UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS, SAÚDE E TECNOLOGIA

CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ANTONIO LUIZ DOS SANTOS FILHO

EFEITO DAS CONDIÇÕES DE FERMENTAÇÃO E DA ESTOCAGEM NA QUALIDADE DE SUCO PROBIÓTICO DE CACAU

IMPERATRIZ

2018

ANTONIO LUIZ DOS SANTOS FILHO

EFEITO DAS CONDIÇÕES DE FERMENTAÇÃO E DA ESTOCAGEM NA QUALIDADE DE SUCO PROBIÓTICO DE CACAU

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Ana Lúcia Fernandes Pereira.

IMPERATRIZ

2018

ANTONIO LUIZ DOS SANTOS FILHO

EFEITO DAS CONDIÇÕES DE FERMENTAÇÃO E DA ESTOCAGEM NA QUALIDADE DE SUCO PROBIÓTICO DE CACAU

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Ana Lúcia Fernandes Pereira.

APROVADO EM: ___/___/2018

_____

Prof.ª Dra. Ana Lúcia Fernandes Pereira (Orientadora)
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

_____

Prof.ª Dra. Virgínia Kelly Gonçalves Abreu (Membro)
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

_____

Prof.ª MSc. Francineide Firmino (Membro)
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

A Deus por me guiar até aqui. A minha mae Aparecida, ao meu pai Antonio por sempre me colocarem em suas orações

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me guiar e principalmente permitir que em todos os momentos difíceis eu possa me apegar a Ele, mesmo às vezes eu não agradecendo, mas sempre lembrando dele.

Aos meus pais, que sempre me apoiaram e me deram suporte seja ele financeiro e/ou emocional, e sempre acreditaram em mim, me apoiando em tudo e em todos os momentos, me dando força para continuar. Às minhas irmãs e meus cunhados por também me apoiarem.

Um agradecimento especial à minha mãe, que no decorrer desses anos todos que passei aqui, não podíamos passar um dia sem nos falarmos, que foi onde sempre busquei força e tive conforto emocional para conseguir chegar até aqui. E a minha irmã Paula, que por várias vezes veio falar comigo simplesmente para perguntar como eu estava.

À todas as pessoas, amigos ou colegas, que fizeram parte da minha vida, durante a vida acadêmica, onde tenho um carinho muito grande por alguns e outros nem tanto, mas de certa forma me ajudaram a chegar até aqui.

À minha namorada Hildeane que foi o melhor presente que ganhei na UFMA, que vou levar por toda a minha vida, que sempre esteve ao meu lado, seja aconselhando para eu fazer o certo, me incentivando a estudar, que sempre fez meus dias se tornarem melhores, sejam eles no laboratório, na sala de aula, em casa, nas viagens, nos "rolês" ou simplesmente na vida.

Às professoras MSc. Francineide Firmino e Dra.Virginia Kelly Gonçalves Abreu por aceitarem o convite para compor a banca examinadora.

À minha orientadora Professora Dra.Ana Lúcia Fernandes Pereira, que é uma das melhores profissionais e uma das melhores pessoas que já conheci. Uma pessoa amiga,

justa e sincera que por diversas vezes, com atitudes me ensinou a ser uma pessoa melhor. Uma profissional de caráter ilibado, que sempre teve paciência para me orientar por diversos percursos durante minha vida academica.

SUMÁRIO

RESUMO 9
1. Introdução 10
2. Materiais e Métodos 12
2.1 Condições de fermentação do suco de cacau probiótico 12
2.2 Estocagem do suco de cacau probiótico 13
2.3 Determinação das contagens de células viáveis 13
2.4 Análise de pH 14
2.5 Determinação de açúcares e ácidos orgânicos 14
2.6 Compostos fenólicos e atividade antioxidante no suco de cacau 15
2.7 Análise estatística 16
3. Resultados e Discussão 16
3.1 Condições de fermentação do suco de cacau probiótico 16
3.2 Ácidos orgânicos e compostos fenólicos totais e atividade antioxidante no suco de cacau durante a fermentação 19
3.3 Estabilidade do suco de cacau probiótico adicionado de sacarose ou sucralose 22
4. Conclusão 24
REFERÊNCIAS 25

Efeito das condições de fermentação e da estocagem na qualidade de suco probiótico de cacau

Antonio Luiz dos Santos Filho[a], Hildeane Veloso Freitas[a], Sueli Rodrigues[b], Virgínia Kelly Gonçalves Abreu[a], Tatiana de Oliveira Lemos[a], Wesley Faria Gomes[c], Narendra Narain[d], Ana Lúcia Fernandes Pereira[a*]

[a] Universidade Federal do Maranhão, Curso de Engenharia de Alimentos, Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia, 65.900-410, Imperatriz, Ma, Brazil.

[b] Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia de Alimentos, Campus do Pici, Bloco 851, 60440-900 Fortaleza, CE, Brazil.

[c]Instituto Federal do Maranhão, Campus Carolina, 65980000 - Carolina, MA – Brazil.

[d]Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Engenharia Química, Cidade Universitaria, Jardim Rosa Elze, 49100-000 – São Cristovão – Se, Brazil.

*Autor Correspondente: Tel +55-99-981696263; E-mail anafernandesp@gmail.com.

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi produzir um suco probiótico a partir da polpa de cacau. Além disso, foi avaliado o efeito da sucralose como substituto do açúcar durante o armazenamento a 4 °C por 42 dias. Assim, foram realizadas as análises de contagens de células viáveis do microorganismo probiótco *Lactobacillus casei*, de açúcares, ácido lático, pH, compostos fenólicos e atividade antioxidante. Os resultados permitiram obter as condições ótimas para a produção de suco probiótico que foram pH inicial de 6,2, temperatura de fermentação de 33 °C e 12 h de fermentação. Durante a fermentação, a glicose foi o principal carboidrato consumido. As concentrações de ácido ascórbico e ácido cítrico foram mantidas e os compostos fenólicos e a atividade antioxidante (medida pelos métodos ABTS e DPPH) aumentaram durante a fermentação. Durante o armazenamento, a viabilidade do suco adoçado com açúcar aumentou como resultado do uso deste como substrato. A adição de sucralose manteve a viabilidade dentro dos limites necessários para exercer saúde benéfica até 42 dias. O teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante durante o armazenamento foram maiores nas amostras fermentadas quando comparados com a amostra não fermentada. Portanto, o suco de cacau é uma matriz viável para produção de suco probiótico, havendo a manutenção da viabilidade do microorganismo ao longo da vida de prateleira. Além disso, a sucralose mostrou potencial para uso em alimentos funcionais de baixa caloria.

Palavras-chave: *Lactobacillus casei*; sucralose; atividade antioxidante; frutas exóticas.

1. Introdução

A demanda por alimentos funcionais está aumentando entre os consumidores. Consequentemente, várias pesquisas tem sido realizadas com o intuito de elaborar alimentos probióticos de diferentes fontes, como frutas e legumes (Panda et al., 2017). Esses substratos têm a vantagem de já conterem nutrientes benéficos, como minerais, vitaminas, fibras e antioxidantes, além de ter um sabor agradável apreciado por todas as faixas etárias. No entanto, a adaptação dos microorganismos probióticos nas matrizes vegetais é complexa, sendo dependente da linhagem do microorganismo e da composição desses alimentos (Pereira, & Rodrigues, 2018).

Neste contexto, a polpa de cacau (*Theobroma cacao* L.) pode ser uma alternativa para a produção de suco probiótico. O cacau é mundialmente conhecido como matéria-prima de chocolate. No entanto, o processamento gera quantidades significativas de subprodutos, como casca e polpa. A polpa consiste em uma camada mucilaginosa branca e doce encontrada em torno das sementes individuais da fruta. Na composição da polpa de cacau, 82–87% corresponde a umidade, 10–15% a açúcares, 2–3% a pentoses, 1–3% a ácido cítrico e 1–1,5% a pectina. Além disso, proteínas, aminoácidos, vitaminas (principalmente vitamina C) e minerais também estão presentes, sendo esta polpa um meio rico para o crescimento microbiano. Essa polpa pode ser usada para produção de geleias ou sucos, que podem ser usados para o desenvolvimento de bebidas fermentadas, como o vinho de cacau e outros produtos (Souza, Moreira, Sarmento e Costa, 2018; Duarte et al., 2010; Schwan, & Wheals, 2004).

Pesquisas sobre alternativas de uso da polpa de cacau tem sido estudadas com o objetivo de minimizar as perdas de produção, aumentar a renda dos agricultores e introduzir novos produtos no mercado. Estudos como o de Duarte et al. (2010) produziram um vinho de frutas a partir da polpa de cacau. Puerari, Teixeira e Freitas (2012) produziram

um suco fermentado de cacau usando *kefir*. Esses autores concluíram que a bebida é um produto alternativo e com valor nutricional. Contudo, não existem relatos de bebida probiótica a partir do suco de cacau.

Em sucos de frutas, as bactérias ácido láticas (LAB) podem metabolizar os compostos fenólicos dependendo da matriz alimentar e da cepa do microorganismo (Filannino, Bai, Di Cagno, Gobbetti, & Michael, 2015; Pereira et al., 2017; Valero -Cases, Nuncio-Jáuregui, & Frutos, 2017). Em pesquisa realizada por Pereira, Almeida, De Jesus, Costa e Rodrigues (2013) foi observado que o microorganismo probiótico *Lactobacillus casei* teve um efeito conservante na concentração de compostos fenólicos do suco de caju durante o armazenamento refrigerado por 42 dias, conferindo mais benefícios nutricionais a este alimento funcional.

