

Viabilidade de microrganismos probióticos e teor de fibra alimentar em bebidas lácteas fermentadas caprinas adicionadas de galactomanana parcialmente hidrolisada de *Caesalpinia pulcherrima* (flamboyanzinho)

Flávia Carolina Alonso Buriti^{a,*}, Sidinea Cordeiro de Freitas^b, Karina Maria Olbrich dos Santos^a

^a Embrapa Caprinos e Ovinos, Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Caixa postal 145, CEP 62010-970, Sobral, CE, * flaviaca0123@gmail.com

^b Embrapa Agroindústria de Alimentos, Laboratório de Físico-Química, Rio de Janeiro, RJ

Resumo

A viabilidade dos probióticos *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus rhamnosus* e o teor de fibra alimentar total foram avaliados em quatro tratamentos de bebidas lácteas fermentadas caprinas adicionadas de polpas de goiaba (GO) e graviola (GR) e galactomanana parcialmente hidrolisada de *Caesalpinia pulcherrima* (GMPH): T1 = GO; T2 = GR; T3 = GO+ GMPH; T4 = GR + GMPH. As populações dos probióticos na porção de 200 ml de bebida foram superiores a 8-9 log UFC durante 21 dias de armazenamento em todos os tratamentos estudados e as bebidas lácteas T3 e T4 puderam ser classificadas como fontes de fibra alimentar de acordo com a legislação nacional vigente.

Palavras chave: alimento funcional; *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*; *Lactobacillus rhamnosus*; leite de cabra; polissacarídeos.

Introdução

O Brasil é o maior produtor de leite de cabra do continente americano, sendo que os Estados da Região Nordeste concentram mais de 90% do rebanho caprino do país¹. O desenvolvimento de alimentos probióticos a partir de leite de cabra apresenta-se como uma alternativa para a expansão e para a inovação do mercado de produtos lácteos caprinos.

A produção de queijos fabricados a partir do leite de cabra gera como principal subproduto o soro lácteo. A utilização desse soro pela indústria de alimentos evita o descarte no meio ambiente de um composto altamente nutritivo, rico em proteínas de alto valor biológico, além de reduzir os custos com o tratamento de resíduos².

Caesalpinia pulcherrima (flamboyanzinho) é um vegetal da família Leguminosae (família também conhecida por Fabaceae) e bem adaptada ao bioma caatinga, a principal formação fitogeográfica do Nordeste brasileiro. As sementes desse vegetal acumulam elevadas quantidades de galactomananas, polissacarídeos que podem ser utilizados pela indústria de alimentos como hidrocolóides, modificadores de textura e como fontes de fibra alimentar^{3,4}. Diversos estudos têm apontado benefícios para a saúde humana através do consumo de galactomananas parcialmente hidrolisadas⁴. Dessa forma, o emprego desses polissacarídeos em uma bebida láctea probiótica de leite de cabra e soro de queijo coalho caprino resultaria em benefícios adicionais ao produto e à saúde do consumidor, além de estimular a utilização de vegetais cultiváveis no bioma caatinga, a expansão da produção de leite de cabra e o mercado de alimentos inovadores na Região Nordeste do Brasil.

O presente estudo teve por objetivos avaliar a viabilidade dos microrganismos probióticos *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* e *Lactobacillus rhamnosus* em bebidas lácteas fermentadas caprinas adicionadas de galactomanana parcialmente hidrolisada de *C. pulcherrima* e polpas de goiaba (*Psidium guajava* L.) e graviola (*Annona muricata* L.) ao longo de 21 dias de armazenamento a 4°C, bem como verificar o potencial deste

polissacarídeo parcialmente hidrolisado como fonte alternativa de fibra alimentar, determinando-se o teor de fibra alimentar total nesses produtos.

