



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**ELDER MIGUEL ESPERIDIÃO SILVA BORGES**

**O CACAU (*Theobroma cacao* L.) COMO SUBSTRATO NA  
ELABORAÇÃO DE BEBIDAS FUNCIONAIS POTENCIALMENTE  
PROBIÓTICAS**

**JOÃO PESSOA – PB**

**2021**

**ELDER MIGUEL ESPERIDIÃO SILVA BORGES**

**O CACAU (*Theobroma cacao* L.) COMO SUBSTRATO NA  
ELABORAÇÃO DE BEBIDAS FUNCIONAIS POTENCIALMENTE  
PROBIÓTICAS**

**JOÃO PESSOA – PB**

**2021**

**ELDER MIGUEL ESPERIDIÃO SILVA BORGES**

**O CACAU (*Theobroma cacao* L.) COMO SUBSTRATO NA  
ELABORAÇÃO DE BEBIDAS FUNCIONAIS POTENCIALMENTE  
PROBIÓTICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva

**JOÃO PESSOA – PB**

**2021**

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

B732c Borges, Elder Miguel Esperidião Silva.

O cacau (*Theobroma cacao* L.) como substrato na elaboração de bebidas funcionais potencialmente probióticas / Elder Miguel Esperidião Silva Borges. - João Pessoa, 2021.

45 f. : il.

Orientação: Flávio Luiz Honorato da Silva.  
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT.

1. Cacau. 2. Probióticos. 3. Suco de frutas. 4. Alimentos funcionais. I. Silva, Flávio Luiz Honorato da. II. Título.

UFPB/BC

CDU 633.74(043)

**ELDER MIGUEL ESPERIDIÃO SILVA BORGES**

**O CACAU (*Theobroma cacao* L.) COMO SUBSTRATO NA  
ELABORAÇÃO DE BEBIDAS FUNCIONAIS POTENCIALMENTE  
PROBIÓTICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva

Aprovado em 30 de julho de 2021

**BANCA EXAMINADORA**



---

Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva - PPGEQ/CT/UFPB  
Orientador



---

Prof. Dra. Andrea Lopes de Oliveira Ferreira - PPGEQ/CT/UFPB  
Examinador Interno



---

Dra. Lorena Lucena de Medeiros - PPGCTA/CT/UFPB  
Examinador Externo

A Deus, por ser meu grande amigo e não me deixar desamparado nunca.

À minha família, por todo o apoio e força dados a mim na conclusão de mais uma etapa da minha vida.

À minha avó Maria Borges (in memoriam), por sempre estar ao meu lado e me fazer forte para estar cada vez mais perto dos meus sonhos.

Dedico.

*“Se a vida te der molas, utilize-as para te impulsionar”*

(Autor desconhecido)

## RESUMO

O cacau (*Theobroma cacao* L.), fruto do cacaueiro, é o principal ingrediente presente na composição do chocolate. Porém para a sua produção, é utilizado somente as sementes, tornando a polpa deste fruto um resíduo agroindustrial. Basicamente, essa espécie pode se dividir em três variedades, Forastero, Criollo e Trinitário, sendo cada uma delas responsáveis por características únicas que acaba influenciando no produto final após o processamento. Há muitos estudos que relataram alguns produtos a partir dessa polpa, como geleias, bebidas finas e até mesmo sorvetes. Baseado nessas aplicações da polpa do cacau, o presente estudo teve por objetivo realizar a caracterização físico-química da polpa do cacau, e avaliar seu potencial para a produção de bebidas potencialmente probióticas. Inicialmente foi realizada a caracterização da polpa, através da análise do pH, acidez titulável (ATT), teor de sólidos solúveis (SST), açúcares redutores (AR) e açúcares redutores totais (ART). Durante a análise, verificou-se que, com exceção do teor de sólidos solúveis, todos os parâmetros estavam dentro do estabelecido pela legislação vigente e de acordo com os dados obtidos a partir da revisão de literatura. Após o levantamento bibliográfico e a análise dos dados obtidos, foi possível verificar que a polpa do cacau possui enorme potencial para ser aplicada em processos de obtenção de bebidas potencialmente probióticas. O teor de sólidos solúveis e a concentração de açúcares geram maior impacto nos processos de obtenção dessa bebida, tendo em vista que são os componentes de maior consumo durante o processo. Após o levantamento bibliográfico e a análise dos dados obtidos, foi possível verificar que a polpa do cacau possui enorme potencial para ser aplicada em processos de obtenção de bebidas potencialmente probióticas.

**Palavras-chave:** probióticos; cacau; suco de frutas; alimentos funcionais

## ABSTRACT

Cocoa (*Theobroma cacao* L.), a fruit of the cocoa tree, is the main ingredient present in the composition of chocolate. However, for its production, the seeds are the only part used, making the pulp of this fruit an agro-industrial residue. Basically, this species can be categorized into three varieties, Forastero, Criollo and Trinitário, each one being responsible for unique characteristics that end up influencing the final product after processing. Many studies have obtained products from this pulp, such as jellies, fine drinks and even ice cream. Based on these applications of cocoa pulp, this study aimed to carry out the physicochemical characterization of cocoa pulp and to evaluate its potential for the production of potentially probiotic beverages. Initially, the characterization of the pulp was carried out through the analysis of pH, titratable acidity (ATT), soluble solids content (SST), reducing sugars (AR) and total reducing sugars (ART). During the analysis, it could be noticed that, with the exception of the soluble solids content, all parameters were within the established by current legislation and in accordance with the data obtained from the literature review. After the literature review and the analysis of the obtained data, it was possible to verify that the cocoa pulp has enormous potential to be applied in processes intended to obtain potentially probiotic beverages. The soluble solids content and the concentration of sugars have the greatest impact on the process of obtaining this drink, considering that they are the most consumed components during the process. After the literature review and the analysis of the obtained data, it was possible to verify that the cocoa pulp has enormous potential to be applied in processes intended to obtain potentially probiotic beverages.

**Keywords:** probiotics; cocoa; fruit juice; functional foods.

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 - Variedade do cacau do tipo Criollo. ....	16
Figura 2 - Variedade do cacau do tipo Forastero.....	16
Figura 3 - Variedade do cacau do tipo Trinitário. ....	17

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química média da polpa mucilagínosa de frutos de cacau (g/100g de polpa fresca). .....	18
Tabela 2 - Principais espécies pertencentes aos gêneros Bifidobacterium e Lactobacillus presentes em um intestino saudável.....	21
Tabela 3 - Propriedades terapêuticas e benéficas geradas pelos alimentos contendo probióticos. ....	22
Tabela 4 - Resultados obtidos a partir das análises físico-químicas para a polpa do cacau.....	27
Tabela 5 – Dados obtidos a partir da revisão sistemática para a variável pH e teor de sólidos solúveis totais. ....	34
Tabela 6 – Dados obtidos a partir da revisão sistemática para a variável Acidez. ....	35
Tabela 7 – Dados obtidos a partir da revisão sistemática para a variável Açúcares Redutores e Açúcares Redutores Totais. ....	36

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AR – Açúcares Redutores

ART – Açúcares Redutores Totais

DNS – Ácido 3,5-dinitrosalicílico

HCL - Ácido Clorídrico

NAOH – Hidróxido de Sódio

PH – Potencial Hidrogeniônico

SST – Sólidos Solúveis Totais

UFC – Unidade Formadora de Colônia

# SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	OBJETIVO GERAL	14
1.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	CACAU	15
2.2	ALIMENTOS FUNCIONAIS	19
2.3	EFEITOS DOS ALIMENTOS FUNCIONAIS PROBIÓTICOS	20
3.3	SUCO DE FRUTAS AGREGADO A CULTURA PROBIÓTICA	23
3	MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1	PREPARO DO SUCO	25
3.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA POLPA	25
3.2.1	Potencial hidrogeniônico (pH)	25
3.2.2	Acidez titulável	25
3.2.3	Sólidos solúveis totais (°Brix)	25
3.2.4	Açúcares redutores (AR) açúcares redutores totais (ART) por DNS	25
3.2.5	Revisão sistemática e análise a partir dos trabalhos avaliados	26
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	27
4.1.1	Influência do pH na produção de bebidas probióticas	27
4.1.2	Influência da acidez na produção de bebidas probióticas	28
4.1.3	Influência do teor de sólidos solúveis totais (°Brix) na produção de bebidas probióticas	29
4.1.4	Influência dos açúcares redutores (AR) e açúcares redutores totais (ART) na produção de bebidas probióticas	31
4.1.5	Avaliação dos dados obtidos por meio da revisão sistemática	33
5	CONCLUSÃO	38
	REFERÊNCIAS	39

## 1 INTRODUÇÃO

A árvore que produz o cacau, o cacauzeiro, origina o principal ingrediente presente na composição do chocolate, sendo apreciado pelo mundo inteiro. Pertencente à família Sterculiaceae, o cacau é conhecido por se dividir em três grandes variedades: o Criollo, que devido as suas notas mais agradáveis é mais apreciado pelos grandes chocolateiros; o Forasteiro, responsável por aproximadamente 90% de toda a produção de amêndoas e o Trinitário, que nada mais é que a resultante de um cruzamento entre o Criollo e Forasteiro (ALMEIDA, 1990; VERÍSSIMO, 2012).

Em meados da década de 90, o Brasil era considerado o maior produtor de cacau no mundo inteiro, produzindo aproximadamente 190.000 toneladas (SOARES, 2001). Em 2019, último levantamento realizado, o Brasil ocupou a posição de quarto maior produtor de cacau no mundo, com 265.000 toneladas (BRAINER, 2021). Todavia, o sabor do cacau produzido no Brasil não foi bem aceito no mercado internacional, devido ao seu alto grau de acidez e com baixo “flavor”, característico do chocolate (SCHWAN, 1996). Alguns fatores interferem diretamente na elaboração do “flavor” do cacau, como a origem, genética e condições de cultivo (MASCARÓS, 1993; CRUZ, 2002).

Para ser produzido o chocolate (principal produto oriundo do cacau), se faz necessário o uso somente da semente, sendo a casca e a polpa deste fruto um resíduo agroindustrial (BRITO, 2002). A polpa do cacau é composta por aproximadamente 85% de água, 12% de açúcares e por pequenas quantidades de proteínas e mais alguns componentes. Uma grande aplicabilidade para a polpa do cacau, é a produção de bebidas funcionais na forma de alimentos probióticos.

