

## 6437 - Bebida Láctea Caprina com Suco de Uva Potencialmente Probiótica: Viabilidade de cepas de *Lactobacillus rhamnosus* e aceitabilidade sensorial

Samuel Barcelos<sup>1</sup>, Isabel Oliveira<sup>2</sup>, Antônio Egito<sup>3</sup>, Daniele Teixeira-Sá<sup>4</sup>, Karina dos Santos<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Mestrando em Tecnologia de Alimentos - IFCE - Campus Limoeiro do Norte, [s.c.barcelos.ifce@gmail.com](mailto:s.c.barcelos.ifce@gmail.com)

<sup>2</sup>Graduada em Tecnologia em Alimentos - IFCE - Campus Sobral

<sup>3</sup> Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral - CE, Brazil

<sup>4</sup> Docente/pesquisador do Departamento do Curso de Mestrado em Tecnologia de Alimentos - IFCE - Campus LN

<sup>5</sup>Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro - RJ, Brazil

### INTRODUÇÃO

Bebida Láctea é o produto lácteo resultante da mistura do leite e soro de leite adicionado ou não de outros ingredientes. A base láctea deve representar pelo menos 51% do total de ingredientes do produto (1) e, comumente, as bebidas lácteas são adicionadas de aditivos que conferem aroma e cor típico de diversas frutas (2). Entretanto, observa-se ao longo dos anos mudanças nos hábitos alimentares dos consumidores que buscam alimentos mais naturais e saudáveis.

A adição de polpa ou suco de fruta a bebidas lácteas, além de contribuir para a aparência, especialmente a cor, e conferir sabor agradável, contribui para o incremento do valor nutricional do alimento. O suco integral de uva, por exemplo, é rico em compostos fenólicos e apresenta atividade antioxidante, associada a efeitos benéficos para a saúde.

A incorporação de culturas probióticas a bebidas lácteas também agrega funcionalidade ao produto. Segundo a ANVISA (3), um produto deve conter entre  $10^8$  e  $10^9$  células viáveis do microrganismo probiótico por porção de consumo diário para ser considerado um alimento funcional. A viabilidade das bactérias deve ser mantida até o final da vida de prateleira do produto e, nesse sentido, os parâmetros de processamento e estocagem são fatores importantes a serem considerados.

Diante disto, objetivou-se com o presente trabalho desenvolver uma bebida láctea fermentada caprina adicionada de suco integral de uva, utilizando duas cepas de *Lactobacillus rhamnosus*, uma comercial e outra nativa, isolada a partir de queijos artesanais e selecionada em função de propriedades probióticas e tecnológicas (4).

### MATERIAIS E MÉTODOS

Preparação da cultura láctea probiótica *L. rhamnosus* EM1107

A cepa *Lactobacillus rhamnosus* EM1107 foi cultivada em caldo MRS a 37 °C/24 h, seguida de centrifugação a 12857 x g/15 min a 4 °C. O pellet obtido foi lavado em solução salina (0,85%) e centrifugado sob as mesmas condições. A quantidade de *Lb. rhamnosus* EM1107 adicionada foi calculada para atingir concentração estimada de, pelo menos, 7,0 UFC/mL<sup>-1</sup> em leite.

Elaboração da bebida láctea fermentada

Para a produção das bebidas, a base láctea composta por leite, soro e sacarose (50, 41,25 e 8,75%, respectivamente) foi aquecida a 37 °C ± 2 °C e adicionada da cultura starter *Streptococcus thermophilus* TA-40 (DuPont®, 0,003% p/v) e de *Lb. rhamnosus* Lr-32 (DuPont®, 0,02% p/v) ou *L. rhamnosus* EM1107; as bebidas foram designadas, respectivamente BL-Lr32 e BL-1107. A base láctea foi incubada a 37 °C ± 2 °C até atingir pH próximo de 5,0, seguida de resfriamento e repouso a 4 °C por 24 h antes da quebra do coágulo e adição do suco de uva (20%). Os ingredientes foram homogeneizados por dois minutos até a obtenção de uma bebida de aspecto uniforme. As bebidas lácteas foram embaladas em garrafas plásticas de polietileno e armazenadas a 4 ± 2 °C durante 28 dias.

