

ESTUDO COMPARATIVO: USO DE EXTRATO DE QUINOA E AMARANTO PARA PRODUÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA

Carina de Oliveira (Centro Universitário Padre Anchieta)

Isabela Bonaldo Gonçalves (Centro Universitário Padre Anchieta)

Rafaela Aparecida Rodrigues (Centro Universitário Padre Anchieta)

Claudemar José Trevizam (Centro Universitário Padre Anchieta)

RESUMO

Considerada um pseudocereal, a quinoa (*Chenopodium quinoa*) é um grão de alto valor biológico devido suas propriedades nutricionais. É vista como excelente fonte de proteínas, alto teor de lipídios e composição equilibrada de aminoácidos. Outro grão que possui alto valor nutritivo é o *Amaranthus spp.*, que influencia positivamente no organismo, uma vez que promove alterações benéficas na absorção de micronutrientes. O propósito deste trabalho é a obtenção de uma bebida fermentada a base de quinoa e amaranto composto por cepas de *Streptococcus salivarius subsp. termophilus* e *Lactobacillus delberuckii subsp. Bulgaricus*, estabelecendo um comparativo com a análise de pH e acidez titulável com outros trabalhos, para a obtenção de uma bebida fermentada a base de quinoa. Para obtenção do produto, os grãos foram preparados para fermentação por métodos de trituração, filtração e temperatura. Para fermentação utilizou-se a cultura Biolact Y04. Ao final da preparação, iniciou-se as análises de pH, acidez titulável e viabilidade de Lactobacilos a fim de determinar a eficiência e qualidade da fermentação e do produto obtido. Ao término das análises, observou-se que os resultados atenderam as especificações e a existência de um produto de fabricação e características que se assemelham às bebidas fermentadas disponíveis no mercado, além de agregar valor nutricional e apresentar uma alternativa viável a pessoas com restrições alimentares.

Palavras-chave: Quinoa; Fonte de proteínas; Amaranto; Bebida fermentada.

ABSTRACT

Considered a pseudocereal, a quinoa (*Chenopodium quinoa*) is a grain of high biological value due to its nutritional properties. It is an excellent source of protein, high lipid content and balanced amino acid composition. Another grain that has high nutritional value is *Amaranthus spp.*, Which positively influences the body as it promotes beneficial changes in micronutrient absorption. The aim of this work is to use a quinoa and amaranth fermented beverage composed of *Streptococcus salivarius subsp. termophilus* and *Lactobacillus delberuckii subsp. Bulgaricus* established a comparison with a titratable pH and acidity analysis with other works to use a quinoa-based fermented beverage. To obtain the products, the beans were prepared for fermentation by grinding, filtering and temperature methods. For fermentation the Biolact Y04 culture was used. At the end of the preparation, was initiated the pH analysis, titratable acidity and viability of Lactobacilli, in order to determine the efficiency and quality of fermentation and product used. At the end of the analysis, the results are accepted as specifications and display of a manufactured product and features that resemble

commercially available fermented beverages, in addition to adding nutritional value and displaying a viable alternative for people with misuse.

Keywords: *Quinoa; Protein source; Amaranth; Fermented drink.*

1. INTRODUÇÃO

Cada vez mais a indústria alimentícia tem papel preponderante na dieta e estilo de vida da população, uma vez que os indivíduos exigem produtos que promovam a saúde e o bem-estar. Desta maneira, torna-se um desafio desenvolver novos produtos alimentícios que atendam a demanda dos consumidores e simultaneamente, sejam saudáveis e atrativos.

Interessados pela oportunidade de optar por alimentos dotados de benefícios à saúde, os consumidores visam por produtos funcionais em substituição aos tradicionais.

Segundo a European Commission Concerted Action on Functional Food Science in Europe (1999, p.81), alimentos funcionais são “alimentos para os quais pode ser satisfatoriamente demonstrado que eles afetam benéficamente uma ou mais funções do organismo, além de garantirem efeitos nutricionais adequados, conduzindo a uma melhoria do estado geral de saúde e bem estar e/ou a uma redução do risco de doenças”. Esses alimentos são capazes de proporcionar saúde por meio de mecanismos aos quais não são presumidos na nutrição convencional.

Diante do interesse em desenvolver alimentos funcionais, surge os recentes avanços em priorizar as pesquisas nas áreas de probióticos, prebióticos e simbióticos.

Há inúmeras definições que descrevem os probióticos. Logo, a definição aceita declara que são microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios ao hospedeiro (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS, WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001; SANDERS, 2003). Podem-se levar em consideração as bactérias lácticas, particularmente os lactobacilos, como os probióticos mais estudados e utilizados como ingredientes funcionais.

Já os prebióticos, são definidos como ingredientes fermentáveis que admitem alterações específicas na estrutura e/ou atividade da microbiota gastrointestinal que acarretam vantagens à saúde e bem-estar do hospedeiro. Dentre os prebióticos mais empregados na indústria alimentícia, a inulina e os frutooligossacarídeos (FOS) são os mais estudados.

Os leites fermentados são considerados os principais veículos alimentícios de culturas probióticas e prebióticas em âmbito mundial, dessa forma têm-se estudado e desenvolvidos métodos que substituam o leite fermentado por grãos de alto valor nutritivo, removendo seu

extrato aquoso para produção de leite vegetal e conseqüentemente, a obtenção de novos produtos.

