

VIABILIDADE DE MICRO-ORGANISMOS USADOS NA FERMENTAÇÃO DE UMA BEBIDA LÁCTEA POTENCIALMENTE PROBIÓTICA A BASE DE SORO EM PÓ DE QUEIJO CAPRINO

Áurea Marcela de Souza Pereira (1); Blenda Brito de Queiroz (2);
Daniely Rayane Bezerra de Farias (3); Flávia Carolina Alonso Buriti. (4)

^{1,2,3,4}Universidade Estadual da Paraíba – UEPB

aurea_marcela@hotmail.com

Resumo: As indústrias estão cada vez mais sendo pressionadas pelos consumidores e pela legislação a adotarem posturas ambientais corretas. Os laticínios geram grande volume de efluentes com alta carga orgânica, constituída em sua maior parte de leite e seus subprodutos, a exemplo do soro da fabricação de queijos que é desprezado sem tratamento adequado e é considerado um risco ao meio ambiente, tornando-o de grande importância para reaproveitamento. O leite de cabra vem despertando um grande interesse visto que desempenha importante papel na nutrição humana, bom rendimento agrícola e viabilidade econômica. Apresenta também propriedades particulares, tais como maior digestibilidade, maior capacidade tamponante, menor teor de colesterol e elevado teor de cálcio, quando comparado ao leite de vaca, favorecendo sua melhor absorção. O valor econômico e o potencial funcional de produtos fermentados derivados do leite de cabra e do soro lácteo caprino podem ser melhor explorados através do emprego de micro-organismos probióticos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade dos micro-organismos *Streptococcus thermophilus* TA-40 (cultura *starter*) e *Lactobacillus casei* BGP93 (cultura potencialmente probiótica) utilizados na fermentação de bebidas lácteas produzidas com soro lácteo caprino em pó. As populações de *S. thermophilus* foram superiores a 8,8 log UFC/ml nos tratamentos estudados. A viabilidade de *Lactobacillus casei* mostrou-se dentro dos parâmetros recomendados pela literatura para alimentos com potencial probiótico, ao longo dos 21 dias de armazenamento, estando superior ao mínimo recomendado de 6 log UFC/ml para que se tenha o efeito esperado após sobreviver às barreiras gastrointestinais.

Palavras-Chave: Soro em pó, derivados lácteos de cabra, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus thermophilus*.

INTRODUÇÃO

A legislação ambiental e o mercado consumidor vêm cada vez mais pressionando

as grandes indústrias a adotarem posturas ambientais corretas, visto que o setor industrial gera grande volume de resíduos que

são descartados de forma inadequada, podendo levar a sérias consequências ao meio ambiente. A indústria de laticínios, por sua vez, gera um volume considerável de efluentes com alta carga orgânica, constituída em sua maior parte de leite e seus subprodutos, a exemplo do soro da fabricação de queijos que é desprezado sem tratamento adequado e é considerado um risco ao meio ambiente (ROHLFES *et al.*, 2011). É importante o reaproveitamento dos subprodutos do leite tanto pelo seu valor nutricional já comprovado quanto pela capacidade de causar danos ao meio ambiente. Ainda, a secagem por atomização é um método de conservação que pode ser útil para aumentar o tempo de armazenamento do soro, reduzir os gastos com armazenamento e transporte (REDDY *et al.*, 2014), além de facilitar o seu aproveitamento na elaboração de novos produtos.

Durante a última década, o interesse de indústrias e de consumidores por alimentos funcionais foi aumentando consideravelmente. O leite de cabra é um alimento que desempenha importante papel na nutrição humana podendo também oferecer aos produtores um bom rendimento agrícola e viabilidade econômica, com a possibilidade de utilização como ingrediente na produção de outros alimentos. Apresenta algumas propriedades particulares, tais como maior

digestibilidade, maior capacidade tamponante, menor teor de colesterol e elevado teor de cálcio, quando comparado ao leite de vaca, favorecendo sua melhor absorção (PAULA, 2012). Seu valor funcional pode ser melhor explorado por meio de fermentação por micro-organismos selecionados possuindo características específicas (MINERVINI *et al.*, 2009).