No entanto, manter a viabilidade das LAB durante o armazenamento em suco de frutas é um desafio, especialmente em temperatura de refrigeração. Nualkaekul, Cook, Khutoryanskiy e Charalampopoulos (2013) relataram que em suco de romã, *L. plantarum* perderam sua viabilidade com 28 dias de armazenamento a 4 °C e *Bifidobacterium longum* perderam em 7 dias. No suco de cereja, as duas linhagens de microorganismos perderam sua viabilidade no prazo de 7 dias. Por outro lado, Nematollahi, Sohrabvandi, Mortazavian e Jazaeri (2016) obtiveram um aumento da viabilidade de *L. casei* TD4 em suco de cereja durante 28 dias de armazenamento sob refrigeração.

Paralelamente, produtos de reduzido valor calórico com adição de adoçantes como substitutos do açúcar tem aumentado no mercado. Segundo Esmerino et al. (2013), pouco se sabe sobre a influência desses compostos na viabilidade das bactérias probióticas utilizadas em alimentos funcionais. Além disso, a maioria das pesquisas com adoçantes adicionados como substitutos da sacarose usa produtos de base láctea, chocolates e bebidas à base de trigo. Portanto, há pouca informação sobre o uso de adoçantes em sucos de

frutas probióticos (Angelov, Gotcheva, Kuncheva, & Hristozova, 2006; Basyigit, Kuleasan, & Karahan, 2006; Esmerino et al., 2013; Nebesny, Zyzelewicz, Motyl, & Libudzisz, 2007).

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o suco de cacau como veículo do microorganismo probiótico *Lactobacillus casei*, bem como o efeito do açúcar e da sucralose durante o armazenamento.

2. Materiais e Métodos

2.1 Condições de fermentação do suco de cacau probiótico

Primeiramente, as polpas de cacau foram obtidas no mercado local da cidade de Imperatriz-MA e o suco foi preparado pela diluição da polpa em água potável. O teor de polpa foi ajustado para 34% (p /v). Para fermentação, foi utilizada uma cepa de *Lactobacillus casei* NRRL B-442 que foi ativada a 37 ºC em caldo De Man, Rogosa e Sharpe (MRS) (específico para o crescimento de *Lactobacillus*) (Himedia, India). A cepa foi obtida da Coleção Bacteriana de Cultura (Culture Collection, Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, Peoria, IL, EUA).

As condições ótimas de fermentação foram avaliadas por meio de experimento rotacional composto central, variando o pH incial e a temperatura de fermentação de 4,29 a 7,11 e 10,44 a 41,44 °C, respectivamente (Tabela 1). Para isso, 11 erlenmeyers contendo suco de cacau foram inoculados com 7,00 Log UFC/ mL de *L. casei*, que é a contagem mínima recomendada para os microorganismos probióticos exercerem seus efeitos benéficos (Nualkaekul, & Charalampopoulos, 2011). Durante 24 h, as fermentações foram realizadas estaticamente em estufa incubadora nas diferentes temperaturas do delineamento experimental. Após 24 h, as análises de viabilidade (contagem de células viáveis) foram realizadas. Os resultados foram analisados pela Metodologia da Superfície de Resposta para obter as condições ótimas de pH inicial e temperatura de fermentação.

Após obter essas condições (pH inicial de 6,2 e temperatura de fermentação de 33 °C), o suco de cacau foi produzido e inoculado com 7,00 Log UFC/ mL de *L. casei* e medidas de viabilidade e pH foram realizadas a cada 2 h, durante 24 h para determinar o melhor tempo de fermentação. A cada 2 h amostras foram colhidas para serem determinadas quanto a açúcares (glicose e frutose), ácidos orgânicos, compostos fenólicos e atividade antioxidante. Esse experimento foi realizado em triplicata.

2.2 Estocagem do suco de cacau probiótico

Após a fermentação de acordo com as condições pré-estabelecidas acima, o suco de cacau foi dividido em duas partes. Em uma parte, foi adicionado açúcar (9,7% p/v) e na outra metade o adoçante sucralose (0,48% p/v - concentração com poder adoçante semelhante a 9,7% de açúcar). As amostras adoçadas de suco de cacau probiótico (80 mL) foram acondicionadas em recipientes de vidro estéreis de cor âmbar (100 mL) com tampa de rosca. O *headspace* dos recipientes foi de 20 mL e as amostras foram armazenadas a 4 °C por 42 dias. As determinações de contagens viáveis de células, pH, compostos fenólicos e atividade antioxidante foram realizadas antes do armazenamento e em intervalos de 7 dias, durante os 42 dias. Uma amostra de suco de cacau não fermentado foi armazenada nas mesmas condições (controle) para comparar com o teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante.

2.3 Determinação das contagens de células viáveis

Para contagem das células viáveis, as amostras foram diluídas com água peptotanada através de diluições seriadas até 10^{-6}. Depois, alíquotas de 0,1 mL de cada diluição foram plaqueadas (em triplicata) em placas contendo Ágar De Man, Rogosa e Sharpe (MRS) (Himedia, Índia) usando o método de *spread plate* (Pereira et al., 2017). As placas

foram incubadas sob condições aeróbias durante 72 horas a 37 °C e as contagens de células viáveis foram expressas como unidades formadoras de colônias (UFC) por mL.

2.4 Análise de pH

O pH do suco de cacau foi determinado em triplicata por medição direta utilizando potenciômetro (Biotech mPa-210).

2.5 Determinação de açúcares e ácidos orgânicos

Os açúcares e ácidos orgânicos foram detectados e quantificados por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) de acordo com (Pereira et al., 2017). Foi utilizado um sistema LC Infinity 1260 (Agilent Technologies, EUA) equipado com um sistema de bombas quaternárias, detectores UV-DAD e RI. Para determinação de açúcares, os sucos de cacau foram tratados com metanol para remover sacarídeos de alto peso molecular. O volume de injeção foi de 20 μL. Os açúcares foram separados em coluna Supelcogel Ca (300 x 7,8 mm) (Supelco Analytical) termostatizada a 80 °C. A eluição isocrática foi realizada com água deionizada como fase móvel por 40 min (vazão de 0,5 mL/ min).

Para determinação de ácidos orgânicos, o suco de cacau foi filtrado, usando pré-filtros de fibra de vidro AP25 de 13 mm de diâmetro (Merck Millipore Ltd.) e limpos com cartucho C-18 SPE, seguido de filtração com membrana de acetato de éster de celulose (0,45 μM, 13 mm de diâmetro). Os ácidos orgânicos foram separados em coluna Aminex HPX-87H (300 × 7,8 mm) (Bio-Rad) a 50 °C. A eluição isocrática foi realizada com ácido sulfúrico 0,01 M em água deionizada como fase móvel por 30 min a 0,6 mL/ min. O detector UV-DAD monitorado a 210 nm foi usado para detectar os ácidos orgânicos.

2.6 Compostos fenólicos e atividade antioxidante no suco de cacau

Primeiramente, foi preparado o extrato, partindo de 2 g de suco de cacau. Para a preparação do extrato, foram adicionados 5 mL de solução de metanol/ água a 50% (v/v) a 2 g de amostra. A mistura foi mantida durante 60 min temperatura ambiente (25 °C) e depois centrifugada a 25000 x g durante 30 min. Depois, adicionou-se 5 mL de solução de acetona/ água a 70% (v/v). Manteve-se a mistura durante 60 min à temperatura ambiente (25 °C) e depois centrifugou-se novamente nas mesmas condições descritas anteriormente. Os sobrenadantes foram coletados em um balão volumétrico de 25 mL, e o volume foi completado com água destilada e usado para as determinações de compostos fenólicos e de capacidade antioxidante (Larrauri, Rupérez, & Saura-Calixto, 1997).

O conteúdo fenólico total foi quantificado de acordo com Singleton e Rossi (1965). Para a determinação, 0,5 mL do extrato (ou água para branco) foi misturado com 0,5 mL da solução de Folin-Ciocalteu e 1 mL de solução de carbonato de sódio a 20% (p/v). Após 30 min de reação, a leitura foi realizada a 765 nm em espectrofotômetro (Biospectro, SP-220, Curitiba, Brasil). O ácido gálico foi utilizado como padrão.

A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos DPPH e ABTS. Para o método com o radical livre DPPH, alíquotas de 30 μL de suco de cacau foram adicionadas a 1200 μL de solução de DPPH (0,06 mM). A absorbância foi medida a 515 nm após 30 min (Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, 1995). Para o método ABTS, o radical ABTS foi produzido através da reação com a solução estoque de ABTS (7 mM) com persulfato de potássio (140 mM). O radical $ABTS^{+}$ foi diluído com etanol até uma absorbância de 0,700 a 734 nm. Alíquotas de 30 μL do suco de cacau diluído foram misturadas a 3000 μL do radical $ABTS^{+}$ e a absorbância foi tomada após 6 min. Trolox foi o padrão

antioxidante. Os resultados de dois métodos foram expressos como atividade antioxidante equivalente ao Trolox por mL (Re et al., 1999).