Devido ao seu alto teor de açúcares (carboidratos), a polpa do cacau se apresenta como uma boa fonte de matéria-prima para diversos processos, sendo o mais aplicável a fermentação (ALMEIDA et al., 2011). O processo fermentativo ocorre pela ação de algum microrganismo, geralmente bactérias ou leveduras, onde em ambiente controlado e sob condições nutricionais adequadas, irão consumir um determinado substrato, metabolizá-lo e gerar um produto de interesse (VICENZI, 2011). Uma grande aplicação desses alimentos fermentados, está na ingestão por indivíduos adeptos a dietas mais saudáveis e restritas. Essa escolha acontece devido ao fato de que esses alimentos apresentam um alto número de nutrientes e praticamente nenhum composto tóxico (ALMEIDA et al., 2011).

Tendo em vista todo o potencial do cacau, o presente trabalho objetiva avaliar as características físico-químicas da polpa do cacau, e realizar uma explanação sobre esse produto como substrato na produção de bebidas probióticas.

Tendo em vista todo o potencial do cacau, o presente trabalho tem os seguintes objetivos:

### 1.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar a polpa do cacau e avaliar sua aplicação como potencial substrato na produção de bebidas probióticas.

### 1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a caracterização físico-química da polpa do cacau;
- Apresentar seu potencial para aplicação na produção de bebidas probióticas;
- Realizar uma revisão sistemática e análise dos resultados obtidos a partir de trabalhos recentes que obtiveram sucesso na produção dessas bebidas.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 CACAU

O cacau (*Theobroma cacao* L.) endêmico da região da Bacia do Amazonas, já é produzido em diversos continentes, como América, África, Ásia e Oceania.

No final da década de 90, as plantações cacaueiras do nordeste da Bahia, sofreram a incidência do fungo *Crinipellis perniciosa*, conhecido por "vassoura de bruxa", onde o mesmo devastou a produção de cacau no país, reduzindo em aproximadamente 53%. Porém, mesmo com essa redução e problemática, o Brasil ainda se destacou no cenário mundial, ocupando o lugar de quarto maior produtor do mundo (VERÍSSIMO, 2012). Após o último levantamento realizado, em 2019. O Brasil ocupou o sétimo lugar no ranking dos maiores países produtores de cacau no mundo, com 265.000 toneladas, o equivalente a 4,6% (BRAINER, 2021)

Por ser uma espécie bem adaptada a regiões de clima temperado, o cacaueiro suporta temperaturas elevadas por um bom espaço de tempo. Entretanto, sua exposição a baixas temperaturas, acaba afetando de forma negativa o desenvolvimento do seu fruto, e consequentemente seus subprodutos (VERÍSSIMO, 2012).

O cacaueiro se caracteriza por ser uma planta perene, dicotiledônea e arbórea (VERÍSSIMO, 2012). Considerada a espécie mais conhecida do gênero *Theobroma* e pertencente à família *Sterculiaceae* é popularmente conhecida por cacau-verdadeiro (LORENZI, 2002; ICCO, 2012). Seu fruto, o cacau, pode medir de 15 a 30 centímetros de comprimento, possui formato oval e se sustentam nos galhos mais grossos do cacaueiro. Cada fruto pode chegar a possuir aproximadamente 35 sementes, onde são envoltas em uma polpa mucilaginosa e esbranquiçada (VERÍSSIMO, 2012; CRUZ, 2002). A depender da região em que o cacau está sendo cultivado, pode haver alterações nas suas características, e consequentemente interferir no produto final.

A espécie *Theobroma cacao* L. pode gerar três variedades distintas de fruto: o tipo Criollo, o tipo Forastero e o tipo Trinitário, onde cada um possui características específicas e que os diferem um do outro (ICCO, 2012; CRUZ, 2002).

O fruto do cacau tipo Criollo (Figura 1), possui aparência alongada com pontas proeminentes, superfície externa rugosa, sementes ovais e soltas em sua polpa mucilaginosa. Chama a atenção pelo seu sabor e aroma ameno devido à ausência de antocianinas responsáveis pelo sabor forte e adstringente, e devido à essas características é considerado uma variedade mais refinada (CRUZ, 2002). Em contrapartida, essa variedade é muito mais suscetível a

doenças e devido a essa característica, representa uma pequena porcentagem de toda a produção mundial de cacau (SEQUEIRA, 2016).

Figura 1 - Variedade do cacau do tipo Criollo.



Fonte: SEQUEIRA, 2016.

Já o cacau do tipo Forastero (Figura 2), apresenta fruto no formato mais redondo, casca rígida e livre de rugas. Suas sementes são mais compactadas e se dispõem presas em sua polpa. Apresenta sabor e aroma bem mais pronunciado e amargo devido à presença das antocianinas, e por isso não é muito bem aceito pela indústria alimentícia. Entretanto, essa variedade é altamente resistente a condições climáticas severas o que a torna responsável pela maior produção mundial, aproximadamente 95% (CRUZ, 2002; SEQUEIRA, 2016).

Figura 2 - Variedade do cacau do tipo Forastero.



Fonte: SEQUEIRA, 2016.

Por fim, o cacau do tipo Trinitário (Figura 3), que nada mais é que o resultado do cruzamento entre o Criollo e o Forastero, apresenta características bioquímicas dos dois grupos e é considerado um híbrido de qualidade superior aos demais, (CRUZ, 2002).

Figura 3 - Variedade do cacau do tipo Trinitário.



Fonte: SEQUEIRA, 2016.

O cacaeiro apresenta um longo período produtivo, aproximadamente 100 anos. Todavia se faz necessário que as plantações de cacau passem por um ciclo produtivo de até 35 anos, respeitando o tempo inicial após o plantio da espécie (BATALHA, 2009). São plantas características de clima úmido e tropical, onde as condições edafoclimáticas ideais para seu desenvolvimento dependem diretamente de um conjunto de fatores, como: fertilidade do solo relativamente alta, solo drenado, aerado e com profundidade de aproximadamente 1,5 m, temperatura pouco variada e precipitação de aproximadamente 2000 mm/ano (VALLE, 2012).

Analisando de modo geral, os frutos do cacaeiro são compostos por um conjunto de sementes (entre 30 e 45) sendo todas cobertas por uma espécie de mucilagem, denominada polpa. Suas sementes são formadas pelo seu embrião, tegumento e dois cotilédones (BECKETT, 2009).

Para os processos industriais, as sementes são colhidas a partir de frutos maduros, por meio da abertura do mesmo e da retirada da polpa que as envolve. Em seguida são passadas por um processo fermentativo, onde há o fornecimento de substratos aos microrganismos e conseqüentemente a ocorrência de reações responsáveis pela conferência do sabor e cor do chocolate (ICCO, 2012). Em seguida, as sementes são submetidas a um processo de secagem para a diminuição do teor de umidade (de 60% para 7,5%), e por fim são embaladas e comercializadas (ICCO, 2012).

A polpa do cacau, devido ao seu alto volume, acaba se tornando um resíduo agroindustrial e a busca por sua aplicabilidade vem crescendo de forma considerável (ALMEIDA e VALLE, 2007). A partir de alguns estudos, foi possível observar o uso da polpa do cacau para diversos produtos, como: geleias de cacau, bebidas finas e fermentadas, álcool, vinagre, iogurtes, sorvetes, sucos e até mesmo a polpa em sua forma natural (BABATOPE, 2005). Outro resíduo considerável na indústria cacaujeira é a casca do cacau, uma vez que compõe aproximadamente 70% do fruto (DONKOH et al., 2008). Apesar de ser considerado um resíduo, a polpa do cacau é uma matéria-prima com grande potencial de aplicabilidade na indústria (ALMEIDA e VALLE, 2007), sendo sua composição formada por água (aproximadamente 85%), açúcares (12,5%) e outros compostos em quantidades reduzidas, tais como proteínas e ácido cítrico (SOARES, 2001). A composição química do cacau está diretamente ligada a inúmeros fatores, onde os principais são o tipo de cacau, a origem das amêndoas, o manejo ambiental e especialmente o quão maduro estão os frutos.

Os componentes que formam a polpa do cacau são de fundamental importância, pois é a partir deles que se dá início ao processo fermentativo, sendo o de maior destaque os açúcares (THOMPSON et al., 2001; SOARES, 2001). A Tabela 1 mostra os principais componentes e suas respectivas médias da composição química da polpa do cacau.

Tabela 1 - Composição química média da polpa mucilaginosa de frutos de cacau (g/100g de polpa fresca).

<b>Componente</b>	<b>Média</b>
Água	83,67
Mono e dissacarídeos	11,9
Polímeros da parede celular	2,15
Citrato	0,79
Proteínas	0,68
Gordura	0,51
Sacarose	2,54
Glicose	4,32
Frutose	5,07
Nitrogênio	0,11

Fonte: Adaptado de PETTIPHER (1986).

Com o passar do tempo e com o aumento de sua aplicabilidade, a polpa do cacau foi ganhando espaço no cenário industrial. Foi nesse panorama que surgiu o seu primeiro subproduto: o mel do cacau (PAZ, 2010). O suco obtido a partir da polpa do cacau possui um sabor bem peculiar, sendo considerado exótico e com boa palatabilidade (PAZ, 2010). A polpa do cacau é composta por uma boa quantidade de carboidratos (mono e dissacarídeos), onde

possui aplicação em diversos processos industriais, como a fermentação (ARMIJOS, 2002; PETTIPHER, 1986).

## 2.2 ALIMENTOS FUNCIONAIS

A busca por um novo estilo de vida tem tornado os consumidores mais dispostos a seguirem uma rotina alimentar mais saudável. Atrelado a esse estilo de vida, houve uma crescente procura por alimentos que não somente sirva como fonte de nutrientes, mas que também, tragam benefícios adicionais a saúde, como a diminuição de doenças (FONTES, 2013; RENUKA et al., 2009).

Para que um alimento seja considerado funcional, o mesmo precisa atuar de forma benéfica em uma ou mais função no organismo, ou seja, além de desempenhar o papel de fornecer nutrientes, o mesmo precisa, de algum modo, promover de forma relevante a saúde e o bem-estar (SANGWAN et al., 2011; FONTES, 2013).

