



VIABILIDADE PROBIÓTICA DE *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* EM NÉCTAR DE TAPEREBÁ

Ana Carla A. Pelais¹; Alessandra E. S. G. Façanha²; Kaylane C. Leal³; Raíra F. Fernandes³; Amanda D. Freitas³; Andrielly G. Rodrigues³; Mariana M. Corrêa⁴

^{1,2}Universidade do Estado do Pará (UEPA), Departamento de Tecnologia de Alimentos, Belém-PA-Brasil

³Universidade do Estado do Pará (UEPA), Departamento de Tecnologia de Alimentos, Cametá-PA-Brasil

⁴Universidade do Estado do Pará (UEPA), Departamento de Ciências Naturais, Cametá-PA-Brasil
e-mail: ana.pelais@uepa.br

Palavras-Chave: Probiótico, fruta tropical, aceitação.

Introdução

O Brasil é um dos maiores produtores de frutas, oferecendo uma variedade que inclui frutas *in natura* ou processadas em formas como polpa, néctar, suco concentrado, doces ou geleias. Essa expressiva produção tem impulsionado o desenvolvimento de novos produtos que atendam às expectativas dos consumidores quanto às propriedades nutricionais disponíveis na matéria-prima (Pelais et al., 2020).

Na região Amazônica, há fruteiras domesticadas ou cultivadas com grande potencial agroindustrial, como os frutos de taperebá, que possuem características ideais para o aproveitamento industrial, além de qualidades sensoriais desejáveis. Apesar da diversidade de frutas tropicais com sabores exóticos, os consumidores estão mais conscientes e preocupados com sua qualidade de vida, aumentando a demanda por alimentos funcionais, como aqueles contendo microrganismos probióticos (Freitas et al., 2017).

O taperebá (*Spondias mombin* L.), também conhecido como cajazeira ou cajá, pertence à família *Anacardiaceae* e ao gênero *Spondia*. Originária da América Tropical, essa fruta encontra-se amplamente disseminada no Brasil, ocorrendo espontaneamente em condições silvestres nas regiões Norte e Nordeste do país (Grigio et al., 2012). O taperebá é uma fruta rica em vitaminas, minerais e fitoquímicos, com potenciais benefícios à saúde (Almeida et al., 2024).

A maioria dos produtos probióticos disponíveis no mercado são à base de lácteos, como leites fermentados e iogurtes. Contudo, há um crescente interesse na produção de bebidas não lácteas contendo bactérias probióticas, especialmente devido ao aumento de pessoas intolerantes à lactose ou com dietas restritas em colesterol. No entanto, na produção desses alimentos, é crucial selecionar estirpes bacterianas que mantenham sua viabilidade durante a elaboração e armazenamento do produto, além de sobreviverem ao trato gastrointestinal humano para desempenharem sua função no organismo (Brandão et al., 2015).

Entre os principais efeitos benéficos e terapêuticos atribuídos ao consumo de probióticos, destacam-se a manutenção do equilíbrio da microbiota intestinal, o antagonismo do crescimento de patógenos, o estímulo do sistema imunológico e a redução da intolerância à lactose. Esses benefícios promovem a saúde ao aumentar a proteção contra infecções intestinais e prevenir diversas doenças, como o câncer de cólon, entre outros. Considerando esses aspectos, a viabilidade da utilização de microrganismos probióticos em matrizes não lácteas, como frutas e bebidas de frutas, tem sido avaliada com sucesso por vários pesquisadores (Santos et al., 2012).



Portanto, o objetivo deste projeto é desenvolver bebidas de frutas regionais adicionadas de bactérias probióticas. Elaborar um néctar de taperebá adicionado de probióticos e avaliar a vida útil e as alterações físico-químicas e sensoriais durante o armazenamento refrigerado da bebida.