2.7 Análise estatística

O software statistica versão 7.0 (StatSoft, EUA) foi utilizado para construir o delineamento experimental, o gráfico de viabilidade de resposta superficial e otimizar os parâmetros de processamento de suco de cacau probiótico.

3. Resultados e Discussão

3.1 Condições de fermentação do suco de cacau probiótico

A Tabela 1 mostra os resultados do crescimento de *L. casei* de acordo com os ensaios do delineamento experimental. Observou-se um aumento da viabilidade em todos os ensaios, uma vez que foi inoculado 7,00 log UFC/ mL e após 24 h de fermentação, foram observadas maiores contagens de células viáveis. Em estudo anterior utilizando cupuaçu, Pereira et al. (2017) obtiveram resultados semelhantes e concluíram que o fruto era uma boa matriz para a produção de bebida probiótica. Os resultados semelhantes aos obtidos no presente estudo podem estar relacionados a ambos os frutos pertencerem à mesma família *Theobroma*.

É importante ressaltar que, no presente estudo foi utilizado o suco de cacau como único meio de fermentação, sem adição de qualquer agente de proteção de microorganismos, como já foi feito em estudos anteriores com outros sucos (Dimitrovski, Velickova, Langerholc, Winkelhausen, & E, 2015; Nualkaekul, Lenton, Cook, Khutoryanskiy, & Charalampopoulos, 2012; Roy et al., 2016). Assim, garantiu-se que o suco de cacau era a única matéria-prima que regulava o crescimento e o metabolismo das bactérias

probióticas. Portanto, a polpa de cacau é uma boa alternativa para a produção de alimentos probióticos.

De acordo com os efeitos estimados, o pH inicial e a temperatura de fermentação afetaram a viabilidade de *L. casei*, sendo estatisticamente significante com 95% de nível de confiança. Os dados apresentados na Tabela 1 foram ajustados ao modelo quadrático de viabilidade dado na Eq. (1). O modelo foi estatisticamente significativo com 95% de nível de confiança, uma vez que o valor de F calculado (42,45) foi superior ao valor de F tabelado (F5,5 = 5,05). Além disso, obteve-se alto coeficiente de correlação ($R^2 = 0,98$).

Viabilidade (log UFC/ mL) = -5,78 + 3,72 pH - 0,28 pH2 + 0,22 T - 0,002 T2 - 0,008 pH. T (1)

Onde T temperatura de fermentação (° C) e pH valores de pH inicial.

Fig. 1 apresenta o gráfico de superfície construído usando a Eq. (1). O aumento do pH inicial e da temperatura de fermentação proporcionou um aumento na viabilidade de *L. casei* à medida que o pH inicial e a temperatura foram elevados até atingir 6,2 e 33 ºC, respectivamente. O ponto ótimo para viabilidade de *L. casei* NRRL B-442, numericamente obtido através do ponto crítico da Equação 2 (derivada igual a zero), foi obtido em pH 6,2 e temperatura de fermentação de 33 ºC.

O pH inicial ótimo (6,2) obtido no presente estudo está de acordo com o reportado por Swain et al. (2014), que relataram que os lactobacilos preferem condições relativamente ácidas, com pH variando de 5,5 a 6,5, em virtude da produção de ácido lático como principal catabólito.

Para temperatura, pesquisas têm mostrado que o crescimento e a funcionalidade das bactérias láticas aumentam entre 30 e 37 °C. Pereira et al. (2017) e Garcia et al. (2013) observaram que, no cupuaçu e no suco de abacaxi sonicado, a temperatura de 30 e 31 °C, respectivamente, proporcionaram maior crescimento de *L. casei*. Enitan, Adeyemo e Ogunbanwo (2011) observaram que as temperaturas de 30 e 37 °C foram mais efetivas na produção de peróxido de hidrogênio. Assim, a temperatura de 33 °C, obtida no presente estudo, proporcionou maior crescimento de *L. casei*, bem como maior preservação do suco de cacau. Isso seria uma vantagem para o uso dessa temperatura, pois tal composto tem atividade inibitória contra outros microorganismos, incluindo os patogênicos.

As condições estabelecidas de pH inicial (6,2) e temperatura (33 °C) para o crescimento de *L. casei* foram utilizadas para a avaliação do tempo de fermentação. De acordo com a Figura 2, o crescimento de *L. casei* foi lento no início do processamento. Após 8 h de fermentação, o microorganimo aumentou mais de um ciclo logarítmico. A viabilidade aumentou até 24 horas de fermentação (Fig. 2). O pH reduziu ao longo do tempo de fermentação, atingindo 3,77 ± 0,00 às 24 h (dados não mostrados) devido ao aumento do teor de ácido lático de 4,38 ± 0,00 g/ L (Fig. 2). Com 12 h de fermentação, o pH do suco de cacau foi de 4,32 ± 0,01 (dados não mostrados), estando abaixo de 4,5. O pH abaixo de 4,5 inibe o crescimento de microorganismos patogênicos e deteriorantes, prolongando a vida útil dos alimentos (Panda, Swain, Singh & Ray, 2013). Assim, o tempo de 12 h foi escolhido por garantir a estabilidade microbiológica do suco. Além disso, a fermentação mais prolongada pode proporcionar menor aceitação do produto pelo aumento da acidez decorrente da maior produção de ácido lático. Puerari et al. (2012) que obtiveram valores de acidez variando entre 1,0 e 5,5 g /L de ácido lático em bebidas de cacau fermentadas por 72 h com *kefir*. Os autores relataram que os consumidores rejeitaram a bebida com 5,5 g/ L de ácido lático. Assim, 12 horas foi o tempo de fermentação escolhido para

produção do suco probiótico de cacau, onde as taxas de ácido lático estão próximos 2,0, não deixando um sabor desagradável no suco.

A glicose foi o principal carboidrato consumido durante a fermentação, tendo uma redução de 23,18%. A frutose quase não variou (49,16 ± 0,66 a 50,60 ± 0,35 g/ L) (Figura 3). Resultados semelhantes foram obtidos por Guergoletto, Mauro e Garcia (2017) em polpa de juçara (*Euterpe edulis*) fermentada com *L. plantarum*. Esses autores reportaram que *L. plantarum* utilizou apenas glicose presente no fruto. Hashemi et al. (2017) também observaram uma redução de cerca de 26% na concentração de glicose em suco de limão doce fermentado (*Citrus limetta*) usando *L. plantarum* durante 48 h de fermentação. Segundo Mousavi, Mousavi, Razavi e Kiani (2011), a fermentação de açúcares por microorganismos sofre influência da cepa de microorganismo, tempo de fermentação e matriz alimentar utilizada.

3.2 Ácidos orgânicos e compostos fenólicos totais e atividade antioxidante no suco de cacau durante a fermentação

Os ácidos orgânicos (ácidos ascórbico, cítrico e quínico) foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência ao longo das 24 h de fermentação. A concentração de ácido ascórbico foi mantida a 40,00 ± 0,00 mg/ L durante a fermentação (dados não mostrados). Segundo Panda et al. (2017), a vitamina C é solúvel em água, bem conhecida por suas propriedades nutricionais e benéficas para a saúde. Além disso, Chambial, Dwivedi, Shukla, John e Sharma (2013) relataram que essa vitamina é indispensável para o desenvolvimento e manutenção de tecidos conjuntivos, formação óssea, cicatrização de feridas e manutenção de gengivas saudáveis. Assim, a manutenção do teor ascórbico ao longo da fermentação é um resultado favorável da fermentação do suco de cacau. Panda

et al. (2017) relataram uma redução no teor de ácido ascórbico do suco de peras espinhosas (*Opuntia sp.*) ao longo da fermentação usando *Lactobacillus fermentum*.

A concentração de ácido cítrico foi quase a mesma por 24 h, variando de 2,77 ± 0,00 a 2,96 ± 0,00 g / L (dados não mostrados). Resultados semelhantes foram relatados por Xiong, Li, Guan, Peng e Xie (2014) na fermentação de chucrutes chineses utilizando *Leuconostoc mesenteroides* e *Lactococcus lactis*. Entretanto, esses autores observaram que *L. plantarum* e *L. casei* reduziram a concentração de ácido cítrico, sendo este composto consumido por microorganismos. Valero-Cases, e Frutos (2017), produzindo um suco misto de cenoura e laranja, observaram que os monossacarídeos e o ácido málico foram os substratos preferidos pelo *L. plantarum*, enquanto a sacarose e o ácido cítrico não foram metabolizados. Portanto, de acordo com estas pesquisas, o uso de ácido cítrico pode ser influenciado pelo tipo de cepa do microorganismo e pelo tipo de vegetal utilizado.

O ácido quínico reduziu de 1,64 ± 0,00 para 1,43 ± 0,00 g/ L (dados não mostrados). Este ácido é um composto fenólico e pesquisas mostraram que o *Lactobacillus* tem a capacidade de degradar esses compostos. Fritsch, Heinrich, Vogel e Toelstede (2016) também observaram uma redução deste ácido em girassois fermentados com bactérias láticas. Pereira et al. (2017) reportaram uma redução de 58,73% no ácido quínico com 18 h de fermentação em suco de cupuaçu probiótico. No presente estudo, a redução foi menor (12,89%) com 24 h de fermentação. Embora a redução do ácido quínico tenha ocorrido, outros compostos fenólicos foram gerados e aumentaram a concentração destes compostos no produto fermentado.

