



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO - UFMA
CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS, SAÚDE E TECNOLOGIA – CCSST
ENGENHARIA DE ALIMENTOS

EDUARDA SILVA DE ARAÚJO

ESTABILIDADE DE NÉCTAR PROBIÓTICO DE CUPUAÇU DURANTE
ESTOCAGEM REFRIGERADA

IMPERATRIZ – MA

2017

EDUARDA SILVA DE ARAÚJO

**ESTABILIDADE DE NÉCTAR PROBIÓTICO DE CUPUAÇU DURANTE
ESTOCAGEM REFRIGERADA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, com a finalidade de preencher os requisitos essenciais para a obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dra. Ana Lúcia Fernandes Pereira.

IMPERATRIZ

2017

EDUARDA SILVA DE ARAÚJO

**ESTABILIDADE DE NÉCTAR PROBIÓTICO DE CUPUAÇU DURANTE
ESTOCAGEM REFRIGERADA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, para a obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dra. Ana Lúcia Fernandes Pereira

APROVADO EM: ___/___/2017

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 Dra. Tatiana de Oliveira Lemos (Membro)
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Primeiramente à Deus, pois sem Ele nada disso seria possível. Aos meus pais e irmãos por serem meu alicerce.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dar a graça de chegar até aqui e me permitir viver este momento.

À minha família por todo amor, apoio e compreensão que recebi ao longo desse tempo. Aos meus pais, Edvaldo e Irismar, por serem os maiores exemplos de vida que tenho, por priorizarem a educação e me incentivarem a ir além do que sempre me senti capaz. Aos meus irmãos queridos, Fernando e Filipe, e à minha cunhada, Elane, por todo incentivo ao longo da caminhada.

Aos meus amigos, Bernardo (dupla oficial de estudo) e Sylvio, os melhores violeiros, por acompanharem minha trajetória e serem refúgio em meio a dura jornada.

Às minhas amigas Brenda, Gislane, Irlana, Lays, Larissa, Luana e Catarina, por serem as melhores companhias e tornarem os dias mais leves com muita “zoeira”, comida e conversa boa.

Ao meu namorado, Yan Cardoso, por todo apoio, por acreditar no meu potencial e me incentivar quando me encontrei muitas vezes desanimada.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Ana Lúcia Pereira Fernandes por sua excelência quanto profissional, pela paciência e humildade em sanar todo tipo de dúvida. Pelo incentivo e conhecimento fornecido para a conclusão deste trabalho.

À Universidade Federal do Maranhão, à coordenação do curso, à direção, ao corpo docente e até mesmo às dificuldades enfrentadas quanto as condições de ensino, pois possibilitaram não apenas a aquisição de conhecimento técnico-científico, mas também o desenvolvimento de senso crítico e de responsabilidade social.

A todos que me apoiaram e me inspiraram direta e indiretamente, minha gratidão pela realização deste sonho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
1. Introdução	8
2. Material e métodos.....	10
2.1 Ativação da cultura probiótica.....	10
2.2 Preparo do néctar probiótico de cupuaçu	10
2.3 Formulações.....	11
2.4 Análises	12
2.4.1 Viabilidade de <i>L. casei</i>	12
2.4.2 Determinação do crescimento microbiano (biomassa).....	12
2.4.3 pH.....	12
2.4.4 Atividade antioxidante	13
2.4.5 Compostos fenólicos	13
2.4.6 Avaliação sensorial	14
2.4.7 Análise dos dados	14
3. Resultado e discussões	15
3.1 Viabilidade de <i>L. casei</i> NRRL B-442, biomassa, pH.....	15
3.2 Atividade antioxidante e compostos fenólicos	17
3.3 Avaliação sensorial	18
4. Conclusão.....	21
REFERÊNCIAS.....	22
ANEXO	33

1 **ESTABILIDADE DE NÉCTAR PROBIÓTICO DE CUPUAÇU DURANTE**
2 **ESTOCAGEM REFRIGERADA**

3
4 Eduarda Silva de Araújo^a

5 Virgínia Kelly Gonçalves Abreu^a

6 Tatiana De Oliveira Lemos^a

7 Ana Lúcia Fernandes Pereira^{a*}

8
9 ^aCurso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Maranhão, Centro de

10 Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia, 65.900-410, Imperatriz, Maranhão, Brazil, E-mail:

11 duda.araujo123@gmail.com, vkellyabreu@gmail.com, tharta@bol.com.br,

12 anafernandesp@gmail.com.

13

14 **RESUMO**

15

16 O objetivo desse estudo foi avaliar a estabilidade do néctar probiótico de cupuaçu durante
17 estocagem refrigerada em duas formulações: 11% de açúcar e 5,58% de sucralose. Foram
18 realizadas determinações de viabilidade do *Lactobacillus casei*, biomassa, pH, atividade
19 antioxidante e compostos fenólicos a cada 7 dias por 42 dias a 7 °C. As amostras também
20 foram submetidas a avaliação sensorial em três tempos: logo após o preparo (dia 0), após
21 21 e 42 dias de estocagem. Preparou-se, também, um néctar de cupuaçu na forma
22 convencional para comparar as análises de compostos fenólicos e atividade antioxidante.
23 Com o armazenamento, o número de células viáveis de *L. casei* aumentou de 9,00 para
24 9,34 log UFC/mL no néctar adicionado de açúcar. Para o néctar adicionado de sucralose,
25 observou-se decréscimo da concentração celular de 9,00 para 8,46 log UFC/mL. Durante
26 a estocagem, a atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos apresentaram
27 menores reduções nos néctares probióticos que no néctar convencional. Sensorialmente,
28 os néctares probióticos foram bem aceitos, apresentando maiores percentuais na região
29 de aceitação. Assim, a adição de açúcar comercial é viável na produção de néctar
30 probiótico de cupuaçu. A sucralose apresentou ser um bom substituinte do açúcar
31 comercial, tornando este produto menos calórico.

32

33 **Palavras-chave:** Viabilidade, frutas tropicais, compostos fenólicos, aceitação sensorial.

34 1. Introdução

35

36 Probióticos são definidos como micro-organismos vivos que, quando
37 administrados em quantidades suficientes, exercem benefícios ao organismo (FAO;
38 WHO, 2002). Quando consumidos, os probióticos fornecem manutenção ou modulação
39 da microbiota intestinal, competição com patógenos, imuno modulação, fortalecimento
40 da integridade da parede intestinal, apresentam ainda ação anti carcinogênica, anti
41 hipertensiva e anti mutagênica, redução da hipercolesterolemia e intolerância a lactose e
42 aumento da absorção de minerais (Shah, 2007; Watson & Preedy, 2016).

43 Produtos probióticos à base de leite e suplementos alimentares estão entre os mais
44 disponíveis no mercado. Porém, estudos propõem o desenvolvimento de produtos
45 probióticos com matérias-primas vegetais: sucos e néctares de caju (Pereira, Almeida,
46 Jesus, Costa, & Rodrigues, 2013), maçã (Pimentel, Madrona, & Prudencio, 2015), cereja
47 (Nematollahi, Sohrabvandi, Mortazavian, & Jazaeri, 2016), noni (Wang, Ng, Su, Tzeng,
48 & Shyu, 2009), laranja (Costa *et al.*, 2017) como alternativa a indivíduos que não
49 consomem produtos à base de leite.

50 De acordo com Yoon, Woodams, & Hang (2005) e Sheehan, Ross, & Fitzgerald
51 (2007), as matrizes vegetais são adequadas para inserção dos probióticos pois contêm
52 componentes naturais que contribuem para manutenção da viabilidade dos micro-
53 organismos. O conteúdo de componentes funcionais, vitaminas, minerais, antioxidantes
54 e fibras e outras moléculas bioativas de vegetais indicam esse como excelente meio para
55 o processo fermentativo (Shahidi, 2009). Além disso, são produtos consumidos
56 diariamente e ainda podem fornecer características sensoriais agradáveis aos probióticos
57 (Luckow & Delahunty, 2004).