Caracterizados como pseudocereais, a quinoa e o amaranto são considerados alimentos completos, devido seu equilíbrio de nutrientes e composição. Pelo fato da ausência de glúten, são excelentes fontes proteicas para intolerantes ao leite de vaca, além de não possuírem grandes quantidades de gorduras saturadas e colesterol.

A quinoa é um pseudocereal que atraiu a atenção das pessoas muita pela sua utilidade como suplemento na alimentação, já que as suas sementes contêm 12% de proteína, com equilíbrio de aminoácidos (KONISHI et al., 2004). Apresenta fonte de minerais e vitaminas do complexo B (riboflavina), quando comparada com aveia, arroz e milho (KOZIOL, 1992). Esse grão pode ser inserido em pães, massas, saladas e tortas, uma vez que as agroindústrias processam os grãos em flocos e farinha.

O amaranto, por sua vez é atualmente definido como “um alimento rico em proteínas de alto valor biológico (14 a 20%), quando comparado com outros cereais. A sua qualidade proteica é comparada com a da caseína do leite, uma vez que apresenta um notável valor de aminoácidos essenciais” (COELHO, 2006).

Juntamente com a quinoa, o amaranto apresenta em sua composição, um baixo teor de gliadina, uma prolamina formadora do glúten; portanto, é uma ótima opção para portadores da doença celíaca (AWAYA-FARFAN, 2005).

Segundo Spehar (2003), diversos produtos podem ser fabricados com o amaranto, tais como: farinhas, biscoitos, cereais matinais, barras de cereais, sendo também um complemento alimentar destinado a dietas especiais para celíacos, indivíduos com colesterol alto e vegetarianos. Pode, ainda, ser utilizado como fortificante de outros cereais.

Portanto, as principais propriedades funcionais e de saúde do amaranto relacionam-se à redução do LDL- colesterol, o que diminui o risco de doenças cardiovasculares. Esse pseudocereal apresenta, ainda, atividade anticancerígena, antienvhecimento, em prol de sua ação antioxidante, além de amenizar quadros de ansiedade, TPM e depressão, função esta que se relaciona à presença do triptofano, aminoácido precursor da serotonina (COSTA, 2009).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A elaboração de extratos hidrossolúveis vegetais representa uma alternativa para serem utilizados como “substitutos lácteos” devido ao seu valor nutricional, principalmente no que se refere ao teor de proteínas, bem como ao seu baixo custo de produção (BOÊNHO, 2014). Diversos são os benefícios relacionados com o consumo habitual de alimentos funcionais, entre eles estão o auxílio no funcionamento do intestino, ação antioxidante, manutenção de níveis saudáveis de triacilgliceróis, contribuição para o equilíbrio da flora intestinal, redução da absorção de gordura e colesterol (BRASIL, 2008).

Com a crescente demanda por produtos veganos e que possam ser consumidos por pessoas com intolerância láctea, é cada vez mais presente às alternativas vindas de plantas para diversas áreas da indústria alimentícia. Nos países desenvolvidos é crescente a popularidade dos alimentos funcionais contendo probióticos e isto se deve aos avanços nas pesquisas em desenvolvimento de novos produtos, que resultaram na incorporação de probióticos não só em produtos lácteos, mas também em bebidas, e até mesmo em cereais e chocolates (KASHI, 2014; MATTILASANDHOLM, 2002, apud CARDOSO et.al., 2015). Dentre eles destacam-se os que possuem culturas probióticas, ingredientes prebióticos ou a combinação de ambos, denominados de simbióticos (HOLZAPFEL; SCHILLINGER, 2002).

Probióticos são definidos como microrganismos vivos que, administrados regularmente e em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (WHO/ FAO, 2001; SANDERS; KLAENHAMMER, 2001). Os prebióticos são ingredientes seletivamente fermentáveis que permitem mudanças específicas, tanto na composição quanto na atividade da microbiota gastrintestinal, conferindo benefícios e bem-estar à saúde do hospedeiro (ROBERFROID, 2007). Neste caso, hospedeiro é a pessoa que ingere os prebióticos.

Alguns vegetais apresentam alto valor nutritivo, ausência de lactose, e propriedades funcionais, como é o caso da quinoa e do amaranto, que podem ser transformados em extrato aquoso para o desenvolvimento de bebidas vegetais e elaboração de bebidas fermentadas (BIANCHI, 2013).

Dentre as várias possibilidades de matéria-prima para produção de bebidas fermentadas derivadas de vegetais destacam-se a quinoa (*Chenopodium quinoa*) e o amaranto (*Amaranthus*), que por possuírem alto teor de óleo apresentam certa facilidade na sua extração.

A quinoa é um pseudocereal que vem atraindo a atenção em escala global devido ao seu alto valor nutritivo, principalmente no que diz respeito à qualidade proteica e a grande variedade de vitaminas e minerais, além de ser adequada para pessoas que sofrem de alergias alimentares e/ou querem ter uma alimentação saudável (SPEHAR; SANTOS, 2002). Pelo fato de sua composição em aminoácidos essenciais, ser bastante aproximada à da caseína, fração proteica do leite, possui todos os aminoácidos essenciais (ASCHERI et al., 2002). Segundo Borges (2013) o teor lipídico da quinoa varia de 5 a 7%. É possível observar os grânulos da quinoa e seu interior na Figura 1.