Material e Métodos

Para a elaboração dos néctares, foram utilizadas polpa de taperebá cedida por cooperativas de agricultura familiar de Tomé-Açu (PA), sacarose comercial e culturas liofilizadas de *Lactobacillus rhamnosus* (Sacco® Brasil, Campinas – SP). A formulação incluiu um tratamento controle, sem adição da cultura probiótica, e outro com adição da mesma, ambos realizados em triplicata.

No desenvolvimento e caracterização do néctar, inicialmente foi realizada a ativação dos *Lactobacillus*. As culturas probióticas liofilizadas foram abertas em condições assépticas, pesadas e transferidas para frascos contendo extrato hidrossolúvel de soja desengordurado a 6% (m/v), previamente esterilizado em autoclave a 121 °C por 5 minutos, e incubadas por 24 horas a 37 °C (Mondragón Bernal, 2004). Após a incubação, o inóculo, contendo aproximadamente 10⁹ UFC/mL, foi adicionado ao néctar na proporção de 1:9 (v/v).

Para o processamento, a polpa de taperebá e a sacarose comercial foram pesadas, homogeneizadas com água potável e submetidas à pasteurização a 90 °C por 60 segundos em tacho de aço inoxidável com camisa de vapor. Após resfriamento a 25 °C, o néctar foi inoculado com a cultura probiótica, envasado em garrafas de vidro de 300 mL estéreis com tampas rosqueáveis e armazenado em câmara de resfriamento a 4 ± 1 °C até as análises.

Na avaliação da qualidade físico-química, as amostras dos néctares foram submetidas às análises físico-químicas de pH e acidez total titulável (ATT) (g ácido láctico/100 mL) nos tempos 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento refrigerado, segundo metodologias descritas pela AOAC (2011).

A viabilidade *in vitro* das culturas probióticas no néctar deu-se pela enumeração de *L. rhamnosus*, onde as amostras do néctar foram diluídas em solução salina peptonada (0,85 % de NaCl e 0,1 % de peptona) e semeadas em *pour plate* em Agar MRS (Kasvi, Brasil). As placas de petri foram incubadas em jarra anaeróbica (Anaerobac da Probac®) a 37 °C por 72 horas (Zacarchenco & Massaguerroig, 2004), sendo posteriormente realizada a contagem e determinado o Log UFC.mL⁻¹ de néctar. A viabilidade celular dos lactobacilos foi avaliada nos tempos 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento do néctar à 4 ± 1 °C.

Para realizar a avaliação sensorial o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade do Estado do Pará. As duas formulações de néctar foram codificadas com números aleatórios de três dígitos e apresentadas sequencialmente aos julgadores, em copos plásticos de 50 mL a 8 °C. A avaliação sensorial contou com 80 julgadores não treinados, utilizando escala hedônica de nove pontos, variando de “desgostei extremamente” (1) a “gostei extremamente” (9), para os atributos cor, aroma, textura, sabor, impressão global e intenção de compra (Minin, 2013).

Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$), utilizando o software BioEstat 5.0.

Resultados e Discussão

Os resultados da caracterização físico-química da polpa de taperebá demonstraram valores de pH de $3,04 \pm 0,09$, acidez total titulável (ATT) de $1,16 \pm 0,01$ g/100g e teor de sólidos solúveis de $10,1 \pm 0,1$ °Brix. A legislação brasileira (Brasil, 2003) estabelece os seguintes valores mínimos para o Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) da polpa de cajá: pH de 2,20, ATT expressa em ácido cítrico de 0,90 g/100 g e sólidos solúveis totais (SST) de 9,00 °Brix. Constatou-se, portanto, que a polpa utilizada neste trabalho atendeu aos padrões estabelecidos para todos os parâmetros, uma vez que os valores determinados ficaram acima dos mínimos preconizados.

Os valores médios de pH e acidez total titulável durante o armazenamento dos néctares à temperatura de 4 ± 1 °C são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Valores médios da variação da acidez, pH e sólidos solúveis nos néctares de taperebá com e sem a adição de cultura probiótica.