Determinação dos parâmetros microbiológicos

As populações de *S. thermophilus*, *Lb. rhamnosus* Lr-32 e EM1107 nas bebidas lácteas foram monitorados após 1°, 14° e 28° dias de armazenamento, em duplicata. Porções de cada amostra, em cada tempo foram recolhidas assepticamente e diluídas serialmente em 0,1% p/v de água peptonada tamponada. *L. rhamnosus* foi enumerada por semeadura em profundidade em ágar (MRS), acidificado a pH 5,4, seguido de incubação a 37 °C durante 48 h, em anaerobiose (5). Para a

contagem de *S. thermophilus* procedeu-se como descrito acima, utilizando-se ágar M17 suplementado com solução de lactose a 10% e, incubação em aerobiose a 45 °C (6). A investigação de coliformes a 45 °C, *E. coli*, *Staphylococcus* DNA-se positivo, bolores e leveduras, foi realizada quinzenalmente, em placas Petrifilm (3M Microbiology, St. Paul, MN, USA), segundo os métodos AOAC 991,14, AOAC 997,02 e AOAC 2.003,08 (7). A presença de *Salmonella* sp. foi verificada segundo Silva et al. (8).

Análise Sensorial

As bebidas foram avaliadas no 3°, 14° e 28° dia de armazenamento refrigerado através do teste de aceitabilidade sensorial (9), utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos (1 = desgostei muitíssimo, 5 = nem gostei, nem desgostei, 9 = gostei muitíssimo) para avaliação dos atributos aparência, sabor, cor, textura e aceitação global. A análise foi conduzida por 50 provadores não treinados, de ambos os gêneros, com idade entre 18 e 45 anos. A avaliação sensorial foi aprovada pela Universidade Estadual do Vale do Acaraú, Comitê de Ética em Pesquisa Humana - Sobral, Brasil (CAAE: 0073.0.039.00-1) e realizada no Laboratório de Análise Sensorial do IFCE - Campus Sobral.

Análise estatística

Os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, para verificação dos pressupostos de normalidade e homogeneidade, respectivamente. Aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para as variáveis de análise sensorial e para as demais a utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA). A comparação entre os pares de médias foi realizada pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. Foi utilizado o software estatístico SAS versão 9.2 (10).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação dos parâmetros microbiológicos

As bebidas lácteas mantiveram-se em conformidade com os padrões da legislação vigente (1) durante o armazenamento, não tendo sido detectados coliformes a 45 °C, *E. coli*, *Staphylococcus* DNase positivo, *Salmonella* sp. e bolores e leveduras. A ausência de contaminação nas bebidas estudadas está relacionada com a qualidade do produto e a eficiência das Boas Práticas de Fabricação (BPFs), que garantem que o produto final seja seguro para consumo.

As populações de Lr-32 e Lr-EM1107 nas respectivas bebidas lácteas mantiveram-se acima de 8 log UFC/mL<sup>-1</sup> ao longo do período de armazenamento estudado (Tabela 1), atendendo a legislação brasileira para produtos probióticos (3). Foi observada diferença estatística ( $P < 0,05$ ) entre as bebidas quanto às populações de *L. rhamnosus* no 14° e 28° dia. A bebida BL-1107 destacou-se pela concentração mais elevada de *L. rhamnosus* no período estudado. Uma ligeira, mas significativa ( $p < 0,05$ ) redução na população foi registrada entre o 1° e o 14° dia de armazenamento, que retornou ao nível inicial no 28° dia. Populações de Lr-32 da BL-Lr32 apresentaram-se estáveis ( $p > 0,05$ ) durante o armazenamento.

Tabela 1. População (média ± DP) de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus rhamnosus* nas bebidas lácteas caprinas durante 28 dias de armazenamento a 4 °C ± 2 °C.

