

OTIMIZAÇÃO DA ESTABILIDADE E FUNCIONALIDADE DE BEBIDA SIMBIÓTICA DE SOJA ADICIONADA DE *Lactobacillus rhamnosus* sp. DURANTE VIDA DE PRATELEIRA

Ferreira, M.F.; Mondragón-Bernal, O.; Maugeri, F.

Laboratório de Engenharia de Bioprocessos LEB - Departamento de Engenharia de Alimentos DEA-
Faculdade de Engenharia de Alimentos FEA- Universidade Estadual de Campinas -UNICAMP.
Cidade Universitária "Zeferino Vaz" - Cx.Postal 6121. CEP:13081-970 - Campinas/SP.

Palavras chaves: exopolissacarídeos, probióticos, extrato hidrossolúvel de soja, vida de prateleira, testes terapêuticos.



INTRODUÇÃO

Exopolissacarídeos – EPS – produzidos por bactérias lácticas como o *L. rhamnosus* proporcionam textura, viscosidade e retenção de umidade em alimentos fermentados e são considerados como seguros ao serem sintetizados *in situ*. Alimentos probióticos devem conter células vivas em números elevados com persistência no trato intestinal e resistência a barreiras, tais como, suco gástrico, biliar e lisozima. Alimentos que contêm probióticos e prebióticos se denominam "simbióticos", estes beneficiam a saúde mantendo o balanço da flora intestinal, reduzindo a má absorção da lactose, aumentando a proteção contra infecções intestinais, entre outros. Bebidas fermentadas e simbióticas de soja apresentam, após a fermentação pelas bactérias lácticas, uma queda do pH que lhes confere características sensoriais como viscosidade e acidez. É necessário que os produtos fermentados conservem suas características sensoriais durante a vida de prateleira. Neste trabalho foram estudadas as variáveis significativas na estabilidade de uma bebida simbiótica a base de soja durante 30 dias de vida de prateleira através de um planejamento experimental Plackett & Burman (Rodrigues e Temma, 2005). Também foram realizados estudos terapêuticos pela resistência dos simbióticos às condições simuladas do trato gastrointestinal (TI) *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Matéria-prima: Extrato hidrossolúvel de soja (PROVESOL FB Olvebra Industrial S/A-Brasil) 6-10% p/v, esterilizado 116°C por 5 minutos, resfriado e inoculado com cultura(s) probiótica(s) e láctica(s) com 10^5 - 10^7 UFC/mL, incubação a 37°C. Produtos probióticos comerciais: Nestlé (Comercial I) e Batavo (Comercial II)

Agentes prebióticos: Frutoligosacarídeos (FOS) Raftilose 95® da Orafit e polidextrose Litesse® da Danisco.

Culturas Probióticas e Lácticas: Foram estudadas as linhagens *L. rhamnosus* LR32 (LR), produtora de EPS, e os probióticos em mistura padrão: *L. acidophilus* LAC4(L1), *L. paracasei* subsp *paracasei* LBC81 (L2) e *Bifidobacterium longum* BL04 (B).

Meio de cultura para contagem: Ágar MRS + 0,01% azul de anilina (Mondragón-Bernal, 2005)

Preparo dos fermentados de extrato hidrossolúvel de soja:

- Suspensões de EHsoja esteril, a partir de formulação pré-estabelecida, em presença de FOS e/ou polidextrose, com agitação a 37°C durante 16 h;
- Inoculação com misturas de culturas lácticas e fermentadas, sem agitação, a 37 °C até atingir pH 4,8-4,3 (aproximadamente 16 h);
- Ao término da fermentação, coleta de amostra (0 dia);
- Outras amostras foram armazenadas em geladeira e retiradas após 10, 20 e 30 dias, respectivamente em duplicata;
- Todas as amostras coletadas foram congeladas para posterior análise.

Tabela 1. Variáveis e respostas para o delineamento experimental Plackett & Burman de 12 ensaios e 4 pontos centrais.

VARIÁVEIS:	Nível	-1	0	+1	RESPOSTAS:
X1: Produção de EPS (g/L)	33,000	20,250	10,500	0	Y1 = Produção de EPS
X2: Sinérese (%)	0	6	12	18	Y2 = Prateleira 0, 10, 20 e 30 dias: Y2.1 = Sinérese (%)
X3: Tempo Lactato de Cálcio (h)	0	5	10	15	Y2.2 = Viscosidade aparente
X4: EHsoja (%)	6	8	10	12	Y2.3 = pH
X5: FOS (g)	0	2	4	6	Y2.4 = Contagem total (UFC/mL)
X6: Polidextrose (g)	0	2	4	6	Y2.5 = Contagem Bifidobactéria (UFC/mL)

Análises bioquímicas: Contagens: Plaqueamento em profundidade com incubação em aerobiose e anaerobiose a 37 C (Mondragón-Bernal, 2005).

