VIABILIDADE DO *LACTOBACILLUS CASEI* EM SORVETE CASEIRO

Viability of *Lactobacillus casei* in homemade ice-cream

Bruno Gustavo Souza
Carolina Ragusa
Christiane Maciel Vasconcellos Barros de Rensis
Marcela de Rezende Costa
*Kátia Sivieri**

SUMÁRIO

Os probióticos vêm ganhando uma importância considerável na nossa alimentação por proporcionarem efeitos benéficos ao bem-estar e à saúde humana. O presente trabalho teve como objetivo analisar a viabilidade do microrganismo probiótico *Lactobacillus casei* em sorvete caseiro. A viabilidade foi avaliada aos 0, 7, 14, 21 e 28 dias após o processamento do sorvete através de contagens em meio MRS. Observou-se que durante toda a vida de prateleira do sorvete o *L. casei* se mostrou viável, com uma contagem média 6,32 a 7,14 log UFC.g^{-1}. Após 21 de dias armazenamento, houve uma queda de um ciclo logarítmico. O sorvete mostrou ser um bom alimento para a adição do probiótico apresentando uma boa viabilidade desse microrganismo durante os 28 dias de armazenamento congelado.

Termos para indexação: vida-de-prateleira, probiótico, produtos lácteos.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas o desenvolvimento acelerado do mundo industrializado tem afetado drasticamente o estilo de vida do homem e, como conseqüência, provocado certo desequilíbrio na qualidade de vida da população. Um grande número de pessoas passou a consumir dietas inadequadas e levar uma vida mais estressante, consequentemente resultou no aumento da incidência de doenças cardiovasculares e crônicas degenerativas (BADARÓ, 2008).

Tentando reverter essa situação, muitas pessoas têm procurado uma mudança no seu estilo de vida, começando pela busca de alimentos mais saudáveis ou que, ainda, além de suprir suas necessidades nutricionais, contribuam com benefícios à saúde e ao bem estar (FERREIRA, 2003).

A indústria de alimentos, principalmente a de produtos lácteos, vem desenvolvendo novas modalidades de alimentos, que contribuem e atendem às exigências do mundo moderno. Dentre estes, os alimentos funcionais, com a adição de microrganismos probióticos, a cada dia ganham mais destaque junto aos consumidores (BURITI, 2008). A indústria de laticínios está entre as que apresentam maior crescimento na disponibilização de produtos funcionais, em especial nos segmentos de iogurtes e outros leites fermentados, onde essa funcionalidade é efetivada por meio da utilização de culturas probióticas e/ou adição de substâncias prebióticas (FERREIRA, 2003).

Probióticos são microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal, produzindo efeitos benéficos à saúde humana. Incluem-se neste grupo os lactobacilos e as bifidobactérias. Após uma série de estudos, aumentam as comprovações dos benefícios oriundos da ingestão de microrganismos probióticos. Vários produtos lácteos contendo estas culturas têm sido formulados nos últimos anos e comercializados com sucesso (SHAH, 2007).

Segundo Goldin (1998) e Madley (2001) são atribuídas várias funções aos microrganismos probióticos tais como: diminuição do colesterol sérico e da reabsorção de compostos aminados indesejáveis, aumento da absorção de minerais como cálcio, ferro e magnésio, aumento da resposta do sistema imune do hospedeiro, favorecimento do metabolismo de algumas substâncias como a lactose em indivíduos intolerantes, equilíbrio da microbiota intestinal, prevenção de câncer, redução de infecções no trato urinário, alergias, inflamações e hipersensibilidade.

Segundo Saad (2006), os produtos lácteos probióticos devem ser produzidos utilizando-se as

Universidade Norte do Paraná. Av. Paris n.675, Jardim Piza, CEP 86041-140, Londrina-PR.
* Autor correspondente: sivieri@unopar.br

mesmas tecnologias empregadas no processamento dos produtos lácteos não probióticos, levando em consideração alguns fatores que devem ser citados para garantir sua funcionalidade, tais como: adequação da cultura levando em conta o público alvo (criança ou adulto), funcionalidade esperada, sobrevivência em leite, não alterar o sabor característico do produto, capacidade de não produzir substâncias indesejáveis, habilidade de passar pelo trato gastrintestinal em estado viável, habilidade de se multiplicar no trato gastrintestinal.