De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, próbióticos são micro-organismos vivos, que administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro, sendo aqueles pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* os mais utilizados (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS, WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001). Para que se tenha efeito, esses devem sobreviver através das barreiras gastrointestinais em número suficiente. A quantidade mínima viável de micro-organismos probióticos recomendada para alimentos pela literatura deve estar situada na faixa de 10^6 a 10^7 unidades formadoras de colônias (UFC)/g ou ml (DONKOR, 2007; RANADHEERA *et al.*, 2014; CASSAROTTI; PENNA, 2015), o que corresponderia a 10^8 a 10^9 UFC na recomendação diária do produto pronto para o consumo, conforme indicação do fabricante.

Estas doses elevadas têm sido recomendadas justamente para compensar as possíveis perdas do probiótico durante a passagem pelo estômago e intestino (DONKOR, 2007).

No entanto, na elaboração de produtos lácteos fermentados, as culturas probióticas muitas vezes não podem ser utilizadas em substituição aos micro-organismos responsáveis pelo processo fermentativo (culturas *starter*) (SAAD *et al.*, 2011). Do mesmo modo, o micro-organismo probiótico deve ser compatível com a cultura *starter*, de modo a impedir alterações indesejáveis na composição da microbiota do produto durante a sua fabricação e armazenamento (VINDEROLA; MOCCHIUTTI; REINHEIMER, 2002). Na elaboração de uma bebida láctea fermentada probiótica, o desempenho da cultura *starter* não pode ser prejudicado, sendo que uma fermentação mal sucedida comprometeria a qualidade do produto final. Para assegurar a compatibilidade das culturas probiótica e *starter* em produtos lácteos fermentados, a viabilidade de ambas deve ser investigada.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade dos micro-organismos *Streptococcus thermophilus* (cultura *starter*) e *Lactobacillus casei* (cultura potencialmente probiótica) utilizados na fermentação de bebidas lácteas fabricadas com soro em pó de queijo de cabra.

METODOLOGIA

Foram produzidos dois tratamentos de bebidas lácteas: controle (com a adição da cultura *starter* de *Streptococcus thermophilus* TA-40, DuPont) e probiótico (com a adição da cultura de *S. thermophilus* TA-40 e da cultura potencialmente probiótica de *Lactobacillus casei* BGP93, Sacco).

Obtenção do soro atomizado em pó

As amostras de soro atomizado em pó foram fornecidas pela Embrapa Caprinos e Ovinos localizada na cidade de Sobral – CE. O soro utilizado para a secagem foi obtido a partir do processamento de queijo tipo coalho de cabra. O soro foi seco em mini-atomizador (Büchi, modelo B-290) empregando-se temperatura de entrada 160°, temperatura de saída 90-92°, fluxo de ar em condições normais de temperatura e pressão igual a 667 L/hora e velocidade de bombeamento igual a 25ml/minuto.

Fermentação do soro lácteo atomizado reconstituído

O soro de queijo de cabra tipo coalho em pó foi reconstituído em água destilada (20%, m/m). Em seguida foi tratado termicamente a 85 °C por um período de 30 minutos e resfriado até 45 °C para a adição das culturas lácticas (ORDOÑEZ PEREDA *et al.*, 2005), de acordo com cada tratamento. Ao fim da fermentação, foram adicionados 15%

(m/m) de açúcar líquido (teor de sólidos solúveis de 61 %) e as bebidas foram armazenadas ao longo de 21 dias sob refrigeração a 4 °C.