Santos et al. (2019), utilizaram a polpa do cacau como fonte de substrato para a produção de um kefir – suplemento alimentar probiótico composto pela associação de vários microrganismos, e após a avaliação sensorial conseguiram aceitação de 96,47%, mostrando que a polpa de cacau se comporta como uma boa fonte para a produção de probióticos.

Em seus trabalhos, Baldisserra et al. (2011) descreveram o aumento nas buscas por alimentos funcionais e atrelou essa crescente busca a dois principais fatores: a disseminação de informações sobre todos os benefícios gerados por esta classe de alimentos e a conscientização dos consumidores sobre a melhoria da qualidade de vida, após a agregação desses alimentos em sua rotina.

Algumas doenças crônicas como câncer, obesidade, hipertensão e doenças cardiovasculares, têm causado preocupação mundial, devido ao fato de que essas doenças muitas vezes estão associadas ao estilo de vida alimentar (COLLI et al., 2002). Atrelado a essa problemática, o aumento nas pesquisas que visam o entendimento em como esses alimentos se comportam diante dessas doenças, vem tomando uma proporção cada vez maior. De acordo com Vidal et al. (2012), onde buscou compreender a contribuição dos alimentos funcionais na diminuição da incidência de doenças, foi constatado que a ingestão diária de 25 a 30 gramas de fibras podem contribuir para a diminuição nos níveis de colesterol e no combate à obesidade, uma vez que após a ingestão desses alimentos, é gerado uma maior saciedade no indivíduo e uma menor ingestão de outros alimentos.

Esse grupo alimentar pode ser caracterizado de dois modos: quanto a sua origem, seja ela vegetal ou animal, e quanto aos benefícios que oferecem ao organismo: ação antioxidante;

modelagem das funções fisiológicas; diferenciação e desenvolvimento celular; crescimento; metabolismo de substratos; ação no sistema gastrointestinal e cardiovascular (SOUZA et al., 2003).

Diversos autores buscam definições mais específicas para esse grupo de alimentos. Segundo Bellisle e Diplock (1998), um determinado alimento só pode ser classificado como funcional, se apresentar nutrientes que atuem de forma positiva em uma ou mais funções dentro de um organismo. Já de acordo com Milner (1999), para um alimento ser funcional, ele deverá exercer alguma atividade metabólica ou fisiológica que gere contribuição para a saúde física e para a redução do desenvolvimento de doenças crônicas, seus efeitos positivos devem ser obtidos a partir de quantidades não tóxicas e devem continuar exercendo sua função mesmo após a suspensão de sua ingestão. Porém, um alimento funcional não é destinado exclusivamente ao combate ou tratamento de doenças.

No Brasil, o órgão que regulamenta os alimentos funcionais é a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), que tornou público em 30 de abril de 1999 três resoluções acerca do tema. A resolução de nº 17 discute e aprova as diretrizes responsáveis para avaliar a segurança dos alimentos; a resolução de nº 18 aprova as diretrizes referentes as análises e a comprovação de suas propriedades funcionais tomando por base a rotulagem de cada alimento e a resolução de nº 19 aprova os procedimentos para o registro final dos alimentos funcionais (BRASIL, 1999a; BRASIL, 1999b; BRASIL, 1999c).

Uma série de produtos estão sendo considerados como funcionais, incluindo compostos que podem afetar de forma positiva muitas funções do organismo, tanto melhorando a saúde e o bem-estar, como atuando na prevenção de doenças (ROBERFROID, 2002).

O interesse pelos alimentos funcionais, gerou uma enorme comercialização de novos alimentos atuantes na prevenção de doenças crônicas (HASLER, 2000). A disponibilidade desses alimentos no mercado só vem a crescer nos últimos anos, como por exemplo os alimentos fortificados com cálcio que melhoram a saúde dos ossos, assim como outros alimentos ricos em folatos, que atua na prevenção de doenças geradas a partir do tubo neural (VERGARA, 2007; JACOBSON, 1999).

### 2.3 EFEITOS DOS ALIMENTOS FUNCIONAIS PROBIÓTICOS

Probióticos são microrganismos vivos, que quando ingeridos em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro por meio do desenvolvimento da flora microbiana no intestino (SAAD, 2006). Podem ser encontrados pela literatura com outros termos como, bioterapêuticos, bioprofiláticos e bioprotetores (REIG e ANESTO, 2002).

É grande o número de bactérias presentes no trato digestivo humano, a maior parte são anaeróbicas restritas (LEE et al., 1999). Em um intestino considerado sadio, a flora microbiota é formada basicamente por microrganismos pertencentes aos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (KALANTZOPOULOS, 1997). A Tabela 2 descreve quais espécies desses gêneros estão de forma predominante no sistema digestivo de um adulto saudável.

Tabela 2 - Principais espécies pertencentes aos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* presentes em um intestino saudável.

Gêneros	Espécies
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. bifidum</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. adolescentis</i> , <i>B. thermophilum</i> <i>B. animalis</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. delbreuckii subsp. bulgaricus</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. cellibiosus</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i> <i>L. reuteri</i>

Fonte: KALANTZOPOULOS (1997).

Algumas características são requeridas para que um microrganismo seja considerado probiótico: ele deve sobreviver a todas as condições do estômago, deve ser capaz de passar por todo o trato digestivo sem que sofra mudança em sua fisiologia e deve se aderir ao tecido epitelial do intestino para posterior colonização (DE MORAIS e JACOB, 2006). Ao entrar em contato com o epitélio do intestino, esses microrganismos podem desencadear uma resposta imunológica contra possíveis patógenos (OLIVEIRA, 2007).

Nas últimas décadas as propriedades dos alimentos contendo probióticos têm sido alvo de muitos estudos. Todavia, os efeitos benéficos gerados por esses microrganismos estão relacionados a algumas cepas específicas, e não a gêneros/espécies específicos. Na Tabela 3, está descrita a relação de alguns efeitos benéficos e suas possíveis causas e mecanismos vinculados aos alimentos contendo probióticos.

Tabela 3 - Propriedades terapêuticas e benéficas geradas pelos alimentos contendo probióticos.

Efeitos Benéficos	Possíveis causas e mecanismos
Alívio da intolerância à lactose	Níveis reduzidos de lactose no produto e maior disponibilidade de lactase.
Ação contra patógenos	Produção de compostos antimicrobianos
Controle e prevenção de alergias	Promove o fortalecimento da barreira imunológica
Efeito anticarcinogênico	Redução de enzimas promotoras de processos cancerígenos
Modulação imunológica	Melhora a formação dos macrófagos e estimula a produção de células supressoras

Fonte: REIS et al. (2011).

Há alguns autores que recomendam a ingestão diária de probióticos (RODRIGUEZ et al., 2013), porém a quantidade necessária e a frequência da ingestão de probióticos, ainda requer estudos mais precisos (GILLILAND, 2001).

De acordo com Kempka (2008), é sugerido que a ingestão semanal seja em torno de 400g de produtos lácteos contendo entre  $10^7$  e  $10^6$  UFC/ml, entretanto a ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária recomenda que seja ingerido no mínimo  $10^9$  UFC/dia.

Há alguns fatores que interferem na permanência desses microrganismos no intestino, como pH, concentração de substrato e a interação bacteriana. Assim sendo, os microrganismos pertencentes aos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* são os de maior interesse industrial para produção de alimentos fermentados (COELHO, 2009).

Em seus estudos, Elfahri et al. (2016) constataram que durante todo o processo de fermentação, as bactérias são capazes de produzirem metabólitos extracelulares com propriedades antioxidantes, como expolissacarídeos e peptídeos.

Em pesquisa realizada com gestantes, foi observado que a suplementação nutricional contendo probióticos durante o início da amamentação foi tolerado pela mãe e pelo bebê (MANTARING, 2018). Além disso, uma outra pesquisa sugeriu a aplicação de *Lactobacillus acidophilus* na atenuação da menopausa, gerando redução em quadros de depressão, gordura corpórea e diminuição de dores, tudo isso em mulheres idosas que apresentam quadro de menopausa (LIM et al., 2018).

No entanto, Sotoudegan et al. (2019) reavaliaram o efeito dos alimentos probióticos na saúde humana. Eles observaram que em grupos específicos, crianças, idosos e pacientes com comorbidades, apresentaram piora em quadros de infecção sistêmica, complicações na pele e até mesmo a migração de genes que compõem o material genético do probiótico para a microflora do intestino humano.

### 3.3 SUCO DE FRUTAS AGREGADO A CULTURA PROBIÓTICA

Os probióticos são encontrados no comércio de diversas formas, seja como alimentos, bebidas, suplementos e até mesmo como medicamentos. Entretanto, esses alimentos estão diretamente relacionados a produtos lácteos, o que de certa forma gera algumas limitações aos consumidores (PEREIRA et al., 2017).

A utilização de suco de frutas e outros produtos vegetais visando a substituição do leite, vem ganhando espaço cada vez maior no ramo alimentício. Essa crescente se dá devido ao fato de que uma série de benefícios estão associados a esses alimentos, como a ausência de colesterol e a presença de vitaminas, minerais, fibras e compostos antioxidantes (PEREIRA et al., 2011).

Por essa razão, a crescente busca por alimentos probióticos alternativos aos produtos lácteos vem ganhando destaque. Isso acontece devido ao grande número de pessoas que aderem ao veganismo e, àqueles que sofrem de intolerância à lactose e alérgicos às proteínas que constituem o leite (SWAIN et al., 2014). Ainda é muito comum associar a fermentação láctica à alimentos derivados do leite, porém é possível obter utilizando outros substratos, como os sucos de frutas, desde que possuam açúcares fermentescíveis em sua composição centesimal (MALDONADO et al., 2014).

São muitas as frutas aplicadas como fonte de produtos probióticos. Em seus estudos, Amorim et al. (2018), avaliaram o potencial do suco do abacaxi como matriz em um processo fermentativo, e obtiveram resultados que mostraram a capacidade probiótica dessa matéria-prima, sugerindo que o suco de fruta avaliado é um bom substrato para a agregação de culturas probióticas.