Metodologia

Foi realizado um estudo experimental, em laboratório, para a avaliação do efeito das variáveis independentes adição de polpa de goiaba (GO), polpa de graviola (GR) e de galactomanana parcialmente hidrolisada de *C. pulcherrima* (GMPH) na fabricação de bebidas lácteas, utilizando-se um planejamento fatorial 2^2 para a obtenção de 4 tratamentos: T1 = GO; T2 = GR; T3 = GO + GMPH; T4 = GR + GMPH.

As bebidas lácteas dos quatro tratamentos foram fabricadas em três lotes, utilizando-se leite de cabra pasteurizado produzido pelo rebanho leiteiro da Embrapa Caprinos e Ovinos e soro de queijo coalho caprino processado na mesma instituição. Foram utilizadas as culturas probióticas comerciais de *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 (Christian Hansen) e *L. rhamnosus* Lr-32 (Danisco), além da cultura *starter Streptococcus thermophilus* TA-40 (Danisco). As polpas de goiaba (T1 e T3) e de graviola (T2 e T4) foram adicionadas na proporção de 15 g/100 g de produto final. Os tratamentos T3 e T4 foram adicionados de GMPH, na proporção de 1,5 g/100 g. Visando à aplicação de uma fonte alternativa de fibra alimentar em um alimento líquido sem comprometer a sua consistência e viscosidade devido à presença de frações de massa molar elevada, o processo de obtenção de GMPH foi realizado na Embrapa Caprinos e Ovinos utilizando a metodologia previamente descrita por Cerqueira et al.³, com modificações, as quais incluíram: dispersão da galactomanana seca *in natura* de *C. pulcherrima* em água destilada (1,5 g/100 ml), hidrólise com uma celulase de *Aspergillus niger* comercial (Sigma, 12,8 U/g de galactomanana) por 2 h em temperatura ambiente, autoclavagem (121°C, 20 min), resfriamento e secagem por atomização. As bebidas lácteas foram embaladas em garrafas de polietileno de alta densidade (PEAD) de 200 ml e armazenadas a $4\pm 1^\circ\text{C}$ durante 21 dias.

As variáveis dependentes e as condições de amostragem do presente estudo foram:

- populações do microrganismo *starter S. thermophilus*⁵ e das bactérias probióticas *B. animalis*⁶ e *L. rhamnosus*⁵ (log UFC/ml), determinadas semanalmente para os três lotes, em duplicata (neste trabalho são apresentados os resultados obtidos após 1 e 21 dias);
- teor de fibra alimentar total (FAT) (g/100 g), empregando-se o método oficial AOAC 985.29⁷ para dois lotes, em duplicata para a obtenção de amostras compostas, sendo considerada uma determinação para cada tratamento de cada lote após 1 e 21 dias.

Após a verificação e confirmação da normalidade e homogeneidade de variâncias, os resultados de *S. thermophilus* e de *B. animalis* foram comparados através de análise de variância, utilizando-se o teste de Tukey para a determinação dos contrastes. Os resultados de *L. rhamnosus* foram comparados através do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Para os testes estatísticos foi considerado o nível de significância de 5%. Os resultados do teor de FAT foram comparados através de análise descritiva.

Resultados e Discussão

As populações dos microrganismos *S. thermophilus*, *B. animalis* e *L. rhamnosus* nas bebidas lácteas após 1 e 21 dias de armazenamento são apresentadas na **tabela 1**. Considerando cada período de amostragem e cada microrganismo separadamente, observou-se que as populações foram muito semelhantes para as bebidas lácteas T1 a T4, não sendo observado o efeito significativo dos tratamentos estudados sobre a viabilidade dessas bactérias ($P > 0,05$). A população do microrganismo *starter S. thermophilus* foi superior a 9 log UFC/ml no 1^o dia de armazenamento. No entanto, a população desse