Análises	Tempo (Dias)	Tratamentos	
		Néctar controle	Néctar probiótico
Acidez (g ácido láctico/100 mL)	1	$0,26 \pm 0,02^a$	$0,32 \pm 0,00^b$
	7	$0,27 \pm 0,02^a$	$0,34 \pm 0,00^b$
	14	$0,28 \pm 0,01^a$	$0,34 \pm 0,00^b$
	21	$0,27 \pm 0,01^a$	$0,34 \pm 0,00^b$
	28	$0,29 \pm 0,02^a$	$0,34 \pm 0,00^b$
pH	1	$3,13 \pm 0,15^a$	$3,45 \pm 0,25^b$
	7	$2,79 \pm 0,46^a$	$3,00 \pm 0,05^b$
	14	$3,03 \pm 0,00^a$	$3,12 \pm 0,26^a$
	21	$3,05 \pm 0,10^a$	$3,11 \pm 0,27^a$
	28	$2,95 \pm 0,12^a$	$3,05 \pm 0,07^a$
Sólidos solúveis (°Brix)	1	$13,2 \pm 0,00^a$	$15,8 \pm 0,00^b$
	7	$13,4 \pm 0,01^a$	$15,2 \pm 0,00^b$
	14	$13,0 \pm 0,00^a$	$15,8 \pm 0,00^b$
	21	$13,2 \pm 0,00^a$	$15,3 \pm 0,00^b$
	28	$13,0 \pm 0,00^a$	$15,4 \pm 0,00^b$

Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão. ^{a,b} Médias na mesma linha seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si a nível de 5 % de probabilidade ($p > 0,05$) para o tipo de tratamento.

Os valores de acidez mantiveram-se em conformidade com a legislação brasileira para néctar de taperebá, a qual estabelece o teor mínimo de 0,2 g/100 g. Observou-se, contudo, diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) desde o primeiro dia de armazenamento, com intervalos de variação de 0,26 a 0,29 g/100 mL no néctar controle e de 0,32 a 0,34 g/100 mL no néctar probiótico. Esse comportamento foi atribuído à provável produção de ácido láctico pelas culturas adicionadas, indicando que, mesmo sob refrigeração, os processos metabólicos bacterianos permaneceram ativos, o que elevou gradualmente a acidez do meio.

A acidez constitui um parâmetro fundamental de qualidade, visto que reações de degradação, tais como hidrólise, oxidação e fermentação, geram compostos ácidos. Esse processo contínuo de fermentação promoveu o aumento gradual da acidez, comportamento este esperado para produtos adicionados de culturas vivas, e que pode exercer influência sobre as características sensoriais e a estabilidade do néctar ao longo do período de



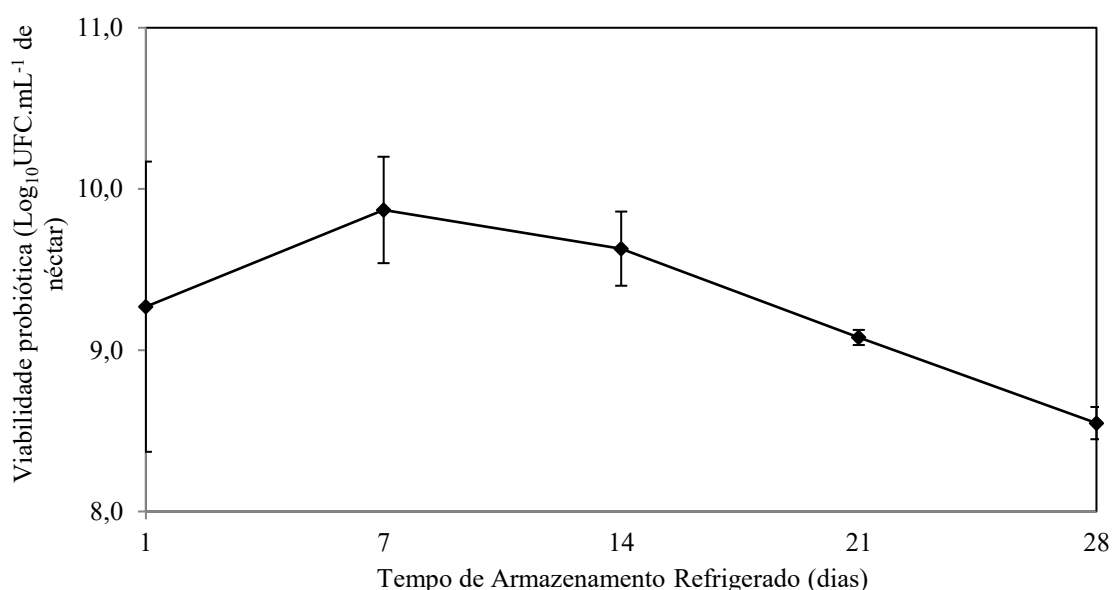
armazenamento (Chim et al., 2013).