58 Desta forma, o cupuaçu (*Theobroma grandiflorum Willd ex Spreng*) Schum. pode
59 ser uma alternativa para elaboração de néctar probiótico. Este fruto ganha destaque como
60 um dos mais apreciados da Amazônia brasileira, é caracterizado pelo sabor ácido e aroma
61 intenso (Vriesmann, Silveira, & Carmen, 2009). Sua composição é rica em fibras, amido
62 e polissacarídeos. Contém ainda antioxidantes como flavonas, flavan-3-ol e
63 proantocianidinas, que atuam protegendo as células de radicais livres, prevenindo o
64 organismo contra doenças crônico-degenerativas, sendo importante sua manutenção
65 durante processamento e armazenamento (Pugliese, Tomás-Barberan, Truchado, &
66 Genovese, 2013; Yang *et al.*, 2003).

67 No entanto, a inserção de probióticos nos sucos e néctares de frutas é mais
68 complexa que em produtos lácteos. As condições ácidas deste meio podem inibir as
69 culturas probióticas, inviabilizando a ação funcional a que esses micro-organismos se
70 propõem (Yoon *et al.*, 2005). Para exercerem sua funcionalidade, os probióticos precisam
71 manter sua viabilidade durante todo processamento e estocagem, de no mínimo 6,00 log
72 UFC/mL (Brasil, 2008).

73 Um ponto importante na elaboração de néctares probióticos refere-se à
74 substituição do açúcar por edulcorantes, com o intuito que esses alimentos se tornem
75 menos calóricos (Martínez-Cervera, Sanz, Salvador, & Fiszman, 2012; Pimentel *et al.*,
76 2015). Dentre os edulcorantes, a sucralose se destaca, pois, apresenta alto poder adoçante
77 (600 vezes superior ao da sacarose) e sofre pouca influência da acidez, permitindo seu
78 uso em néctares de fruta sem grandes alterações sensoriais (Cadena *et al.*, 2013).

79 Diante disso, o presente estudo objetivou avaliar a estabilidade do *Lactobacillus*
80 *casei* NRRL B-442 em néctar probiótico de cupuaçu adicionado de sacarose comercial e
81 em néctar probiótico com substituição total de açúcar pelo edulcorante sucralose, durante
82 a estocagem por 42 dias a 7 °C, através de viabilidade microbiana, pH, atividade

83 antioxidante, teor de compostos fenólicos. Foi avaliado, ainda, o efeito do
84 armazenamento sobre a aceitação sensorial dos néctares probióticos de cupuaçu.

85

86 **2. Material e métodos**

87 Foram realizadas análises de viabilidade, biomassa, pH, atividade antioxidante e
88 compostos fenólicos a cada 7 dias, até 42 dias de estocagem para duas formulações de
89 néctar probiótico de cupuaçu. As análises de compostos fenólicos e atividade antioxidante
90 foram também realizadas no néctar de cupuaçu não fermentado (convencional).

91

92 *2.1 Ativação da cultura probiótica*

93 O *Lactobacillus casei* NRRL B-442 (ARS Culture Collection, Peoria, Illinois,
94 USA) foi utilizado de uma cultura estoque do Laboratório de Biotecnologia do
95 Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará,
96 previamente congelada a -20°C em caldo MRS (De Man, Rogosa e Sharpe) adicionada
97 de glicerol a 50% (vv⁻¹).

98 Para a ativação do micro-organismo, inoculou-se 8 mL da cultura estoque em 100
99 mL de caldo MRS e 10 mL de tampão fosfato de potássio dibásico 200 mM pH 6,5.
100 Incubou-se em estufa incubadora estática a 37 °C até se atingir concentração de células
101 viáveis de 9,00 log UFC/mL, equivalente a absorbância de 0,600 a 590 nm na escala de
102 McFarland.

103

104 *2.2 Preparo do néctar probiótico de cupuaçu*

105 Para a obtenção dos néctares foram utilizadas polpas de cupuaçu congeladas,
106 adquiridas em comércio local da cidade de Imperatriz, Maranhão. Preparou-se o néctar

107 de acordo com as instruções no rótulo da polpa comercial (proporção de 1:2 de polpa e
108 água).

109 Para a produção do probiótico, ajustou-se o pH do néctar a 5,8 com solução de
110 hidróxido de sódio a 10 M (NaOH). Inoculou-se cultura de *Lactobacillus casei* na
111 concentração de 7,00 logUFC/mL ao néctar e incubou-se em estufa incubadora B.O.D a
112 30 °C/18 h (Pereira *et al.*, 2017).

113

114 2.3 Formulações

115 Após a fermentação, metade do néctar foi adoçada com 11% de açúcar
116 (quantidade suficiente para alcançar sólidos solúveis totais de 15 °Brix) (Pereira *et al.*,
117 2017) e a outra foi adicionada do edulcorante sucralose (5,58%, concentração com poder
118 similar a 11% de açúcar). Assim, os néctares foram acondicionados em recipientes de
119 vidro estéreis de tampas rosqueadas de cor âmbar com capacidade de 100 mL. O *head*
120 *space* foi de 20 mL e as amostras foram estocadas sob refrigeração (4 °C) por 42 dias.

121 Para o néctar convencional, o teor de sólidos solúveis foi ajustado com açúcar
122 comercial para 15 °Brix, em seguida, foi pasteurizado (90 °C/60 s) em tachos de alumínio
123 com agitação contínua e envasados a quente (processo *hot fill*), em recipientes de vidro
124 previamente esterilizados, com fechamento através de tampas plásticas rosqueáveis. Os
125 recipientes foram invertidos por 3 min para acontecer o processo com as tampas também,
126 arrefecidas em banho de gelo e mantidos sob refrigeração por 42 dias, sendo avaliado a
127 cada 7 dias.

128

129 2.4 Análises

130 2.4.1 Viabilidade de *L. casei*

131 A viabilidade do micro-organismo nos néctares probióticos foi determinada a
132 partir de diluição seriada dos sucos até se obter a diluição de 10⁻⁶. Aliquotas de 0,1 mL
133 dos sucos diluídos foram inoculadas em placas contendo MRS Agar em semeadura em
134 superfície com auxílio de alça de Drigalski. As placas foram incubadas invertidas a 37 °C
135 por 72 h. Após esse período, foi realizada contagem de colônias típicas de *L. casei* que
136 de acordo com Vinderola & Reinheimer (2000) são colônias redondas, de cor branco
137 cremoso e com diâmetro de 0,9 a 1,3 mm. Os resultados foram expressos em log UFC/mL.

138

139 2.4.2 Determinação do crescimento microbiano (biomassa)

140 O crescimento de *L. casei* foi quantificado através da determinação da densidade
141 ótica a 590 nm (Rodrigues; Lona; Franco, 2003). Para tal, foi medida a absorvância do
142 néctar em espectrofotômetro (Spectrum, SP200UV). O procedimento consistiu em diluir
143 (1:10) uma alíquota do suco contendo as células em água destilada e realização da leitura
144 da absorvância contra um branco com água destilada. O cálculo da biomassa foi expresso
145 em g/L, considerando a curva de calibração do micro-organismo (base seca) da seguinte
146 forma:

147
$$C \text{ (g/L)} = (\text{ABS}_{590\text{nm}} - 0,00818)/3,95 \quad (1)$$

148

149 2.4.3 pH

150 O pH dos néctares de cupuaçu foi determinado em pHmetro (Biotech, mPa-210,
151 Piracicaba, Brasil), calibrado com soluções tampões de pH 4 e 7.

152

2.4.4 *Atividade antioxidante*

A atividade antioxidante foi avaliada de acordo com o método ABTS, onde o radical livre ABTS foi obtido pela reação do ABTS (7 mM) com persulfato de potássio (140 mM, concentração final). O sistema foi mantido em repouso, a temperatura ambiente (± 25 °C), durante 16 h em ausência de luz. Uma vez formado radical ABTS^{•+}, diluiu-se com etanol até obter um valor de absorvância de 0,700 a 734 nm. A leitura espectrofotométrica foi realizada após 6 minutos, a partir da mistura do radical com extrato em comprimento de onda de 734 nm. Utilizou-se uma alíquota de 30 μ L de amostra e 3 mL de radical ABTS^{•+}. O Trolox foi usado como padrão antioxidante e os resultados foram expressos em μ M Trolox mL néctar.