Os compostos fenólicos aumentaram de 40,00 ± 0,02, no início da fermentação, para 49,63 ± 0,04 mg/ 100 mL, com 24 h de fermentação (dados não mostrados). Esse mesmo aumento foi observado para atividade antioxidante (Fig. 4). Valero-Cases,

Nuncio-Jauregui e Frutos (2017) avaliaram a influência da fermentação com bactérias láticas e a digestão *in vitro* sobre a biotransformação de compostos fenólicos em sucos de romã. Esses autores também observaram um aumento nos compostos fenólicos, resultando na produção de dois novos derivados fenólicos (catequina e α-punicalagina). Além disso, observou-se que os sucos fermentados de romã aumentaram a bioacessibilidade dos compostos fenólicos, garantindo a sobrevivência das bactérias láticas após a digestão gastrointestinal simulada, sugerindo um possível efeito prebiótico de compostos fenólicos sobre os microorganismos probióticos.

É importante enfatizar que os compostos fenólicos estão relacionados à defesa contra danos causados pela radiação ultravioleta ou por patógenos. Estudos epidemiológicos recomendam que o consumo prolongado de dietas ricas em fenólicos protege contra o desenvolvimento de cânceres, doenças cardiovasculares, diabetes, osteoporose e doenças neurodegenerativas (Pandey & Rizvi, 2009). Além disso, o pH mais baixo do suco de cacau devido à fermentação é conhecido por ser altamente favorável para a estabilidade dos compostos fenólicos, evitando a auto-oxidação (Panda, Sahu, Behera, & Ray, 2014). Assim, a fermentação do suco de cacau por *L. casei* é vantajosa porque aumenta a concentração desses compostos bioativos.

Segundo Jilani, Cilla, Barbera e Hamdi (2015), durante a fermentação, diferentes transformações (epimerização, degradação, oxidação e hidrólise) podem ocorrer nos compostos fenólicos dos sucos, alterando seus metabólitos. Assim, é necessário utilizar diferentes métodos para fornecer uma estimativa da capacidade antioxidante. Valero-Cases, Nuncio-Jauregui e Frutos (2017) relataram que os sucos de romã fermentados com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium longum subsp. infantis* aumentaram a atividade antioxidante quando medida pelo método de DPPH. No entanto, esses autores não observaram alterações quando utilizado o método de ABTS, sugerindo que o método

ABTS não era sensível. No presente estudo, os dois métodos utilizados (DPPH e ABTS) foram sensíveis para detectar o aumento da atividade antioxidante (Fig. 4).

3.3 Estabilidade do suco de cacau probiótico adicionado de sacarose ou sucralose

A contagem de células viáveis do suco de cacau probiótico com adição de açúcar aumentou de 8,76 ± 0,05 Log UFC/ mL, no início da estocagem para 8,99 ± 0,02 Log UFC/ mL, no 21º dia de armazenamento a 4 °C. A partir do dia 28, houve redução da contagem de células viáveis atigindo 7,52 ± 0,01 log UFC/ mL com 42 dias. No suco de cacau probiótico com adição de sucralose, houve redução da viabilidade de 8,76 ± 0,05 Log UFC/ mL, no início do armazenamento para 7,05 ± 0,04 Log UFC/ mL com 42 dias (Fig. 5). A contagem de células viáveis de suco de cacau probiótico com açúcar foi ligeiramente maior do que o suco com sucralose durante o armazenamento. Esses valores mais elevados podem estar relacionados ao uso do açúcar como substrato pelo *L. casei* durante o armazenamento. Pereira, Almeida, De Jesus, Costa e Rodrigues (2013) avaliaram o efeito do armazenamento refrigerado por 42 dias de suco de caju probiótico adoçado e não adoçado com açúcar. Esses autores observaram maior viabilidade nas amostras adoçadas e atribuíram esse resultado à adição de açúcar. Como o açúcar é um composto fermentável, o aumento das contagens microbianas era esperado, o que não foi observado no suco adoçado com sucralose (que não é fermentável).

Antunes et al. (2009) avaliaram o efeito do armazenamento por 28 dias em leite probiótico adicionado de açúcar e sucralose. Esses autores reportaram que as contagens de células viáveis diminuíram de um a dois ciclos logarítmicos durante o armazenamento, principalmente nas amostras adicionadas de sucralose. No presente estudo, também foi observada diminuição da viabilidade, sendo maior para o suco com sucralose. É

importante ressaltar que nos resultados aqui obtidos houve uma diminuição de apenas um ciclo logarítmico nas duas amostras.

Segundo Nualkaekul e Charalampopoulos (2011), para sobreviver ao efeito adverso do trato gastrintestinal e atingir o intestino em número suficiente, os microorganismos probióticos precisam estar presentes em uma concentração de pelo menos 7,00 log UFC/ mL no produto no fim do prazo de validade. Assim, apesar da redução observada na viabilidade de *L. casei* durante o armazenamento, ao final de 42 dias, a viabilidade microbiana permaneceu acima do limite mínimo (7,00 log UFC/ mL) para exercer os efeitos benéficos à saúde.

Com base nos resultados apresentados, a adição de sucralose no suco de cacau probiótico manteve a viabilidade das bactérias probióticas dentro de limites necessários para exercer os benefícios a saúde por até 42 dias, confirmando o potencial deste adoçante para uso em alimentos funcionais de baixo valor calórico. Outros estudos também relataram que os adoçantes mantiveram a viabilidade microbiana dentro dos limites desejáveis para exercer os efeitos benéficos a saúde em outros alimentos, como bebidas à base de trigo (Angelov, Gotcheva, Kuncheva, & Hristozova, 2006), chocolates (Nebesny, Zyzelewicz, Motyl, & Libudzisz, 2007). e queijo *petit suisse* (Esmerino et al., 2013).

O pH do suco de cacau probiótico adicionado de açúcar diminuiu durante o armazenamento, e o pH do suco adicionado de sucralose permaneceu constante (Fig. 5). Os resultados apresentados estão de acordo com os apresentados por Shahabbaspour, Mortazavian, Pourahmad, Moghimi e Sohrabvandi (2013) que relataram um aumento na contagem de *L. casei* até 21 dias de armazenamento sob refrigeração e redução do pH. Estes autores atribuíram este declínio no pH à fermentação continuada (pós-fermentação) pelas bactérias láticas durante o armazenamento refrigerado. Assim, os resultados das amostras com açúcar indicaram que o *L. casei* foi capaz de produzir ácido mesmo a baixas

temperaturas. Como a pós-fermentação não foi observada nas amostras adoçadas com sucralose, o pH constante era esperado.

Os compostos fenólicos e a atividade antioxidante, realizadas nas amostras controle e fermentadas, reduziram durante o armazenamento. A redução foi maior no suco não fermentado (37,50%) quando comparado aos fermentados (23,58 e 29,12%, para o suco de cacau probiótico com adição de açúcar e sucralose, respectivamente). Portanto, neste estudo, a fermentação com *L. casei* preservou os compostos fenólicos do suco de cacau. A atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS e DPPH apresentou uma tendência semelhante aos dos compostos fenólicos, havendo uma correlação positiva entre o conteúdo de fenólicos e a atividade antioxidante (Fig. 6).

De acordo com Nematollahi, Sohrabvandi, Mortazavian e Jazaeri (2016), a diminuição da atividade antioxidante e do conteúdo fenólico pode ser resultante da presença de oxigênio dissolvido em amostras, o que resultou na oxidação de compostos fenólicos. Porto, Okina, Pimentel, Garcia e Prudencia (2018) avaliaram os compostos fenólicos e a atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH em suco misto probiótico de beterraba e laranja durante 28 dias de armazenamento refrigerado. Esses autores também relataram pequenas reduções nessas determinações e concluíram que o processamento e armazenamento dos sucos probióticos não aceleraram a destruição dos ácidos fenólicos, sendo esses resultados satisfatórios.

4. Conclusão

O suco de cacau é uma matriz viável para o crescimento do microorganismo probiótico *L. casei*, permitindo que as contagens de células viáveis (necessárias para execer os efeitos benéficos à saúde) sejam mantidas por 42 dias sob condições refrigeradas (4 °C). O adoçante sucralose manteve a viabilidade das bactérias probióticas dentro de

limites necessários para exercer benefícios a saúde até 42 dias de armazenamento. A fermentação resultou em aumento dos compostos fenólicos, proporcionado um aumento na atividade antioxidante. No armazenamento, o suco de cacau probiótico preservou os compostos fenólicos e a atividade antioxidante durante a estocagem refrigerada por 42 dias, conferindo benefícios nutricionais a esse alimento funcional.

REFERÊNCIAS

Angelov, A., Gotcheva, V., Kuncheva, R., & Hristozova, T. (2006). Development of a new oat-based probiotic drink. *International Journal of Food Microbiology*, *112*, 75–80. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.05.015

Antunes, A. E. C., Silva, E. R. A., Van Dender, A. G., Marasca, E. T. G., Moreno, I., Faria, E. V., Padula, M., & Lerayer, A. L. S. (2009). Probiotic buttermilk-like fermented milk product development in a semiindustrial scale : Physicochemical, microbiological and sensory acceptability. *International Journal of Dairy Technology*, *62*(4). https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2009.00534.x

Basyigit, G., Kuleasan, H., & Karahan, A. G. (2006). Viability of human-derived probiotic lactobacilli in ice cream produced with sucrose and aspartame. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, *33*, 796–800. https://doi.org/10.1007/s10295-006-0128-x

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *28*, 25–30.