Estudo da viabilidade de *S. thermophilus* e *L. casei*

A população de *S. thermophilus* foi determinada por plaqueamento de diluições decimais seriadas com as bebidas (1 mL) em placas com ágar M17 contendo lactose sendo posteriormente incubadas em aerobiose a 35-37 C por 48 horas. A viabilidade de *L. casei* foi determinada por meio de plaqueamento com ágar de Man Rogosa Sharpe (MRS) acidificado até pH 5,4 com ácido acético e incubadas em aerobiose a 35-37 C por 72 horas.

Análise estatística

Os resultados da viabilidade de *S. thermophilus* e *L. casei* foram expressos como média \pm desvio-padrão.

Os dados foram avaliados quanto à normalidade (testes de Shapiro-Wilk e de Kolmogorov-Smirnov) e à homogeneidade de variância (testes de Cochran, Hartley e Bartlett). A comparação entre os tratamentos controle e probiótico em cada período de armazenamento foi realizada através do teste *t* não pareado de Student (dados normais e homogêneos) ou do teste Mann-Whitney U (demais dados). A comparação das variáveis

dependentes ao longo do armazenamento foi realizada através de análise de variância para medidas repetidas, seguida do teste de Tukey para a avaliação dos contrastes (dados normais e homogêneos) ou utilizando o teste de Friedman, seguido do teste de Wilcoxon para a avaliação dos contrastes (demais dados). Para este fim, foi utilizado o programa Statistica – versão 8.0.

Resultados e Discussão

Os resultados da viabilidade dos micro-organismos *S. thermophilus* e *L. casei* nas bebidas lácteas estudadas estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 Viabilidade dos micro-organismos nas bebidas lácteas ao longo do armazenamento após 1, 7, 14 e 21 dias.

Micro-organismo	Tempo (dias)	Tratamento	
		Controle	Probiótico
<i>S. thermophilus</i> (log UFC/ml)	1	9,25 \pm 0,19Ab	9,16 \pm 0,39Aa
	7	9,22 \pm 0,33Ab	9,08 \pm 0,24Aa
	14	8,89 \pm 0,07Aa	8,90 \pm 0,19Aa
	21	8,94 \pm 0,37Aa	8,83 \pm 0,53Aa
<i>L. casei</i> (log UFC/ml)	1	n.a.	7,43 \pm 0,31a
	7	n.a.	7,44 \pm 0,22a
	14	n.a.	7,42 \pm 0,21a
	21	n.a.	7,48 \pm 0,27a

A,B = Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si para os dois tratamentos no mesmo tempo de armazenamento ($P > 0,05$).

a, b, c = Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si para o mesmo tratamento ao longo do tempo ($P > 0,05$).

n.a. = não adicionado.

A viabilidade de *S. thermophilus* no tratamento controle reduziu ao longo do armazenamento, sendo esta queda mais acentuada (0,3 ciclo log) e significativa ($p < 0,05$) a partir do 14^o dia de armazenamento. Já para o tratamento probiótico, apesar de também haver tendência de queda da população de *S. thermophilus* em cada semana de amostragem, esta redução foi mais suave e contínua entre os intervalos estudados (não ultrapassando 0,2 ciclo log entre cada período) e, portanto, não diferiu significativamente ao longo de todo o armazenamento ($p > 0,05$).

No tratamento probiótico, os valores referentes ao micro-organismo *L. casei* mantiveram-se próximos de 7,4 log UFC/ml, portanto, estáveis ao longo de todo o período de armazenamento, não diferindo significativamente entre os intervalos de amostragem ($p > 0,05$). A viabilidade de *L. casei* encontrada obedeceu aos critérios recomendados para alimentos probióticos pela literatura visando alcançar os benefícios à saúde (RANADHEERA *et al.*, 2014; CASSAROTTI; PENNA, 2015), sendo que o consumo diário da porção de 200 ml utilizada para bebidas lácteas e produtos similares (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003) forneceria valores acima de 10⁹ UFC de *L. casei* na bebida estudada.