2.4.5 *Compostos fenólicos*

A quantificação de compostos fenólicos foi realizada com reagente de Folin-Ciocalteu, utilizando como referência a curva padrão do ácido gálico (Larrauri; Rupérez; Saura-Calixto, 1997). O método baseia-se na capacidade dos compostos fenólicos para reduzir uma mistura de complexos de ácido fosfotúngstico/ fosfomolibdico (reagente de Folin) em meio alcalino. Para a análise, 0,5 mL da amostra (ou água para o branco) foi misturado com 0,5 mL da solução de Folin-Ciocalteu (diluídos em água 1: 3) e 1 mL de 20% (p / v) de uma solução de carbonato de sódio. Após 30 minutos de reação e o desenvolvimento da cor azul, a leitura foi feita a 700 nm usando um espectrofotômetro (Biospectro, SP-220, Curitiba, Brasil). Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico por 100 mL de néctar.

2.4.6 Avaliação sensorial

A análise sensorial do néctar probiótico de cupuaçu foi realizada no néctar recém-fermentado (0 dia), com 21 e 42 dias de estocagem. Os testes sensoriais foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Federal do Maranhão, conduzidos em cabines individuais com incidência de luz branca, sob condições controladas. Amostras de 30 mL foram servidas a $4\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, em taças de vidro codificadas com três dígitos aleatórios de forma monádica e sequencial, seguindo-se delineamento de blocos completos balanceados com relação à ordem de apresentação.

Avaliou-se a aceitação sensorial do néctar probiótico de cupuaçu utilizando escala hedônica estruturada mista de 9 pontos (9 = gostei muitíssimo, 5 = não gostei; nem desgostei; 1 = desgostei muitíssimo), mediante os atributos: cor, aparência, aroma, sabor, e aceitação global (Stone; Sidel; Schutz, 2004). Doçura, acidez, corpo e sabor residual (sabor salgado) foram avaliados por meio da escala do ideal de 9 pontos, (+4 = extremamente mais forte que o ideal, 0 = ideal, -4 = extremamente menos forte que o ideal) (Meilgaard; Civille; Carr, 1991).

2.4.7 Análise dos dados

Os dados da análise sensorial foram avaliados por meio dos gráficos de percentuais de frequência. Para avaliação dos dados da escala hedônica, as notas foram agrupadas em regiões de aceitação (percentuais de frequência das categorias de 6 a 9), indiferença (percentuais de frequência da categoria 5) e rejeição (percentuais de frequência das categorias de 1 a 4). Nos dados da escala do ideal, as notas foram agrupadas em regiões: acima do ideal (percentuais de frequência das categorias de +1 a +4), ideal (percentuais de frequência da categoria 0) e abaixo do ideal (percentuais de frequência das categorias de -1 a -4).

201 3. Resultado e discussões

202 3.1 Viabilidade de *L. casei* NRRL B-442, biomassa, pH

203 Na Fig. 1, encontram-se os resultados da viabilidade de *L. casei* ao longo da
204 estocagem, assim como a biomassa. É possível observar que houve multiplicação celular
205 de *L. casei*, com aumento de células viáveis de $9,00 \pm 0,05$ para $9,34 \pm 0,01$ log UFC/mL
206 no néctar probiótico de cupuaçu adicionado de açúcar. Além disso, foi observado um
207 aumento da biomassa bacteriana de $0,98 \pm 0,03$ para $1,26 \pm 0,03$ g/L. Este é um resultado
208 satisfatório, tendo em vista o limite mínimo de viabilidade de 6,00 log UFC/mL para o
209 probiótico exercer seus efeitos benéficos ao organismo (Brasil, 2008).

210 Os resultados foram semelhantes aos obtidos por Pereira *et al.* (2013) avaliando a
211 estabilidade do suco probiótico de caju adicionado de açúcar. Os autores observaram
212 aumento de $8,43 \pm 0,05$ a $8,66 \pm 0,02$ log UFC/mL de *L. casei* ao longo de 42 dias sob 4 °C,
213 que foi proporcionado pelo uso do açúcar como substrato para o crescimento do
214 probiótico. Diante disso, o aumento da viabilidade observado para o néctar adicionado de
215 açúcar, no presente estudo, está relacionado à maior concentração de substrato (açúcar)
216 que permitiu o crescimento do micro-organismo até o fim da estocagem.

217 Comportamento diferente foi observado no néctar probiótico com adição de
218 sucralose, onde a viabilidade de *L. casei* reduziu de $9,00 \pm 0,05$ a $8,46 \pm 0,11$ log UFC/mL
219 ao longo da estocagem (Fig. 1), porém, o micro-organismo, mesmo ao final da estocagem,
220 apresentou viabilidade acima do limite mínimo de 6,00 log UFC/mL estabelecido pela
221 legislação (Brasil, 2008). A biomassa apresentou aumento de $0,98 \pm 0,03$ para $1,12 \pm 0,03$
222 g/L, tendo em vista que este método quantifica tanto células viáveis quanto células não
223 viáveis do meio.

224 Apesar da redução na contagem celular, o néctar probiótico de cupuaçu
225 adicionado de sucralose apresentou contagem de células viáveis de *L. casei* superior a do

226 néctar de abacaxi adicionado de 10% (vv⁻¹) de açúcar em estudo de Costa, Fonteles, Jesus,
227 & Rodrigues (2013) durante o armazenamento por 42 dias/4 °C, onde a viabilidade do
228 micro-organismo se manteve acima do limite mínimo de 6,00 log UFC/mL (Brasil, 2008)
229 apenas até o 28° dia, enquanto a viabilidade do néctar no presente estudo apresentou
230 valores satisfatórios até o 42° dia.

231 Angelov, Gotcheva, Kuncheva, & Hristozova (2006) utilizando os edulcorantes
232 aspartame, ciclamato de sódio, sacarina e huxol em bebida probiótica a base de aveia
233 armazenada por 21 dias/5 °C, também reportaram uma estabilidade da viabilidade de
234 *Lactobacillus plantarum* B28 que permaneceu acima de 6,00 log UFC/mL, indicando que
235 o uso de edulcorantes não inibiu a atividade bacteriana.

236 Sendo assim, a redução na viabilidade de *L. casei* no néctar probiótico adicionado
237 de sucralose pode ser resultante da ausência de substrato para o crescimento do micro-
238 organismo, uma vez que, a presença de edulcorante não exerce influência no processo de
239 fermentação de bactérias probióticas (Vinderola, Costa, Regenhardt, & Reinheimer,
240 2002).

241 Os néctares probióticos de cupuaçu apresentaram redução do pH ao longo da
242 estocagem (Fig. 2). Essa redução pode ser resultante da fermentação pelo micro-
243 organismo probiótico, que tem como produto, metabólitos, como os ácidos orgânicos
244 láctico e acético, que reduzem o pH (Silveira, Fontes, Guilherme, Fernandes, & Rodrigues,
245 2012).

246 Apesar da capacidade de produção de ácido láctico de *L. casei* em temperatura de
247 refrigeração (Pereira *et al.*, 2013), a acidificação dos néctares probióticos de cupuaçu não
248 teve ação inibitória sobre o micro-organismo. De forma semelhante ao reportado por
249 Fonteles *et al.* (2013), onde, apesar do pH do néctar probiótico de melão apresentar valor

250 de 3,5 após 42 dias de estocagem, a viabilidade do probiótico permaneceu acima de 8,00
251 log UFC/mL.