Para se obter o máximo benefício dos probióticos é necessário que os mesmos estejam viáveis e disponíveis em concentrações superiores a 10^6 UFC/g de produto (SHAH, 2000). A Federação Internacional de Laticínios (FIL/IDF) recomenda um mínimo de 10^7 UFC/g (DAVE & SHAH, 1998; HEKMAT & MCMAHON, 1992; KAILASAPATHY & SULTANA, 2003).

Manter a boa viabilidade das bactérias probióticas durante o processamento e vida-de-prateleira dos produtos representa um desafio tecnológico, uma vez que muitas dessas bactérias são sensíveis à exposição a oxigênio, calor e ácidos (MIGUEL & ROSSI, 2003). Em alimentos fermentados, onde o pH tende a ser bastante baixo, o desempenho desses microrganismos muitas vezes é reduzido rapidamente. Portanto, produtos com vida-de-prateleira curta, como o iogurte e leites fermentados, são os mais comumente utilizados como veículos de probióticos. Porém, já existem produtos probióticos com vida de prateleira maior, como por exemplo queijo tipo Cheddar (STANTON, 2005), queijo fresco cremoso (BURITI et al., 2008) e queijo minas (BURITI et al., 2005). Novos produtos contendo microrganismos probióticos vêm sendo introduzidos no mercado internacional, tais como: sobremesas lácteas, leite em pó para a alimentação infantil, sorvetes, vários tipos de queijos, produtos em forma de cápsulas e alimentos fermentados de origem vegetal (FULLER, 1994; CRUZ et al., 2009).

O sorvete apresenta-se como um veículo adequado para o resgate de probióticos na dieta humana. Alguns estudos têm demonstrado que é possível a produção de sorvete inoculado com microrganismo probiótico (CRUZ et al., 2009; MIGUEL & ROSSI, 2003).

O mercado de sorvetes possui um grande potencial de crescimento e há muito espaço a ser conquistado com produtos inovadores. O leite e derivados lácteos são ingredientes obrigatórios nos sorvetes e permitem a veiculação de microrganismos probióticos. No entanto esta adição não deve descaracterizar sensorialmente o produto. Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade do *Lactobacillus casei* ssp. *casei* em sorvete tipo caseiro durante 28 dias de armazenamento.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Processamento do sorvete

Foram realizados quatro processamentos de sorvetes utilizando a seguinte formulação: 13,9% de leite em pó integral (Polly, Brasil), 3,0% de amido de milho (Unilever, Brasil), 5% de açúcar (União, Brasil), 0,8% de liga neutra extra 2 (Duas Rodas, Brasil) e 0,8% de emulsificante Emustab (Duas Rodas, Brasil) e 10% de Litesse (Danisco, Brasil).

Para o processamento de 2L de sorvetes, a água potável filtrada foi aquecida à temperatura de ebulição por 5 minutos. Em seguida, foram adicionados o leite em pó integral, o açúcar e o Litesse®, permanecendo sob fervura por mais 5 minutos. Resfriou-se a mistura até 60°C, foi adicionado lentamente o amido de milho e a temperatura da mistura foi elevada novamente até a fervura. Em seguida, adicionou-se a liga neutra extra 2 e a mistura foi homogeneizada em liquidificador, em alta velocidade, por 5 minutos, depois foi envasada em potes e congelada à -18 ºC. Após 24 horas a esta temperatura, período de maturação, a mistura foi retirada dos potes, adicionada de emulsificante Emustab e homogeneizada em batedeira Walita (Walita, Brasil), em alta velocidade, por 5 minutos. As formulações foram envasadas em potes plásticos descartáveis, e mantidas em freezer -23 ºC.

2.2 Preparação do *Lactobacillus casei*

A cultura probiótica liofilizada (1%) de *Lactobacillus casei* (Lc-01), cedida pela Christian Hansen (Valinhos São Paulo), foi ativada inoculando-a em 40 ml de leite tratado à 100ºC por 20 minutos e cultivando à 37ºC por 9h. A massa probiótica na fase log de crescimento foi adicionada na fase final do processamento do sorvete (HOMAYOUNI et al., 2008).

2.3 Análises microbiológicas

Para a determinação da viabilidade do *L. casei*, homogenizou-se 25mL de sorvete em 225mL de água peptonada 0,1% sendo feita diluições seriadas com o mesmo diluente. As placas contendo ágar MRS foram incubadas em anaerobiose a 37°C por 48 horas. Os sorvetes foram avaliados em triplicatas e os resultados foram expressos em log UFC/g (UFC) (HARAMI, 2008).