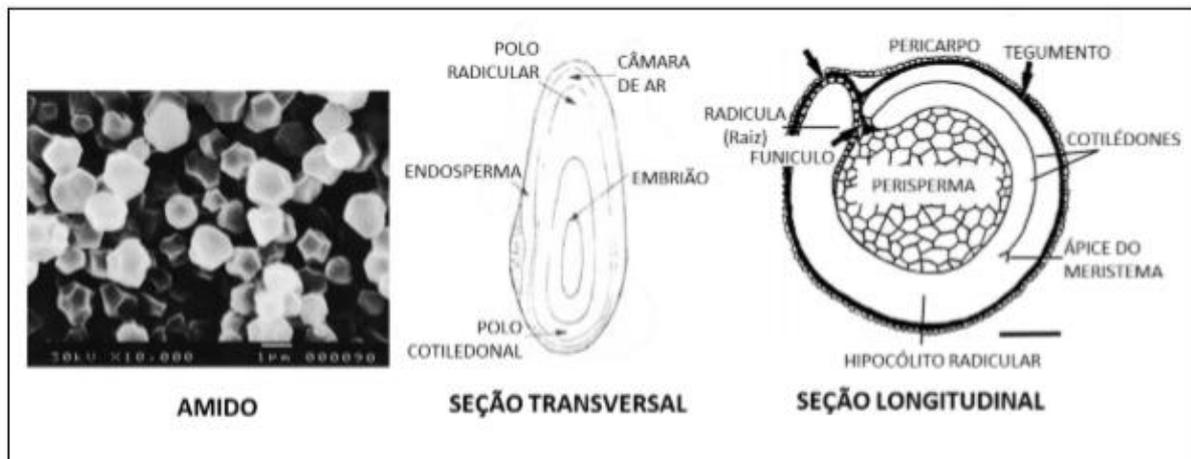


Figura 1. Grânulos de amido de quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) e ilustração da semente em corte transversal e logitudinal. Adaptado de: Ando et al. (2002), Gallardo, Gonzáles e Ponessa (1997) e Prego, Maldonado e Otegui (1998).

Fonte: Yamani (2015)

O amaranto é considerado um pseudocereal, pois não pertence à família das gramíneas, o que o descaracteriza como cereal (SAUER, 1950 apud AMAYA-FRAFAN, MARCÍLIO e SPEHAR, 2005). A importância do consumo do amaranto está relacionada às suas características nutricionais, já que apresenta aminoácidos essenciais, sendo considerado de alto valor biológico, comparável às proteínas de origem cárnea, ele apresenta comparável potencial nutritivo, pois sua semente possui aproximadamente 15% de proteínas, com qualidade biológica superior a outros vegetais, como a soja e o feijão e comparáveis à do leite (MASSON, VIGANÓ, 2013). Contém fonte de fósforo, cálcio e zinco, além de ser rico em fibras. O teor de óleo de amaranto, entre 1,9 a 8,7%, varia conforme espécie e genótipo; é um teor elevado se comparado aos cereais, mas bastante inferior aos das leguminosas (24 – 48%) (HE e CORKE, 2003). Pode-se observar o exterior e interior do amaranto na Figura 2.



Figura 2. Grânulos de amido de amaranto (*Amaranthus ssp.*) e ilustração da semente em corte transversal e longitudinal. Adaptado de: Irving, Betschart, Saunders (1981) e Kong, Bao e Corke (2009).

Fonte: Yamani (2015).

Com todos os benefícios e características da quinoa e do amaranto é possível produzir uma bebida láctea que não se derive do leite animal. Para tal produção utiliza-se da fermentação dos extratos oleosos retirados dos pseudocereais já citados. A fermentação promove alterações bioquímicas e modificações desejáveis no produto promovido por ação de microrganismos ou enzimas.

A fermentação permite ao produto ganhar as características desejadas, sendo uma reação totalmente natural. Outro benefício da fermentação do extrato vegetal é a formação de compostos que conferem aroma e sabor característicos oriundos direta ou indiretamente dos microrganismos fermentadores, além de aumentar a vida útil de produtos alimentícios fermentados, quando comparada com matérias-primas as quais foram elaborados (AGUIAR & CATANEO, 1998). Para produzir bebidas lácteas utiliza-se da fermentação láctea como base do processo.

Em relação à fermentação láctea, segundo Ferreira (2007), trata-se de uma oxidação anaeróbica parcial de carboidratos com a produção final de ácido láctico, além de várias outras substâncias orgânicas; as bactérias utilizadas industrialmente são as anaeróbias e microaerófilas, para a produção de alguns tipos de ácidos ou para a produção de alimentos. É um processo bioquímico realizado por bactérias lácticas como o *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus leichmannii* e o *Streptococcus lactis*, entre outros (OLIVEIRA, 2009).

Para auxiliar na fermentação láctea é necessário fornecer alimentos em abundância para que os microrganismos responsáveis pelo processo de fermentação a realizem. No caso da

fermentação láctea é ideal acrescentar fontes de sacarídeos com prebióticos eficientes, como no caso a inulina.

Inulina é um composto polissacarídeo não digerível, composto de resíduos de frutose com ligação β -(2-1) com resíduo terminal de glicose, extraído de plantas com um grau de polimerização variando de 2 a 60 (CRITTENDEN et al., 1996). Sendo assim, a frutose proveniente da inulina torna-se o alimento necessário para que a fermentação ocorra de maneira eficiente.

Para utilizar-se da inulina e dos extratos oleosos para fermentação láctea destaca-se uma cultura mista, o *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, os quais se referem à microrganismos probióticos que auxiliam o sistema imunológico. Estes microrganismos utilizam a lactose como substrato de energia e consequente produção do ácido láctico.

Ainda de acordo com Ferreira (1999), descreveu *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* como culturas bioajustadoras de pH empregadas na fabricação de produtos lácteos fermentados probióticos, para que estas possam atingir uma acidez segura no período aceitável.