252

253 3.2 Atividade antioxidante e compostos fenólicos

254 A atividade antioxidante decaiu 52% (de $0,25\pm 0,01$ para $0,12\pm 0,00$ $\mu\text{M/mL}$)
255 durante a estocagem do néctar convencional (Fig. 3). Para o néctar adoçado com açúcar
256 e sucralose, após a fermentação, houve redução de 27,3%, ($0,22\pm 0,04$ a $0,16\pm 0,02$
257 $\mu\text{M/mL}$) e 33%, ($0,24\pm 0,01$ a $0,16\pm 0,10$), respectivamente.

258 Quanto ao teor de compostos fenólicos (CF), no néctar convencional de cupuaçu
259 houve decaimento durante a estocagem em torno de 36,41% para o néctar convencional
260 (Fig. 3). No néctar probiótico adicionado de açúcar a redução foi de 9,76% ($16,48\pm 0,05$
261 a $10,48\pm 0,04$ mg/ 100 mL) e no néctar probiótico contendo sucralose a variação se deu
262 de forma mais acentuada quando comparado ao néctar anterior, de 28,32% ($14,62\pm 0,01$
263 a $10,48\pm 0,01$ mg/ 100 mL).

264 Os resultados encontrados no presente trabalho foram semelhantes aos
265 constatados por Pereira *et al.* (2013), em que houve maior conservação dos compostos
266 fenólicos em néctar probiótico de caju adoçado com açúcar quando comparado ao néctar
267 de caju convencional (não fermentado), com redução de 29,31 e 55,70%,
268 respectivamente, ao longo da estocagem de 42 dias/4 °C.

269 É importante salientar que os compostos fenólicos, encontrados de forma natural
270 em néctares de frutas, são os maiores responsáveis pela atividade antioxidante (Contreras
271 *et al.*, 2011). Vários trabalhos evidenciam a fermentação láctica como um fator
272 conservante das propriedades antioxidante de frutas (Di Cagno, Minervini, Rizzello,
273 Angelis, & Gobbetti, 2011; Hernandez *et al.* 2007; Figueiredo, Campos, Freitas, Hogg,
274 & Couto 2008; Wu, Su, & Cheng, 2011). Tendo em vista seus benefícios para a saúde

275 como redução do risco de doenças crônicas, cardiovasculares, câncer (cólon, esfôfago,
276 pulmão, mama, fígado e pele) (Leifert & Abeywardena, 2008); a menor redução
277 deste atributo nos néctares probióticos de cupuaçu mostra-se uma vantagem nutricional.

278

279 3.3 Avaliação sensorial

280 Para a avaliação sensorial dada através da escala hedônica, observou-se que todos
281 os atributos apresentaram altos percentuais de aceitação, sendo estes sempre maiores que
282 para as demais regiões. Quanto a impressão global (Fig. 4a) a aceitação foi acima de 63%
283 para todas as amostras durante o armazenamento. Para o dia 0 a aceitação foi de 90% e
284 87% para os néctares com açúcar e sucralose, respectivamente. Porém, com 42 dias, a
285 amostra com sucralose (Fig. 4a) apresentou-se mais aceita que a amostra adoçada com
286 açúcar, com 78,3% e 63,3% de aceitação, respectivamente. A acidez pode ter contribuído
287 para tal resultado, uma vez que a amostra com açúcar reduziu o pH de forma mais
288 acentuada ao longo do armazenamento e, de acordo com Cruz, Antunes, Sousa, Faria, &
289 Saad (2009), a elevada acidez reduz a aceitação do alimento por parte do consumidor.

290 Em termo de cor a aceitação foi acima de 80% para ambas amostras (Fig. 4b).
291 Pimentel *et al.* (2015) observaram que a adição da sucralose tornou a cor do suco
292 clarificado de maçã menos intensa e menos aceita, tal reação não foi observada no néctar
293 probiótico de cupuaçu com sucralose, onde o índice de aceitação deste parâmetro
294 hedônico não reduziu durante a estocagem.

295 A aparência foi outro parâmetro bem aceito (Fig. 4c) com 86,6 a 96,7% de
296 aceitação, durante 42 dias de estocagem tanto para o néctar probiótico com adição de
297 açúcar quanto para o néctar adicionado de sucralose.

298 Para aroma (Fig. 4d), o índice de aceitação dos néctares variou de 68,3 a 81,7%.
299 De acordo com Cruz *et al.* (2010), o metabolismo dos micro-organismos probióticos

300 resulta na produção de componentes que podem contribuir negativamente com o aroma e
301 o sabor do produto, que são conhecidos com os odores estranhos dos probióticos. Durante
302 a estocagem, o néctar adicionado de sucralose, não apresentou multiplicação celular, o
303 que pode ter proporcionado menor quantidade destes componentes, resultando em
304 aceitação maior ao 42º dia quando comparado ao néctar com açúcar.

305 Para sabor (Fig. 4e), o percentual de aceitação da amostra com açúcar reduziu ao
306 longo do armazenamento, com 81,6; 60,0 e 48,3% para os respectivos dias 0, 21 e 42.
307 Porém, a região de aceitação ainda se manteve maior que as demais para todos os dias.
308 Para a amostra contendo sucralose, os percentuais de aceitação foram maiores que os
309 obtidos para amostra com açúcar; com valores de 93,3; 63,3 e 71,7% para os dias 0, 21 e
310 42, respectivamente. Portanto, para o atributo sabor, a amostra contendo sucralose parece
311 ter maior aceitação que a amostra contendo açúcar.

312 Luckow e Delahunty (2004) avaliaram sensorialmente o suco de laranja contendo
313 ingredientes funcionais prebióticos e probióticos (*Lactobacillus* GG). Os julgadores
314 atribuíram ao néctar funcional características como aroma láctico, sabor medicinal,
315 artificial e terra e consideraram esses atributos como inaceitáveis. O cupuaçu, porém, por
316 ter aroma e sabor intensos característicos, contribuiu positivamente, resultando em boa
317 aceitação sensorial de ambos atributos durante a estocagem, para ambas formulações.

318 Resultados semelhantes ao do presente estudo foram reportados por Pimentel *et*
319 *al.* (2015), ao avaliarem a aceitação sensorial de néctar probiótico de maçã estocado por
320 28 dias a 4 °C, utilizando sucralose como substituinte do açúcar e cultura probiótica
321 *Lactobacillus paracasei ssp. Paracasei*. Estes autores obtiveram boa aceitação quanto
322 aos atributos hedônicos aroma, sabor, textura e impressão global, concluindo que a adição
323 de edulcorante, assim como a adição de probiótico, não altera a intensidade desses
324 atributos do néctar.

325 Quanto aos termos avaliados pela escala do ideal, a doçura da amostra contendo
326 açúcar apresentou um decaimento ao longo da estocagem (Fig. 5a), onde, quanto maior
327 tempo de estocagem, maior o percentual de frequência para a região “abaixo do ideal”.
328 Já a amostra contendo sucralose, manteve idealidade de 35 a 40% durante o
329 armazenamento. A redução da doçura no néctar adicionado de açúcar pode ser resultante
330 da utilização de açúcares pelos micro-organismos.

331 A acidez foi um termo que teve uma variação considerável para amostra
332 adicionada de açúcar (Fig. 5b). Ao primeiro dia foi considerada como “ideal” por 56,7%
333 dos provadores e ao 42º dia, 16,7% consideraram a acidez como “ideal”,
334 concomitantemente, o percentual para “acima do ideal” aumentou, finalizando, ao 42º dia
335 com percentual de 68,3%. Resultados de acidez e doçura se complementaram: a medida
336 que a acidez aumentou, a doçura foi menos perceptível sensorialmente.

337 Para o atributo corpo, não houve grande variação ao longo da estocagem (Fig. 5c).
338 Mais de 50% dos julgadores o consideraram como “ideal” para as duas formulações do
339 néctar. Porém, o sabor residual para a amostra com açúcar aumentou no período de 42
340 dias (Fig. 5d), variando de 26,6 a 55% como “acima do ideal” e já na amostra com
341 sucralose 48% dos julgadores consideraram o sabor residual “ideal” no primeiro dia de
342 estocagem; para o 21º e 42º dias, os percentuais foram de 41,7 e 51,7%; respectivamente.