Tempo (dias)	Populações (log UFC/mL <sup>-1</sup> )*			
	<i>S. thermophilus</i>		<i>L. rhamnosus</i>	
	BL-Lr32	BL-1107	BL-Lr32	BL-1107
1	9,03 <sup>Aa</sup> ±0,0	8,91 <sup>Ab</sup> ±0,0	8,23 <sup>Aa</sup> ±0,0	8,88 <sup>Aa</sup> ±0,0
14	9,24 <sup>Aa</sup> ±0,0	8,76 <sup>Bb</sup> ±0,1	8,47 <sup>Aa</sup> ±0,2	8,81 <sup>Bb</sup> ±0,0
28	9,17 <sup>Aa</sup> ±0,0	9,10 <sup>Aa</sup> ±0,0	8,48 <sup>Aa</sup> ±0,3	8,75 <sup>Ba</sup> ±0,0

\* Média de 3 ensaios ± desvio padrão  
BL-Lr32 = bebida láctea com *Lb. rhamnosus* Lr-32; BL-1107 = bebida láctea com *Lb. rhamnosus* EM1107.

<sup>A,B</sup> Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam diferença significativa a 5% (p < 0,05) entre os tratamentos.

<sup>a,b</sup> Letras minúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa a 5% (p < 0,05) entre os dias de armazenamento, para a mesma bebida.

Foi observada diferença estatística (p < 0,05) nas populações de *S. thermophilus* entre as bebidas no 14º dia, não detectada no 1º e no 28º dia (p > 0,05). Um aumento significativo (p < 0,05) na população de *S. thermophilus* foi registrada no 28º dia da BL-1107.

As populações de *L. rhamnosus* Lr-32 e EM1107 nas bebidas do presente trabalho foram superiores às reportadas por Ranadheera et al. (11) em bebida láctea caprina produzidas com monoculturas de *L. acidophilus* LA-5, *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 e *P. jensenii* 702 e suas combinações, em torno de 7,34 a 8,23 log UFC/mL<sup>-1</sup> durante 21 dias de armazenamento a 4 °C. Contudo, são semelhantes às populações de *Lb. rhamnosus* DSA LR1 nativa adicionada à produção de iogurte tradicional, relatadas por Innocente et al. (12), em torno de 8,7 log UFC/mL<sup>-1</sup>, embora tenha sido observada redução de cerca de 1 log UFC/mL<sup>-1</sup> durante os 20 dias de armazenamento a 4 °C.

#### Análise sensorial

As notas médias atribuídas às bebidas no teste de aceitabilidade sensorial estão expostas na Tabela 2. Não foi detectada diferença significativa (P > 0,05) entre as bebidas BL-Lr32 e BL-1107 quanto aos escores médios de aceitabilidade dos atributos avaliados, nem entre os intervalos de tempo de armazenamento (3º, 14º e 28º dias) de cada bebida.

Tabela 2. Notas atribuídas à aparência, sabor, cor, consistência e aceitação global (média ± DP)\* das bebidas lácteas caprinas durante 28 dias de armazenamento a 4 °C ± 2 °C.

Atributos	Tempo (dias)	Bebidas	
		BL-Lr32	BL-1107
Aparência	3	7,08 ± 1,51	6,20 ± 1,68
	14	7,20 ± 1,52	7,05 ± 1,26
	28	7,33 ± 1,58	7,60 ± 0,98
Sabor	3	6,28 ± 1,83	6,55 ± 1,54
	14	7,20 ± 1,68	7,13 ± 1,24
	28	7,00 ± 2,04	7,43 ± 1,30
Cor	3	6,58 ± 1,36	6,30 ± 1,64
	14	7,38 ± 1,50	7,10 ± 1,41
	28	6,63 ± 2,23	7,10 ± 2,04
Consistência	3	6,65 ± 1,59	6,90 ± 1,72
	14	7,55 ± 1,36	7,75 ± 1,03
	28	7,48 ± 1,43	7,75 ± 1,17
Aceitação Global	3	6,78 ± 2,03	6,95 ± 1,43
	14	7,45 ± 1,40	7,50 ± 1,06
	28	7,15 ± 1,73	7,28 ± 1,60

BL-Lr32 = bebida láctea com *Lb. rhamnosus* Lr-32; BL-1107 = bebida láctea com *Lb. rhamnosus* EM1107.