Durante pesquisa, Machado e Rizzatto (2019), investigaram o processo fermentativo do suco de maracujá utilizando o *Lactobacillus casei*. Eles observaram que o microrganismo se adaptou bem ao meio com o suco, porém com seu pH ajustado para 6,0. Observaram também que após processo, o microrganismo apresentou  $10^8$  UFC/mL e viabilidade constante durante 21 dias sob refrigeração a 4°C.

Ribeiro (2019), ao avaliar a fermentação do suco do cajá empregando *Lactobacillus acidophilus* como microrganismo fermentativo, constatou que o produto obtido apresentou boa estabilidade quando armazenada por 28 dias a 4°C. Além disso, o suco obtido não apresentou alteração nas suas propriedades probióticas após os estresses gastrointestinais simulados *in vitro*.

Filho (2018), aplicou a polpa do cacau como substrato para a produção de uma bebida probiótica. Durante o processo não foi necessário a adição de açúcares, ou seja, o microrganismo utilizou somente os açúcares presentes na polpa. Ao fim do processo, foi possível obter uma bebida dentro dos parâmetros desejados.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 PREPARO DO SUCO

Todo o trabalho foi realizado no Laboratório de Bioengenharia, no Centro de Tecnologia, na Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – Paraíba.

Para o preparo dos sucos, foram utilizadas polpas industrializadas da marca GUTTI®, lote 0544 com validade até 25 de fevereiro de 2021, as quais foram armazenadas congeladas (-18°C) até o uso. Para preparo dos sucos, a polpa foi diluída na proporção de 100 g de polpa para 200 mL de água.

#### 3.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA POLPA

##### 3.2.1 Potencial hidrogeniônico (pH)

A polpa foi inicialmente caracterizada quanto ao seu pH por potenciometria direta. O phmetro foi calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e 4,0, seguindo a metodologia descrita por AOAC (1994).

##### 3.2.2 Acidez titulável

A acidez foi determinada pela titulação da amostra com solução de NaOH a 0,1N, e utilizou-se, como indicador do ponto de viragem, a solução alcoólica de fenofaleína a 1%. Os resultados foram expressos em mL de solução M% (IAL, 2008).

##### 3.2.3 Sólidos solúveis totais (°Brix)

Para a determinação do grau Brix, foi utilizado o refratômetro de Abbé digital, onde foi inserido 1 mL da amostra no equipamento, e procedeu-se com a leitura. O resultado foi expresso de forma corrigida de acordo com a temperatura (IAL, 2008).

##### 3.2.4 Açúcares redutores (AR) açúcares redutores totais (ART) por DNS

Esse método toma por base a reação do ácido 3,5-dinitrosalicílico a 3-amino-5-nitrosalicílico (DNS), segundo a metodologia descrita por Miller (1959).

Para a quantificação dos Açúcares Redutores Totais, foi necessário realizar a inversão da sacarose para posterior análise. Inicialmente, foi adicionado 1mL da amostra previamente

diluída, a 1mL de HCL 2N. Em seguida a mistura foi levada para aquecimento a 100°C por 5min e logo após resfriada em banho de gelo. Depois de fria, foi adicionado 2mL de NaOH a 2N e homogeneizado. Logo em seguida, resgatou-se 0,5mL da amostra homogeneizada e acrescentou-se 0,5mL do reagente DNS. Por fim, a amostra foi submetida a leitura da absorvidade em 540nm.

O branco para a realização das leituras, foi preparado a partir da mistura de 0,5mL de água destilada e 0,5mL de DNS.

Para quantificar os Açúcares Redutores, foi adicionado a 0,5mL da amostra previamente diluída em 0,5 mL do reagente DNS. Em seguida a amostra foi aquecida a 100°C por 5min, resfriada em banho de gelo e submetida a leitura da absorvidade em 540nm.

### 3.2.5 Revisão sistemática e análise a partir dos trabalhos avaliados

Após a obtenção dos dados a partir da caracterização físico-química, foi realizada uma revisão sistemática e análise dos dados, a fim de comparar os resultados obtidos com o que há de mais recente na literatura.

Foi feito um levantamento de trabalhos que objetivaram a produção de produtos probióticos a partir de diferentes matrizes, sendo a principal delas o suco de frutas. Em seguida, foram comparados esses parâmetros entre os resultados obtidos pelos diferentes autores.

Após a apresentação do comparativo entre os dados obtidos com trabalhos recentes, foi realizado uma revisão sistemática entre outros trabalhos que buscaram realizar a produção de bebidas probióticas utilizando algumas matrizes como fonte de substrato.

Foi feito um levantamento de 120 trabalhos onde a principal característica entre eles, foi a utilização de frutas ou parte de frutas para a caracterização e/ou síntese de algum produto. Após o levantamento, aplicou-se uma filtragem dos trabalhos selecionando os de maior interesse para a discussão.

Após essa avaliação na revisão sistemática, foram selecionados 08 trabalhos para a discussão dos resultados obtidos. Dos 08 trabalhos analisados, 04 verificaram alguns parâmetros da polpa do cacau.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A Tabela 4, apresenta os resultados obtidos a partir das análises físico-químicas da polpa do cacau.

Tabela 4 - Resultados obtidos a partir das análises físico-químicas para a polpa do cacau.

Análise	Resultado	Valor mínimo exigido*
pH	3,46 ± 0,02	3,4
Acidez Titulável	1,18 ± 0,05 de % ácido cítrico	0,75% de ácido cítrico
Sólidos Solúveis Totais	11,07 ± 0,12 °Brix	14 °Brix
Açúcares Redutores	9,01 ± 9,26 g/100g	-
Açúcares Redutores Totais	11,51 ± 4,97 g/100g	10g/100g

Fonte: Autor (2021).

\*Valores exigidos pela legislação de acordo com a Instrução Normativa nº 37 de 1º de outubro de 2018, fixada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2018).

#### 4.1.1 Influência do pH na produção de bebidas probióticas

Após a análise do pH da polpa do cacau, foi possível identificar o valor de  $3,46 \pm 0,02$ , o que vai de acordo com trabalhos realizados por Penha e Matta (1998), onde observaram algumas características físico-químicas da polpa do cacau.

Alguns fatores podem influenciar diretamente o pH da polpa do cacau, sendo o principal deles a presença de alguns ácidos orgânicos, como ácido acético e o ácido cítrico. Em estudos realizados, foi possível identificar o pH de 3,75 - ligeiramente superior ao encontrado neste trabalho. Anvoh et al. (2009), associam esse comportamento ao fato de que esses ácidos, presentes na polpa, desempenham funções de preservação antibacteriana do produto. Essas características químicas, refletem diretamente no grau de preservação desse alimento, uma vez que a propagação de microrganismos em meios ácidos é mais difícil de ocorrer, favorecendo assim a conservação.

De acordo com a Instrução Normativa nº 37 de 1º de outubro de 2018, fixada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o parâmetro de pH dessa espécie, deve ser de no mínimo 3,4, para estar dentro dos padrões de qualidade e identidade do fruto, o que vai de acordo com os dados obtidos no trabalho (BRASIL, 2018).

Para a obtenção de bebidas fermentadas, o pH é uma das variáveis de maior impacto no produto final. Entretanto, o pH dos sucos de frutas são bem inferiores ao pH ótimo dos microrganismos produtores de alimentos probióticos. Em pesquisa, foi avaliado o comparativo do processo de obtenção de probióticos, por meio do *Lactobacillus casei* utilizando dois meios com pH distintos, um meio estava ajustado para 3,03 e o outro meio com 6,0. Após o processo, verificou-se que os resultados obtidos com o pH 6,0 foram bem superiores ao meio com pH 3,0 (MACHADO e RIZZATTO, 2019). Quando comparado esse dado com outros trabalhos, verifica-se que o mesmo não se torna tão satisfatório como os demais.

O ajuste de pH dos meios de cultivo é uma etapa que gera custo - tendo em vista que há adição de ácidos ou bases com o intuito de alcalinizar - através da adição de ácidos, ou basificar - por meio da adição de bases. Ao encontrar um meio de cultivo com pH favorável ao crescimento do microrganismo, há a diminuição dos custos do processo, tendo em vista que essa etapa de correção de pH será eliminada.

Em seus estudos, Ribeiro (2019) avaliou o processo fermentativo para produção de suco probiótico de cacau, utilizando o microrganismo *Lactobacillus acidophilus* como produtor. No início do processo foi preciso ajustar o pH do meio para 6,4; tendo em vista que este é o pH ótimo para o melhor desempenho dessa bactéria.

Portanto, o pH da polpa do cacau apresentou um valor bastante satisfatório tendo em vista a sua aplicação como fonte para a produção de produtos probióticos. Seu comportamento em um processo fermentativo se caracteriza como um dos fatores de maior interferência no processo e influencia diretamente na fermentação.

#### 4.1.2 Influência da acidez na produção de bebidas probióticas

Através da análise de acidez titulável, foi obtido um valor de 1,18% de ácido cítrico. Esse dado mostra que a faixa de acidez na polpa do cacau é ligeiramente menor que a acidez do fruto *in natura*. Porém, esse dado da acidez está de acordo com os parâmetros estabelecidos pela Instrução Normativa nº 37 de 1º de outubro de 2018, fixada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, onde diz que o valor mínimo de acidez aceitável é de 0,75% de ácido cítrico (BRASIL, 2018).

Em trabalhos realizados por Alexandre et al. (2015), onde analisaram diversas características de alguns clones de cacau, obtiveram valores para acidez numa faixa entre 1,57 até 2,12 % de ácido cítrico.

Há alguns estudos que mostram essa pequena diferença na acidez de polpas de frutas congeladas e frutas *in natura*. Martim et al. (2013), ao analisarem a acidez de frutos do cupuaçu *in natura* (espécie pertencente ao gênero *Theobroma*) encontraram valores em torno de 1,94 % de ácido cítrico. Já nos resultados encontrados por Freire et al. (2009), onde analisaram polpas de cupuaçu de marcas comerciais, encontraram valores de 1,38% de ácido cítrico.

Os resultados obtidos neste trabalho estão de acordo com os dados da literatura. Alexandre et al. (2015), ao caracterizar frutos de alguns clones do cacau, identificaram que houve uma pequena variação entre os resultados encontrados na análise da acidez, onde o menor valor encontrado foi de 1,57% de ácido cítrico e o maior de 2,12% de ácido cítrico. Esse dado está diretamente relacionado com as características gustativas da polpa do cacau e também com sua preservação diante de microrganismos contaminantes (ALEXANDRE et al., 2015).