343 O sabor residual refere-se ao sabor salgado evidenciado pelos julgadores e pode
344 apresentar-se mais forte a medida que a acidez também aumenta, é dito como
345 desagradável ao paladar, pois distancia sensorialmente os néctares probióticos aos
346 néctares convencionais. Além disso, com o tempo de armazenamento e aumento da
347 viabilidade, maior é a formação desse sabor residual devido a interações de ácidos
348 resultantes do metabolismo microbiano e base (NaOH) utilizada na formulação do néctar
349 para ajuste de pH.

350 Sendo assim, a adição de sucralose mostra-se uma vantagem sensorial, uma vez
351 que, com menor viabilidade celular, houve menor formação do sabor residual,
352 proporcionando maior aceitação sensorial deste néctar quando comparado ao néctar
353 probiótico com açúcar ao final do armazenamento de 42 dias (Fig. 4a).

354

355 **4. Conclusão**

356 O néctar probiótico de cupuaçu se mostrou estável durante o armazenamento sob
357 refrigeração. A atividade de *L. casei* aumentou quando foi adicionado 11% de açúcar.

358 Quanto ao néctar adicionado de sucralose, observou-se redução na quantidade de
359 células viáveis, mas as concentrações de *L. casei* mantiveram-se acima dos valores
360 necessários para exercer seus efeitos benéficos no néctar de cupuaçu probiótico durante
361 a estocagem por 42 dias no néctar de cupuaçu probiótico.

362 Ambas formulações foram bem aceitas sensorialmente. O néctar adicionado de
363 sucralose teve maior aceitação aos 42 dias, devido a menor acidez perceptível ao paladar.

364 Sendo assim, a adição de 11% de açúcar comercial é viável para a produção de
365 néctar probiótico de cupuaçu. A adição de 5,58% de sucralose comercial como
366 substituinte do açúcar mostra-se adequada, tornando este produto menos calórico, sendo
367 possível o consumo por uma ampla faixa de consumidores com doenças crônicas.

REFERÊNCIAS

368

369

370 Angelov, A., Gotcheva, V., Kuncheva, R., & Hristozova, T. (2006). Development of a
371 new oat-based probiotic drink. *International journal of food microbiology*, 112(1), 75-80.

372

373 Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2008). *Alimentos com alegação de*
374 *propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias*
375 *bioativas e probióticos.*

376

377 Cadena, R. S., Cruz, A. G., Netto, R. R., Castro, W. F., Faria, J. D. A. F., & Bolini, H. M.
378 A. (2013). Sensory profile and physicochemical characteristics of mango nectar
379 sweetened with high intensity sweeteners throughout storage time. *Food Research*
380 *International*, 54(2), 1670-1679.

381

382 Contreras, C. J., Calderon, J. L., Guerra, H. E., & Garcia, V. B. (2011). Antioxidant
383 capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from
384 Colombia. *Food Research International*, 44, 2047–2053.

385

386 Costa, G. M., de Carvalho Silva, J. V., Mingotti, J. D., Barão, C. E., Klososki, S. J., &
387 Pimentel, T. C. (2017). Effect of ascorbic acid or oligofructose supplementation on *L.*
388 *paracasei* viability, physicochemical characteristics and acceptance of probiotic orange
389 juice. *LWT-Food Science and Technology*, 75, 195-201.

390 Costa, M. G. M., Fonteles, T. V., de Jesus, A. L. T., & Rodrigues, S. (2013). Sonicated
391 pineapple juice as substrate for *L. casei* cultivation for probiotic beverage development:
392 process optimisation and product stability. *Food chemistry*, 139(1), 261-266.

393

394 Cruz, A. G., Antunes, A. E., Sousa, A. L. O., Faria, J. A., & Saad, S. M. (2009). Ice-cream
395 as a probiotic food carrier. *Food Research International*, 42(9), 1233-1239.

396

397 Cruz, A. G., Cadena, R. S., Walter, E. H. M., Mortazavian, A. M., Granato, D., & Faria,
398 A. F. (2010). Sensory analysis: Relevance for prebiotic, probiotic, and synbiotic product
399 development. *Comprehensive Reviews in Food Safety*, 9, 358–373.

400

401 Di Cagno, R. D., Minervini, G., Rizzello, C. G., Angelis, M. D., & Gobbetti, M. (2011).
402 Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of
403 red and green smoothies. *Food Microbiology*, 28, 1062–1071.

404

405 FAO/WHO (2002). Standard for fermented milks. Codex standard 243. Rome, Italy:
406 FAO/WHO.

407

408 Figueiredo, A. R., Campos, F., Freitas, V., Hogg, T., & Couto, J. A. (2008). Effect of
409 phenolic aldehydes and flavonoids on growth and inactivation of *Oenococcus oeni* and
410 *Lactobacillus hilgardii*. *Food Microbiology*, 25, 105–112.

411

412 Fonteles, T. V., Costa, M. G. M., de Jesus, A. L. T., Fontes, C. P. M. L., Fernandes, F. A.
413 N., & Rodrigues, S. (2013). Stability and quality parameters of probiotic cantaloupe
414 melon juice produced with sonicated juice. *Food and Bioprocess Technology*, 6(10),
415 2860-2869.

416

417 Hernandez, T., Estrella, I., Pérez-Gordo, M., Alegría, E. G., Tenorio, C., Ruiz-Larrrea,
418 F., et al. (2007). Contribution of malolactic fermentation by *Oenococcus oeni* and
419 *Lactobacillus plantarum* to the changes in the nonanthocyanin polyphenolic composition
420 of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 5260–5266.

421

422 Larrauri, J. A., Rupérez, P., & Saura-Calixto, F. (1997). Effect of drying temperature on
423 the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal*
424 *of agricultural and food chemistry*, 45(4), 1390-1393.

425

426 Leifert, W. R., & Abeywardena, M. Y. (2008). Grape seed and red wine polyphenol
427 extracts inhibit cellular cholesterol uptake, cell proliferation, and 5-lipoxygenase
428 activity. *Nutrition Research*, 28(12), 842-850.

429

430 Luckow, T., & Delahunty, C. (2004). Which juice is ‘healthier’? A consumer study of
431 probiotic non-dairy juice drinks. *Food Quality and Preference*, 15(7), 751-759.

432

433 Martínez-Cervera, S., Sanz, T., Salvador, A., & Fiszman, S. M. (2012). Rheological,
434 textural and sensorial properties of low-sucrose muffins reformulated with
435 sucralose/polydextrose. *LWT-Food Science and Technology*, *45*(2), 213-220.

436

437 Meilgaard, M., Civille, G.V., & Carr, B. T. (1991). *Sensory evaluation techniques*. (2nd
438 ed.). Flórida: CRC Press.

439

440 Nematollahi, A., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A. M., & Jazaeri, S. (2016). Viability of
441 probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice
442 during cold storage. *Electronic Journal of Biotechnology*, *21*, 49-53.

443

444 Pereira, A. L. F., Almeida, F. D. L., de Jesus, A. L. T., da Costa, J. M. C., & Rodrigues,
445 S. (2013). Storage stability and acceptance of probiotic beverage from cashew apple
446 juice. *Food and Bioprocess Technology*, *6*(11), 3155-3165.

447

448 Pereira, A. L. F., Feitosa, W. S. C., Abreu, V. K. G., Lemos, T. O, Gomes, W. F., Narain,
449 N., & Rodrigues, S. (2017). Impact of fermentation conditions on the quality and sensory
450 properties of a probiotic cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) beverage. *Food Research*
451 *International*, *100*, 603-611.

452

453 Pimentel, T. C., Madrona, G. S., & Prudencio, S. H. (2015). Probiotic clarified apple juice
454 with oligofructose or sucralose as sugar substitutes: Sensory profile and
455 acceptability. *LWT-Food Science and Technology*, *62*(1), 838-846.