Concomitantemente, esses fatores associaram-se ao decréscimo nos valores de pH, verificando-se uma redução numérica do tempo inicial ao 7º dia de armazenamento das bebidas. Os valores de pH apresentam relevância tecnológica, pois podem interferir diretamente na coloração do produto e na sua aceitação pelo consumidor (Assis et al., 2015). Em estudo semelhante, a bebida fermentada probiótica desenvolvida por Machado (2007) demonstrou valores de pH de 4,41 a 4,37 durante o período de 28 dias. Conforme preconizado por Oliveira e Damin (2002), reduções de pequena magnitude no pH tendem a não ser perceptíveis, podendo os valores ser considerados estatisticamente constantes em determinados intervalos.

Os teores de sólidos solúveis no néctar controle e no néctar probiótico atenderam aos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 12, de 4 de setembro de 2003 (Brasil, 2003), que define o valor mínimo de 11,0 °Brix para o néctar de cajá, embora tenham diferido significativamente entre si ao nível de 5% de significância. Santana et al. (2012), ao analisarem néctar de uva, relataram valores de sólidos solúveis de 12,97 °Brix, assemelhando-se aos dados observados no presente estudo.

A qualidade da viabilidade *in vitro* dos néctares pode ser verificada por meio da Figura 1, que mostra que a cultura probiótica adicionada ao néctar de taperebá mantiveram-se viáveis e dentro dos níveis recomendados até o 28º dia de armazenamento refrigerado ($4 \pm 1^\circ\text{C}$). O *L. rhamnosus* variou de 9,27 a 8,55 $27 \text{ Log UFC.mL}^{-1}$ entre o período de armazenamento. No 7º dia houve um aumento de 1 ciclo logarítmico, que pode ser explicado pelo consumo dos substratos disponíveis no néctar, dentre eles, os nutrientes da polpa de taperebá, e como consequência, houve produção de pequenas quantidades de ácidos orgânicos de acordo com Ding & Shah (2008).

Figura 1 - Viabilidade do *L. rhamnosus* no néctar de taperebá armazenado à $4 \pm 1^\circ\text{C}$ por 28 dias.



A viabilidade das culturas probióticas representa um requisito essencial para o atendimento à legislação vigente. Concentrações acima de 6 Log UFC.mL^{-1} alinham-se às recomendações nacionais, as quais sugerem populações entre 8 e 9 Log UFC por porção



para produtos com alegações funcionais probióticas (Stringheta, 2007).

Bianchi (2013) desenvolveu uma bebida simbiótica com *Lactobacillus casei* LC1 e frutooligossacarídeo em extratos de quinoa e soja. Durante 28 dias de armazenamento, observou-se aumento da acidez e redução do pH, mas as contagens permaneceram viáveis em torno de 10^8 UFC/mL. Dada a viabilidade da cultura probiótica neste trabalho, pode-se afirmar que o néctar produzido caracteriza-se como um alimento com potencial probiótico.

