

Fortaleza, CE / Março, 2026



Validação microbiológica de análogo a queijo simbiótico elaborado com amêndoas de castanha-de-caju

Terezinha Feitosa Machado⁽¹⁾, Laura Maria Bruno⁽¹⁾, Selene Daiha Benevides⁽¹⁾, Maria Fernanda Fernandes Lima⁽²⁾, Bruno Silva Caldas⁽²⁾ e Marcelo Conde Viana Custódio Medeiros⁽²⁾

⁽¹⁾Pesquisadoras, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE. ⁽²⁾Graduandos em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, bolsistas da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE.

Resumo – Este trabalho apresenta os resultados da avaliação microbiológica de análogo a queijo simbiótico elaborado a partir de amêndoas de castanha-de-caju (*Anacardium occidentale* L.), visando à segurança e estabilidade do produto. Foram conduzidas análises microbiológicas em diferentes períodos de armazenamento refrigerado (0, 15, 30, 37 e 45 dias) para contagem do probiótico *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12, além da determinação de microrganismos indicadores de qualidade e segurança, como bolores e leveduras, *Staphylococcus coagulase positiva*, *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. Os resultados demonstraram a permanência de altas contagens viáveis de BB-12 (acima de 10⁸ UFC/g) até o 45º dia, indicando manutenção da viabilidade probiótica ao longo do armazenamento. Não foi detectada *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras analisadas, e os valores de *E. coli* e *Staphylococcus coagulase positiva* mantiveram-se abaixo dos limites estabelecidos pela legislação vigente. Os baixos níveis de bolores e leveduras corroboraram a estabilidade microbiológica do produto durante o período avaliado. Os resultados indicaram que o análogo a queijo simbiótico de amêndoas de castanha-de-caju apresentou estabilidade microbiológica satisfatória, atendendo aos critérios de segurança sanitária previsto na legislação, além de manter a viabilidade dos microrganismos probióticos, o que o caracteriza como um produto promissor sob o ponto de vista da funcionalidade e segurança do alimento.

Termos para indexação: prebióticos, probióticos, alimento funcional, qualidade microbiológica.

Microbiological validation of a symbiotic cheese analogue made with cashew nut kernels

Abstract – This study presents the results of the microbiological evaluation of a symbiotic cheese analogue developed from cashew nut kernels (*Anacardium occidentale* L.), aiming at product safety and stability. Microbiological analyses were conducted at different time points during refrigerated storage (0, 15, 30, 37, and 45 days) to quantify *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12, as well as to determine the presence of quality and safety indicator microorganisms, including yeasts and molds, coagulase-positive *Staphylococcus*, *Escherichia*

Embrapa Agroindústria Tropical

Rua Pernambuco, 2.270, Pici
CEP 60.511-110 – Fortaleza, CE
www.embrapa.br/agroindustria-tropical
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
Presidente

José Roberto Vieira Junior

Secretário-executivo

Alexandre Cesar Silva Marinho

Membros

Afrânio Arley Teles Montenegro,

Aline Saraiva Teixeira,

Celli Rodrigues Muniz,

Francisco Nelsieudes Sombra

Oliveira, Kirley Marques Canuto,

Laura Maria Bruno, Marlon

Vagner Valentim Martins, Pablo

Busatto Figueiredo, Roselayne

Ferro Furtado e Sandra Maria

Morais Rodrigues

Revisão de texto

José Cesamildo Cruz Magalhães

Normalização bibliográfica

Rita de Cassia Costa Cid

(CRB-3/624)

Projeto gráfico

Leandro Sousa Fazio

Diagramação

José Cesamildo Cruz Magalhães

Publicação digital: PDF

Todos os direitos reservados à Embrapa.

coli, and *Salmonella* sp. The results showed consistently high viable counts of BB-12 (above 10^8 CFU/g) up to day 45, indicating the maintenance of probiotic viability throughout storage. *Salmonella* spp. were not detected in any of the samples, and *E. coli* and coagulase-positive *Staphylococcus* counts remained below the limits established by current legislation. The low levels of mold and yeast corroborated the microbiological stability of the product during the evaluated period. The results indicated that the symbiotic cheese analogue of cashew nuts presented satisfactory microbiological stability, meeting the health safety criteria and maintaining the viability of probiotic microorganisms, which characterizes it as a promising product from the point of view of functionality and food safety.

