



## **EMPREGO DE LINHAGENS DE STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS PRODUTORAS E NÃO-PRODUTORAS DE EXOPOLISSACARÍDEOS NA ELABORAÇÃO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA POR BACTÉRIAS PROBIÓTICAS<sup>1</sup>**

*Ângela 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:** Produtos lácteos fermentados possuem ampla aceitabilidade pela maioria dos consumidores, sendo que os mais exigentes estão apostando no consumo de iogurtes e bebidas lácteas contendo microrganismos probióticos. Estes microrganismos são capazes de sobreviver à passagem pelo trato gastrointestinal humano, e assim, podem se multiplicar e colonizar a superfície do intestino. Ao fazerem isso, acabam por fornecer inúmeros benefícios à saúde de quem os ingere regularmente, através da melhoria no balanço da microbiota intestinal, inibição de patógenos, aumento na produção de anticorpos, efeito hipocolesterolêmico e anticarcinogênico, entre outros. Convém ressaltar que, para a obtenção destes benefícios, é necessária uma ingestão regular de produtos que contenham no mínimo  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup> de células viáveis. Além disso, os consumidores em geral apresentam certa aversão à produtos que levam em sua composição ingredientes “artificiais”, sendo que os produtos alimentícios considerados “naturais” estão assumindo grande popularidade atualmente. Algumas linhagens de *Streptococcus thermophilus* (cultura starter) são capazes de sintetizar exopolissacarídeos, os quais são excretados no meio. Estes exopolissacarídeos podem ser empregados como espessantes, estabilizantes ou emulsificantes. Desta forma, a utilização destas linhagens torna desnecessária a incorporação de aditivos, pois ao se multiplicar, o microrganismo irá liberar bioespessantes, melhorando as características reológicas do produto final. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi desenvolver bebidas lácteas fermentadas por bactérias probióticas, avaliando o emprego de linhagens de *S. thermophilus* produtoras e não-produtoras de exopolissacarídeos e o seu efeito na estabilidade da bebida láctea resultante. **MATERIAL E MÉTODOS:** As espécies probióticas *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Bifidobacterium lactis* foram utilizadas na produção das bebidas lácteas. Uma das formulações recebeu as três espécies probióticas juntamente com uma linhagem simples de *S. thermophilus*, enquanto a outra formulação foi composta pelas bactérias probióticas em conjunto com uma linhagem de *S. thermophilus* produtora de exopolissacarídeo. Os ingredientes utilizados na elaboração das bebidas lácteas foram 40% de leite UHT integral, 30% de extrato hidrossolúvel de soja, 30% de soro de queijo e 10% de açúcar. A mistura foi submetida, então, ao tratamento térmico (90,0°C/5 min), e depois resfriada até a temperatura de incubação. Duas temperaturas foram avaliadas: 37,0°C e 45,0°C. Após atingida a temperatura desejada, inoculavam-se as espécies bacterianas específicas para cada formulação. Interrompia-se o processo fermentativo quando o pH atingia o valor de aproximadamente 4,5. Em seguida, realizava-se a quebra do coágulo (20,0°C), com posterior adição da bebida em garrafas plásticas de 1,0 L, as quais foram armazenadas sob refrigeração ( $7,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ ), durante 21 dias. Para acompanhar a estabilidade das formulações, foram