Os resultados da avaliação sensorial (Tabela 2) apresentam os valores médios dos atributos cor, aroma, textura, sabor, impressão global e intenção de compra nos néctares com e sem adição da cultura probiótica.

Tabela 2. Resultados médios dos atributos sensoriais e intenção de compra dos néctares de taperebá com e sem a adição de cultura probiótica.

Tratamentos	Atributos					
	Cor	Aroma	Textura	Sabor	Impressão global	Intenção de compra
Néctar Controle	7,46 ^a	7,16 ^a	7,13 ^a	6,99 ^a	7,19 ^a	3,69 ^a
Néctar Probiótico	7,46 ^a	6,96 ^a	7,29 ^a	7,34 ^a	7,38 ^a	3,99 ^a

^{a,b} Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ($p > 0,05$) para o tipo de tratamento.

Os atributos cor, aroma e impressão global não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre o néctar controle e o probiótico ($p > 0,05$). A pontuação para o atributo cor manteve-se com média de 7,46 em ambos os tratamentos, sugerindo que a incorporação do microrganismo não promoveu alterações nos pigmentos naturais da matriz frutosa (Pimentel et al., 2012).

Para os atributos de aroma e textura, também não foram detectadas diferenças estatísticas significativas. Embora a literatura indique que microrganismos probióticos possam influenciar sutilmente tais características, as alterações situaram-se em níveis não perceptíveis pelos julgadores. A nota atribuída à textura do néctar probiótico foi numericamente superior (7,29 versus 7,13), indicando uma possível influência positiva na percepção tátil bucal (Marin, 2014).

O atributo sabor apresentou média de 7,34 no néctar probiótico contra 6,99 no controle, sem diferença estatisticamente significativa, posicionando-se na região de aceitação da escala hedônica. Investigações prévias apontaram que micro-organismos probióticos podem modificar o perfil volátil e de sabor, tornando-o potencialmente mais aceitável (Silva, 2016).

A impressão global permaneceu situada na faixa de aceitação (6,96 a 7,74). Os escores para a intenção de compra variaram de 3,14 a 4,01, sem divergência estatística significativa, embora se observe um interesse crescente dos consumidores por matrizes alimentares funcionais devido aos benefícios à saúde associados aos probióticos.



Conclusões

Considerando os resultados da viabilidade da cultura probiótica e a aceitabilidade do néctar de taperebá demonstram o potencial para desenvolver um néctar de taperebá com propriedades probióticas. Esse produto pronto para consumo pode funcionar como um veículo eficiente para a entrega de culturas probióticas como o *Lactobacillus rhamnosus*, beneficiando especialmente pessoas que não consomem produtos lácteos, como indivíduos com intolerância à lactose, alergia às proteínas do leite e vegetarianos estritos.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade do Estado do Para e o Campus XVIII, pelo suporte financeiro e estrutural dado.

Referências

ALMEIDA, C. O. R. P.; MARTINEZ, R. M.; FIGUEIREDO, M. S.; TEODORO, A. J. Botanical, nutritional, phytochemical characteristics, and potential health benefits of murici (*Byrsonima crassifolia*) and taperebá (*Spondias mombin*): insights from animal and cell culture models. **Nutr. Rev.**, 82(3), 407–424, 2024.

ASSIS, D. A.; TUERLINCKX, L.; MENDONÇA, C. R. B. Avaliação de propriedades físico-químicas de néctares de uva comercializados na cidade de Pelotas-RS. In: **5º Simpósio de Segurança Alimentar**, Bento Gonçalves, 2015.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 18th ed., current through rev. 4. Gaithersburg: AOAC International, 2011.

BIANCHI, F. 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 em Alimentos e Nutrição)** – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2013.