Index terms: prebiotics, probiotics, functional food, microbiological quality.

Introdução

A crescente preocupação com a saúde e o bem-estar tem levado os consumidores a buscarem alimentos que vão além da função nutricional básica. Nesse contexto, os alimentos funcionais destacam-se como uma importante categoria de produtos inovadores, especialmente aqueles que contêm microrganismos probióticos e/ou ingredientes prebióticos (Martins et al., 2020). Os alimentos simbióticos, que combinam esses dois componentes, são especialmente atrativos por promoverem efeitos positivos sobre a microbiota intestinal, fortalecendo o sistema imunológico e contribuindo para a prevenção de doenças crônicas (Gibson et al., 2017).

Simultaneamente, a adesão crescente a dietas à base de plantas (*plant-based*), impulsionada por preocupações ambientais, restrições alimentares, diversificação da dieta e escolhas éticas, tem estimulado o desenvolvimento de alternativas aos produtos lácteos convencionais (Tangyu et al., 2022). Nesse cenário, os análogos a queijo têm ganhado destaque, sendo elaborados a partir de ingredientes vegetais, como castanhas, oleaginosas, leguminosas e amidos modificados, com o objetivo de replicar as características sensoriais, nutricionais e tecnológicas dos queijos tradicionais (Guinee, 2017; Kamath et al., 2022).

A amêndoa de castanha-de-caju (ACC) tem se destacado como uma matriz vegetal promissora para o desenvolvimento de bebidas vegetais, análogos a queijos e outros produtos fermentados. Além do seu elevado valor nutricional, a ACC apresenta substâncias com propriedades tecnológicas funcionais, como capacidade emulsificante e de retenção

de água, que favorecem a estabilidade de emulsões e contribuem para a textura e a uniformidade do produto final. Esses atributos, aliados ao sabor suave, tornam a ACC uma excelente alternativa de matriz para a elaboração de produtos simbióticos, combinando aspectos tecnológicos e funcionais de interesse para a indústria de alimentos de base vegetal (Chen et al., 2023; Matos et al., 2024; Plamada et al., 2023; Sousa et al., 2022).

A aplicação de culturas probióticas e compostos prebióticos em análogos a queijo representa uma estratégia promissora para o desenvolvimento de alimentos simbióticos vegetais. No entanto, a formulação desses produtos impõe desafios específicos, como a manutenção da viabilidade das culturas probióticas durante o processamento, armazenamento e funcionamento do trânsito gastrointestinal. A seleção adequada da matriz vegetal, dos insumos funcionais e das condições de fermentação é essencial para garantir a funcionalidade e a aceitabilidade do produto (Gibson et al., 2017; Grossmann; McClements, 2021). Além desses aspectos tecnológicos e funcionais, é fundamental assegurar que o produto final atenda aos requisitos de qualidade e segurança microbiológica, garantindo a inocuidade e a estabilidade do produto ao longo do armazenamento. Portanto, a realização de estudos de validação microbiológica é uma etapa essencial no desenvolvimento de novos produtos, pois permite estabelecer parâmetros de controle de processo, definir prazos de validade seguros e comprovar a eficácia das boas práticas de fabricação (*International Commission on Microbiological Specifications for Foods*, 2018). Assim, o desenvolvimento de análogos a queijo simbiótico representa uma interseção entre inovação tecnológica, funcionalidade nutricional e sustentabilidade alimentar.

Apesar dos avanços na área, ainda são escassos os estudos voltados à caracterização microbiológica e à estabilidade de probióticos em matrizes vegetais fermentadas, sobretudo em produtos com estrutura semelhante à do queijo. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a estabilidade e a segurança microbiológica de análogo a queijo simbiótico elaborado a partir da amêndoa de castanha-de-caju (ACC) durante o armazenamento sob refrigeração de 4 a 6 °C.

