de janeiro de 1998. Adota os valores constantes das seguintes Tabelas do anexo desta portaria, como níveis de IDR para as vitaminas, minerais e proteínas. *Diário Oficial da União*. 16 de janeiro de 1998, Seção I-E, página 5.
11. IAL - Instituto Adolfo Lutz (São Paulo) (Org.). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008; 4: 279-320.
12. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Determinação de Nitrogênio Total em Leite e Derivados Lácteos pelo método de Micro-kjedahl. 2013. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/legislacoes-e-metodos/arquivos-metodos-da-area-poa-iqa/met-poa-11-02-proteinas.pdf>> Acesso 19 mar 2020.
13. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de defesa Agropecuária (DISPOA). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. *Diário Oficial da União*, Brasília-DF, 26 de agosto de 2003, Seção 1, p.14, 2003.
14. Farnsworth JP, Li J, Hendricks GM, Guo MR. Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. *Small Ruminant Research*. 2006; 65(1-2):113-121. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.05.036>
15. AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 16ª ed., Gaithersburg: Published by AOAC International. Washington DC, 2002.
16. Tsiaka T, Zoumpoulakis P, Sinanoglou VJ, Makris C, Heropoulos GA, Calokerinos AC. Response surface methodology toward the optimization of high-energy carotenoid extraction from *Aristeus antennatus* shrimp. *Analytica chimica acta*. 2015; 877: 100-110. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.03.051>
17. Li Y, Tixier ASF, Tomao V, Cravotto G, Chemat F. Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids based on the biorefinery concept using sunflower oil as an alternative solvent. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2013; 20(1):12-18. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.005>
18. BRASIL. Instrução Normativa Nº. 60, de 26 de dezembro de 2019. Lista de Padrões Microbiológicos para Alimentos Prontos para Oferta ao Consumidor. *Diário Oficial da União*. Brasília, 26 de dezembro de 2019, nº. 249, Seção 1, p. 133. 2019.
19. Lima KGC, Kruger MF, Behrens J, Destro MT, Landgraf M, Franco BDGM. Evaluation of culture media for enumeration of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* in the presence of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. *LWT – Food Science and Technology*. 2009; 42(2):491-495. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.08.011>
20. Vinderola CG, Reinheimer JA. Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. *International Dairy Journal*, Barking. 1999; 9(8): 497-505. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00120-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00120-X)
21. Dutcosky SD. Análise sensorial de alimentos. *Revista e Ampliada*. Curitiba: Champagnat, 2013; 4: 531.
22. Ayerza R, Coates W. Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). *Industrial Crops and Products*. 2011; 34(2): 1366-1371. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.12.007>
23. Aldrigue ML, Madruga MS, Fioreze R, Lima AWO, Sousa CP. Aspecto da ciência e tecnologia de alimentos. *João Pessoa*. 2002; 1: 198.
24. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 37, de 1 de outubro de 2018. Estabelece os parâmetros analíticos de suco e de polpa de frutas e a listagem das frutas e demais quesitos complementares aos padrões de identidade e qualidade. *Diário Oficial da União*, Brasília, 8 out. 2018. Seção 1, p.23, 2018.
25. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 80, de 13 de agosto de 2020. Aprova o Regulamento Técnico que fixa os padrões de Identidade e Qualidade para o soro de leite e o soro de leite ácido. *Diário Oficial da União*, Brasília-DF, 13 de agosto de 2020, Seção 1, p.2, 2020.
26. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 46, de 23 de outubro de 2007. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 24 out. 2007. Seção 1, p.4, 2007.
27. Poppi FA, Costa MR, Rensis CMVB, Sivieri K. Soro de Leite e Suas Proteínas: Composição e Atividade Funcional. *Ciênc. Biol. Saúde*. 2010; 12(2): 31-37.
28. Ferreira Neto CJ, Figueirêdo, RMF, Queiroz QJM. Avaliação sensorial e da atividade de água em farinhas de mandioca

temperadas. Ciênc. agrotec. 2005; 29(4): 795-802. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542005000400011>

29. Guedes, AFLM, Machado ECL, Fonseca MC, Andrade SAC, Stamford TLM. Aproveitamento de soro lácteo na formulação de bebidas com frutas e hortaliças. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2013; 65(4): 1231-1238. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000400040>

30. Thamer KG, Penna ALB. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebióticos. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2006; 26(3): 589-595. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000300017>

31. Miranda OC, Fonseca PL, Ponce I, Cedeño C, Rivero LS, Vázquez LM. Elaboración de una bebida fermentada a partir del suero de queso. características distintivas y control de calidad. Rev Cubana Aliment Nutr. 2007; 17(2):103-108.

32. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução de diretoria colegiada – RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Diário Oficial da República Federativa do Brasil nº 184, Brasília, 23 set.2005b.