Chambial, S., Dwivedi, S., Shukla, K. K., John, P. J., & Sharma, P. (2013). Vitamin C in Disease Prevention and Cure : An Overview. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, *28*(4), 314–328. https://doi.org/10.1007/s12291-013-0375-3

Dimitrovski, D., Velickova, E., Langerholc, T., & Winkelhausen E. (2015). Apple juice

as a medium for fermentation by the probiotic *Lactobacillus plantarum* PCS 26 strain. *Annals of Microbiology*, *65*, 2161–2170. https://doi.org/10.1007/s13213-015-1056-7

Duarte, W. F., Dias, D. R., Oliveira, J. M., Teixeira, J. A., Almeida, J. B. De, & Schwan, R. F. (2010). LWT - Food Science and Technology Characterization of different fruit wines made from cacao , cupuassu , gabiroba , jaboticaba and umbu. *LWT - Food Science and Technology*, *43*(10), 1564–1572. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.03.010

Enitan, A., Adeyemo, J., & Ogunbanwo, S. T. (2011). Influence of growth conditions and nutritional requirements on the production of hydrogen peroxide by lactic acid bacteria. *African Journal of Microbiology Research*, *5*(15), 2059–2066. https://doi.org/10.5897/AJMR11.128

Esmerino, E. A., Cruz, A. G., Pereira, E. P. R., Rodrigues, J. B., Faria, J. A. F., & Bolini, H. M. A. (2013). The influence of sweeteners in probiotic petit Suisse cheese in concentrations equivalent to that of sucrose, *96*, 5512–5521.

Filannino, P., Bai, Y., Di CAgno, R., Gobbetti, M., & Michael, G. G. (2015). Metabolism of phenolic compounds by Lactobacillus spp . during fermentation of cherry juice and broccoli puree, *46*, 272–279. https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.08.018

Fritsch, C., Heinrich, V., Vogel, R. F., & Toelstede, S. (2016). Phenolic acid degradation potential and growth behavior of lactic acid bacteria in sun fl ower substrates. *Food Microbiology*, *57*, 178–186. https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.03.003

Garcia, M., Costa, M., Fonteles, T. V., Laura, A., Jesus, T. De, & Rodrigues, S. (2013). Sonicated pineapple juice as substrate for L . casei cultivation for probiotic beverage development : Process optimisation and product stability. *Food Chemistry*, *139*(1–4), 261–266. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.059

Guergoletto, K. B., Mauro, I., & Garcia, S. (2017). Juçara (*Euterpe edulis*) pulp as a substrate for probiotic bacteria fermentation : Optimisation process and antioxidant activity. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, *29*(12), 949–959. https://doi.org/10.9755/ejfa.2017.v29.i12.1565

Hashemi, S. M. B., Khaneghan, A. M., Barba, F. J., Nemati, Z., Shokofti, S., & Alizadeh, F. (2017). Fermented sweet lemon juice (*Citrus limetta*) using *Lactobacillus plantarum* LS5: Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Functional Foods*, *38*, 409–414. https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.040

Jilani, H., Cilla, A., Barberá, R., & Hamdi, M. (2015). Biosorption of green and black tea polyphenols into *Saccharomyces cerevisiae* improves their bioaccessibility. *Journal of Functional Foods*, *17*, 11–21. https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.05.006

Larrauri, J. A., Rupérez, P., & Saura-Calixto, F. (1997). Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *45*, 1390–1393. https://doi.org/10.1021/jf960282f

Lee, P., Boo, C. X., & Liu, S. (2013). Fermentation of coconut water by probiotic strains *Lactobacillus acidophilus* L10 and *Lactobacillus casei* L26. *Annals of Microbiology*, *63*, 1441–1450. https://doi.org/10.1007/s13213-013-0607-z

Mousavi, Z. E., Mousavi, S. M., Razavi, S. H., & Kiani, H. (2011). Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *27*, 123–128. https://doi.org/10.1007/s11274-010-0436-1

Mousavi, Z. E., Mousavi, S. M., Razavi, S. H., M, H., Emam-Djomeh, Z., & Mirzapour, M. (2013). Effect of fermentation of pomegranate juice by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* on the antioxidant activity and metabolism of sugars , organic acids and phenolic. *Food Biotechnology*, *27*, 1–13.

https://doi.org/10.1080/08905436.2012.724037

Nebesny, E., Zyzelewicz, D., Motyl, I., & Libudzisz, Z. (2007). Dark chocolates supplemented with *Lactobacillus* strains. *European Food Research and Technology*, *225*, 33–42. https://doi.org/10.1007/s00217-006-0379-9

Nematollahi, A., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A. M., & Jazaeri, S. (2016). Viability of probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice during cold storage. *EJBT*, *21*, 49–53. https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2016.03.001

Nualkaekul, S., & Charalampopoulos, D. (2011). Survival of *Lactobacillus plantarum* in model solutions and fruit juices. *International Journal of Food Microbiology*, *146*(2), 111–117. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.040

Nualkaekul, S., Cook, M. T., Khutoryanskiy, V. V, & Charalampopoulos, D. (2013). In fluence of encapsulation and coating materials on the survival of *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium longum* in fruit juices. *Food Research International*, *53*(1), 304–311. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.04.019

Nualkaekul, S., Lenton, D., Cook, M. T., Khutoryanskiy, V. V, & Charalampopoulos, D. (2012). Chitosan coated alginate beads for the survival of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in pomegranate juice. *Carbohydrate Polymers*, *90*(3), 1281–1287. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.06.073

Panda, S. K., Behera, S. K., Qaku, X. W., Sekar, S., Ndinteh, D. T., Nanjundaswamy, H. M., Kayitesi, E. (2017). LWT - Food Science and Technology Quality enhancement of prickly pears (*Opuntia* sp.) juice through probiotic fermentation using *Lactobacillus fermentum* - ATCC 9338. *LWT - Food Science and Technology*, *75*, 453–459. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.09.026

Panda, S. K., Sahu, U. C., Behera, S. K., & Ray, R. C. (2014). Fermentation of sapota

(*Achras sapota* Linn.) fruits to functional wine. *Nutrafoods*, *13*, 179–186. https://doi.org/10.1007/s13749-014-0034-1

Panda, S. K., Swain, M. R., Singh, S., & Ray, R. C. (2013). Proximate compositions of a herbal purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) wine. *Journal of Food Processing and Preservation*, *37*, 596–604. https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2012.00681.x

Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2*(5), 270–278.

Pereira, A. L. F., Almeida, F. D. L., de Jesus, A. L. T., da Costa, J. M. C., & Rodrigues, S. (2013). Storage stability and acceptance of probiotic beverage from cashew apple juice. *Food and Bioprocess Technology*, *6*(11), 3155–3165. https://doi.org/10.1007/s11947-012-1032-1

Pereira, A. L. F., Feitosa, W. S. C., Abreu, V. K. G., Lemos, T. O., Gomes, W. F., Narain, N., & Rodrigues, S. (2017). Impact of fermentation conditions on the quality and sensory properties of a probiotic cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) beverage, *100*(July), 603–611. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.055

Pereira, A. L. F., & Rodrigues, S. (2018). *Chapter 15. Turning Fruit Juice Into Probiotic Beverages*. *Fruit Juices*. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-6.00015-1

Porto, M. R. A., Okina, V. S., Pimentel, T. C., Garcia, S., & Prudencio, S. H. (2018). Beet and orange mixed juices added with *Lactobacillus acidophilus*. *Nutrition & Food Science*, *48*(1), 76–87. https://doi.org/10.1108/NFS-06-2017-0108

Puerari, C., Teixeira, K., & Freitas, R. (2012). New cocoa pulp-based ke fi r beverages: Microbiological , chemical composition and sensory analysis. *FRIN*, *48*(2), 634–640. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.005

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Min Yang, A., & Catherine, R.-E.

(1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, *26*(9–10), 1231–1237.

Roy, D., Savard, P., Guertin, N., Martoni, C. J., Jones, M. L., & Champagne, C. P. (2016). Viability of Lactobacillus reuteri NCIMB 30242 during storage in fruit juice and soy beverage. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, *5*(4), 320–325. https://doi.org/10.15414/jmbfs.2016.5.4.320-325

Schwan, R. F., & Wheals, A. E. (2004). The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *44*(December), 1–17. https://doi.org/10.1080/10408690490464104

Shahabbaspour, Z., Mortazavian, A. M., Pourahmad, R., Moghimi, A., & Sohrabvandi, S. (2013). The effects of ratio of cow's milk to soymilk, probiotic strain and fruit concentrate on qualitative aspects of probiotic flavoured fermented drinks. *International Journal of Dairy Technology*, *66*(1), 136–144. https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2012.00883.x

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*, 144–158.

Souza, P. A., Moreira, L. F., Sarmento, D. H. A., & Costa, F. B. *Chapter Theobroma cacao. Exotic fruits*. Elsevier Inc. http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00010-1.

Swain, M. R., Anandharaj, M., Ray, R. C., & Rani, R. P. (2014). Fermented fruits and vegetables of Asia : A potential source of probiotics. *Biotechnology Research International*, *2014*, 1–19.