Material e métodos

Matéria-prima e ingredientes

Foram utilizadas amêndoas de castanha-de-caju (*Anacardium occidentale* L.) in natura. Como

ingredientes adicionais, foram empregados: óleo de coco (inodoro e insípido), sal refinado, goma xantana e fruto-oligossacarídeo (FOS), este último incluído como composto prebiótico. Para a fermentação, foi utilizada uma cultura láctica comercial composta por *Lactobacillus helveticus*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Streptococcus thermophilus*. A cepa probiótica utilizada foi *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12.

Obtenção do análogo a queijo simbiótico de amêndoas de castanhas-de-caju

Inicialmente, as amêndoas foram submetidas a tratamento térmico por imersão em água aquecida a 100 °C por três minutos, seguida da drenagem da água. Essa etapa foi executada mais duas vezes, mas no último ciclo a água utilizada foi mantida para hidratação das castanhas por 24 horas sob refrigeração a 4 °C. Depois desse período, a água foi drenada. As amêndoas foram então trituradas com água mineral na proporção 1:1 (v/v) em liquidificador semi-industrial, em rotação média, durante cinco minutos. A massa obtida foi inoculada com a cultura láctica *starter* comercial, na proporção de 0,03% (p/p), e homogeneizada com o auxílio de *mixer* doméstico por três minutos. A fermentação foi conduzida em estufa tipo BOD, a 36 ± 1 °C, por 15 horas. À massa fermentada (MF) foram adicionados óleo de coco (7,0%), sal refinado (1,1%), FOS (12%) e goma xantana (0,06%). Após a homogeneização, foi incorporada a cepa probiótica *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12, na concentração final de 10⁸ UFC/g do produto. A MF foi novamente homogeneizada, e o produto final foi envasado em frascos de vidro com capacidade de 200 g, previamente higienizados com solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm, por 15 minutos. Os produtos foram armazenados sob refrigeração (4 °C) e submetidos à análise microbiológica durante o período de armazenamento de 45 dias.

Avaliação microbiológica

As análises microbiológicas foram realizadas nos dias 0, 15, 30, 37 e 45 de armazenamento sob refrigeração (4 ± 1 °C). As amostras foram analisadas em duplicata, seguindo as determinações de microrganismos estabelecidas para produtos lácteos fermentados, conforme a Instrução Normativa nº 161/2022 (Brasil, 2022), uma vez que não há legislação para esse tipo de alimento. Os ensaios microbiológicos incluíram as etapas que se seguem.

Determinação de *Escherichia coli*

A quantificação de *E. coli* foi realizada por meio do método *Compact Dry EC*. As amostras foram preparadas por diluição decimal seriada em solução peptonada a 0,1%. A partir de cada diluição, foi inoculado 1,0 mL diretamente no centro da placa, permitindo a dispersão uniforme do inóculo pela membrana hidrofílica do meio. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas em estufa bacteriológica. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia por grama da amostra (UFC/g).

Pesquisa de *Salmonella* sp.

A detecção de *Salmonella* sp. foi realizada em 25 g da amostra, submetidas às seguintes etapas: (a) pré-enriquecimento em caldo tamponado de peptona (BPW) a 35 ± 1 °C por 24 horas; (b) Enriquecimento seletivo em caldos Rappaport-Vassiliadis (RV) e Tetracionato (TT) a 42 ± 0,2 °C e 35 ± 1 °C, respectivamente, por 24 horas; e (c) Plaqueamento em *Compact Dry SL* específicas para detecção de *Salmonella* sp., seguindo a técnica de espalhamento por difusão. As placas foram incubadas a 35 ± 1 °C por 24 a 48 horas. Os resultados foram expressos como presença ou ausência de *Salmonella* sp. em 25 g da amostra.

Contagem de *Staphylococcus coagulase* positiva

Para quantificação de *Staphylococcus coagulase* positiva, 1,0 mL de cada diluição foi inoculado no centro das placas *Compact Dry Staph* e incubadas a 35 ± 1 °C por 24 a 48 horas. As colônias características foram submetidas aos testes de catalase, coagulase e coloração de Gram. Os resultados foram expressos em UFC/g da amostra analisada (Tallent et al., 2001).