A forma de cultivo, o período da safra e fatores climáticos estão diretamente relacionados à acidez presente nos frutos do cacau. Ao avaliar três clones de cacau em duas safras distintas, Pereira et al. (2019) obtiveram valores de 0,94g/100g de ácido cítrico até 1,49g/100g de ácido cítrico, sendo esses valores dentro da legislação estabelecida (BRASIL, 2018). Esse dado corrobora com os estudos realizados por Penha e Mata, (1998), onde também avaliaram os teores de acidez do cacau em diferentes safras.

Um outro fator que pode interferir diretamente na acidez dos frutos, é o grau de maturação em que os mesmos estão. Dantas et al. (2010), explicaram que essa variação ocorre devido ao fato de que, quanto maior o grau de amadurecimento do fruto, menor a concentração de ácido cítrico presente no fruto.

Para processos fermentativos, esse parâmetro da acidez não tem uma influência tão significativa (diferentemente do pH, que precisa estar de acordo com a necessidade do microrganismo). A acidez está mais relacionada com a apreciação do produto final, uma vez que esse parâmetro interfere diretamente em análises sensoriais e conseqüentemente na aceitação do produto. Alguns processos de fermentação ocorrem, em sua maioria, a decomposição do alimento, o que ocasiona na alteração da concentração dos íons de hidrogênio, portanto havendo a modificação da acidez no produto final (AROUCHA et al., 2010).

#### 4.1.3 Influência do teor de sólidos solúveis totais (°Brix) na produção de bebidas probióticas

O valor obtido para o teor de sólidos solúveis totais (SST) foi de 11,07 °Brix, valor considerado bom para polpas de frutas congeladas. Moreira (2017), ao analisar o teor de sólidos solúveis (°Brix) em diversos clones de cacau *in natura*, obteve uma média de 17,8, valor bem

acima do encontrado neste trabalho, o que corrobora com os dados obtidos por Amorim et al. (2010), que ao avaliarem o teor de sólidos solúveis em diferentes marcas de polpas congeladas de cacau, obtiveram valores entre 17 e 19 °Brix.

Alguns fatores podem interferir no teor de sólidos solúveis em polpas de frutas, como teor de precipitação, nutrição do solo e a quantidade excessiva de água (SANTOS, et al., 2002). Alguns outros fatores são mencionados por Honorato et al. (2015), como a intensidade do período de chuvas, a safra em que esses produtos foram cultivados e coletados, e também se houve ou não a adição de água durante o processamento dessa matéria-prima, o que pode levar a diluição dos açúcares presentes, em virtude da adição de água.

O teor de sólidos solúveis em alimentos, principalmente polpas de frutas, interfere diretamente na aplicabilidade desses frutos. O alto índice desses sólidos, indicam uma maior aceitação pela indústria de alimentos, tendo em vista que quanto maior a concentração desses sólidos, menor será o acréscimo de açúcares durante o processo de fabricação, e consequentemente menor serão os custos para a obtenção do produto final (COSTA, et al., 2004).

De acordo com a Instrução Normativa nº 37 de 1º de outubro de 2018, fixada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, onde diz que o valor mínimo aceitável é de 14 °Brix, o valor encontrado para esse parâmetro está abaixo do recomendado pela legislação (BRASIL, 2018). Essa diferença pode ter ocorrido devido ao fato de a amostra estar congelada, o que pode dar uma diferença no resultado, tendo em vista que o processo de congelamento pode gerar perdas mínimas no percentual de sólidos solúveis contidas na amostra.

Em seus estudos, Alexandre et al. (2015), ao realizarem a caracterização físico-químicas de diferentes clones do cacau, observaram valores que oscilavam entre 12,97 e 16,55 °Brix. Já nos estudos de Pereira (2019), ao caracterizar frutos do cacau, chegou a valores de 15,8 a 17,8 °Brix. Importante destacar que, o teor elevado de açúcares e o baixo valor de pH, contribui diretamente para a conversão de açúcar em álcool e CO<sub>2</sub> relacionado à ausência de oxigênio (THOMPSON et al., 2001).

Honorato et al. (2015), investigaram algumas características físico-químicas de diversas polpas congeladas de frutas, entre elas estava a polpa do cacau. Ao realizar a análise do teor de sólidos solúveis totais, foi possível chegar ao valor de 13 °Brix, ligeiramente superior ao valor identificado neste trabalho.

O teor de sólidos solúveis é o indicativo utilizado para apontar o grau de maturidade dos frutos, pois está intimamente ligado aos açúcares presentes (BATISTA et al. 2013). Na maioria das vezes, quando um produto não atinge o valor exigido pela legislação, pode estar

havendo uma certa negligência por parte dos fabricantes. Isso indica que as amostras analisadas podem ter passado por uma etapa de diluição durante a fabricação ou os frutos foram coletados antes do período correto de maturação, ocasionando assim, num teor de açúcares menor do que o desejável.

Para a produção de bebidas fermentadas, o teor de sólidos solúveis é uma variável que interfere diretamente no produto final, tendo em vista que na maior parte dos processos, os microrganismos consomem esses sólidos, que na maioria são compostos de açúcares. Durante esse processo, a tendência é que a quantidade desses sólidos vá diminuindo com o passar do tempo, uma vez que está havendo o consumo desse substrato para a produção de algum produto de interesse.

Ribeiro (2019), ao produzir uma bebida fermentada utilizando o cajá como substrato, pôde observar bem esse consumo dos sólidos solúveis. No trabalho em questão, não houve adição de nenhum tipo de açúcar - utilizando somente os açúcares da própria matéria-prima. O teor inicial de sólidos solúveis foi aferido em 8,55 °Brix, e após 16h de fermentação foi verificado que havia atingido o valor de 7,85 °Brix. Após atingir esse valor, o teor dos sólidos solúveis foi estabilizado, encerrando assim, o processo fermentativo, uma vez que não havia mais substrato que pudesse ser convertido no produto de interesse.

#### 4.1.4 Influência dos açúcares redutores (AR) e açúcares redutores totais (ART) na produção de bebidas probióticas

Os valores encontrados para os açúcares redutores e açúcares redutores totais foram de 9,01g/100g e 11,51g/100g, respectivamente. Em seus estudos, Barreto et al. (2013) investigaram algumas características físico-químicas de polpas do cacau, e verificaram que o valor obtido para os açúcares redutores totais foi de 16,82g/100g. Pereira et al. (2019), também buscou identificar as características físico-químicas de clones do cacau, e ao verificar os teores de açúcares, chegou a valores de 10,3g/100g para açúcares redutores e 16,0g/100g para açúcares redutores totais.

Assim como nos demais parâmetros avaliados neste trabalho, os teores de açúcares podem variar de acordo com vários fatores, sendo os principais: os fatores edafoclimáticos - precipitação e condições do solo e a variação genética do fruto em que a polpa foi extraída, tudo isso acaba resultando em diferentes teores de sólidos de açúcares.

Pereira et al. (2019), avaliaram diferentes clones de cacau coletados em diferentes safras, e pôde verificar que tanto a diferença genética como as diferentes condições de cada

safra, interferiram no teor de açúcares. Ao analisar os açúcares redutores da variedade Parazinho coletada em dezembro/2018, foi possível identificar o teor de açúcares de 10,3g/100g, enquanto a variedade PS1319 coletada em agosto/2018, apresentou o teor de 11,5g/100g.

Esses dados identificados por Pereira et al. (2019), estão ligeiramente superiores aos deste trabalho, isso pode ocorrer devido a dois principais fatores. O primeiro deles é em quais condições aquele fruto foi coletado, o que pode interferir diretamente no produto. O segundo é o fato da polpa ter passado por um processamento industrial, por mais que tenha sido mínimo, há a possibilidade de ter ocorrido alguma diluição na matéria-prima, o que conseqüentemente gera diminuição no teor de alguns componentes do produto. Esse processamento da polpa do cacau e conseqüentemente sua possível diluição, pode fazer com que esses alimentos não estejam de acordo com a legislação que rege a instrução normativa de polpa de frutos.

Assim como nos demais parâmetros avaliados neste trabalho, a Instrução Normativa nº 37 de 1º de outubro de 2018, fixada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, exige um valor mínimo para os teores de açúcares redutores totais em frutos do cacau, que é de no mínimo 10g/100g (BRASIL, 2018). O que está de acordo com os dados obtidos, uma vez que foi encontrado o valor de 11,51g/100g.

A maior característica dos açúcares redutores, é que esses componentes apresentam em sua forma estrutural grupos carbonílicos e cetônicos livres, que por sua vez possuem a capacidade de se oxidarem na presença de agentes oxidantes. Todos os açúcares que compõem os monossacarídeos são açúcares redutores, sendo os mais comuns a glicose e a frutose.

Há alguns relatos na literatura, onde descrevem a polpa do cacau como substrato potencialmente probiótico. Filho (2018), utilizou a polpa do cacau como substrato para a produção de uma bebida funcional probiótica. Foi utilizado somente o suco da polpa do cacau como meio de cultivo para avaliar alguns parâmetros, como o crescimento celular e o comportamento do microrganismo no produto final.

Este autor pôde observar bem como se deu o crescimento da bactéria aplicada, *Lactobacillus casei*, no meio contendo apenas o suco do cacau como fonte de energia. Inicialmente foi inoculado 7,00 log UFC/mL, e esse valor foi aumentando durante o tempo de fermentação. Juntamente aos teores de açúcares no meio, o pH e a temperatura foram fatores que interferiram diretamente no processo.

Um outro fruto, também do gênero *Theobroma*, é o cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), que apresenta enorme potencial para a produção de bebidas probióticas, assim como o cacau. De acordo com Pereira et al. (2017), onde aplicaram a polpa do cupuaçu como

substrato na produção de bebidas probióticas, pôde observar que essa matriz também apresentou comportamento semelhante ao cacau, e justifica essa semelhança ao fato dessas duas espécies pertencerem à mesma família.