microrganismo diminuiu significativamente ao final de 21 dias a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ($P < 0,05$), totalizando uma redução de 0,5 ciclo log no período. Para o microrganismo probiótico *B. animalis*, a população observada no 1º dia após a fabricação foi próxima de 8 log UFC/ml, porém, apresentou redução significativa ($P < 0,05$), equivalente a 1 ciclo log ao final do armazenamento. Por outro lado, o microrganismo probiótico *L. rhamnosus* manteve-se estável nos produtos avaliados, próximo ou superior a 8 log UFC/ml ao longo de 21 dias. Mesmo com a redução da viabilidade de *B. animalis* nas amostras no período estudado, as bebidas lácteas avaliadas atenderam à concentração de microrganismos exigida pela legislação para alimentos probióticos, que estabelece o mínimo entre 8 e 9 log UFC por porção de produto pronto para o consumo⁸, o equivalente a 200 ml para bebidas lácteas⁹.

Os valores de FAT das bebidas lácteas produzidas no presente estudo são apresentados na **tabela 2**. A adição de polpa de goiaba contribuiu para um maior teor de FAT na bebida láctea T1 em comparação à bebida T2, produzida com polpa de graviola. Igualmente, Ramírez e Pacheco de Delahaye¹⁰ verificaram o maior teor de FAT em base seca na porção comestível de goiaba (65,64 g/100g) em relação à graviola (49,34 g/100 g). A contribuição do emprego de GMPH para o aumento do teor de FAT foi bastante evidente nas bebidas T3 e T4 quando comparado às amostras T1 e T2, sendo proporcional à presença desse ingrediente nessas formulações. As bebidas lácteas T3 e T4 poderiam ser classificadas como fontes de fibra alimentar segundo a legislação nacional vigente¹¹, pois apresentaram teor de FAT superior a 1,5 g/100 g de produto, teor mínimo de fibra alimentar exigido para alimentos líquidos fontes desse nutriente. Do mesmo modo, as bebidas T3 e T4 atenderiam à nova proposta para a legislação referente à informação nutricional complementar quanto ao teor de fibra alimentar¹², pois o teor de FAT nesses produtos foi superior a 2,5 g considerando a porção de 200 ml para bebidas lácteas⁹.

Conclusões

As bebidas lácteas caprinas fermentadas contendo galactomanana parcialmente hidrolisada de *C. pulcherrima* se mostraram veículos apropriados para os microrganismos probióticos *B. animalis* e *L. rhamnosus*. A adição do polissacarídeo parcialmente hidrolisado aumentou o teor de fibra alimentar total destas bebidas, melhorando o seu valor nutricional. Este ingrediente foi considerado uma fonte alternativa de fibra alimentar com potencial aplicação pela indústria, especialmente na fabricação de alimentos líquidos.

Tabela 1. Populações de *S. thermophilus*, *B. animalis* e *L. rhamnosus* (média \pm desvio padrão) nas bebidas lácteas T1 a T4. Resultados após 1 e 21 dias a $4 \pm 1^\circ\text{C}$.

Microrganismo	Tempo (dias)	Tratamentos				Média
		T1	T2	T3	T4	
<i>S. thermophilus</i> (log UFC/ml)	1	9,12 \pm 0,17	9,09 \pm 0,11	9,12 \pm 0,13	9,07 \pm 0,15	9,10 \pm 0,14 ^a
	21	8,59 \pm 0,35	8,49 \pm 0,42	8,66 \pm 0,29	8,50 \pm 0,38	8,56 \pm 0,36 ^b
<i>B. animalis</i> (log UFC/ml)	1	8,02 \pm 0,12	7,96 \pm 0,15	8,05 \pm 0,08	7,94 \pm 0,06	7,99 \pm 0,11 ^a
	21	7,00 \pm 0,26	7,01 \pm 0,30	7,01 \pm 0,28	6,98 \pm 0,28	7,00 \pm 0,27 ^b
<i>L. rhamnosus</i> (log UFC/ml)	1	8,07 \pm 0,27	7,99 \pm 0,20	8,11 \pm 0,22	8,08 \pm 0,24	8,06 \pm 0,23
	21	8,18 \pm 0,28	8,06 \pm 0,21	8,13 \pm 0,28	8,14 \pm 0,27	8,13 \pm 0,26

T1 = GO; T2 = GR; T3 = GO + GMPH; T4 = GR + GMPH; ^{a,b} Letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna, para um mesmo microrganismo, indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tempos de armazenamento.