Contagem de bolores e leveduras

Para a contagem de bolores e leveduras, 1,0 mL de cada diluição decimal foi inoculado no centro das placas *Compact Dry YM*. As placas foram incubadas a 25 ± 1 °C por 48 a 72 horas. Os resultados foram expressos em UFC/g.

Contagem de bactérias ácido-láticas (Bifidobactérias BB-12)

A contagem foi realizada por espalhamento em ágar de man, rogosa e sharpe (MRS), suplementado com cloreto de lítio 0,02% e propionato de sódio 0,03%, sob condições anaeróbias, a 37 °C por

48 horas (Lapierre et al., 1992), e os resultados foram expressos em UFC/g da amostra.

Resultados e discussão

A Tabela 1 apresenta os resultados das análises microbiológicas ao longo dos 45 dias de armazenamento sob refrigeração. Os resultados de *Escherichia coli* e *Staphylococcus coagulase* positiva com valores inferiores aos limites estabelecidos para produtos lácteos fermentados (Brasil, 2022), representam um indicativo de boas práticas de fabricação e eficácia do processo térmico aplicado à amêndoa de castanha-de-caju.

Com relação aos bolores e às leveduras, observou-se uma redução progressiva após o 15º dia de armazenamento. A contagem inicial de $1,5 \times 10^2$ UFC/g apresentou discreto aumento aos 15 dias ($4,5 \times 10^2$ UFC/g), seguido de redução para valores inferiores a 100 UFC/g até os 45 dias. Essa redução pode estar relacionada às condições de refrigeração e à competição com BB-12 ao longo do tempo.

As contagens de BB-12 mantiveram-se elevadas durante todo o período de estocagem refrigerada, com valores iniciais de $1,4 \times 10^9$ UFC/g e redução progressiva até $4,5 \times 10^8$ UFC/g ao final de 45 dias. Apesar da diminuição natural, a viabilidade manteve-se acima da faixa mínima recomendada de 10^6 UFC/g, conforme diretrizes da FAO/OMS (2006), permitindo a manutenção da alegação funcional. A queda gradativa pode ser atribuída à redução de nutrientes disponíveis, ao acúmulo de metabólitos inibitórios, como ácidos orgânicos, ou a variações no pH do produto. Ainda assim, a estabilidade da população de *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 por 45 dias reforça o potencial probiótico do produto, evidenciando a eficácia da formulação na preservação da viabilidade microbiana ao longo do tempo.

A ausência de *Salmonella* sp. em todas as amostras está em conformidade com os critérios estabelecidos pela Instrução Normativa nº 161/2022 para produtos lácteos fermentados (Brasil, 2022), reforçando o indicativo de boas práticas de fabricação e eficácia do processo térmico aplicado à amêndoa de castanha-de-caju.

Tabela 1. Análises microbiológicas do análogo de queijo simbiótico de amêndoa da castanha-de-caju ao longo do armazenamento.

Microorganismo	Tempo (dias)				
	0	15	30	37	45
<i>Escherichia coli</i> *	–	–	–	–	–
<i>Staphylococcus coagulase</i> (+)*	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100
Bolores e leveduras*	$1,5 \times 10^2$	$4,5 \times 10^2$	< 100	< 100	< 100
Bactérias ácido-láticas*	$1,4 \times 10^9$	$1,5 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$2,3 \times 10^9$	$4,5 \times 10^8$
<i>Salmonella</i> sp.**	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

*Resultados em unidades formadoras de colônias por grama da amostra (UFC/g); **Resultados (Ausência/Presença em 25 g); (-) Ausência de crescimento bacteriano.

Conclusão

Os resultados obtidos neste estudo demonstram a viabilidade do desenvolvimento de produtos fermentados vegetais à base de amêndoa de castanha-de-caju com BB-12 no período analisado.

Referências

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 161, de 1º de setembro de 2022. Dispõe sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2022.

CHEN, Y.-Y.; LI, N.-y.; GUO, X.; HUANG, H.-j.; GARCIA-OLIVEIRA, P.; SUN, J.-Y.; ZHANG, J.-D.; PRIETO, M. A.; GUO, Z.-Q.; LIU, C. The nutritional and bio-active constituents, functional activities, and industrial applications of cashew (*Anacardium occidentale*): A review. **Food Frontiers**, 4: 1606-1621, 2023.