Valero-Cases, E., & Frutos, M. J. (2017). Development of prebiotic nectars and juices as potential substrates for *Lactobacillus acidophilus*: Special reference to

physicochemical characterization and consumer acceptability during storage. *LWT - Food Science and Technology*, *81*, 136–143. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.047

Valero-Cases, E., Nuncio-Jáuregui, N., & Frutos, M. J. (2017). Influence of fermentation with different lactic acid bacteria and *in vitro* digestion on the biotransformation of phenolic compounds in fermented pomegranate juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*, 6488–6496. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04854

Xiong, T., Li, X., Guan, Q., Peng, F., & Xie, M. (2014). Starter culture fermentation of Chinese sauerkraut : Growth , acidi fi cation and metabolic analyses. *Food Control*, *41*, 122–127. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.12.033

Tabela 1 - Planejamento experimental e viabilidade de *Lactobacillus casei* NRRL B-442 no suco de cacau após 24 h de fermentação.

Ensaio	pH inicial	Temperatura de fermentação (ºC)	Contagem de células viáveis (log UFC/mL)
1	4,70	15,00	7,80±0,09
2	4,70	37,00	8,83±0,07
3	6,70	15,00	8,56±0,16
4	6,70	37,00	9,25±0,06
5	4,29	26,00	7,96±0,08
6	7,11	26,00	9,00±0,06
7	5,70	10,44	7,76±0,02
8	5,70	41,44	9,09±0,04
9	5,70	26,00	9,18±0,06
10	5,70	26,00	9,03±0,11
11	5,70	26,00	9,14±0,12

Figura 1 - Gráfico de superfície da viabilidade de *Lactobacillus casei* NRRL B-442 (Log UFC/ mL) em suco de cacau em função do pH inicial e temperatura de fermentação (°C).

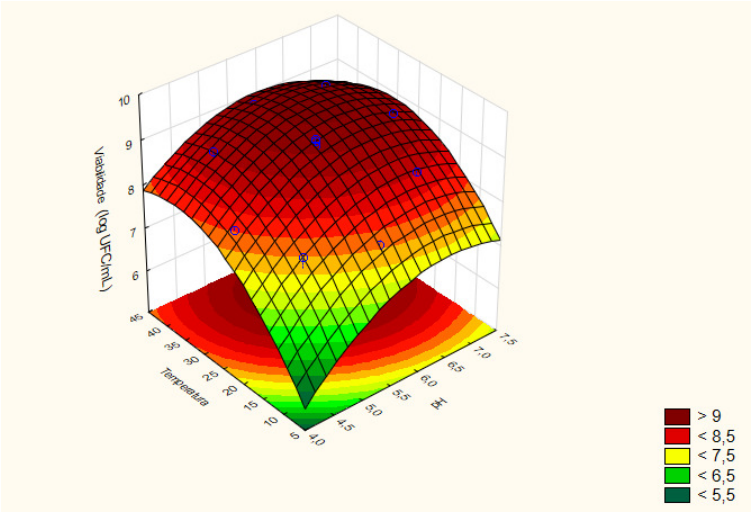


Figura 2 - Viabilidade (Log UFC/ mL) de *Lactobacillus casei* e ácido lático em suco de cacau durante 24 h de fermentação.

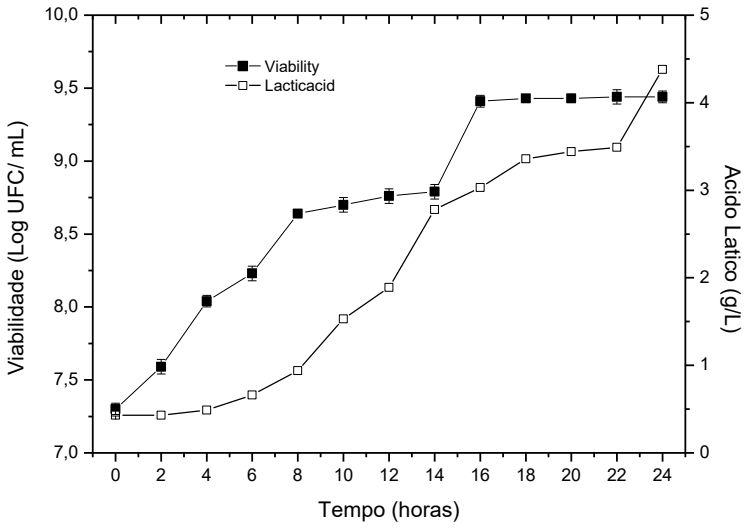


Figura 3 – Açúcares (em gramas por litro) em suco de cacau durante 24 h de fermentação.

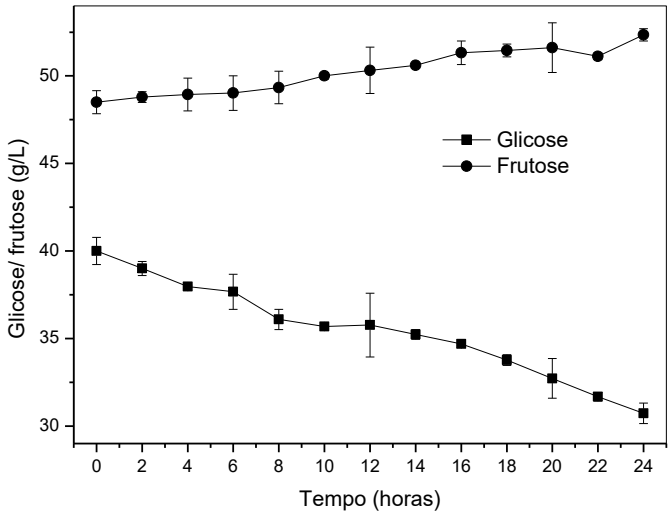


Figura 4 - Atividade antioxidante (AA) (micromolar de Trolox por mililitro) pelos métodos ABTS e DPPH em suco de cacau durante 24 h de fermentação.

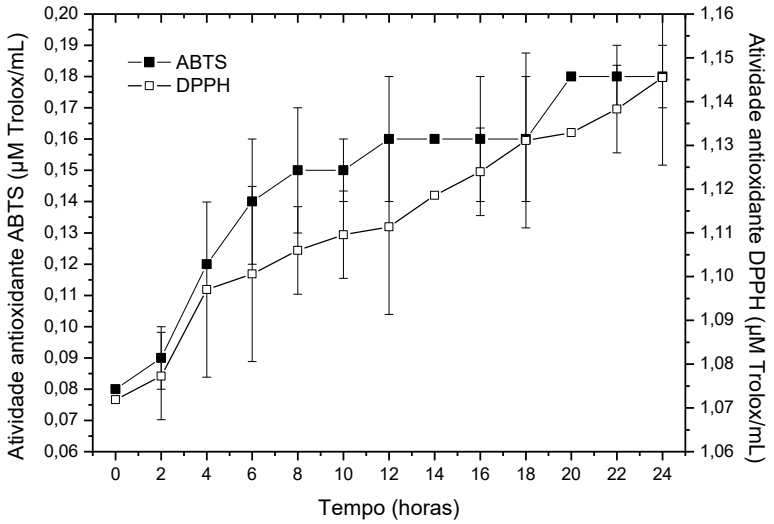


Figura 5 - Viabilidade de *L. casei* (em unidades formadoras de colônia por mililitro) e pH do suco de cacau fermentado adicionado de açúcar ou sucralose no início do armazenamento por 42 dias.

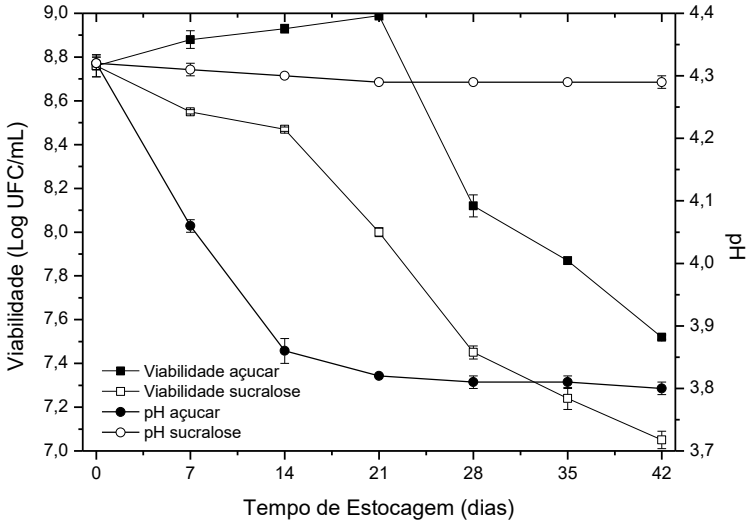
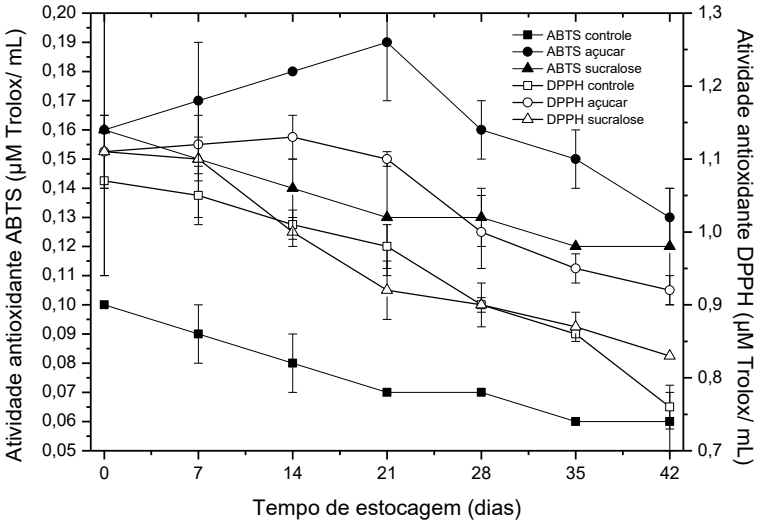


Figura 6 - Atividade antioxidante (AA) (micromolar de Trolox por mililitro) pelos métodos ABTS e DPPH de suco de cacau durante o armazenamento por 42 dias.