456 Pugliese, A. G., Tomás-Barberan, F. A., Truchado, P., & Genovese, M. I. (2013).
457 Flavonoids, proanthocyanidins, vitamin c, and antioxidant activity of *Theobroma*
458 *grandiflorum* (cupuassu) pulp and seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,
459 *61*, 2720–2728.

460

461 Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999).
462 Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization
463 assay. *Free radical biology and medicine*, *26*(9), 1231-1237.

464

465 Rodrigues, S., Lona, L. M. F., & Franco, T. T. (2003). Effect of phosphate concentration
466 on the production of dextransucrase by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL
467 B512F. *Bioprocess and biosystems engineering*, *26*(1), 57-62.

468

469 Sheehan, V. M., Ross, P., & Fitzgerald, G. F. (2007). Assessing the acid tolerance and
470 the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit
471 juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *8*(2), 279-284.

472

473 Shah, N. P. (2007). Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal*,
474 *17*(11), 1262–1277.

475

476 Shahidi, F., 2009. Nutraceuticals and functional foods: whole versus processed foods.
477 *Trends Food Sci. Technol.* *20*, 376–387.

478

479 Stone, H., Sidel, J.L., & Schutz, H.G. (2004). *Sensory Evaluation Practices*. (3rd ed.).
480 Boston: Elsevier.
481
482 Silveira, M. S., Fontes, C. P., Guilherme, A. A., Fernandes, F. A., & Rodrigues, S. (2012).
483 Cashew apple juice as substrate for lactic acid production. *Food and Bioprocess*
484 *Technology*, 5(3), 947-953.
485
486 Vriesmann, L. C., Silveira, J. L., & Carmen, L. D. O. (2009). Chemical and rheological
487 properties of a starch-rich fraction from the pulp of the fruit cupuassu (*Theobroma*
488 *grandiflorum*). *Materials Science and Engineering: C*, 29(2), 651-656.
489
490 Vinderola, C. G., Costa, G. A., Regenhardt, S., & Reinheimer, J. A. (2002). Influence of
491 compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter
492 and probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 12(7), 579-589.
493
494 Vinderola, C. G., & Reinheimer, J. A. (2000). Enumeration of *Lactobacillus casei* in the
495 presence of *L. acidophilus*. Bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy
496 products. *International Dairy Journal*, 10(4), 271–275.
497
498 Yang, H., Protiva, P., Cui, B., Ma, C., Baggett, S., Hequet, V., Mori, S., Westein, B., &
499 Kennelly, E. J. (2003). New bioactive polyphenols from *Theobroma grandiflorum*
500 (“cupuaçu”). *Journal of Natural Products*, 66, 1501–1504.
501

502 Yoon, K. Y., Woodams, E. E., & Hang, Y. D. (2005). Fermentation of beet juice by
503 beneficial lactic acid bacteria. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 38(1),
504 73–75.

505

506 Wang, C. Y., Ng, C. C., Su, H., Tzeng, W. S., & Shyu, Y. T. (2009). Probiotic potential
507 of noni juice fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. *International journal*
508 *of food sciences and nutrition*, 60(sup6), 98-106.

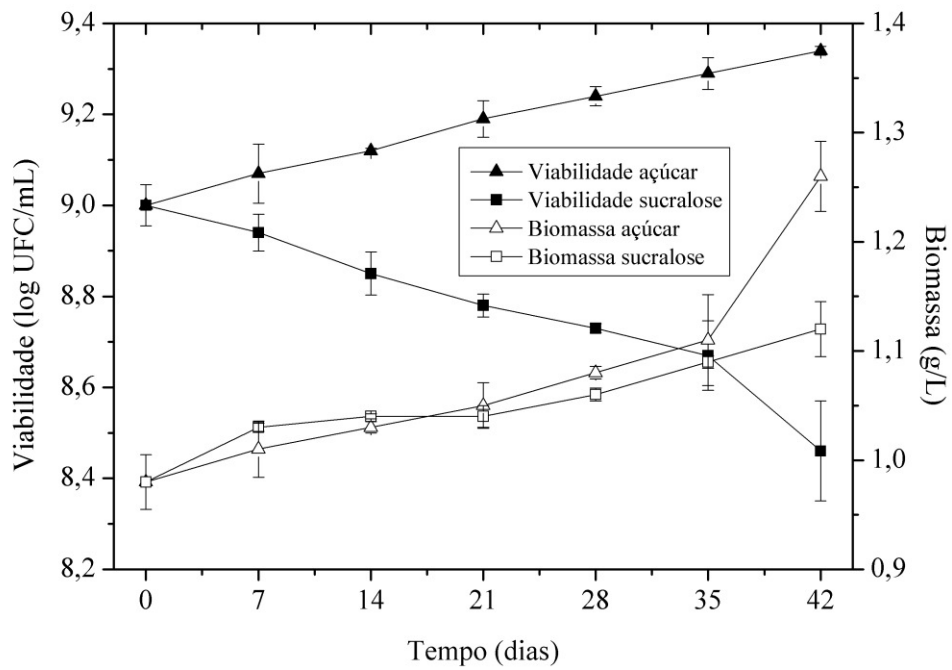
509

510 Watson, R. R., & Preedy, V. R. (2016). Fruits, Vegetables, and Herbs: Bioactive Foods
511 in Health Promotion.

512

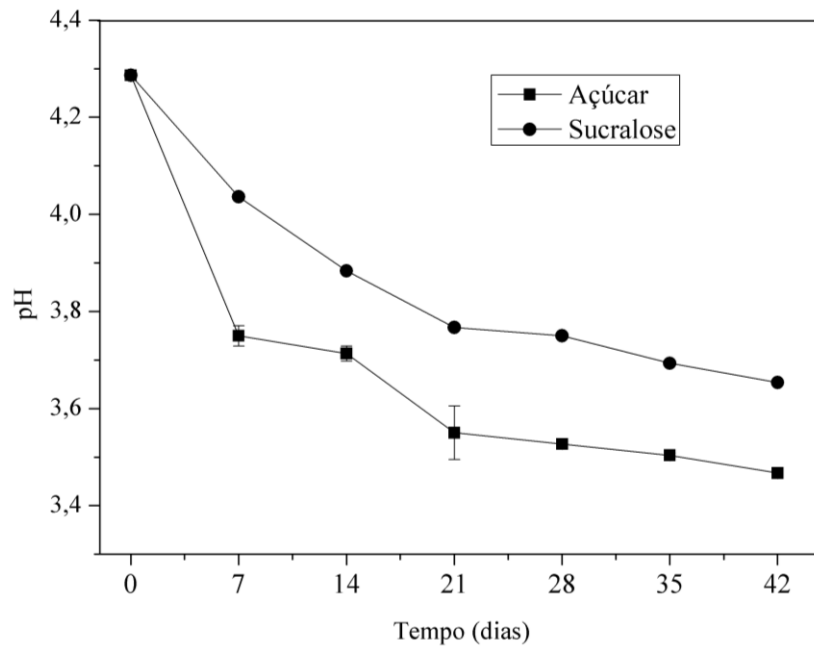
513 Wu, S.-C., Su, Y.-S., & Cheng, H.-Y. (2011). Antioxidant properties of *Lactobacillus*-
514 fermented and non-fermented *Graptopetalum paraguayense* E. Walther at different stages
515 of maturity. *Food Chemistry*, 129, 804–809.