FAO. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. Ontario: World Health Organization, 2006.

GIBSON, G. R.; HUTKINS, R.; SANDERS, M. E.; PRESCOTT, R. B.; REIMER, R. A.; SALMINEN, S.; VERBEKE, K. The International scientific association for probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature**

Reviews Gastroenterology & Hepatology, v. 14, n. 8, p. 491-502, 2017.

GROSSMANN, L.; McCLEMENTS, D. J. The science of plant-based foods: approaches to creating nutritious and sustainable plant-based cheese analogues. **Trends in Food Science**, v. 118, p. 207-229, 2021.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.10.004>.

GUINEE, T. P. Pasteurized processed and imitation cheese products. In: McSWEENEY, P. L. H. et al. (ed.). **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. 4. ed. London: Elsevier, 2017. p. 1158-1209.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. Establishment of Microbiological Criteria. Establishment of Microbiological Criteria. In: **Microorganisms in Foods**, 7. Springer, 2018.

DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-68460-4_5.

KAMATH, R.; BASAK, S.; GOKHALE, J. Recent trends in the development of healthy and functional cheese analogues-a review. **LWT Food Science and Technology**, 155, 112991, 2022.

LAPIERRE, L.; UNDELAND, P.; COX, L. J. Lithium chloride-sodium propionate agar for the enumeration of bifidobacteria in fermented dairy products. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 5, p. 1192-1196, 1992.

MARTINS, A. P. O.; BEZERRA, M. F.; MARQUES JÚNIOR, S.; BRITO, A. F.; URBANO, S. A.; BORBA, L. H. F.; MACÊDO, C. S.; OLIVEIRA, J. P. F.; RANGEL, A. H. N. Factors affecting the consumption of organic and functional foods in Brazil. **Food Science and Technology**, v. 41, n. 4, p. 938-943, 2020.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/fst.26820>.

MATOS, J. D. S.; COSTA, J. E. G.; KRICHANĂ, D. R. G. C.; AZEVEDO, P. Z.; NASCIMENTO, A. L. A. A.; STRINGHETA, P. C.; MARTINS, E.; CAMPELO, P. H. Nut Proteins as Plant-Based Ingredients: Emerging Ingredients for the Food Industry. **Processes**, v. 12, n. 8, 1742, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/pr12081742>.

PLAMADA, D.; TELEKY, B.-E.; NEMES, S. A.; MITREA, L.; SZABO, K.; CĂLINOIU, L.-F.; PASCUTA, M. S.; VARVARA, R.-A.; CIONT, C.; MARTĂU, G. A.; SIMON, E.; BARTA, G.; DULF, F. V.; VODNAR, D. C.; NITESCU, M. Plant-Based Dairy Alternatives: A Future Direction to the Milky Way. **Foods**, 12, 1883, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12091883>.

SOUSA, T. L.; SHINOHARA, N. K. S.; MARQUES, M. F. F.; LIMA, G. S.; ANDRADE, S. A. C. Drink with probiotic potential based on water-soluble extract from cashew nuts. **Ciência Rural**, v. 52, n. 11, 2022.

TALLENT, S.; HAIT, J.; BENNETT, R. W.; LANCETTE, G. A. *Staphylococcus aureus*. In: US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological Analytical Manual**, Chapter 12, 2016. <https://www.fda.gov/media/183067/download?attachment>.

TANGYU, M.; FRITZ, M.; YE, L.; BÖRNER, R. A.; MORIN-RIVRON, D.; CAMPOS-GIMÉNEZ, E.; BOLTEN, C. J.; BOGICEVIC, B.; WITTMANN, C. Co-cultures of *Propionibacterium freudenreichii* and *Bacillus amyloliquefaciens* cooperatively upgrade sunflower seed milk to high levels of vitamin B12 and multiple co-benefits. **Microbial Cell Factories**, v. 21, n. 1, p. 1-23, 2022.



*Ministério da
Agricultura e Pecuária*