#### 4.1.5 Avaliação dos dados obtidos por meio da revisão sistemática

O primeiro parâmetro analisado durante a revisão sistemática foi o pH. Foi verificado alguns trabalhos onde objetivaram fazer o levantamento dos parâmetros físico-químicos de algumas frutas e todos eles avaliaram esse parâmetro.

Pereira et al. (2019), buscaram caracterizar três diferentes clones de cacau, sendo eles o Parazinho, o PS1319 e o LP06. Esses autores obtiveram o mesmo valor médio do pH para as três variedades, chegando ao valor de  $3,90 \pm 0,00$ . Essa similaridade pode ter se dado devido ao fato de as três variedades terem sido coletadas no mesmo período, ou seja, características edafoclimáticas podem ter gerado essa semelhança nesse parâmetro para os três clones.

Alexandre et al. (2015) também buscaram caracterizar a polpa de diferentes variedades de cacau, e para o pH, obtiveram o valor médio de  $3,32 \pm 0,11$ , corroborando com o valor médio obtido por Pereira et al. (2019).

Em seu trabalho, Ribeiro (2019) buscou produzir uma bebida probiótica utilizando como substrato a polpa do cajá, utilizando o *Lactobacillus acidophilus* como microrganismo na fermentação. Após o processo foi verificado o decaimento do teor de sólidos solúveis de 8,0 °Brix para 7,85 °Brix. Esse decréscimo nesse parâmetro está intimamente relacionado ao consumo de açúcares pelos microrganismos para a sua manutenção e estabilidade na bebida.

Uma forma de confirmar esse comportamento desse parâmetro, seria ter avaliado o teor de açúcares redutores totais no início e no final de todo o processo. Entretanto, o autor não buscou avaliar esse parâmetro para reafirmar o que foi observado no teor de sólidos solúveis.

Machado e Rizato (2019), também objetivaram algo semelhante ao trabalho de Ribeiro (2019). Esses autores buscaram produzir uma bebida probiótica a partir da polpa do maracujá, utilizando o *Lactobacillus casei* como microrganismo na fermentação. No início do processo, o teor de sólidos solúveis foi ajustado para 3,5 °Brix, sendo esse valor reduzido para 2,5 °Brix. Essa diminuição ocorreu devido ao consumo dos açúcares presentes na polpa e consequente produção de ácidos.

É preciso levar em consideração alguns pontos para poder compreender essa divergência de valores para tal análise. Essas espécies podem ter sofrido diferentes condições de manejo, assim como podem ter passado por diferentes condições climáticas durante o processo de cultivo. O grau de maturação também precisa ser levado em consideração.

O fruto do maracujá é naturalmente mais ácido que os demais, ou seja, há uma maior concentração de ácidos orgânicos em sua polpa – geralmente ácido cítrico e ácido málico. Quanto maior os níveis desses ácidos, menor o grau de maturação dos frutos, uma vez que o elevado índice de ácidos orgânicos inibe o crescimento de alguns microrganismos responsáveis por acelerar o processo de maturação.

A Tabela 5 mostra os dados extraídos durante o processo de revisão sistemática, e pode-se verificar que todos os autores avaliaram os parâmetros de pH e teor de sólidos solúveis.

Tabela 5 – Dados obtidos a partir da revisão sistemática para a variável pH e teor de sólidos solúveis totais.

Autor	Matéria-prima	pH	pH médio	SST (°Brix)	SST médio
Honorato et al. (2015)	Maracujá	3,23	3,55±0,55	9,32	11,18±1,75
	Abacaxi	3,92		12,7	
	Caju	4,13		12	
	Cacau	3,66		13,39	
	Umbu	2,61		9,4	
	Graviola	3,72		10,28	
Pereira et al. (2019)	Cacau parazinho	3,90	3,90±0,00	14,57	15,56±0,92
	Cacau PS1319	3,90		15,7	
	Cacau LP06	3,90		16,4	
Santos et al. (2019)	Abacaxi	3,56	3,98±1,03	18	11,40±3,03
	Ameixa	3,07		7	
	Caqui	5,28		13	
	Laranja	4,06		11	
	Maçã	3,88		13	
	Mamão	4,50		11	
	Maracujá	2,61		12	
	Melão	6,00		10	
	Morango	3,35		8	
Uva	3,50	11			
Alexandre et al. (2015)	Cacau CC10	3,19	3,32±0,11	16,55	14,43±1,23
	Cacau CEPEC2002	3,36		14,35	
	Cacau PH15	3,22		12,97	
	Cacau CCN51	3,24		15,05	
	Cacau PS1319	3,45		15,05	
	Cacau TSH1188	3,45		13,65	
	Cacau PH16	3,31		13,42	
Penha e Mata (1998)	Cacau de safra	3,26	3,44±0,25	17	17,75±1,06
	Cacau temporão	3,62		18,5	
Machado e Rizzato (2019)	Maracujá	4,44	4,44	2,5	2,50
Ribeiro (2019)	Cajá	6,63	6,63	7,85	7,85
Gonçalves et al. (2013)	Cupuaçu	3,68	3,68	13	13,00

Fonte: Autor (2021).

Além da análise do pH desses frutos, esses autores identificaram o teor de sólidos solúveis que estão compondo essa matéria-prima. Como citado anteriormente, esse teor de sólidos, na maioria das vezes compostos por açúcares, é um parâmetro de grande importância a ser avaliado.

A acidez, outro parâmetro avaliado durante a revisão sistemática, teve comportamento bastante similar dentro dos frutos da mesma espécie. Alexandre et al. (2015) obtiveram valor médio de  $1,91 \pm 0,20$ , onde os valores individuais estão de acordo entre si, devido aos dados verificados pelo desvio.

Na Tabela 6, estão os dados obtidos através da revisão sistemática para o parâmetro da acidez. Os dados estão expressos em % de ácido cítrico.

Tabela 6 – Dados obtidos a partir da revisão sistemática para a variável Acidez.

Autor	Matéria-prima	Acidez (% ácido cítrico)	Acidez média
Honorato et al. (2015)	Maracujá	2,51	1,13±0,80
	Abacaxi	0,57	
	Caju	0,46	
	Cacau	0,72	
	Umbu	1,65	
	Graviola	0,84	
Pereira et al. (2019)	Cacau parazinho	1,40	1,33±0,12
	Cacau PS1319	1,40	
	Cacau LP06	1,20	
Santos et al. (2019)	Abacaxi	6,00	6,89±11,90
	Ameixa	11,30	
	Caqui	0,08	
	Laranja	0,91	
	Maçã	1,47	
	Mamão	0,20	
	Maracujá	39,13	
	Melão	0,08	
	Morango	6,13	
	Uva	3,57	
Alexandre et al. (2015)	Cacau CC10	2,12	1,91±0,20
	Cacau CEPEC2002	2,04	
	Cacau PH15	2,01	
	Cacau CCN51	2,04	
	Cacau PS1319	1,78	
	Cacau TSH1188	1,79	
	Cacau PH16	1,57	
Penha e Mata (1998)	Cacau de safra	1,55	1,55±0,00
	Cacau temporão	1,55	
Machado e Rizzato (2019)	Maracujá	6,63	6,63
Ribeiro (2019)	Cajá	0,01	0,01
Gonçalves et al (2013)	Cupuaçu	1,81	1,81

Fonte: Autor (2021).

Um outro parâmetro que vai de acordo com o teor de sólidos solúveis, são os açúcares presentes na matéria-prima. Penha e Mata (1998), caracterizaram polpas de diferentes safras do cacau, e chegaram a valores de 16,6 g/100g e 19,46 g/100g de polpa nas duas safras analisadas. Esse valor vai de acordo com o que foi obtido por Pereira et al. (2019), que obtiveram o valor médio de 11,3 g/100g de polpa.

A Tabela 7 descreve os dados de açúcares redutores e açúcares redutores totais para os trabalhos verificados na revisão sistemática.

Tabela 7 – Dados obtidos a partir da revisão sistemática para a variável Açúcares Redutores e Açúcares Redutores Totais.

Autor	Matéria-prima	AR (g/100g)	AR médio	ART (g/100g)	ART médio
Honorato et al. (2015)	Maracujá	N/A		-	
	Abacaxi	-		-	
	Caju	-	-	-	-
	Cacau	-		-	
	Umbu	-		-	
	Graviola	-		-	
Pereira et al. (2019)	Cacau parazinho	11,00	11,30±0,26	16,55	16,46±0,16
	Cacau PS1319	11,50		16,56	
	Cacau LP06	11,40		16,28	
Santos et al. (2019)	Abacaxi	4,61	6,51±3,18	16,67	10,40±3,83
	Ameixa	5,87		7,60	
	Caqui	12,31		15,82	
	Laranja	2,38		4,96	
	Maçã	9,01		9,65	
	Mamão	5,86		8,29	
	Maracujá	2,97		6,99	
	Melão	5,12		10,78	
	Morango	6,59		9,83	
	Uva	10,37		13,39	
Alexandre et al. (2015)	Cacau CC10	-		-	
	Cacau CEPEC2002	-		-	
	Cacau PH15	-		-	
	Cacau CCN51	-	-	-	-
	Cacau PS1319	-		-	
	Cacau TSH1188	-		-	
Penha e Mata (1998)	Cacau de safra	8,41	9,83±2,00	16,60	18,03±2,02
	Cacau temporão	11,24		19,46	
Machado e Rizzato (2019)	Maracujá	-	-	-	-
Ribeiro (2019)	Cajá	-		-	-
Gonçalves et al. (2013)	Cupuaçu	-	-	-	-

Fonte: Autor (2021).

Alguns frutos da mesma espécie, apresentaram valores bastante divergentes para a acidez. Um deles foi o maracujá, avaliado por Honorato et al. (2015), apresentando valor de 2,51 % de ácido cítrico, enquanto Santos et al. (2019), apresentou valor de 39,13 % de ácido cítrico, ambos avaliando as características do maracujá.

De todas as análises citadas, os teores de açúcares redutores e redutores totais, foram os únicos quantificados apenas por três autores. Para os autores que analisaram o cacau, todos os valores obtidos estão de acordo entre si e obedecendo o que a legislação vigente exige.

Santos et al. (2019), analisaram os teores de açúcares de diferentes frutos. O desvio obtido pela média sofreu bastante variação, devido ao fato de que são frutas muito distintas, e esse teor de açúcares acaba passando por uma oscilação diante da análise.