realizadas análises físico-químicas e microbiológicas, a cada 7 dias. As análises físico-químicas incluíram pH, acidez titulável, proteólise e sinérese. Em relação às análises microbiológicas, foram efetuadas contagens de *S. thermophilus* (Ágar ST, incubação em aerobiose a 30,0°C por 48 h); *L. acidophilus* (Ágar Bile-MRS, incubação em aerobiose a 37,0°C por 72 h); e *Bifidobacterium* spp. (Ágar LP-MRS, incubação em anaerobiose a 37,0°C por 72 h). As análises foram realizadas em duplicata. Todo o experimento foi repetido três vezes. Para a análise estatística dos dados, utilizou-se software 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: O pH diferiu estatisticamente para as duas formulações ( $P = 0,00325$ ), mas esta diferença pode advir da dificuldade em interromper o processo fermentativo sempre no mesmo valor de pH, e não do efeito das diferentes bactérias. A acidez não exibiu diferença significativa. A sinérese foi estatisticamente superior para a formulação que empregou a linhagem de *S. thermophilus* produtora de exopolissacarídeo ( $P < 0,01$ ), o que não era esperado. Esta discrepância pode ter origem em um erro experimental ocorrido durante uma das repetições desta formulação, onde o pH no final da fermentação foi de 4,8, sendo que em pH acima de 4,6 não ocorre a formação adequada do coágulo, favorecendo a sinérese. A temperatura de fermentação também afetou a sinérese ( $P < 0,01$ ), sendo que esta foi mais elevada a 37,0°C. A interação entre formulação e temperatura também foi significativa para a sinérese ( $P < 0,01$ ), confirmando que a formulação contendo exopolissacarídeo, fermentada a 37,0°C, obteve maior índice de sinérese. Como mencionado anteriormente, esta média mais elevada certamente foi resultado do erro experimental durante uma das replicatas desta formulação. Na temperatura de 45,0°C, não houve diferença significativa entre a sinérese das duas formulações. Assim, é provável que a linhagem produtora de exopolissacarídeo não tenha sintetizado uma quantidade do bioespessante suficiente para alterar as características reológicas, quando comparada com a linhagem simples de *S. thermophilus*. A proteólise não apresentou diferença significativa para as formulações estudadas, mas a interação entre formulação e temperatura de fermentação foi significativa ( $P = 0,0122$ ) para a formulação contendo exopolissacarídeo – a proteólise foi superior para a temperatura de 45,0°C. É possível que a linhagem produtora de exopolissacarídeo seja mais proteolítica na sua temperatura ótima de crescimento. A contagem de *S. thermophilus* diferiu estatisticamente para as duas formulações ( $P < 0,01$ ), sendo maior para a linhagem simples da bactéria. 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* não apresentou diferença significativa, considerando-se as formulações. Porém, a temperatura de fermentação afetou significativamente a viabilidade desta bactéria, com as contagens mais elevadas ocorrendo a 37,0°C, que é considerada a temperatura ideal para as bactérias probióticas. Nas formulações fermentadas a 45,0°C, as contagens inclusive apresentaram-se inferiores ao limite mínimo de 106 UFC ml<sup>-1</sup>. Quanto ao gênero *Bifidobacterium* spp., as contagens não diferiram significativamente, e mostraram-se elevadas, independente da temperatura de fermentação. É possível que as proteínas do soro, desnaturadas durante o tratamento térmico, as quais são ricas em aminoácidos contendo enxofre, tenham contribuído para a viabilidade das bifidobactérias, 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. Além disso, o *S. thermophilus* age removendo o oxigênio, em função de seu metabolismo aeróbico, o que também atua em benefício das bifidobactérias (anaeróbicas). **CONCLUSÕES:** A temperatura de 37,0°C mostrou-se mais adequada para a produção das bebidas lácteas contendo bactérias probióticas, pois a viabilidade das mesmas foi superior nesta temperatura. O microrganismo mais sensível foi o *L. acidophilus*. A presença de promotores de crescimento ampliou a viabilidade do gênero *Bifidobacterium* spp. Serão necessários novos estudos para verificar as condições ideais de produção de exopolissacarídeos pela linhagem de *S. thermophilus*, de forma que a quantidade sintetizada seja maior, e efetivamente possa afetar as propriedades reológicas do produto final. A combinação de bactérias probióticas com os componentes prebióticos da soja, na composição das bebidas lácteas, resultou em um produto considerado simbiótico, com vantagens ainda maiores para a saúde dos consumidores. Apoio: FAPERGS.

<sup>1</sup> Pesquisa desenvolvida como parte do projeto “Aprimoramento de tecnologias para elaboração de produtos derivados de soja e leite com Probióticos”.

<sup>2</sup> Prof<sup>a</sup> orientadora, Departamento de Biologia e Química – UNIJUÍ, Campus Santa Rosa; [afiore@unijui.edu.br](mailto:afiore@unijui.edu.br)

<sup>3</sup> Acadêmico do Curso de Química Industrial de Alimentos, bolsista BIC/FAPERGS.

<sup>4</sup> Acadêmico do 8º Semestre do Curso de Química Industrial de Alimentos.

<sup>5</sup> Prof<sup>o</sup> colaborador, Departamento de Nutrição – UNIJUÍ.

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