Tabela 2. Teor de fibra alimentar total (média \pm desvio padrão) nas bebidas lácteas T1 a T4 após 1 e 21 dias de armazenamento a $4 \pm 1^\circ\text{C}$.

Item	Tratamentos			
	T1	T2	T3	T4
FAT ¹ AI ² - dia 1 (g/100 g)	0,77 \pm 0,13	0,51 \pm 0,28	2,25 \pm 0,27	2,06 \pm 0,32
FAT AI - dia 21 (g/100 g)	0,76 \pm 0,12	0,44 \pm 0,19	1,97 \pm 0,19	1,80 \pm 0,08
FAT ES ³ - dia 1 (g/100 g)	3,88 \pm 0,46	2,53 \pm 1,32	10,62 \pm 1,11	9,67 \pm 1,30
FAT ES - dia 21 (g/100 g)	3,90 \pm 0,80	2,27 \pm 1,09	9,32 \pm 1,06	8,47 \pm 0,19

¹ FAT = fibra alimentar total; ² AI = amostra integral; ³ ES = extrato seco; T1 = GO; T2 = GR; T3 = GO + GMPH; T4 = GR + GMPH;

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, à Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico e à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária pelo apoio financeiro, bem como à empresa Danisco Brasil Ltda. pelo fornecimento das culturas de *L. rhamnosus* e *S. thermophilus* utilizadas neste estudo.

Referências

- 1 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de recuperação automática [Acesso em 10 mar 2012]. Disponível em <http://www.sidra.ibge.gov.br>.
- 2 Casper JL, Wendorff WL, Thomas DL. Seasonal changes in protein composition of whey from commercial manufacture of caprine and ovine specialty cheeses. *J Dairy Sci* 1998; 81: 3117-22.
- 3 Cerqueira MA, Pinheiro AC, Souza BWS, Lima AMP, Ribeiro C, Miranda C et al. Extraction, purification and characterization of galactomannans from non-traditional sources. *Carbohydr Polym* 2009; 25: 408-14.
- 4 Kapoor MP, Juneja LR. Partially hydrolyzed guar gum dietary fiber. In: Cho SS, Samuel P, editors. *Fiber ingredients: food applications and health benefits*. Boca Raton (FL): CRC; 2009. p. 79-120.
- 5 Oliveira MN, Sodini I, Remeuf F, Corrieu G. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. *Int Dairy J* 2001; 11: 935-42.
- 6 Danisco. Enumeration of *Bifidobacterium*: medium MRS DCL. Paris: Danisco; 2006.
- 7 Prosky L, Asp NG, Furda I, DeVries JW, Schweizer TF, Harland BF. Determination of total dietary fiber in foods and food products. *J Assoc Off Anal Chem* 1985; 68: 677-9.
- 8 Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos: lista de alegações aprovadas; 2008 [Acesso em 10 mar. 2012]. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm.
- 9 Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional. Resolução RDC nº 359 (23 dez. 2003).
- 10 Ramírez A, Pacheco de Delahaye E. Propiedades funcionales de harinas altas en fibra dietética obtenidas de piña, guayaba y guanábana. *Interciencia* 2009; 34: 293-8.
- 11 Brasil. Regulamento técnico referente à informação nutricional complementar. Portaria nº 27 (13 jan. 1998).
- 12 Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Proposta de resolução que dispõe sobre o regulamento técnico sobre informação nutricional complementar. Consulta Pública nº 21 (6 abr. 2011).