Análise dos resultados

Os resultados foram analisados utilizando o STATISTICA versão 6.0. A análise de variância (ANOVA) e teste de médias de Tukey. As diferenças foram declaradas significativas quando o $P<0,05$ (STATSOFT, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se ausência de coliformes totais, fecais e salmonela nos sorvetes. Estes resultados estão de acordo com legislação brasileira, RDC n º12 (BRASIL, 2001).

Nos quatro experimentos realizados os resultados não apresentaram diferenças estatísticas entre eles (P>0,05) (Figura 1). Em média, as contagens foram de 6,78; 7,13; 7,14; 6,32 log UFC/g para 0, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento, respectivamente. Apesar das contagens no tempo inicial serem numericamente mais baixas que após 14 dias de armazenamento, estas não foram estatisticamente significativas. Somente após 21 dias de armazenamento foi observado uma queda de 1 ciclo logarítmico na contagem do *L. casei*, o qual apresentou diferença estatisticamente significativa. Os resultados encontrados são semelhantes aos observados por outros autores para sorvetes probióticos (VASILJEVIC & SHAH, 2008; ANDRIGHETTO & GOMES, 2003).

Para se obter o máximo benefício dos probióticos é necessário que os mesmos estejam viáveis e disponíveis em concentrações superiores a 10^6 UFC/g (SHAH, 2000). No Brasil, a agência nacional de vigilância sanitária (BRASIL 2002) sugere que os produtos contendo probióticos para o consumo devem possuir no mínimo 10^6ufc/g. Os sorvetes analisados neste trabalho apresentaram a concentração mínima exigida pela legislação brasileira para ser considerado probiótico.

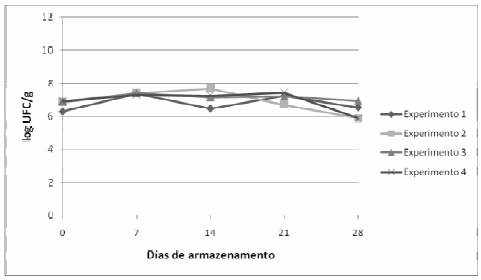

Figura 1 – Viabilidade do *L.casei* durante 28 dias de armazenamento.

A viabilidade de probiótico numa matriz alimentícia depende de muitos fatores, como o tipo de cultura que será adicionada ao produto, interação com outros microrganismos existentes no alimento, produção de peróxido de hidrogênio durante o metabolismo bacteriano e acidez final do produto (VASILJEVIC & SHAH, 2008).

Segundo Andrighetto e Gomes (2003), o sorvete adicionado de *Lactobacillus acidophilus* pode ser armazenado durante 60 dias, a -25ºC, sem ter suas características sensoriais e microbiológicas alteradas e apresentando contagem de 8,3 x 10^7UFC/g. Kebery et al. (1998) demonstraram que *o Bifidobacterium ssp* conseguiu alta sobrevivência em *frozen yogurts* adicionados de alginatos. Shah e Ravula (2000) reportaram que a sobrevivência de bactérias em sorvetes pode ser otimizada utilizando processos de encapsulação. De acordo com a *Homayouni* et al (2008) com a utilização de processos de encapsulação de *Lactobacillus casei* foi observada uma sobrevivência de 10^8 a 10^9 UFC/g no final da vida de prateleira do sorvete.

De acordo com Cruz et al (2009) os sorvetes são produtos alimentícios que vem demonstrando grande potencial de ser utilizados como culturas probióticas, com uma vantagem de ser um produto de alta aceitabilidade em todas as faixas etárias.

4 CONCLUSÕES

O sorvete mostrou ser um bom veículo para a adição de microrganismo probiótico, especificamente *o L. casei*. O L. casei se manteve viável durante a vida de prateleira, podendo o sorvete ser considerado um produto funcional durante 28 dias de armazenamento.

SUMMARY

Probiotics have gained a considerable importance in our diet because of their beneficial effect to the human welfare and health. The present work had as objective to analyze the viability of the probiotic microorganism *Lactobacillus casei* in homemade ice cream. The viability was evaluated at 0, 7, 14, 21 and 28 days after the ice cream processing through counts in MRS medium. The *L. casei* was viable during all the ice cream shelf-life, with an average count ranging from 6,32 to 7,14 log UFC.g^{-1}. A reduction of one logarithmic cycle occurred after 21 days of storage. The ice cream showed to be a good food for probiotic addition, presenting a good viability of these microorganisms during the 28 days of frozen storage.