BRANDÃO, W. A. P. L. N. T. M. Desenvolvimento, caracterização e otimização de bebida fermentada simbiótica de soja com farinha de banana verde. 2015. 154 f. **Tese (Doutorado em Engenharia)** – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 12, de 4 de setembro de 2003. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade gerais para suco tropical. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2003.

CHIM, J. F.; ZAMBAZI, R. C.; RODRIGUES, R. D. S. Estabilidade da vitamina C em néctar de acerola sob diferentes condições de armazenamento. **Rev. Bras. Prod. Agroind.**, 15(4), 321–327, 2013.

DING, W. K.; SHAH, N. P. Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. **Int. Food Res. J.**, 15(2), 219–232, 2008.

FREITAS, B. S. M. Estudo da caracterização e qualidade físicas e químicas do fruto de cajá (*Spondias mombin* L.) e aproveitamento da polpa. 2017. **Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)** – Instituto Federal Goiano, Rio Verde, 2017.

GRIGIO, M. L.; CHAGAS, E. A.; DURIGAN, M. F. B.; SOUSA, A. A.; NASCIMENTO, C. R.; NEVES, L. C. Determinação do ponto de colheita de taperebá (*Spondias mombin* L.). In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA**, 22., 2012, Bento Gonçalves. Anais... Bento Gonçalves: SBF, 2012.

MACHADO, M. R. G. Bebida de soja fermentada com *Lactobacillus acidophilus*: viabilidade celular, avaliação sensorial, armazenamento e resposta funcional. 2007. 101 f. **Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial)** – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.



MARIN, M.; MADRUGA, N. D. A.; RODRIGUES, R. S.; MACHADO, M. R. G. Caracterização físico-química e sensorial de bebida probiótica de soja. **Bol. Cent. Pesq. Process. Alim.**, 32(1), 93–104, 2014.

MININ, V. **Metodologia de análise sensorial: escala hedônica estruturada**. Manual, Universidade Estadual de Campinas, 2013.

MONDRAGÓN BERNAL, J. Producción de bebidas probióticas a base de soja. Tese, Universidad Nacional de Colombia, 2004.

OLIVEIRA, M. N.; DAMIN, M. R. Efeitos da adição de probióticos em bebidas lácteas fermentadas. **Rev. Bras. Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 22(1), 41–46, 2002.

PELAIS, A. C. A.; MARTINS, I. R.; SILVA MARTINS, L. H.; SILVA, A. E.; FIGUEIREDO, E. L.; BRAGA, A. C. C. Viabilidade de bactérias probióticas do gênero *Lactobacillus* em néctar de taperebá: efeito nas propriedades físico-químicas e sensoriais. **Braz. J. Dev.**, 6(5), 25945–25960, 2020.

PIMENTEL, T. C.; PRUDÊNCIO, S. H.; RODRIGUES, R. D. S. Potentially synbiotic peach nectar. **Alim. Nutr. Araraquara**, 22(3), 455–464, 2011.

SANTANA, L. R.; SILVA, J.; PEREIRA, A. Avaliação físico-química de néctares de uva. **Rev. Bras. Prod. Agroind.**, 14(3), 215–222, 2012.

SANTOS, R. B.; BARBOSA, L. P. J. L.; BARBOSA, F. H. F. Probióticos: microrganismos funcionais. **Ciênc. Equatorial**, 1(2), 2011.

SILVA, R. D. A. A. Elaboração de néctar misto de manga e maracujá. 2016. **Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos)** – Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, 2016.

STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, T. T.; GOMES, R. C.; AMARAL, M. P. H.; CARVALHO, A. F.; VILELA, M. A. P. Políticas de saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, 43(2), 181–194, 2007.

ZACARCHENCO, P. B.; MASSAGUER-ROIG, S. Avaliação sensorial, microbiológica e de pós-acidificação durante a vida-de-prateleira de leites fermentados contendo *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus acidophilus*. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 24(4), 674–679, 2004.