Durante o estudo e desenvolvimento dessa bebida simbiótica a base de extrato aquoso extraído de quinoa e amaranto foram levados em conta propriedades nutritivos, associadas a uma alimentação saudável e balanceada com a adição de microrganismos probióticos e prebióticos que eleva as propriedades da bebida, potencializando a ação do organismo na flora intestinal.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

No presente trabalho, foi analisado o artigo: “Obtenção de bebida fermentada a base de quinoa (*Chenopodium quinoa*)”, elaborado pelos departamentos de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá, com o intuito de elaborar um produto semelhante e comparar os dados obtidos através de análises laboratoriais.

3.1. Ingredientes

- 200g de grãos de Quinoa;
- 200g de grãos de Amaranto;
- Inulina;
- Fermento Láctico Biolact Y04, gentilmente doado pela empresa “Simples Assim”, localizada em Paulínia, São Paulo;
- Reagentes: fenolftaleína 1% e NaOH 0,1N, gentilmente doados pela empresa Ecolab Química.

3.2. Ficha técnica Biolact Y04

De acordo com a fabricante, AEB Bioquímica Latino Americana S/A, o Biolact Y04, é um fermento láctico composto por cepas de *Streptococcus salivarius subsp. termophilus* e *Lactobacillus delberuckii subsp. bulgaricus*, cuidadosamente selecionados para proporcionar características organolépticas ideais, com tons suaves, aromas e sabores característicos lácticos. De alta qualidade e acidificação controlada é adequado para produção de iogurte e bebidas lácteas. Por sua rápida acidificação é possível aumentar a capacidade de produção, melhorando os processos produtivos com aumento da qualidade do produto.

Para ativação da cultura láctica é recomendada uma dose de 100 U para 500L de leite. Após a pasteurização do meio, deve-se controlar a temperatura até atingir 42°C para a inoculação. Então, acrescenta-se o Biolact Y04 e deve-se aguardar um período de 4 horas e 30 minutos para a fermentação, a qual pode ser observada através da queda do pH da solução, devido a formação de ácido láctico.

3.3. Produção do extrato vegetal fermentado de quinoa e amaranto

Para a produção do extrato vegetal foi utilizado 200g de quinoa e 200g de amaranto. Antes de iniciar a produção do extrato, pesam-se os grãos, lava e fricciona-os em água corrente para retirada dos componentes antinutricionais (saponinas) e conseqüentemente, redução do gosto residual amargo. Os grãos de amaranto e quinoa são deixados em descanso,

mergulhados em 1L de água por um período de 6h para a hidratação e melhor aproveitamento. Ao final do descanso os grãos são triturados, juntamente com a água, até atingir uma mistura homogênea. Em seguida, é utilizada uma tela de 250 Mesh para a filtração do líquido.

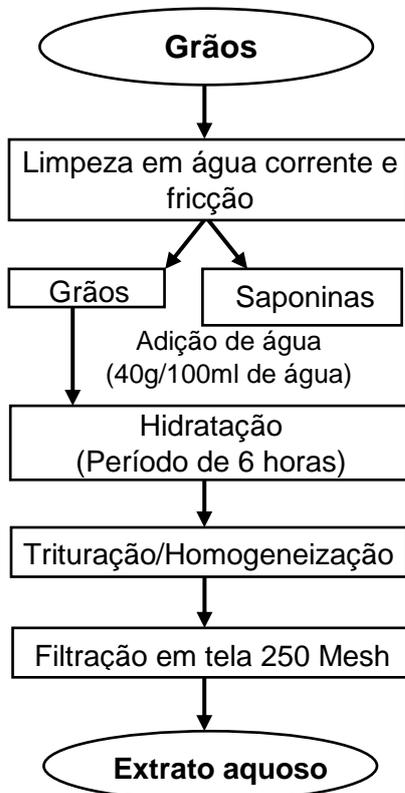


Figura 3. Fluxograma de elaboração do extrato aquoso de quinoa e amaranto.

Fonte: Dos autores.

3.4. Solução

Para ativação e fermentação da cultura láctica foram seguidas instruções do fabricante; Utilizou-se 1L do extrato de quinoa e amaranto, levado a fogo brando até atingir 42°C, em seguida acrescentou-se 2g de inulina e 0,02g de Biolact Y04 e homogeneizou-se a mistura, que foi mantida em repouso para fermentação por um período de 4 horas e 30 minutos.

3.5. Avaliação físico-química

Durante a fermentação inicial da bebida, foi analisado o pH através de contato direto, utilizando pHmetro mPA210, da marca MS Tecnopon Instrumentação. As análises foram realizadas nas horas 1, 2, 3 e 4 de fermentação e posteriormente ao 6º e 11º dia de estocagem refrigerada do produto.



Figura 4. Bebida sendo submetida à temperatura de 42°C para ativação da cultura láctica.

Fonte: Dos autores.

Para análise de acidez titulável foram retiradas amostras a cada 1 hora de fermentação (1,2,3 e 4 horas, após adição do composto Biolact Y04) e utilizado método de titulação volumétrica com indicador com os resultados foram expressos em graus Dornic. Para cada teste, utilizou-se 10 mL da bebida e adicionaram-se três gotas de fenolftaleína a 1% e titulou-se sob agitação, utilizando hidróxido de sódio 0,1N até o aparecimento de cor rósea persistente. Para o cálculo, anotou-se a leitura do volume da solução de NaOH 0,1N gasto na titulação, sabendo-se que cada 1mL da mesma correspondente a 0,009g de ácido láctico. Abaixo, podemos ver exemplos da solução após titulação realizada.