516



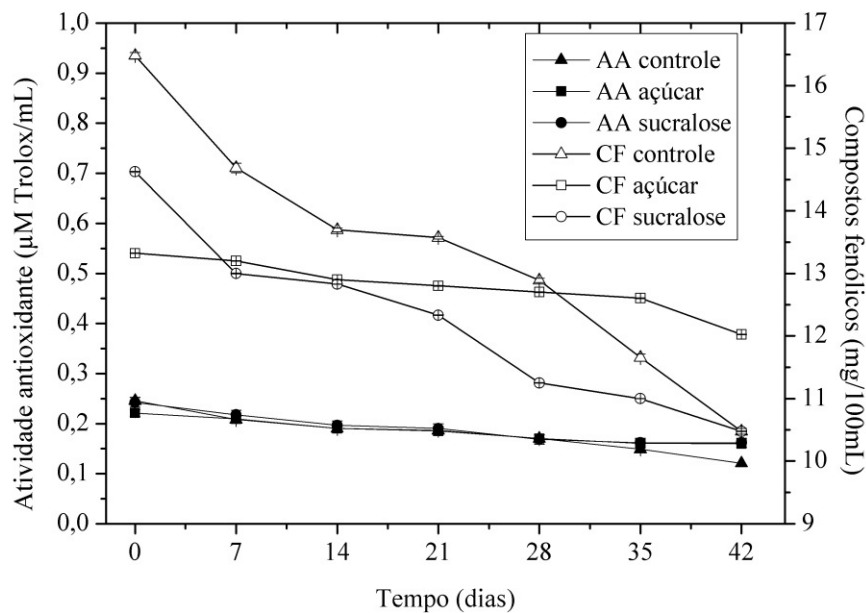
517

518 Fig. 1. Viabilidade (log UFC/mL) de *Lactobacillus casei* e biomassa (g/L) ao longo do
 519 tempo em néctar de cupuaçu probiótico, adicionado de açúcar (viabilidade e biomassa)
 520 ou sucralose (viabilidade e biomassa) após a fermentação, ao longo da estocagem por 42
 521 dias.



523

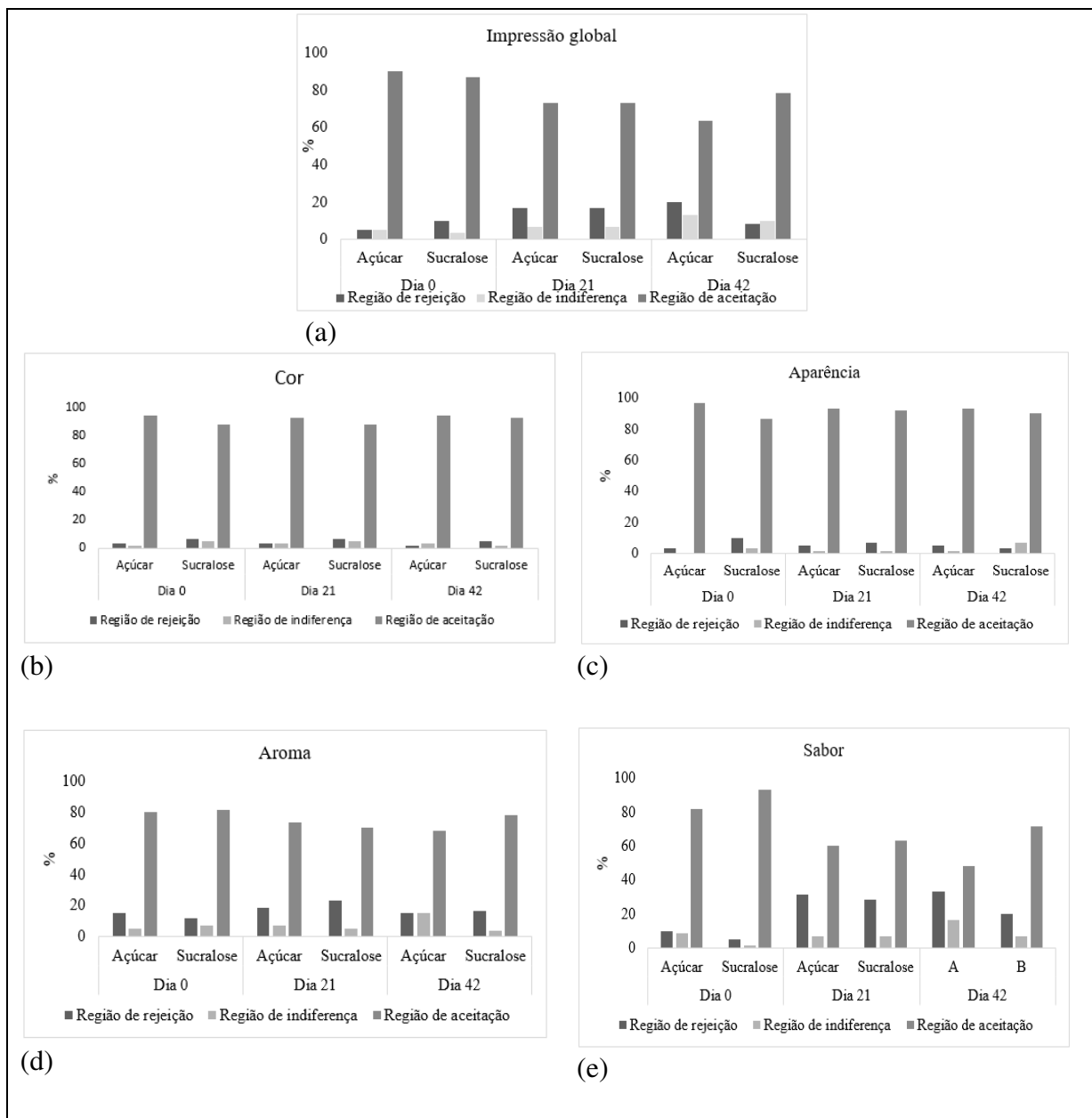
524 Fig. 2. pH dos néctares de cupuaçu probióticos adicionados de açúcar ou sucralose após
525 a fermentação, ao longo da estocagem por 42 dias.



526

527 Fig. 3. Atividade antioxidante (AA) (μM/mL) e compostos fenólicos (CF) (mg/ 100 mL)
528 no néctar probiótico de cupuaçu adicionado de açúcar ou sucralose após a fermentação,
529 ao longo de 42 dias de armazenamento.

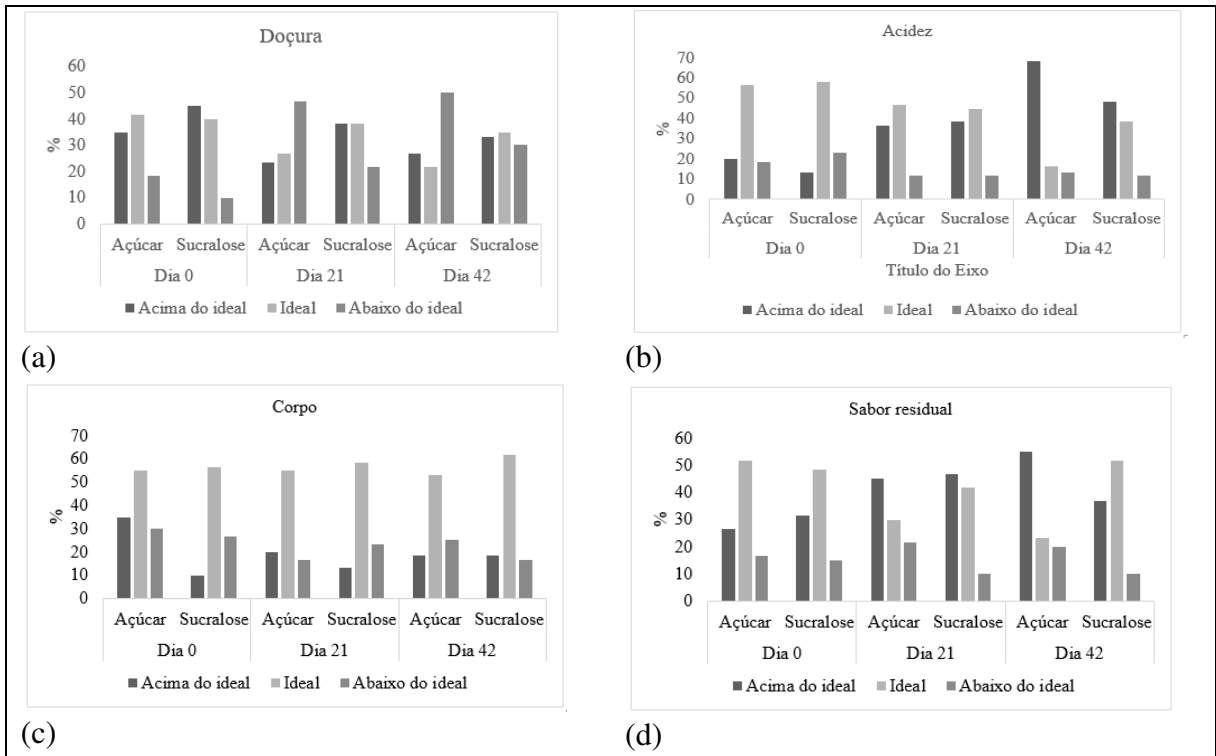
530



531

532 Fig. 4. Percentuais de aprovação, indiferença e rejeição de impressão global (a), cor (b),
 533 aparência (c), aroma (d) e sabor (e) do néctar probiótico de cupuaçu adicionado de açúcar
 534 ou sucralose após a fermentação, ao longo de 42 dias de estocagem.

