

PÓ PROBIÓTICO COM *LACTOBACILLUS CASEI* CULTIVADO EM LEITE E EM ISOLADO PROTEICO DE SORO DE LEITE PARA APLICAÇÃO EM BIOFILMES

Débora Alexandra Barbosa (Bolsista FUNADESP/UNOPAR), e-mail: deby.abarbosa@hotmail.com. Nilton Sérgio Hernandes Filho (Colaborador), e-mail: niltonf_hernandes@hotmail.com. Aline Rezende Bueno (Bolsista FUNADESP/UNOPAR), e-mail: a.rezendebueno@gmail.com. Giselle Nobre Costa (Orientadora), e-mail: gcnobre@gmail.com.

Universidade Norte do Paraná (UNOPAR) | Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados

Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos – Subárea: Microbiologia de Alimentos.

Introdução

O soro de leite é um produto de importância relevante na indústria de laticínios. O soro contém aproximadamente 20% das proteínas do leite, grande quantidade do carboidrato, com um total de cerca de 50% de todos os nutrientes presentes normalmente no leite (JELEN, 1979).

Dentre os derivados do soro, o isolado protéico de soro (IPS) contém acima de 80 % de proteínas e tem sido muito utilizado em pesquisas científicas devido às qualidades nutricionais e funções ou atividades fisiológicas. As proteínas do soro de leite são relacionadas à proteção passiva contra infecções; modulação dos processos digestivos e metabólicos; e ação como fatores de crescimento para diferentes tipos de células, tecidos e órgãos, além de possuírem atividade antimicrobiana e antiviral (SGARBIERI, 2004; HARAGUCHI, *et al.*, 2006).

Adicionalmente, o uso de suplementos microbianos aumenta de maneira significativa os benefícios dos alimentos em termos da nutrição e de saúde. As culturas probióticas podem também contribuir para melhorar o sabor e segurança do produto final (GOMES; e MALCATA, 2006).

Os probióticos são usados na prevenção e tratamento de doenças. Estudos demonstram que os probióticos atuam na regulação da microbiota intestinal, como imunomoduladoras por melhorarem a produção de macrófagos e estimular a produção de células supressoras, e na inibição da carcinogênese. Além destes benefícios, os probióticos trazem outros diversos benefícios (OLIVEIRA *et al.*, 2002; COPPOLA; TURNES, 2004; GOMES; MALCATA, 2006).

A indústria de alimentos tem voltado sua atenção à oferta de produtos que satisfaçam as necessidades de um consumidor cada vez mais exigente por produtos que contenham características benéficas à saúde, que sejam práticos quanto ao consumo e que atendam também às expectativas sensoriais. Por outro lado, a busca de novas alternativas viáveis para aplicação de sub-produtos como o soro de leite e seus derivados, que já é uma realidade neste cenário, tem sido alvo de frequentes pesquisas.

Este trabalho teve como objetivo multiplicar *Lactobacillus casei* Lc1 em leite desnatado reconstituído ou isolado proteico de soro de leite, liofilizar o fermentado e avaliar sua viabilidade. Posteriormente, pó probiótico será incorporado em um biofilme que poderá ser utilizado como embalagem bioativa.

Material e Métodos

Microrganismo

Foi utilizado o *Lactobacillus casei* Lc1 (C. Hansen). Foram avaliadas 4 diferentes formulações para cultivo do LC1 (1: 10% (p/v) leite em pó desnatado reconstituído (LDR); 2: 5% LDR + 5% Sacarose; 3: 5% LDR + 5% IPS e 4: 5% LDR + 2,5% Sacarose + 2,5% IPS) esterilizadas e inoculadas com 0,5% (p/v) da cultura *L. casei*.

Para contagem do probiótico, foi utilizado plaqueamento “pour plate” com Agar MRS (de Man Rogosa and Sharpe). A viabilidade do microrganismo nos meios de fermentação foi determinada após 6 horas de cultivo.

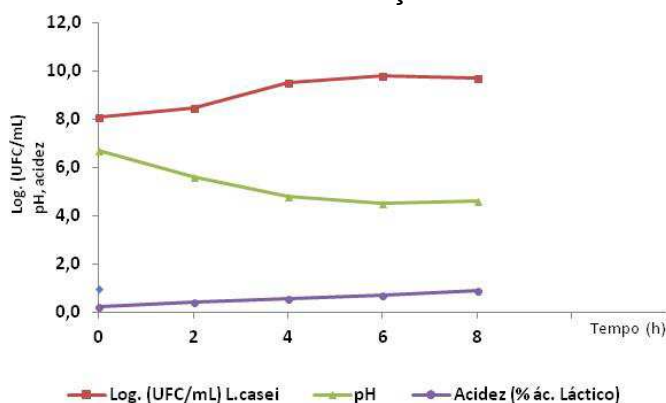
Fermentação e obtenção de Pós Probióticos

Os cultivos foram congelados e liofilizados, mantidos e posteriormente triturados com uso de pistilo e graal. Os pós foram mantidos sob refrigeração (5°C) e a viabilidade do *L. casei* nos pós probióticos foram avaliadas semanalmente em até 60 dias após obtido, bem como a acidez e o pH.