Figura 5. Testes de acidez titulável realizados em laboratório.

Fonte: Dos autores

Para cálculo dos resultados a fórmula foi expressa da seguinte forma:

$$^{\circ}D=V \times 0,9 \times 10 \quad (I)$$

3.6. Avaliação da viabilidade do Lactobacilos e microbiologia

A viabilidade do Biolact Y04 foi avaliada na formulação proposta, nos tempos 1, 2, 3 e 4 horas e no 6º e 11º dia de armazenamento à 5°C. Para contagem de células viáveis foi utilizado o meio de cultura.



Foram coletados 10 mL do produto a cada amostragem, que foram mantidos em sacos para coleta de amostra 3M™ BP118S, utilizados com o intuito de manter condições assépticas, em condições de refrigeração. Para as análises de microbiologia, o material utilizado foi previamente esterilizado.

Uma alíquota de um mL foi transferido para um tubo com rosca contendo 9ml de solução de água peptonada estéril 0,1%. A partir desta diluição foram feitas diluições subsequentes, necessárias à análise do produto. A análise das amostras foi através do método de diluição decimal seriada em placa para isolamento e contagem de microrganismo total. A contagem total de bactérias lácticas viáveis foi

Figura 6. Amostras recolhidas para contagem de células vivas

Fonte: Dos autores.

total de bactérias lácticas inoculada por método de plaqueamento em profundidade e sobre camada do meio MRS e após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas invertidas em jarras contendo gerador de anaerobiose Anaerobac (PROBAC) a 37°C por 72 horas.

Para identificação de coliformes totais e fecais, foi utilizado teste presuntivo. Foi utilizado frasco estéril e transferidos 10 mL da amostra, para três séries de três tubos com 10 mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) com tubos de Durham invertidos, incubados a 35-37°C por 48h.

Para a análise de bolores e leveduras, foi empregado o meio YEPG (Extrato de levedura 10g; Peptona 20g; Glicose 20g; Ágar 15g/ L de água destilada), com o pH 3,5 ajustado com ácido tartárico (1 N). A inoculação foi feita utilizando 5 mL de inóculo e o método usado foi o de incorporação do meio à placa ("Pour Plate"). As placas foram então incubadas a 28°C por sete dias. Cada isolado foi repicado e, após observação microscópica, as culturas puras foram repicadas para tubos de ensaio contendo meio YW, (Extrato de levedura 3g, Extrato de malte 3g, Peptona 5g, Glicose 10g, Ágar 15g/ L) inclinado, colocando-se óleo mineral estéril na superfície para manutenção. As lâminas foram observadas em microscópio ótico, onde foi feita a contagem de bactérias tipo cocos e bastonetes em cinco campos diferentes, fazendo-se a média dessas contagens, a fim de verificar a presença de lactobacilos e estreptococos característicos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O principal objetivo do estudo foi à obtenção de uma bebida vegetal fermentada com lactobacilos vivos, semelhante às encontradas no mercado que são elaboradas com leite reconstituído. Durante o período de fermentação, foram realizados testes para constatar a viabilidade do meio ao crescimento do microrganismo de interesse, com a formação de compostos característicos do leite fermentado como o ácido láctico. Ao que se refere à obtenção do extrato vegetal de quinoa e amaranto, após horas de repouso observou-se a formação de duas fases no produto, com deposição de amido e proteínas ao fundo e fase aquosa na parte superior, conforme podemos ver na figura 7.



Figura 7. Separação de fase do extrato de quinoa e amaranto.

Fonte: Dos autores

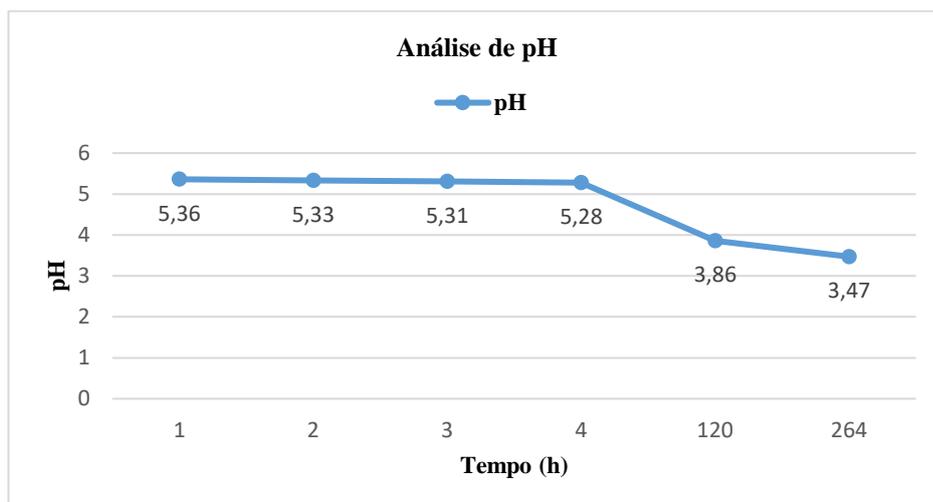
Em seguida ao processo de fermentação, as amostras foram submetidas às análises microbiológicas (quantificação de coliformes totais, contagem de bactérias lácticas e contagem de bolores e leveduras), nas quais os resultados obtidos foram analisados e comparados, sendo eles negativos ou positivos, e assim estando dentro ou não da legislação brasileira.