Dessa forma, as informações compiladas nas tabelas apresentadas, mostram de forma clara como os resultados das análises realizadas estão de acordo entre si, levando em consideração as particularidades de cada espécie. A aplicação desses produtos em processos que envolvem a produção de bebidas probióticas possui grande potencial, porém é preciso levar em consideração cada ponto analisado e discutidos neste trabalho.

## 5 CONCLUSÃO

O presente estudo confirmou a polpa de cacau como substrato para a produção de bebidas fermentadas com potencial probiótico. Os resultados obtidos nas caracterizações corroboram como muitos autores onde quantificaram esses parâmetros e até mesmo produziram a bebida probiótica.

Foi demonstrado alguns trabalhos recentes da literatura que estão de acordo com os dados obtidos por meio das análises., de forma confirmativa, a maior parte dos parâmetros avaliados estão de acordo com a legislação vigente, exceto o parâmetro Sólidos Solúveis, que se apresentou ligeiramente inferior ao mínimo exigido.

Por fim, é importante levar em consideração o único parâmetro analisado que não estava de acordo com a legislação, o teor de sólidos solúveis. Alguns fatores podem ter influenciado nesse resultado, onde o principal é o grau de maturação do fruto, uma vez que interfere diretamente nesse parâmetro.

## REFERÊNCIAS

- ALEXANDRE, R.S.; CHAGAS, K.; MARQUES, I. P. M.; COSTA, P. R.; FILHO, J. C. Caracterização de frutos de clones de cacauzeiros na região litorânea de São Mateus, ES. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.19, n.8, p.785–790, 2015.
- ALMEIDA, A. A. F.; VALLE, R. R. Ecophysiology of the cacao tree. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 19, p. 425-448, 2007.
- ALMEIDA, C. P.; ROCHA, J. C.; CARITÁ, J. S.; SOUZA, T. M. A.; SOUZA, P. V. S. Biotecnologia dos Alimentos. **Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas**. Universidade Federal de São Paulo. São Paulo. 2011.
- ALMEIDA, M. H. G. **A tecnologia do cacau – Influencia na formação do “flavour”**. Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa. 1990.
- AMORIM, G. M.; SANTOS, T. C.; PACHECO, C, S. V.; TAVARES, I. M. C.; FRANCO, M. Avaliação microbiológica, físico-química e sensorial de polpas de frutas comercializadas em Itapetinga – BA. **Enciclopédia Biosfera**, v. 6, n. 11, p. 1, 2010.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substancias Bioativas e Probióticos**. Brasília, 2007.
- ANVOH, K. Y. B.; BI, A. Z.; GNAKRI, D. Production and characterization of juice from mucilage of cocoa beans and its transformation into marmalade. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.8, p.129-133, 2009. <http://dx.doi.org/10.3923/pjn.2009.129.133>.
- ARMIJOS, A. **Características de la acidez como parámetro químico de calidad em muestras de cacao (Theobroma cacao L.) fino y ordinario de producción nacional durante la fermentación**. Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, Ecuador, 2002. 103 f. Graduación (Licenciatura en Química), 2002.
- AROUCHA, E. M. M.; GOIS, V. A.; LEITE, R. H. L.; SANTOS, M. C. A. SOUZA, M. S. Acidez em frutas e hortaliças. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 5, n. 2, p. 01- 04, 2010.
- BABATOPE, B. Rheology of cocoa-pod husk aqueous system. Part-I: steady atate flow behavior. **Rhologica Acta**, v. 45, p. 72-75, 2005.
- BALDISSERA, A. C.; BETTA, F. D.; PENNA, A. L. B.; LINDNER, J. D. D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, 2011.
- BARRETO, F. S.; BARRETTO, W. S.; VALLE, R. R.; OLIVEIRA, J. S.; SILVA, G. F.; SACRAMENTO, C. K.; BARRETO, L. S.; RIBEIRO, M. A. Q. Concentração de nutrientes em polpa de cacau produzida no sudeste da Bahia. **53º Congresso Brasileiro de Química – CBQ**. Rio de Janeiro – RJ, 2013.

BATALHA, P. G. **Caracterização do cacau catongo de São Tomé e Príncipe**. Universidade de Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal, 2009. 70 f. Mestrado (Mestre em Engenharia de Alimentos), 2009.

BATISTA, G. A.; OLIVEIRA, B. D.; OLIVEIRA, M. A.; GUEDES, T. J.; SILVA, D. F.; PINTO, N. A. V. D. Parâmetros de qualidade de polpas de frutas congeladas: uma abordagem para produção do agronegócio familiar no Alto Vale do Jequitinhonha. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.7, n.4, p.49-54, 2013.

BECKETT, S. T. **Industrial chocolate manufacture and use**. London: Chapman and Hall. p. 720. 978. 2009.

BELLISLE, F.; DIPLOCK, A.T. *et al.* Functional food science in Europe. **British Journal of Nutrition**, v. 80, S1-S193, 1998.

BRAINER, M. S. C. P. **Produção de Cacau**. Caderno Setorial ETENE. Ano 1, n. 1. 2021. Disponível em: <[https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/650/3/2021\\_CDS\\_149.pdf](https://www.bnb.gov.br/s482-dspace/bitstream/123456789/650/3/2021_CDS_149.pdf)> Acesso em 12 de julho de 2021.

BRASIL Instrução Normativa n. 97 de 18 de dezembro 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 já fixados pelo Ministro da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 01 outubro. 2018. Seção 1, p.23.

BRASIL. Resolução RDC ANVISA n.º 17, de 30 de abril de 1999. **Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para a Avaliação de Risco e Segurança dos Alimentos**. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 03 maio 1999a.

BRASIL. Resolução RDC ANVISA n.º 18, de 30 de abril de 1999. **Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos**. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 03 maio 1999b.

BRASIL. Resolução RDC ANVISA n.º 19, de 30 de abril de 1999. **Regulamento Técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem**. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 03 maio 1999c.

BRITO, E. S. **Estudo de mudanças estruturais e químicas produzidas durante a fermentação, secagem e torração do cacau (*Theobroma cacao* L.); e propostas de tratamentos para o melhoramento do sabor**. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, São Paulo, 2000. 158f. Doutorado (Doutor em Tecnologia de Alimentos), 2002.

COELHO, C. J. **Elaboração de bebida probiótica a partir do suco de laranja com *Lactobacillus casei***. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2009. 91f. Mestrado (Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos), 2009.

COLLI, C.; SARDINHA, F; FILISETTI, T. M. C. C. **Alimentos funcionais**. IN: CUPPARI, L. Nutrição Clínica no Adulto. São Paulo, Manole, 2002, p.55-70.

COSTA, W. S. C.; FILHO, J. S.; MATA, M. E. R. M. C.; QUEIROZ, A. J. M. Influência da concentração de sólidos solúveis totais no sinal fotoacústico da polpa de manga. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 6, n. 2, p. 141-147, 2004.

CRUZ, C. L. C. V. **Melhoramento do sabor de amêndoas de cacau através de tratamento térmico em forno convencional e de micro-ondas**. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, São Paulo, 2002. 101f. Mestrado (Mestre em Tecnologia de Alimentos), 2002.

DANTAS, R. L.; ROCHA, A. P. T.; ARAÚJO, A. S.; RODRIGUES, M. S. A.; MARANHÃO, K. L. Perfil da qualidade de polpas de fruta comercializadas na cidade de Campina Grande/PB. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.5, n.5, p.61-66, 2010.

DE MORAIS, M. B; JACOB, C. M. A. O Papel dos Probióticos e Prebióticos na Prática Pediátrica. **Jornal de Pediatria**, v.82, n.5 pág.189-197, 2006.

DONKOH, A. et al. Chemical composition of cocoa pod husk and its effect on growth and food efficiency in broiler chicks. **Animal Feed Science and Technology**. V, 165, p. 1152-1160, 2008.

ELFAHRI, K. R.; VASILJEVIC, T.; YEAGER, T.; DONKOR, O. N. Anti-colon câncer and antioxidant activities of bovine skim milk fermented by selected *Lactobacillus helveticus* strains. **Journal of dairy science**, v. 99, n. 1, p. 31-40, 2016.

FILHO, A. T. S. **Efeito das condições de fermentação da estocagem na qualidade de suco probiótico de cacau**. Universidade Federal do Maranhão. Curso de Engenharia de Alimentos. Imperatriz, MA. 2018

FONTES, C. P. M. L. **Produção de polissacarídeos prebióticos em suco de frutas**. Universidade Federal do Ceará. Programa de pós-graduação em Biotecnologia. Fortaleza, Ceará, 2013. 120f. Doutorado (Doutora em Biotecnologia), 2013.

FREIRE, M. T. A.; PETRUS, R. R.; FREIRE, C. M. A.; OLIVEIRA, C. A. F.; FELIPE, A. M. P. F.; GATTI, J. B. Physical-chemical, microbiological and sensory evaluation of frozen cupuaçu pulp (*Theobroma grandiflorum* Schum). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n.1, p. 09-16, 2009.

GILLILAND, S. E. Probiotics and prebiotics. In: MARTH, E. H., STEELE, J. L. **Applied Dairy Microbiology**. New York: Marcel Dekker, 2001. p. 327-343.

GUIMARÃES, D. R. B.; COSTA, F. A. A.; RODRIGUES, M. I.; MAUGERI, F. Optimization of dextran synthesis and acidic hidrolisys by surface response analysis, **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.16, n.2, p.129-139, june, 1999.

HASLER C. M. The changing face of functional foods. **Journal of the American College of Nutrition**, v.19, Suppl. 5: 499S-506S, 2000.

HONORATO, A. C.; DIAS, C. B. R.; SOUZA, E. B.; CARVALHO, I. R. B.; SOUZA, K. S. M. Parâmetros físico-químicos de polpas produzidas na cidade de Petrolina – PE. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v. 10, n. 4, p. 01-05. 2015.

ICCO (International Cocoa Organization). **Origins Of Cocoa And Its Spread Around The World**. 2012. Disponível em <<http://www.icco.org/about/growing.aspx>> Acesso em 08 de janeiro de 2018.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 1020p. Versão eletrônica. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

JACOBSON M. Functional foods: health boon or quackery? **British Medical Journal** 319:205-206, 1999.