Testes terapêuticos: Digestão sequencial *in vitro* em soluções simuladas de saliva (5 min), suco gástrico (1ª e 3ª horas), suco intestinal + suco pancreático (4ª e 8ª horas), dos melhores ensaios do planejamento Plackett & Burman. Soluções: saliva pH6.0 (α -amilase e lisozima), suco gástrico pH1.2 (ácido clorídrico, pepsina, lipase e quimosina), suco intestinal pH8.0 (sais biliares, lactase, invertase e lisozima) e suco pancreático pH8.0 (pancreatina, tripsina e lipase)

Medidas físico-químicas: pH (potenciômetro), extração alcoólica de EPS (exopolissacarídeos) e quantificação pelo método de Antrona em espectrofotômetro (Beckman Coulter DU640), propriedades reológicas em reômetro Carymed TA instruments com tensão controlada e ajuste de modelos (Statistica 5.0), determinação de açúcares

RESULTADOS

Contagem total:

Sinérese:

pH:

Quantificação de EPS:

Viscosidade aparente:

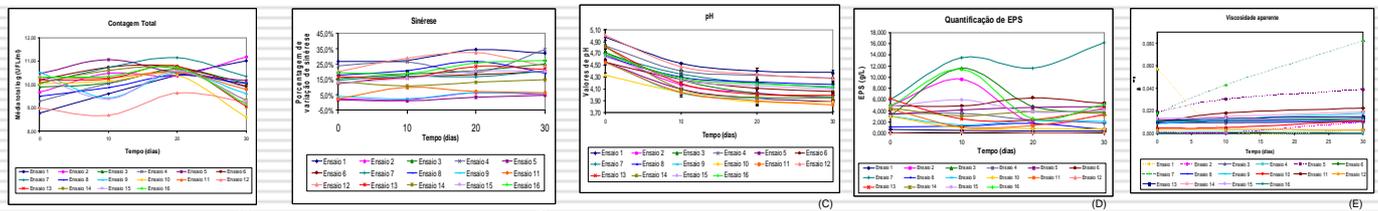


Figura 1. Resultados das análises bioquímicas e medidas físico-químicas durante 0, 10, 20 e 30 dias de prateleira. (A) Contagem total log (UFC/mL). (B) Porcentagem de variação de sinérese. (C) Medida de pH. (D) Quantificação de EPS em g/mL. (E) Viscosidade aparente.

Testes terapêuticos *in vitro*

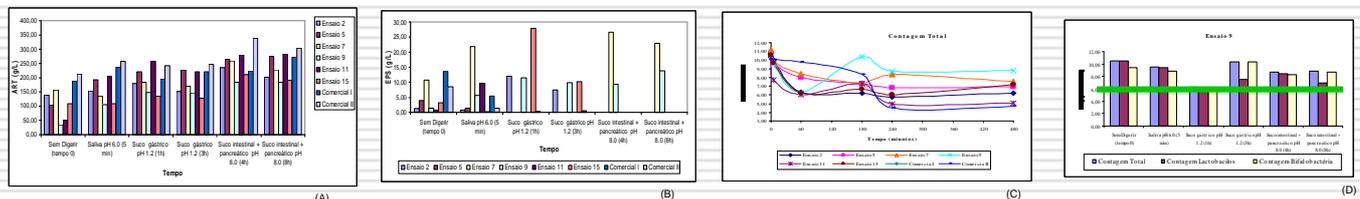


Figura 2. Resultados das análises bioquímicas e medidas físico-químicas dos ensaios digeridos em soluções simuladas do TI. (A) Açúcares totais (g/L) (B) Quantificação de EPS (g/mL). (C) Contagem total log (UFC/mL). (D) Contagens do ensaio 9, que apresentou as melhores respostas dentre todos os outros ensaios.

Todos os testes realizados foram baseados no planejamento Plackett & Burman: 12 ensaios e 4 pontos centrais → total 16 ensaios

CONCLUSÕES

O tampão Lactato de Cálcio apresentou o maior efeito significativo positivo sobre a resposta sinérese: os ensaios com menor porcentagem de sinérese não o apresentavam. Outras variáveis com efeito significativo negativo foram sacarose e polidextrose. Os melhores ensaios para o estudo da estabilidade durante 30 dias de vida de prateleira para o alimento simbiótico de extrato de soja, dentre os analisados foram 2, 5, 9 e 11, pois estes apresentaram menor sinérese e os parâmetros reológicos, pH e contagens permaneceram mais estáveis durante a vida de prateleira. Eles apresentaram a maior queda de pH durante os primeiros 10 dias, justamente por não apresentarem o tampão, porém os valores finais mantiveram-se constantes. As contagens tiveram pouca alteração, mantendo ótimas concentrações, garantindo a funcionalidade do produto. As variáveis com melhor efeito na estabilidade foram o extrato de soja, a sacarose e os prebióticos FOS e polidextrose, sendo possível adicionar estes nas quantidades dos pontos centrais ou maiores para elaboração de produtos light ou sem sacarose. Nos testes terapêuticos, o ensaio que apresentou os melhores resultados foi o 9 que possui alto teor de soja, FOS e polidextrose e não apresenta sacarose e nem tampão lactato de cálcio. Ele apresentou ao final da digestão baixos valores de açúcares totais e redutores, valor constante de EPS e altas contagens totais e de bifidobactérias, sendo um interessante protótipo para produto simbiótico *light* e *diet* e com alto teor de fibras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹MONDRAGÓN-BERNAL, O.L.; COSTA, F.; RODRIGUEZ, M.I.; MAUGERI, F. **Metodologia para Contagem Diferenciada de Lactobacilos e Bifidobactérias em Mistura**. XV Simpósio Nacional de Bioprocessos - SINAFERM, Recife, PE, Brasil, 2005.
RODRIGUES, M.I.; IEMMA, A.F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**. Ed. Casa do Pão. 326 p., 2005.

Agradecimentos a SAE pela bolsa de iniciação científica - PIBIC