CONCLUSÃO

As culturas *S. thermophilus* TA-40 (*starter*) e *L. casei* BGP93 (potencialmente probiótica) apresentaram-se compatíveis para uso simultâneo na elaboração de uma bebida láctea fermentada produzida com soro em pó de queijo de cabra.

A bebida láctea fermentada de soro em pó de queijo de cabra mostrou-se um veículo apropriado para garantir elevada viabilidade de *L. casei* durante o armazenamento refrigerado de 21 dias.

AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Pessoal de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES) e Fundação Parque Tecnológico da Paraíba (PaqTcPB) pelo auxílio financeiro e à Embrapa Caprinos e Ovinos pela produção dos queijos de cabra e obtenção do soro em pó utilizado neste estudo. As autoras também agradecem à empresa DuPont pela cultura de *S. thermophilus* cedida à pesquisa e ao Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos (NUPEA/UEPB) pela colaboração nas análises do presente estudo.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional. **Diário Oficial da União**, nº 251, seção 1, p. 28-32, 26 de dez. 2003.

CASAROTTI, S.N.; PENNA, A.L.B.; Incorporation of fruit flours into fermented milk: acidification profile, viability of probiotics and gastrointestinal tolerance. **International Dairy Journal**, v.41, p.1-6, 2015.

DONKOR, O.N. **Influence of probiotic organisms on release of bioactive compounds in yoghurt and soy yoghurt**. 2007. 253 f. Thesis (Doctor of Philosophy) – Victoria University, [Melbourne], 2007.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**: Report of a Joint FAO/WHO, Córdoba, Argentina, 2001. 34p.

MINERVINI, F.; MARIA TERESA BILANCIA, M.T.; SIRAGUSA, S.; GOBBETTI, M.; CAPONIO, F. Fermented goats' milk produced with selected multiple starters as a potentially functional food. **Food Microbiology**, n. 26, p. 559-564, 2009.

ORDÓÑEZ-PEREDA, J.A.; CAMBERO RODRÍGUES, M.I.; FERNÁNDEZ ÁLVAREZ, L.; GARCÍA SANZ, M.L.; DE FERNANDO MINGUILLÓN, G.D.G.; HOZ PERALES, L.; SELGAS CORTECERO, M.D. **Tecnologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, v. 2, p. 279, 2005. (v.1 - Alimentos de origem animal).

PAULA, C. M. **Utilização de bactérias do grupo *Lactobacillus casei* no desenvolvimento de sorvete potencialmente probiótico de leite de cabra e polpa de cajá (*Spondias mombim*)**. 2012. 84 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

RANADHEERA, C.S.; EVANS, C.A.; ADAMS, M.C.; BAINES, S.K.; Effect of dairy probiotic combinations on *in vitro* gastrointestinal tolerance, intestinal epithelial cell adhesion and cytokine secretion. **Journal of Functional Foods**, v.8, p.18-25, 2014.

Reddy, R.S., Ramachandra, C.T., Hiregoudar, S., Nidoni, U., Ram, J., Kammar, M. Influence of processing conditions on functional and reconstitution properties of milk powder made from Osmanabadi goat milk by spray drying. **Small Ruminant Research**, v.119, p.130-137, 2014.

ROHLFES, A.L.B.; BACCAR, N.M.; OLIVEIRA, M.S.R.; MARQUARDT, L.; RICHARDS, N.S.P.S. Indústrias lácteas: alternativas de aproveitamento do soro de leite como forma de gestão ambiental. **Tecnológica**, v.15, n.2, p.79-83, 2011.

SAAD, S.M.I.; KOMATSU, T.R.; GRANATO, D.; BRANCO, G.F.; BURITI, F.C.A. Probióticos e prebióticos em alimentos: aspectos tecnológicos, legislação e segurança no uso. In: **Probióticos e prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Varela, 2011. p.23-50.

VINDEROLA, C.G.; MOCCHIUTTI, P.; REINHEIMER, J.A. Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p.721-729, 2002.