Através das análises foi possível observar variações de pH e acidez (mensuráveis indiretas que indicam o crescimento microbiano desejável). Abaixo, demonstra-se a partir de gráficos que ocorreu uma variação significativa de pH (gráfico 1) e acidez (gráfico 2) do produto durante as primeiras 4 horas de fermentação, o que pode indicar uma possível adaptação do microrganismo ao meio que foi submetido.

Após esse tempo, a atividade dos microrganismos mostra-se mais evidente, podendo ser avaliada indiretamente pela curva decrescente e acentuada pelo gráfico 1. No 6º dia e 11º dia de fermentação foram apresentados resultados satisfatórios, atingindo pH 3,86 e 3,47 respectivamente, o que indica queda de pH durante uma possível vida de prateleira (*shelf life*) do produto.

O pH está relacionado com o aspecto visual do produto. É fundamental que haja controle rigoroso para que não ocorra separação de fases, acidificação elevada influenciada pelo tempo de fermentação, além de alterações nas características sensoriais que poderão tornar o produto indesejável (VINDEROLA et al., 2000).

Gráfico 1 – Análise de pH

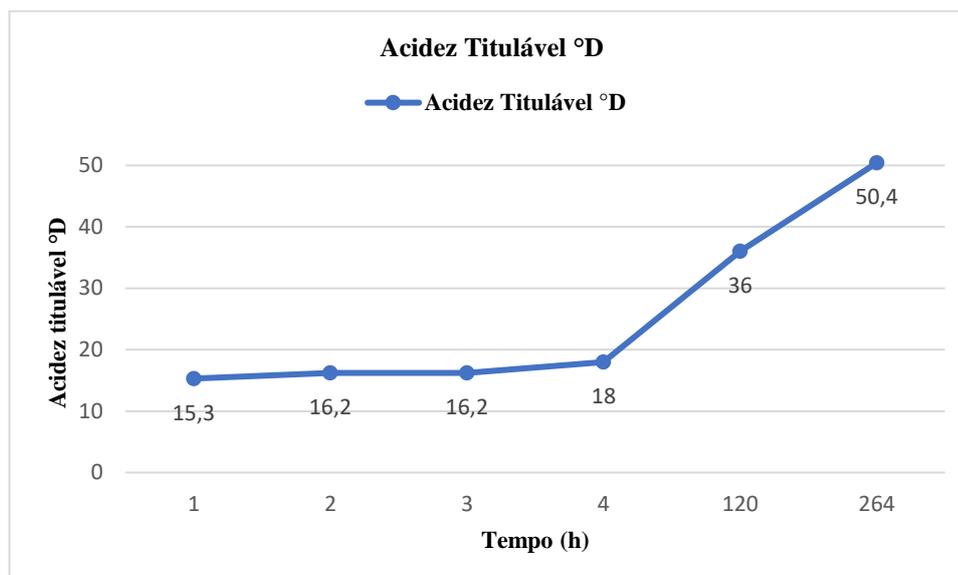


Fonte: Dos autores.

Após 24 horas de fermentação a bebida foi submetida à refrigeração na faixa de 3 à 5°C. De acordo com KLAVER, KINGMA & WEERKAMP, o *Lactobacillus delbrueckii spp. Bulgaricus*, composto do Biolact YO4, produz ácido lático durante a estocagem refrigerada, conhecido como pós-acidificação, podendo-se tornar um fator que afeta a viabilidade das bactérias probióticas.

No processo de pós-acidificação houve uma diminuição no valor do pH e consequentemente um aumento significativo em ácido lático durante o armazenamento refrigerado do produto, demonstrando que os valores seguiram essa tendência oposta esperada, devido à contínua produção de ácidos pelas bactérias lácticas. Tal fato ocorreu devido ao metabolismo das bactérias que degradam o substrato presente no meio, obtendo-se como produto final, principalmente, ácido lático (FERREIRA, 2002). Como se pode observar no gráfico 2.

Gráfico 2 – Análise de acidez titulável



Fonte: Dos autores.

Com a formação de ácido lático (principal produto formado pelas bactérias lácteas), os valores de acidez titulável são crescentes em função do tempo. Este resultado evidencia que a formulação foi processada em condições higiênicas e sanitárias adequadas.

Thamer e Penna (2006) relataram que o armazenamento do produto a temperatura de refrigeração e após acidificação provocada pelo metabolismo das culturas usadas podem contribuir para o aumento da acidez no período de estocagem.

A produção de ácidos que reduzem o valor de pH abaixo de 4,0 e a presença de outros componentes antimicrobianos durante a fermentação podem promover a segurança e estabilidade do produto final, uma vez que a maioria dos patógenos não sobrevivem em pH baixo (BLANDINO et al., 2003).

Segundo o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), a contagem de microrganismos específicos nas bebidas lácteas fermentadas e a contagem total de bactérias lácticas viáveis devem ser no mínimo de 10^6 UFC/g (um milhão de Unidades Formadoras de Colônias por grama) no produto final, durante todo o prazo de validade.

A contagem de bactérias lácticas totais (UFC/mL) no primeiro dia aumentou ao decorrer das horas, e foi monitorada durante as quatro primeiras horas, apresentando na 4ª hora 7.10^6 UFC/mL e ao 6º dia foi de 6.10^6 UFC/mL, onde houve uma pequena redução de bactérias lácticas, enquanto ao 11º dia foi apresentada uma redução no ciclo logarítmico de 4.10^3 UFC/mL, o que indica estar fora do permitido pela legislação brasileira. Como se pode observar na tabela 1.