KALANTZOPOULOS, G. Fermented products with probiotic qualities. **Anaerobe**. v. 3, p. 185–190, 1997

KEMPKA, A.P. Formulação de bebida láctea fermentada sabor pêssago utilizando substratos alternativos e cultura probiótica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.28, p.170-177, 2008.

LEE, Y. K., NOMOTO, K., SALMINEN, S., GORBACH, S. L. **Handbook of probiotics**. New York: Wiley, 1999. 211p.

LI, C.; LI, W.; CHEN, X.; FENG, M.; RUI, X.; JIANG, M.; DONG, M. Microbiological, physicochemical and rheological properties of fermented soymilk produced with exopolysaccharide (EPS) producing lactic acid bacteria strains. **LWT Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 477-485, 2014.

LIM, E. Y.; KIM, J. G.; JUNG, S. Y.; SONG, E. J.; LEE, S. Y.; SHIN, H. S. Attenuating effects of lactobacillus acidophilus YT1 on menopausal symptoms in ovariectomized rats. **Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition**. 2018.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas no Brasil**, vol 1, 4 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002, p. 347.

MACHADO, L. F.; RIZZATTO, M. L. Produção e análises físico-químicas de bebida probiótica de suco de maracujá. **COGITARE**, v. 2, n. 1, p. 50-69, dez. 2019.

MALDONADO, R. R.; ARAÚJO, L. C.; DARIVA, L. C. S.; REBAC, K. N.; PINTO, I. A. S.; PRADO, J. P. R. **Fermentação láctica de frutas tropicais**. In: Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química . Florianópolis/SC; 2014. p. 1–8.

MANTARING, J.; BENYACOU, J.; DESTURA, R.; PECQUET, S.; VIDAL, K.; VOLGER, S. Effect of maternal supplement beverage with and without probiotics during pregnancy and lactation on maternal and infant health: A randomized controlled trial in the Philippines. **BMC Pregnancy Childbirth**. 2018.

MARTIM, S. R.; CARDOSO NETO, J.; OLIVEIRA, I. M. DE A. Características físico-químicas e atividade da peroxidase e polifenoloxidase em genótipos de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Willd ex Spreng Schum) submetidos ao congelamento. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, n. 5, p. 2265-2276, 2013.

MASCARÓS, A. Las propiedades Sensoriales del Cacao. Origen, Desarrollo y Evaluacion. **Alimentaria**, p. 85-59. 1993.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for the determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**, Washington, v.31, n.3, p.426-428, 1959.

- MILNER, J. A. Functional foods and health promotion. **The Journal of Nutrition**, 1395S-7S, 1999.
- MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos Funcionais e Nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**. V. 3, p. 109-122, 2006.
- MOREIRA, L. F. **Caracterização da polpa dos frutos de genótipos de cacauero (*Theobroma cacao* L.) produzidos no Vale do Jaguaribe – Ceará**. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará. Limoeiro do Norte, Ceará. 2017. 70f. Mestrado (Mestre em Tecnologia dos Alimentos). 2017.
- OLIVEIRA, M. N. Probióticos: seus benefícios à saúde humana. **Nutrição em Pauta**, v. 15, n.87, 2007.
- PAZ, J. C. S. N. **Caracterização Bioquímica da polifenoloxidase e da peroxidase de ameixa rubimel, polpa de cacau e estudo do efeito de agentes anti-escurecimento**. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, São Paulo. 2010. 100f. Doutorado (Doutora em Ciência de Alimentos), 2010.
- PENHA, E. M.; MATTA, V. M. Características físico-químicas e microbiológicas da polpa de cacau. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v.33, n.11, p. 1945-1949. 1998.
- PEREIRA, A. L. F.; FEITOSA, W. S. C.; ABREU, V. K. G.; LEMOS, T. O.; GOMES, W. F.; NARAIN, N. Impact of fermentation conditions on the quality and sensory properties of a probiotic cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) beverage. **Food Research International**, v. 44, p. 1065-1077, 2017.
- PEREIRA, A. L. F.; MACIEL, T. C.; RODRIGUES, S. Probiotic beverage from cashew Apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. **Food Research International**, v. 44, p. 1276-1283, 2011.
- PEREIRA, I.; SILVEIRA, P. T. S.; MARTINS, M. O. P.; EFRAIM, P. Caracterização da polpa de diferentes cultivares de cacau. **XXVIII Congresso de Iniciação Científica da UNICAMP**, Campinas - SP, 2019.
- PETTIPHER, G. L. Analysis of cocoa pulp and formulation of a Standardized artificial cocoa pulp médium. **J. Sci. Food Agr.** 37, p. 297-309, 1986.
- REIG, A. L. C.; ANESTO, J. B. Prebióticos y probióticos, una Relación Beneficiosa. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. **Revista Cubana de Alimentación e Nutrición**. v. 16, n. 1, p. 63-8, 2002.
- REIS, J.A.; CASAROTTI, S.N.; PAULA, A.T.; PENNA, A.L.B. **Probióticos e seus efeitos terapêuticos na saúde humana**. Editora Cultura Acadêmica, São José do Rio Preto-SP, 96p., 2011.
- RENUKA, B.; KULKARNI, S. G.; VIJAYANAND, P.; PRAPULLA, S. G. Frutooligosaccharide fortification of selected fruit juice beverages: effect on the quality characteristics. **LWR – Food Science and Technology**, v. 42, p. 1031 – 1033, 2009.
- RIBEIRO, E. S. S. **Elaboração e caracterização de bebida probiótica a partir do suco de cajá fermentado com *Lactobacillus acidophilus* NRRL B-4495**. Centro de Ciências da Saúde. Natal, Rio Grande do Norte, 2019. 86f. Mestrado (Mestre em Nutrição).

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**. v. 34, Suppl. 2, p. 105-10, 2002. RODRÍGUEZ, J. M.; SOBRINO, O. J.; MARCOS A. M. C. et al ¿Existe una relación entre la microbiota intestinal, el consumo de probióticos y la modulación del peso corporal? **Nutricion Hospalaría**, v.28, s.1, pág. 3-12, 2013.

RODRÍGUEZ, M. B. S.; MEGÍAS, S. M.; BAENA, B. M. Alimentos Funcionales y Nutrición óptima. **Revista da Espanha de Salud Pública**. v. 77, n. 3, p. 317-331, 2003.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42, n. 1., p.1-16, 2006.

SANGWAN, V.; TOMAR, S. K.; SINGH, R. R. B.; SINGH, A. K.; ALI, B. Galactooligosaccharides: Novel components of designer foods. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 4, p. 103 – 111, 2011.

SANTOS, J. S.; BARBOSA, A. G. F.; OLIVEIRA, M.P.P.; BORGES, K. R.; NASCIMENTO, A. S.; AMORIM, G. M.; SANTOS, F. L. Desenvolvimento biotecnológico de bebida funcional à base de kefir de cacau. In: SILVA, F. F. **Qualidade de produtos de origem animal**. Ponta Grossa: PR: Atena Editora, 2019.

SANTOS, S. C. M.; SALLES, J. R. J.; CHAGAS FILHO, E.; ALVES, L. M. C. **Diagnóstico Organizacional e Tecnológico da Agroindústria de Polpa de Fruta do município de São Luís - MA, com vista à implementação de um Programa de Controle de Qualidade**. In: Seminário de Iniciação Científica, 14º Encontro de Iniciação Científica da UEMA, 2002, São Luiz – Maranhão.

SCHWAN, R. F. Microbiology of cocoa fermentation: A study to improve quality. In: **12ª CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE PESQUISA EM CACAU**. Salvador, BA, novembro, 1996.

SEQUEIRA, A. F. C. **Cacau: do fruto ao chocolate**. Escola Secundária Rainha Santa Isabel. Estremoz, Portugal. 2016. 27f. Mestrado (Mestre em Biologia). 2016.

SOARES, M. S. **Estudo do melhoramento do sabor de cacau (*Theobroma cacao* L.) através de ação enzimática durante a fermentação**. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, São Paulo, 2001. 121f. Mestrado (Mestre em Tecnologia de Alimentos), 2001.

SOTOUDEGAN, F.; DANIALI, M.; HASSANI, S.; NIKFAR, S.; ABDOLLAHI, M. Reappraisal of probiotics' safety in human. **Food and Chemical Toxicology**, 2019.

SOUZA, P. H. M.; SOUZA NETO, M. H.; MAIA, G. A. **Componentes funcionais nos alimentos**. Boletim da SBCTA. v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

SWAIN, M. R.; ANANDHARAJ, M.; RAY, R. C.; PARVEEN, R. Fermented Fruits and Vegetables of Asia: A Potential Source of Probiotics. **Biotechnol Res Int**. p. 1–19, 2014.

THOMPSON, S. S.; MILLER, K. B.; LOPEZ. A. S. Cocoa and coffee. **Food Microbiology - Fundamentals and frontiers**. ASM Press, Washington, D.C., p. 721-733, 2001.

VALLE, R. R. M. **Ciência, tecnologia e manejo do cacauero**. Brasília, DF: MAPA, 2012. p. 688.

VERGARA, C. M. A. C. **Obtenção de polissacarídeos prebióticos por processo fermentativo a partir do suco de caju clarificado *in natura***. Universidade Federal do Ceará. Departamento de Tecnologia dos Alimentos. Fortaleza. 2007. 112f. Mestrado (Mestre em Tecnologia dos Alimentos), 2007.

VERÍSSIMO, A. J. M. **Efeito da origem do cacau na sua qualidade comercial. Funcional e sensorial. O caso do cacau Catongo de São Tomé e Príncipe e do Brasil**. Universidade Técnica de Lisboa. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa. 2012. 87f. Mestrado (Mestre em Engenharia Alimentar – Processamento de Alimentos), 2012.

VICENZI, R. **Biotechnology dos Alimentos**. Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. Departamento de Biologia e Química. Ijuí, RS. 2011

VIDAL, A. M.; DIAS, D. O.; MARTINS, E. S. M.; OLIVEIRA, R. S.; NASCIMENTO, R. M. S.; CORREIA, M. G. S. Ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para a diminuição da incidência de doenças. **Ciências Biológicas e da saúde**. Aracaju, v.1, n. 15, p.43-52, 2012.