535



536

537 Fig. 5. Aceitação sensorial avaliados através de escala do ideal para os termos doçura (a),
 538 acidez (b), corpo (c) e sabor residual (d) dos néctares probióticos de cupuaçu adicionados
 539 de açúcar ou sucralose após a fermentação, ao longo de 42 dias de estocagem.

ANEXO



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

LWT - Food Science and Technology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/lwt



Essentials to ensure fast handling of Research papers and Short communications

- Manuscript-text **must** be saved as either a MS Word, Word Perfect, RTF, TEX or Plain ASCII file. Continuous line numbering **must** be added and the text **must** be double spaced.
- Research papers **must** be no longer than 5000 words, including abstract and references, but without tables, figures and the corresponding legends.
- Short communications **must** be no longer than 2500 words including abstract and references, but without tables, figures and the corresponding legends.
 - Abstracts **must** not be longer than 200 words.
 - You **must** include Keywords (≤ 5).
 - Contact details of at least 3 suggested reviewers (name, affiliation and email address) **must** be included.
 - Highlights **must** be included (a summary of your main achievements in 3-5 bullet points no more than 85 characters each).
 - Figures and tables **must** be submitted as separate files and are clearly labeled.
 - The international system of units (SI units) **must** be used only.
 - If analytical data are reported in tables and/or figures: Number of replications should be mentioned in the legend or a footnote and standard error or other evidence of reliability of data must be given.
- Your Cover letter should explain the novelty of the research presented, that your paper presents original research, that it has not been published previously and that it is not under consideration for publication elsewhere.
 - For reviews: please check the homepage and Guide for Authors for detail.
- **Please note** that this list is not extensive and purely highlights the most important aspects of a submission. For full details on all article types please refer to the online Guide for Authors at <http://www.elsevier.com/journals/lwt-food-science-and-technology/0023-6438/guide-for-authors>.

Manuscript Preparation

- a. All lines and pages must be continuously numbered.
- b. All text should be double-spaced.
- c. Total manuscript length $\leq 3,000$ words (text portion).
- d. Total number of Tables ≤ 5 .
- e. Total number of figures ≤ 5 .
- f. Maximum number of references (including those cited in tables and figures) not to exceed 50.
- g. In the reference list identify five (5) key references (indicated by an * in front of the reference in the reference section). In two to three sentences explain why this reference is a key reference.

Contact details for submission

Submission for all types of manuscripts to *LWT - Food Science and Technology* proceeds totally online. Via the Elsevier Editorial System (EES) website for this journal, <http://ees.elsevier.com/lwt>, you will be guided step-by-step through the creation and uploading of the various files.

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](#).

By submitting this manuscript, the authors agree that text, equations, or figures from previously published articles or books have been clearly identified in full and their origin clearly explained in the adjacent text, with appropriate references given at the end of the paper. Duplication of text is rarely justified, even with diligent referencing. Exceptions may be made for descriptions of standard experimental techniques, or other standard methods used by the author in the investigation; but an appropriate citation is preferable. Authors who duplicate material from their own published work in a new article, without clearly identifying the repeated material and its source as outlined above, are self-plagiarising.

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 conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. If there are no conflicts of interest then please state this: 'Conflicts of interest: none'. [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 or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)')

section of our ethics policy 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 copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [CrossCheck](#).

Authorship

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

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 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 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 Open Access Publication Fee. Details of [existing agreements](#) are available online.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- An open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

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.

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

For 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 open access publication fee for this journal is **USD 3000**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://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 Publishing Campus

The Elsevier Publishing Campus (www.publishingcampus.com) is an online platform offering free lectures, interactive training and professional advice to support you

in publishing your research. The College of Skills training offers modules on how to prepare, write and structure your article and explains how editors will look at your paper when it is submitted for publication. Use these resources, and more, to ensure that your submission will be the best that you can make it.

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.

Review Process

A peer review system involving two or three reviewers 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) focused on foods or processes that are of narrow regional scope and significance, 4) fragmentary and provides marginally incremental results, or 5) is poorly written.

Referees

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our [Support site](#). Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

Peer Reviews

It is the journal policy to keep the peer reviewing anonymous. Names of reviewers are only revealed if they are in agreement with the request of the author. When submitting a manuscript, authors may indicate names of experts who are not suitable/appropriate for reviewing the paper.

PREPARATION

Peer review

This journal operates a single blind review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. [More information on types of peer review.](#)

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.

All lines must be consecutively numbered throughout the manuscript.

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 detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Results

Results should be clear and concise.

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.

- ***Author names and affiliations.*** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. 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 the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**

- ***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.

Abstracts should not exceed 200 words for Research papers and Short communications, or 300 words for Review articles.

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

Immediately after the abstract, provide a maximum of 5 keywords, using British spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

If possible the Food Science and Technology Abstracts (FSTA) Thesaurus should be used (IFIS Publ., Shinfield, Reading RG2 9BB, UK <http://www.foodScienceCentral.com>).

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.

Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other units are mentioned, please give their equivalent in SI. Do not use %, ppm, M, N, etc. as units for concentrations. If analytical data are reported, replicate analyses must have been carried out and the number of replications must be stated.

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

Figures must be comprehensible without reference to the text. 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 in the caption. If analytical data are reported, replicate analyses must have been carried out. State the number of replications and provide standard error or other evidence of reliability of the data.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Include a short but informative title. Provide the experimental conditions, as far as they are necessary for understanding. The reader should not have to refer to the text in order to understand the tables.

Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article. If analytical data are reported, replicate analyses must have been carried out. State the number of replications and give standard error or other evidence of reliability of data. Probabilities may be indicated by * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

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 (Smith, 2003);
2. Two authors: both authors' names and the year of publication (Smith & Jones, 2004);
3. Three, four or five authors: all authors names and year of publication (Smith, Jones, & Brown, 2005). For all subsequent citations of this work use et al. (Smith et al., 2005).
4. Six or more authors: first author's name followed by et al. and the year of publication (Black et al., 2007).

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

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.

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/lwt-food-science-and-technology>

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

Reference style

Text: Citations in the text should follow the referencing style used by the American Psychological Association. You are referred to the Publication Manual of the American Psychological Association, Sixth Edition, ISBN 978-1-4338-0561-5, copies of which may be ordered online or APA Order Dept., P.O.B. 2710, Hyattsville, MD 20784, USA or APA, 3 Henrietta Street, London, WC3E 8LU, UK.

List: references should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J. A. J., & Lupton, R. A. (2010). The art of writing a scientific article. *Journal of Scientific Communications*, 163, 51–59.

Reference to a book:

Strunk, W., Jr., & White, E. B. (2000). *The elements of style*. (4th ed.). New York: Longman, (Chapter 4).

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G. R., & Adams, L. B. (2009). How to prepare an electronic version of your article. In B. S. Jones, & R. Z. Smith (Eds.), *Introduction to the electronic age* (pp. 281–304). New York: E-Publishing Inc.

Reference to a website:

Cancer Research UK. Cancer statistics reports for the UK. (2003).
<http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> Accessed
13.03.03.

Reference to a dataset:

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T. (2015). *Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions*. Mendeley Data, v1.
<https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.