Tabela 1. Amostras

Amostra	Bactérias lácticas UFC/mL	Contagem de Bolores e Leveduras (UFC/mL)	Contagem de Coliformes a 45 °C (UFC/mL)*
Início		1.10^0	$< 10^0$
H1	2.10^3	2.10^0	$< 10^0$
H2	3.10^5	4.10^0	$< 10^0$
H3	4.10^6	1.10^1	$< 10^0$
H4	7.10^6	2.10^1	$< 10^0$
6º dia	6.10^6	3.10^1	$< 10^0$
11º dia	4.10^3	4.10^1	$< 10^0$

Fonte: Dos autores

O acúmulo de ácido láctico inibe o crescimento das bactérias ácido lácticas, favorecendo, com a diminuição do pH, o crescimento de bolores e leveduras (SURIYARACHCHI & FLEET, 1981).

A queda excessiva de pH ressalta a hipótese da produção de metabólitos tóxicos, ou seja, durante a fermentação surge a possibilidade de que o metabolismo dos lactobacilos tenha gerado um produto altamente tóxico que seria a possível causa para morte ou inativação de parte dos microrganismos. O consumo de substrato também está diretamente ligado ao crescimento da bactéria láctica, que em comparação a uma fermentação convencional em meio láctico, propicia uma abundância em relação à disponibilidade de recursos para fermentação. Aplicado a um novo meio, os recursos são escassos, podendo resultar na falta de substrato para consumo.

A contaminação por bolores e leveduras, pode causar alterações nas características sensoriais, devido à capacidade de produzir enzimas hidrolíticas (XAVIER; LIMA; SOUZA, 2006), podendo ocorrer alteração organolépticas ao produto.

Na análise para contagem de bolores e leveduras, foi apresentada uma média de 1.10^1 UFC/mL estando dentro do que é permitido pela legislação, já que o valor máximo permitido é de 5.10^1 UFC/mL, indicando procedimentos higiênico sanitários adequados quanto à sua produção.

O crescimento simultâneo de bolores e leveduras é favorável em bebidas e alimentos fermentados, uma vez que as mesmas são favorecidas pela acidificação gerada pelas bactérias, e o crescimento das bactérias é estimulado pela presença de leveduras, que fornecem fatores

de crescimento, como vitaminas e componentes de nitrogênio solúvel (MIGUEL et al., 367 2015).

Quanto aos parâmetros contidos na Instrução Normativa nº46, de 23 de outubro de 2007, a contagem de coliformes à 45°C tem como critério de aceitação 2UFC/mL, sendo assim o produto desenvolvido se encontra dentro do padrão estabelecido, já que de acordo com os resultados apresentados a contagem de coliformes foi menor 10^0 UFC/mL, não detectando coliformes totais. A contagem do grupo de coliformes totais indica a qualidade no processamento de alimentos através da higiene sanitária do ambiente, alimento e manipulação, além da potabilidade da água utilizada na produção.

5. CONCLUSÃO

A bebida fermentada a base do extrato de quinoa e amaranto foi considerada uma alternativa altamente viável, uma vez que o processo de fabricação e suas respectivas características aproximam-se as bebidas lácteas fermentadas expostas no mercado.

A bebida fermentada vegetal desenvolvida conseguiu atingir vários aspectos positivos durante as análises realizadas, nos critérios estabelecidos pela legislação brasileira, caracterizado como um leite fermentado (produto mais próximo, utilizado como referência), segundo o Ministério da Agricultura e Pecuária.

No entanto acreditamos serem necessário e viável que fossem realizados estudos detalhados a fim de justificar a razão pelo qual a contagem de bactérias lácticas totais decaiu de maneira significativa, e conseqüentemente não atingiu o mínimo imposto pela legislação, já que no presente artigo foram apresentadas possíveis hipóteses que pudessem esclarecer o ocorrido.

Por fim, o produto desenvolvido é considerado uma opção viável para pessoas que buscam uma alimentação saudável, tendo em vista os benefícios que esses grãos promovem, tanto fisiológicos, quanto metabólicos, já que diminuem o colesterol, previne doenças crônicas e é uma excelente alternativa para pessoas intolerantes a lactose, veganos e alérgicos a proteína do leite, além da sua utilidade com o acréscimo de saborizantes e demais aditivos alimentares, considerando a bebida desenvolvida como um produto de elevado potencial em escala industrial.

6. REFERÊNCIAS

AMAYA-FRAFAN, Jaime; MARCÍLIO, Roberto; SPEHAR, Carlos Roberto. **Deveria o Brasil investir em grãos para a sua alimentação? a proposta do amaranto (Amaranthus sp.)**. Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas, SP, v.12, n.1, p. 47-56, 2005. Disponível em: <http://www.unicamp.br/nepa/arquivo_san/A_proposta_do_Amaranto.pdf>. Acesso em: 07 abr. 2019.

AGUIAR, D.M.P.; CATANEO, A.L. **Proposta de uma bebida amilácea naturalmente acidulada obtida de fécula de mandioca gomificada e leite em pó**. Energ. Agric., v.3, n.1, p.48-58, 1998.

ASCHERI, J. L.; SPEHAR, C. R.; NASCIMENTO, N. E. **Caracterización química comparativa de harinas instantâneas por extrusión de quinoa (Chenopodium quinoa willd.), maíz y arroz**. Alimentaria, v.39, n.331, p. 82-89, 2002.

