



## APRIMORAMENTO DE TECNOLOGIAS PARA ELABORAÇÃO DE PRODUTOS DERIVADOS DE SOJA E LEITE COM PROBIÓTICOS <sup>1</sup>

*Angela Maria Fiorentini<sup>2</sup>, Cristiano Augusto Ballus<sup>3</sup>, Marlon Leonardo de Oliveira<sup>4</sup>, Márcio Ferraz Cunha<sup>5</sup>, Vera Maria Klajn<sup>6</sup>*

**INTRODUÇÃO:** Desde a última década, é crescente o interesse em desenvolver o uso de organismos probióticos (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp.) em produtos farmacêuticos e alimentícios. Uma tendência interessante é que consumidores modernos estão mais preocupados com sua saúde, e então, há uma grande procura por alimentos capazes de propiciar não só aspectos nutricionais, mas também benefícios saudáveis para o organismo. O mercado de iogurtes probióticos e outros produtos lácteos probióticos encontram-se em expansão devido a grande aceitabilidade pela maioria dos consumidores. Aspectos tecnológicos no uso de probióticos devem ser levados em conta como: boas propriedades sensoriais; viabilidade durante processo; estabilidade no produto e durante o armazenamento. O objetivo da presente pesquisa foi elaborar bebidas lácteas fermentadas com combinações diferentes de bactérias probióticas em duas temperaturas de fermentação para verificar a influência destas combinações na viabilidade de microrganismos probióticos e na estabilidade físico-química de bebidas lácteas durante armazenamento em refrigeração.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Culturas liofilizadas de *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium bifidum* BB-12 e ABT-4 (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* e *Bifidobacterium bifidum*) foi adquirido de Chr. Hansen Ltda (Valinhos, São Paulo). Culturas de *Bifidobacterium lactis* e *Streptococcus thermophilus* linhagem produtora de exopolissacarídeos (EPS) foram doadas por Danisco (Cabreúva, São Paulo). Cada cultura foi diluída asépticamente em 240 mL de leite UHT (Elegêl) que foi dividido subsequentemente em doze porções iguais de 20 mL e armazenadas a -80°C até o uso. O extrato hidrossolúvel de soja foi obtido de acordo com o procedimento descrito por Prudencio e Benedet (1999), usando soja orgânica adquirida de supermercados locais. Foi dissolvido o soro de queijo em pó, provido de uma indústria de laticínios local, em água (1:12), imediatamente antes do uso. Bebidas lácteas foram preparadas misturando 40% de leite UHT, 30% de soro de queijo, 30% de extrato hidrossolúvel de soja e 10% de açúcar (sacarose) em escala piloto utilizando um fermentador de iogurte (Tecnoinox). Esta mistura foi aquecida (90°C por 5 min) e subsequentemente esfriada à temperatura de fermentação. Foram avaliadas duas temperaturas diferentes: 37 e 45°C. Um inóculo de 20 mL de cada cultura (de acordo com a formulação) foi usada para inocular 6 L de bebida láctea, e a incubação foi conduzida até o pH alcançar 4,5-5,0. Depois do fim de fermentação, as bebidas lácteas foram resfriadas a 20°C, homogeneizadas e armazenadas a 7°C ± 1°C, durante 21 dias. Foram estudadas três formulações: BL1 (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* e *Bifidobacterium bifidum*); BL2 (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* e *Bifidobacterium bifidum*) e BL3 (*Streptococcus thermophilus* produtora de EPS, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* e *Bifidobacterium bifidum*). Foram realizadas análises microbiológicas e físico-químicas a 0, 7, 14 e 21 dias de armazenamento