Ambas as bebidas foram consideradas sensorialmente aceitas. A bebida BL-Lr32 obteve escores médios entre 6,63 e 7,48 durante os 28 dias de armazenamento, que na escala hedônica utilizada corresponde a “gostei ligeiramente” e “gostei”. A bebida BL-1107, no mesmo período, obteve notas médias entre 7,10 e 7,60, que equivale a “gostei” - “gostei muito”. Apesar de não ter sido detectada diferença significativa, observou-se a tendência de obtenção de escores médios superiores em todos os

atributos avaliados para a BL-1107, fabricada com a cultura nativa Lr-EM1107, em comparação com a cultura comercial.

#### CONCLUSÃO

Ambas as culturas de *L. rhamnosus* estudadas, a comercial Lr-32 e a nativa EM1107 mantiveram-se viáveis em concentração acima de 8 log UFC/mL<sup>-1</sup> nas bebidas lácteas fermentadas caprinas com suco de uva ao longo de 28 dias de armazenamento refrigerado, atendendo as exigências da legislação brasileira para produtos probióticos. Ambas as bebidas obtiveram boa aceitação sensorial, embora tenha sido observada tendência de obtenção de escores médios superiores pela bebida BL-1107, em todos os atributos sensoriais avaliados. A cepa potencialmente probiótica EM1107 mostrou-se promissora para aplicação em bebida láctea fermentada com suco de uva.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e ao CNPq pelo auxílio financeiro, ao IFCE Campus Sobral pela colaboração na análise sensorial e ao Adriano Rodrigues Lima pela análise estatística dos dados do presente estudo.

#### REFERÊNCIAS

- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 16 de agosto de 2005. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 24 de agosto de 2005, Seção 1. P.7.
- Kempra, A.P., Kruger, R.L., Valduga, E., Luccio, M., Treichel, H., Cansian, R., Oliveira, D. Formulação de bebida láctea fermentada sabor pêssego utilizando substratos alternativos e cultura probiótica. Ciênc. Tecnol. Aliment. 28, 170-177, 2008.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. VIII - Lista das alegações aprovadas. Brasília, 2008. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>. Acesso em: 25/03/2016.
- Santos, K.M.O., Vieira, A.D.S., Buriti, F.C.A., Nascimento, J.C.F., de Melo, M.E.S., Bruno, L.M., Borges, M.F., Rocha, C.R.C., Lopes, A.C.S., Franco, B.D.G.M., Todorov, S.D. Artisanal Coalho cheeses as source of beneficial *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus rhamnosus* strains. Dairy Sci. & Technol. 95, 209-230, 2015.
- International Dairy Federation. Fermented and non-fermented milk products. Detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus*. Culture media. Brussels: International Dairy Federation, [Bulletin of the IDF, 306]. 1995.
- Richter, R.L., Vedamuthu, E.R. Milk and milk products. In: Downes, F.P., Ito, K. (Ed.). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4.ed. Washington, DC: Amer. Public Health Assoc. 47, 483-496, 2001.
- Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC International. 17. Ed. Gaithersburg: AOAC, 2003. v. 1, p. 12.1-12.3.; v.2, p.33. 1-33.88.
- Silva, N., Junqueira, V.C.A., Silveria, E.F.A., Taniwaki, M.H., Santos, R.F.S., Gomes, R.A.R. Manual de métodos de análises microbiológica de alimentos. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 552p.
- Meilgaard, M.C., Civille, G.V., Carr, B.T. Sensory evaluation techniques. 4.ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2007.
- Statistical Analysis Systems - SAS Institute Inc. 2009. SAS OnlineDoc. 9.2. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Ranadheera, C.S., Evansa, C.A., Adamsa, M., Baines, S.K. Co-culturing of probiotics influences the microbial and physico-chemical properties but not sensory quality of fermented dairy drink made from goats' milk. Small Ruminant Res. 136, 104-108, 2016.
- Innocente, N., Biasutti, M., Rita, F., Bricchese, R., Comi, G., Iacumin, L. Effect of indigenous *Lactobacillus rhamnosus* isolated from bovine milk on microbiological characteristics and aromatic profile of traditional yogurt. Food Sci Technol. Int. 66, 158-164, 2016.