ANEXO

JOURNAL OF FOOD COMPOSITION AND ANALYSIS

DESCRIPTION

.The *Journal of Food Composition and Analysis* publishes manuscripts on scientific aspects of **data** on the **chemical composition** of **human foods**, with particular emphasis on actual data on composition of foods; **analytical methods**; studies on the manipulation, storage, distribution and use of food composition data; and studies on the **statistics**, use and distribution of such data and data systems. The Journal's basis is nutrient composition, with increasing emphasis on **bioactive non-nutrient** and **anti-nutrient** components. Papers must provide sufficient description of the food samples, analytical methods, quality control procedures and statistical treatments of the data to permit the end users of the food composition data to evaluate the appropriateness of such data in their projects.

The Journal does not publish papers on: microbiological compounds; sensory quality; aromatics/ volatiles in food and wine; essential oils; organoleptic characteristics of food; physical properties; or clinical papers and pharmacology-related papers.

Features:

•Original research

• Short communications

• Critical reviews

• Study reviews

• Commentaries

Research Areas Include:

• New and rapid methods of analyses

• Nutrient, bioactive non-nutrient and anti-nutrient data

• Data on wild and under-utilized foods, including intra-varietal differences

• Computer technology and information systems theory directly relating to food composition database development, management, and utilization

• Processes of development and selection of single-value entries for food composition tables

• Quality control procedures and standard reference materials for use in the assay of food components

• Statistical and mathematical manipulations involved with the preparation and utilization of food composition data

Database coverage includes AGORA, AGRICOLA, Biological Abstracts, CAB ABSTRACTS, CAB HEALTH, Current Contents, Dairy Science Abstracts, Food Science and Technology Abstracts, Foodline (R): Food Science and Technology, Nutrition Abstracts and Reviews, ScienceDirect, Scopus, and Vitis Viticulture and Enology Abstracts.

IMPACT FACTOR

2017: 2.956 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2018

ABSTRACTING AND INDEXING

.Scopus

AGRICOLA

Biological Abstracts

CAB Abstracts

CAB Health

Current Contents

Dairy Science Abstracts

FSTA (Food Science and Technology Abstracts)

Nutrition Abstracts

ScienceDirect

AGORA

Foodline: Food Science and Technology

Vitis Viticulture and Enology Abstracts

EMBiology

EDITORIAL BOARD

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

The *Journal of Food Composition and Analysis* publishes manuscripts on scientific aspects of data on the chemical composition of human foods, with particular emphasis on actual data on composition of foods; analytical methods; studies on the manipulation, storage, distribution and use of food composition data; and studies on the statistics, use and distribution of such data and data systems. The Journal's basis is nutrient composition, with increasing emphasis on bioactive non- utrient and anti-nutrient components. Papers must provide sufficient description of the food samples, analytical methods, quality control procedures and statistical treatments of the data to permit the end users of the food composition data to evaluate the appropriateness of such data in their projects.

The Journal does not publish papers on:

• microbiological compounds;

• sensory quality;

• aromatics/volatiles in food and wine;

• essential oils;

• organoleptic characteristics of food;

• physical properties; or

• clinical papers or pharmacology-related papers

Research may be published as Original Research Articles, Short Communications, Critical Reviews, Study Reviews, Reports or Commentaries, according to subject matter and presentation. Editor assignment will be made by the Managing Editor, but author guidance is appreciated. Only original papers will be considered. Manuscripts are submitted for review with the understanding that the same work has not been copyrighted, published, or submitted for publication elsewhere.

Types of paper

The following types of papers are published:

• ***Original Research Articles*** are complete reports of original, scientifically sound research. They must contribute new knowledge and be organized as described in this Guide. Please follow carefully the organization of the sections described in Article Structure (see below).

• ***Short Communications*** are brief reports of scientifically sound research, but of limited scope (for example, limited number of samples analysed), that contribute new knowledge. They may be preliminary reports of new findings, in which case the author is expected to publish complete findings later in an article.

• ***Reviews*** are papers which provide an analysis of a scientific or applied field, which include all important findings and bring together reports from a number of sources. There are two categories of reviews: *Critical reviews* provide a comprehensive, extensive review of a topic and a thorough referencing of the relevant literature. *Study reviews* provide an analysis of a selected number of published or unpublished studies.

Review articles may be invited by the Editor or the Editorial Board. Alternatively, potential authors considering the preparation of a Review article should contact the Editor to suggest the topic and its scope, providing an outline in the form of major headings and a summary statement. In any case, such articles are subject to the normal processes of peer review and revision.

• ***Reports*** are papers presenting the results of an expert consultation, or a scientific or regional committee, in the field of food composition and analysis.

• ***Commentaries*** are opinion pieces, focused on some scientific or applied aspect of food composition. They are informative, and may link diverse disciplines or address difficult implications or issues. Controversial commentaries are acceptable, as are ones expressing contrasting opinions. In most cases, these will be invited, but suggestions and unsolicited submissions will be considered by the Editor.

• ***Symposium Papers*** are special situations when a group of papers from a scientific meeting may be published together in a regular issue of the *Journal of Food Composition and Analysis.* In addition, there are scientifically specialized conferences and symposia on food composition, of two to three days duration, that may be published as a special issue or supplement. In all cases, the material must be original research or up-to-the minute reviews, of high quality and importance to the food composition community. To obtain approval, the convenor of the meeting, symposium or conference should contact the Editor outlining the symposium scope and the papers to be considered, with abstracts if available. On receipt of this information, the Editor will determine suitability of the material for a focused regular issue or special supplement. All manuscripts will be reviewed according to the Journal's standard review procedure.

Review Process

A peer review system is used to ensure high quality of manuscripts accepted for publication. The Editor-in-Chief and Editors have the right to decline formal review of the manuscript when it is deemed that the manuscript is 1) on a topic outside the scope of the Journal, 2) lacking technical merit, 3) fragmentary and provides marginally incremental results, 4) is poorly written or 5) is not innovative, or losely duplicates research previously published by the author. Manuscripts which meet the journal's criteria for scope, relevance and scientific quality will be sent for peer review to at least two qualified reviewers, assigned by the Editor. The review will be conducted against established criteria to determine technical quality. Reviewers each submit a recommendation regarding the merit of the manuscript, but the Editor provides the final decision on acceptance of the paper for publication.

Contact details for submission

All manuscripts for *Journal of Food Composition and Analysis* should be submitted online via the Elsevier Editorial System (http://ees.elsevier.com/jfca).

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

• E-mail address

• Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

• Include keywords

• All figures (include relevant captions)

• All tables (including titles, description, footnotes)

• Ensure all figure and table citations in the text match the files provided

• Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

• Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'

• All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa

• Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the

Internet)

• A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare

• Journal policies detailed in this guide have been reviewed

• Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our Support Center.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information pages on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication.

Declaration of interest

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential competing interests include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patente applications/registrations, and grants or other funding. Authors must disclose any interests in two places: 1. A summary declaration of interest statement in the title page file (if double-blind) or the manuscript file (if single-blind). If there are no interests to declare then please state this: 'Declarations of interest: none'. This summary statement will be ultimately published if the article is accepted. 2. Detailed disclosures as part of a separate Declaration of Interest form, which forms part of the journal's official records. It is important for potential interests to be declared in both places and that the information matches. More information.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see 'Multiple, redundant or concurrent publication' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where

the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyrightholder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service Crossref

Similarity Check.

Preprints

Please note that preprints can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's sharing policy.

Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see 'Multiple,

redundant or concurrent publication' for more information).

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list

should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see more information on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (more information). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of user license.

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. More information.

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can share your research published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse

the author for the gold open access publication fee. Details of existing agreements are available online.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Subscription

• Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our universal access programs.

• No open access publication fee payable by authors.

• The Author is entitled to post the accepted manuscript in their institution's repository and make this public after an embargo period (known as green Open Access). The published journal article cannot be shared publicly, for example on ResearchGate or Academia.edu, to ensure the sustainability of peerreviewed research in journal publications. The embargo period for this journal can be found below.

Gold open access

• Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.

• A gold open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For gold open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following Creative

Commons user licenses:

Creative Commons Attribution (CC BY)

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The gold open access publication fee for this journal is **USD 3000**, excluding taxes. Learn more about

Elsevier's pricing policy: https://www.elsevier.com/openaccesspricing.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our green open access page for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. Find out more.

This journal has an embargo period of 12 months.

Elsevier Researcher Academy

Researcher Academy is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English

Language Editing service available from Elsevier's WebShop.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Authors must provide and use an email address unique to themselves and not shared with another author registered in EES, or a department.