Index terms: shelf-life, probiotic, dairy products.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRIGHETTO, C.; GOMES, M.I.F.V. Produção de picolés utilizando leite acidófilo. *Brazilian Jounal of Food Technolology*, v.6, n.2, p. 267-271, 2003.

BADARÓ, A.C.L.; GUTTIERRES, A.P.M.; REZENDE, A.C.V.; STRINGHETA, P.C. Alimentos probióticos: aplicações como promotores da saúde humana, parte 1. *NUTRIR GERAIS- Revista Digital de Nutrição,*. v.3, p.5-7, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução- RDC n°

12, de 02 de janeiro de 2001: regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 2, de 7 de janeiro de 2002: Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde.

BURITI, F. C. A.; ROCHA, J. S.; ASSIS, E. G.; SAAD, S. M. I. Probiotic potential of Minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. *LWT – Food Science and Technoology*, v.38, p.173-180, 2005.

BURITI, F.C.A.; CARDARELLI, H.R.; SAAD, S.M.I. Textura instrumental e avaliação sensorial de queijo fresco cremoso simbiótico: implicações da adição de *Lactobacillus paracasei* e inulina. *Revista Brasileira de Ciência Farmacêutica*, v.44, p.75-84, 2008.

CRUZ, AG.; ANTUNES, A.E.C.; SOUSA, A.L.O.P.; FARIA,; J.A.F.; SAAD, S.M.I. Ice-cream as a probiotic food Carrier. *Food Research International,* v.42, p.1233-1238, 2009.

DAVE, R.I., SHAH, N.P. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. *Journal Dairy Scince,* v.81, p.2804-2816, 1998.

FERREIRA, C. L. L. F. Prebióticos e Probióticos: *Atualização e prospeção*. Viçosa, MG, 206p, 2003.

FULLER, R. Probiotics – The scientific basis – University Press, Cambridge –Great Britain. Chapman & Hall, 1992, cap 13, p. 355-376. *Probiotics for humans* –GOLDIN, B. R. e GORBACH, S. L.

GOLDIN, B. R. Health benefits of probiotics. *Bristish Journal of Nutrition*,v.80, sup.2., p. 203 –207,1998.

HARAMI, J.B. Desenvolvimento de cereal em barra com gelado comestível simbiótico. São Paulo:USP, 2008.132p. Dissertação (Mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquimica Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2008.

HEKMAT, S.; MCMAHON, D.J. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. *Journal Dairy Science,* v.75, n.6, p.1415-1422, 1992.

HOMAYOUNI, A.;AZIZI, A.; EHSANI, M.R.; YARMAND- M.S.; RAZAVI, S.H. Growth and survival of some probiotic strains in simulated ice cream conditions. *Journal of Applied Science,* v.8, n.2, p.379-382, 2008.

KAILASAPATHY, K.; SULTANA, K. Survival and B-D-galactosidase activity of encapsulated and free *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in ice-cream. *The Australian Journal Dairy Technolology*,v.58, p.223-227, 2003.

KEBARY, K. M.K.; HUSSEIN, S.A.; BADAWI, R. M. Improving viability of bifidobacterium and their effect on frozen ice milk. *Egyptian Journal of Dairy Science*, v.26, p.319-337, 1998.

MADLEY, R, Probiotics, prebiotics & simbiotics: harnessing enourmous potential, *Nutritional World*, v. 4, n. 9, p. 50 –76, 2001.

MIGUEL, D.P.; ROSSI, E.A. Viabilidade de bactérias ácido láticas em sorvetes de iogurte durante o período de estocagem. *Alimentos e Nutrição*, v.14, p.93-96, 2003.

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas,* v. 42, p.53-69, 2006.

SHAH, N.P. Probiotic Bacteria: Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods. Journal of Dairy Science, v.83, p. 894-907, 2000.

SHAH, N.P. Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal,* v.17, n.11, p.1262-1277. nov. 2007.

SHAH, N.P., RAVULA, R.R. Microencapsulation of probiotic bacteria and their survival in frozen fermented dairy desserts. *Australian Journal Dairy Tecnolology*, v.55, p.139-144, 2000.

STANTON, C.; ROSS, R.P.; FITZGERALD, G.F.; VAN SINDEREN, D**.** Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Current Opinion in Biotechnology*, v.16, n.196-203, 2005.

STATSOFT, INC. *STATISTICA for Windows* [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc. 2000.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N.P. Probiotics – From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, v.18, n.7, p.714–728, 2008.