BIANCHI, Fernanda. **Desenvolvimento e avaliação em simulador do ecossistema microbiano humano de uma bebida simbiótica à base de extratos aquosos de quinoa (Chenopodium quinoa willd) e de soja**. 2013. 122 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Estadual Paulista, Araraquara - Sp, 2013. Cap. 1.

BOÊNHO, J. A. **Bebidas lácteas fermentadas formuladas com leite, soro de leite e extrato de arroz vermelho: aspectos físicos, químicos, microbiológicos e sensorial**. 2014. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/4217/5/Tese%20%20Josianny%20Alves%20Bo%20C3%AAno%20%20-%202014.pdf>>. Acesso em 01 abr. 2019.

BORGES, João T. et al. **Saiba mais sobre os benefícios da quinoa**. 2013. Disponível em: <<https://www.giassi.com.br/noticia/saiba-mais-sobre-beneficios-quinoa-2353>>. Acesso em: 07 jun. 2019.

BRASIL. ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos - IX Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas**, 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 07 abr. 2019.

BLANDINO A, AL-ASEERI ME, PANDIELLA SS, CANTERO D, WEBB C (2003) 622 Review: Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Res Int* 36, 527–543.

CARDOSO, Bárbara Verônica Sousa et al (Ed.). **Prospecção tecnológica e científica de alimentos probióticos funcionais na forma de barra de cereais**. Geintec: Gestão, Inovação e Tecnologia, Teresina, v. 5, n. 3, p.2273-2283, 2015. Anual.

CRITTENDEN R.G., MORRIS L.F., HARVEY M.L., TRAN L.T., MITCHELL H.L., PLAYNE, M.J. “**Selection of a *Bifidobacterium* strain to complement resistant starch in a symbiotic yoghurt**”. *Journal of Applied Microbiology*, v.90, p.268-278,2001.

FERREIRA, C. L. L. F. **Acidez em leites e produtos lácteos: aspectos fundamentais**. Viçosa: UFV, 1999, 26 p.

FERREIRA, C. L. L. F. **Acidez em leite e produtos lácteos: Aspectos fundamentais**. Viçosa: UFV, 2002. 26 p.

FERREIRA, J. **Fermentação**. Salvador, BA, 2007. Disponível em: <<http://julia3mcesb.blogspot.com/>>. Acesso em: 18 jul. 2019.

GEWEHR, Márcia Flach et al. Análises químicas em flocos de quinoa: caracterização para a utilização em produtos alimentícios. **Brasil Journal of Food Technology**, v. 15, n. 4, out./dez., 2012.

HE, H.P.; CORKE, H. **Oil and Squalene in *Amaranthus* grain and leaf**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, n. 27, p. 7913-7920, 2003.

MAPA. **Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007**. Disponível em: <<http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/instru%C3%87%C3%83o-normativa-n%C2%BA-46-de-23-de-outubro-de-2007.pdf>>. Acesso em 10 set.2019

MASSON, Ana Paula; VIGANO, Otávio José. **Bebida láctea com amaranto**. E-Tech: Tecnologias para Competitividade Industrial, Florianópolis, 2013. Disponível em: <<http://etech.sc.senai.br/index.php/edicao01/article/view/323/317>>. Acesso em: 13 jun. 2019.

MATTILA-SANDHOLM, T. et al. **Technological challenges for future probiotic foods**. *International Dairy Journal*, v.12, p. 173-182, 2002.

MIGUEL MGCP, COLLELA CF, ALMEIDA EG, DIAS DR, SCHWAN RF (2015) **Physicochemical and microbiological description of Caxiri – a cassava and corn alcoholic beverage**. *Int J Food Sci Technol* 50, 2537-2544.

OLIVEIRA, M.N. **Tecnologia de produtos lácteos funcionais**. v.1. São Paulo: Atheneu, 2009.

ROBERFROID, M. Prebiotics: **The Concept Revisited**. *The American Society for Nutrition*, v.137, n.3, p.830-837, 2007.

SPEHAR, C. R.; SANTOS, R. L. de B. **Quinoa (Chenopodium quinoa Willd) BRS. Piabiru: alternativa para diversificar os sistemas de produção de grãos**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.37, n.6, p.889-893, 2002.

SURIYARACHCHI, V. R.; FLEET, G. H. **Occurrence and growth of yeasts in yogurts**. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 42, n. 3, p. 574-579, 1981

THAMER KG, PENNA ALB (2006) **Caracterização de bebidas lácteas funcionais 742 fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico**. *Ciência e Tecnologia de 743 Alimentos*. Campinas, v.26, n.3, p.589-595.

VINDEROLA, C.G. et al. A. **Survival of probiotic in Argentina yogurts during refrigerate storage**. *Food Research International*, v.33, n.2, p.97-102, 2000.

XAVIER, L. S.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L. **Presença de leveduras em produtos lácteos: uma abordagem especial para a significância de leveduras em queijos**. *Higiene Alimentar*, v. 20, n. 139, p. 61-64, 2006.

WHO/FAO. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Genebra: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, 2001.

YAMANI, Beatriz Valcárcel. **Substituição parcial da farinha de trigo por farinha de amaranto (Amaranthus cruentus L.), quinoa (Chenopodium quinoa W.) e maca (Lepidium meyenii W.) na elaboração de panetone**. 2018. 260 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Tecnologia Bioquímico-farmacêutica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

ZACARCHENCO, B. P; ROIG, M. S. **Avaliação sensorial, microbiológica e de pós-acidificação durante a vida-de-prateleira de leites fermentados contendo Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium longum e Lactobacillus acidophilus**. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612004000400033>. Acesso em 07 set. 2019.