em refrigeração. Análises de 0 dia foram realizadas depois de 24h de armazenamento das bebidas lácteas. Amostras de cada formulação de bebida láctea foram submetidas às seguintes análises físico-químicas: pH, acidez titulável, proteólise e sinérese. Quanto às análises microbiológicas, foram efetuadas: contagens de *S. thermophilus* (Ágar ST, incubação em aerobiose a 30°C/48 h); *L. acidophilus* (Ágar Bile-MRS, incubação em aerobiose a 37°C/72 h); e *Bifidobacterium* spp. (Ágar LP-MRS, incubação em anaerobiose a 37°C/72 h). As análises foram realizadas em duplicata e o experimento foi repetido três vezes. Para análise estatística utilizou-se Statistica 6.0, aplicando-se ANOVA ao nível de 95% de significância ( $P < 0,05$ ), e Teste de Tukey para detecção de médias diferentes entre si. RESULTADOS: Os valores médios de pH apresentados para a BL3 diferiram estatisticamente de BL2 e BL1. A acidez foi afetada pelas formulações, sendo que houve diferença significativa entre BL1 e BL2. Quanto à sinérese a BL3 na temperatura de incubação de 37°C diferiu estatisticamente de todas as outras formulações. A proteólise foi afetada pelas formulações e pela interação formulação x temperatura de fermentação. Valores médios de BL1 foram estatisticamente diferentes de BL3 e BL2. Para a formulação BL3 a proteólise foi superior para a temperatura de 45°C. É possível que a linhagem produtora de exopolissacarídeo seja mais proteolítica na sua temperatura ótima de crescimento. A contagem de *S. thermophilus* foi realizada para as formulações BL2 e BL3 e diferiu entre as formulações ( $P < 0,01$ ), onde BL2 apresentou contagens mais altas que BL3. Uma interação antagonística entre as bactérias probióticas e a linhagem produtora de exopolissacarídeo pode ser a responsável por esta diferença. A contagem de *L. acidophilus* apresentou diferença significativa, considerando-se as formulações (BL1>BL2). Porém, a temperatura de fermentação afetou significativamente a viabilidade desta bactéria, com as contagens mais elevadas ocorrendo a 37°C, temperatura ideal para as bactérias probióticas. Nas formulações fermentadas a 45,0°C, as contagens foram inferiores alcançando o limite mínimo de 106 UFC ml<sup>-1</sup>. As contagens de *Bifidobacterium* spp., diferiram significativamente nas diferentes formulações: BL1 apresentou baixas contagens diferindo de BL2 e BL3. É possível que tenham contribuído para a viabilidade das bifidobactérias as proteínas do soro, desnaturadas durante o tratamento térmico, as quais são ricas em aminoácidos contendo enxofre, diminuindo o potencial redox do meio. O extrato hidrossolúvel de soja também favorece o desenvolvimento das bifidobactérias, fornecendo oligossacarídeos (prebióticos) que podem ser metabolizados pelas mesmas. A interação formulação x temperatura de fermentação afetou significativamente a viabilidade de *Bifidobacterium* spp ( $P = 0,0406$ ). As contagens mais altas foram obtidas por BL2 fermentada a 37°C. *Bifidobacterium*.spp. teve melhor viabilidade nas formulações que contêm *S. thermophilus* (BL2 e BL3), provavelmente devido esta linhagem agir como removedora de oxigênio, em função de seu metabolismo aeróbico, atuando assim em benefício das bifidobactérias (anaeróbicas). DISCUSSÃO/CONCLUSÃO: Os resultados deste trabalho mostraram que a temperatura de fermentação teve um efeito significativo na viabilidade de bactérias probióticas, sendo a mais adequada a 37°C. Contagens de *L. acidophilus* foram afetadas antes do tempo de armazenamento, e estas espécies probióticas foram as mais sensíveis ao longo do armazenamento em refrigeração. Parâmetros físico-químicos não exibiram grandes variações durante o armazenamento que permite concluir que as formulações de bebidas lácteas estudadas são estáveis, e nem mesmo a atividade fortemente



proteolítica de bactérias probióticas afetou essa estabilidade. *Bifidobacterium* spp. demonstrou uma grande capacidade de sobrevivência, provavelmente pela presença de promotores de crescimento na composição de bebidas lácteas. A viabilidade de todas as bactérias probióticas foi superior a  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup> quando a temperatura de fermentação foi 37°C. As condições de fermentação para *S. thermophilus*, linhagem produtora de EPS, precisará ser melhorada para aumentar a síntese de EPS e, por conseguinte, as propriedades reológicas do produto final. Por conseguinte, pode ser usada temperatura de fermentação de 37°C para produzir bebidas lácteas fermentadas com probióticos, junto com o uso de uma cultura starter, resultando em produtos que proverão propriedades organolépticas satisfatórias e o nível adequado de células viáveis para os efeitos benéficos de produtos probióticos. Além disso, a inclusão de extrato hidrossolúvel de soja, uma fonte de prebióticos, resultou em um produto simbiótico, com mais vantagens para a saúde do consumidor. Apoio: FAPERGS.

<sup>1</sup> Pesquisa Institucional

<sup>2</sup> Profa. Coord. da pesquisa. Departamento de Biologia e Química - UNIJUÍ, Campus Santa Rosa

<sup>3</sup> Acadêmico curso de Química Industrial de Alimentos, bolsista BIC/FAPERGS

<sup>4</sup> Acadêmico do Curso de Química Industrial de Alimentos

<sup>5</sup> Prof. Colaborador. Departamento de Nutrição - UNIUBE

<sup>6</sup> Profa. pesquisadora, Departamento de Biologia e Química - UNIJUÍ, Campus Santa Rosa