PREPARATION

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

When preparing your manuscript, set 2-2.5 cm margins throughout the document, double space the text and use a 12 pt font, preferably Times Roman. Activate continuous line numbering throughout the manuscript so that line numbers appear in the left-hand margin. Pages must be numbered. *LaTeX*

You are recommended to use the Elsevier article class elsarticle.cls to prepare your manuscript and BibTeX to generate your bibliography.

Our LaTeX site has detailed submission instructions, templates and other information.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered

1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient details to allow the work to be reproduced by an independent researcher. Methods that are already published should be summarized, and indicated by a reference. If quoting directly from a previously published method, use quotation marks and

also cite the source. Any modifications to existing methods should also be described. Under Materials and Methods, describe and cite where applicable sampling protocols, sample handling/preparation, and all experimental conditions and procedures (including quality control/ quality assurance procedures), with sufficient clarity to permit qualified researchers to repeat the work. This section must include the number/size of samples collected, prepared and extracted, as well as number of analytical replicates per sample; and the statistical procedures/programs used to assess the work should be cited. A minimum of three individual samples must be analysed for each reported mean value, along with some indication of variability. When only one or two samples have been analysed, notwithstanding the number of replicates, authors should present the normal precision of their assays and then report the mean (without a standard deviation). Data must be reported to the appropriate number of significant digits for that precision and instrumental sensitivity.

Results

Results should be clear and concise.

Actual analytical data should be reported. For example, report nitrogen in addition to a calculated protein value, or define the nitrogen to protein ratio clearly under Materials and Methods and thereafter use protein. All factors used in calculations (e.g. energy), and all components used in aggregations (e.g. retinol equivalents), should be specified. Carbohydrate reported as " Total carbohydrate by difference" is not acceptable in Results or in tables; however, it may be used in discussions. Use of " crude fibre" is discouraged.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

• ***Title.*** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible. The title should be limited to 15 words or 80 characters.

• ***Author names and affiliations.*** Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name, and, if available, the e-mail address of each author.

• ***Corresponding author.*** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address.**

• ***Present/permanent address.*** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a "Present address" (or "Permanent address") may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

The abstract (200 words maximum) must briefly summarize major findings and conclusions. Do not use statements such as " Results are discussed" . Many abstracting services use abstracts without modification, so this section should be able to stand alone and be comprehensible without the rest of the paper (do not refer to items in the reference list which will not accompany the abstract in some instances).

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view example Highlights on our information site.

Keywords

A minimum of 6-10 keywords must be listed. Authors should bear in mind that keywords allow the article to be found by Internet database search engines and considerably increase article citations when they are as numerous and comprehensive as possible.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy];

the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding. If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Nomenclature and units

The decimal point, not the decimal comma, should be used when reporting numeric data in tables and text. Insert a zero in front of a decimal point when it applies. For instance, instead of .36 use 0.36. All numeric data must be presented to an appropriate number of significant digits (for a discussion of significant digits in food composition data, see Greenfield, H. and Southgate, D.A.T., 2003, Food composition data: Production, Management and Use, 2nd ed., FAO, Rome; in particular ch. 9 (pp. 163-170), and Table 9.1. Download at http://www.fao.org/infoods/publications_en.stm.

The International System of Units (SI, Systeme International d' Unites) or the SI-derived system should be used in reporting units of measurement, including dates in the format of year-month-day. If other units are mentioned, please give their equivalent in SI. Energy should be given as kJ or MJ (equivalent kcal or Mcal may be given in parentheses). The Centigrade scale (C°) may be used for temperature.

Math formulae

Please submit math equations as editable text and not as images. Present simple formulae in line with normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Artwork

Electronic artwork

General points

• Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.

• Embed the used fonts if the application provides that option.

• Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.

• Number the illustrations according to their sequence in the text.

• Use a logical naming convention for your artwork files.

• Provide captions to illustrations separately.

• Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.

• Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

• Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;

• Supply files that are too low in resolution;

• Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article**. Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Text graphics

Text graphics may be embedded in the text at the appropriate position. If you are working with LaTeX and have such features embedded in the text, these can be left. See further under Electronic artwork.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables are to be collected together into a single file and uploaded separately from the body of the manuscript; do not embed tables (or figures) in the manuscript. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in

the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using

vertical rules.

References

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style.

If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. More information on how to remove field codes.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

http://open.mendeley.com/use-citation-style/journal-of-food-composition-and-analysis

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice.

Reference style

Responsibility for the accuracy of bibliographic citations lies entirely with the authors. The manuscript should be carefully checked to ensure that the spelling of authors' names and dates are exactly the same in the text as in the reference list.

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list at the end of the manuscript (and vice versa).

All citations in the text should refer to:

1. Single author: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;

2. Two authors: both authors' names and the year of publication;

3. Three or more authors: first author's name followed by et al. and the year of publication.

Citations may be made directly or parenthetically. Groups of references should be listed first

alphabetically, then chronologically. Examples: "as demonstrated (Allan, 1996a, b, 1999; Allan & Jones, 1995). Kramer et al. (2000) have recently shown..."

References cited together in the text should be arranged chronologically. The list of references must be arranged alphabetically on authors' names, and should be as full as possible, listing all authors, the full title of articles and full title of journals, publisher and year.

Titles of periodicals mentioned in the list of references must be spelled out in full.

In the case of publications in any language other than English, the original title is to be retained.

However, the titles of publications in non-Latin alphabets should be transliterated, and a notation such as "(in Russian)" or "(in Greek, with English abstract)" should be added.

References concerning unpublished data and "personal communications" must not be cited in the reference list but may be mentioned in the text, giving the full details (name and affiliation of the contact). References included in the reference list as "in press" should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication data with "in press". Citation of a reference as "in press" implies that the item has been accepted for publication. In the final publication, material referenced as "submitted" is not acceptable - if it cannot be referenced as "in press" then the text needs to be revised to state "unpublished results" and the reference deleted from the reference list.

The following are examples of reference layouts. Please use a hanging indent (second and subsequente lines indented).

Reference to a chapter in a monograph:

Maubois, J.-L., & Olivier, G. (1992). Milk protein fractionation. In *New applications of membrane processing* (pp. 112-120). Brussels, Belgium: International Dairy Federation.

Reference to a chapter in a book

De Kruif, C. G., & Holt, C. (2003). Casein micelle structure, functions and interactions. In P. F. Fox, & P. L. H. McSweeney (Eds.), *Advanced dairy chemistry, Vol. 1: Proteins* (3rd ed) (pp.233-276). New York, NY, USA: Kluwer Academic/Plenum Publishers.

Reference to an article in a journal:

Schakel, S. F., Harnack, L., Wold, C., Van Heel, N., Himes, J.H. (1999). Incorporation of trans-fatty acids into a comprehensive nutrient database. *Journal of Food Composition and Analysis*, *12*, 323-331. Note: If necessary, cite issue number if page numbering is not continuous.

Reference to a book

: Marsh, D. (1990). *CRC handbook of lipid bilayers*. Boston, MA, USA: CRC Press.

Reference to a published standard

: IDF (1982). *Cheese and processed cheese-determination of total solids content*. IDF Standard 4a. Brussels, Belgium: International Dairy Federation. [dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for

Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. Mendeley Data, v1.

http://dx.doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1.

Reference to a paper in published conference proceedings

: Maubois, J. L. (1998). Fractionation of milk proteins. In *Proceedings of the 25th International Dairy Congress* (Vol. II, pp. 74-86). Dairy Science and Technology: Aarhus, Denmark.

Reference to a thesis

: Alting, A. C. (2003). Cold gelation of globular proteins. PhD Thesis, Wageningen University, The Netherlands.

Note: The thesis should be publicly available

For Website references:

INFOODS (2005). Tagnames for Food Components. Retrieved March 21, 2006 from: http://www.fao.org/infoods/tagnames_en.stm

U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. (2006). USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 18. Retrieved January 30, 2006 from the Nutrient Data Laboratory Home Page: http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/

When reporting results of studies using nutrient databases, authors should cite and reference the database and/or software product with name, version number, release date, and vendor.

Journal abbreviations source

All abbreviations, chemical names, and journal names should follow the style of Chemical Abstract Service . A useful writing guide is Scientific Style and Format: The CBE Manual for Authors, Editors and Publishers, Style Manual Committee Council of Biology Editors, 1994, 6th ed., Cambridge University Press.

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect. Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our video instruction pages. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. More information and examples are available. Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions here to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Supplementary material

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate

research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the research data page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding

of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the database linking page.

For supported data repositories a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online. For more information, visit the Mendeley Data for journals page.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission.

This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The

statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the Data Statement page.

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor.

Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequente corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized Share Link providing 50 days free access to the final published version of the article on ScienceDirect. The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's Webshop. Corresponding authors who have published their article gold open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the Elsevier Support Center to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also check the status of your submitted article or find out when your accepted article will be published.

Disclaimer

Articles and any other material published in the *Journal of Food Composition and Analysis* represent the opinions of the authors and should not be construed to reflect the opinions of the Editors or the publishers. Any data included in articles on commercial foods are reported solely as factual information and are limited to the samples analysed. No warranty or guarantee is made or implied that other samples of these products will have the same or similar composition. The inclusion of such articles or data does not imply endorsement of any product.

All enquiries may be addressed to:

Journal of Food Composition and Analysis

Email: jfca.elsevier@gmail.com