Resultados e Discussão

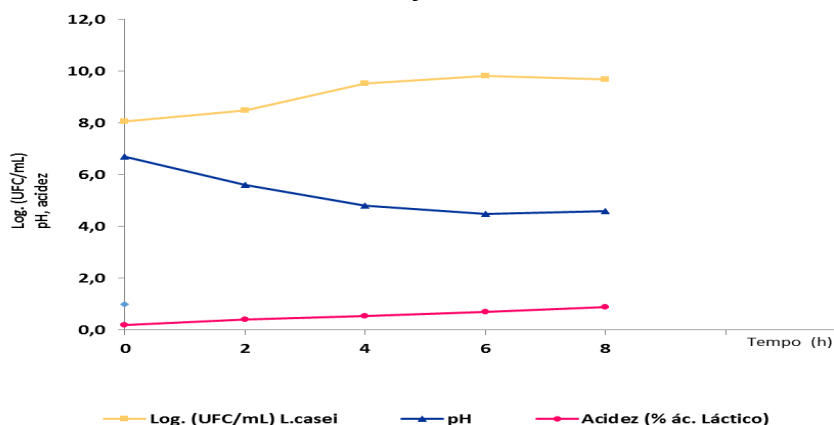
As formulações 1 e 2 após 6 horas de cultivos apresentam contagem média de $6,5 \times 10^9$ UFC/mL e $3,8 \times 10^9$ UFC/mL respectivamente, com acidez titulável de 0,21 a 0,55% de ácido láctico e 0,12 a 0,51% ao final de 6 horas nas formulações. Nas formulações 3 e 4 em cuja composição há IPS, ocorre geleificação devido à temperatura de esterilização e redução do pH ocasionado pelo metabolismo do microrganismo. Após 3 horas de cultivo a formação de gel compacto inviabiliza a continuidade do experimento, isso ocorre devido à propriedades tecnológicas das proteínas do soro de leite formarem géis nestas condições. Observou-se que o microrganismo consome a lactose bem como a mistura lactose+sacarose, ambos os meios foram adequados para um rápido crescimento com manutenção no meio de cultivo em quantidade superior ao exigido pela legislação para esta linhagem (BRASIL, 2008; GUERGOLETTO *et al.*, 2010).

Gráfico 1: Cinética formulação 1.



Fonte: Dados da pesquisa.

Gráfico 2: Cinética formulação 2.



Fonte: Dados da pesquisa.

Nos cultivos 3 e 4 embora, se tenha viabilidade do *L. casei* superior à $2,5 \times 10^8$ UFC/g com 4 horas de cultivo, a formação de gel muito firme não permite a liofilização da formulação. Desta forma estas formulações foram utilizadas para obtenção direta de biofilmes probióticos. A geleificação ocasionada pela desnaturação proteica por aquecimento e redução do pH é uma propriedade influenciada pela acidificação que pode alterar a distribuição de cargas entre as cadeias proteicas aumentando sua interação (GOSSETT; et al. 1984). Também, a temperatura utilizada para esterilização dos meios certamente ocasionou a desnaturação das proteínas e conseqüentemente formação de géis cuja firmeza aumentou com a maior concentração no meio (MANGINO, et al., 1987; MORR; HÁ, 1993).

As formulações 1 e 2 foram utilizadas para multiplicação do LC1 liofilizado. A viabilidade do probiótico nestas formulações está se mantendo constante e superior $2,0 \times 10^7$ UFC/g produto mesmo após 60 dias de preparo dos pós.

Conclusão

O *Lactobacillus casei* Lc1 se manteve viável em contagem média de $2,0 \times 10^7$ UFC/g dos pós mesmo após 60 dias armazenado. Já nas formulações contendo IPS, há viabilidade superior à $2,0 \times 10^8$ UFC/g nos meios geleificados. A alta viabilidade pode tanto nos pós probiótico quanto nos meios geleificados podem facilitar a utilização do LC1 em bases somente de IPS caracterizando-as como IPS probiótico, o que possibilita sua aplicação como biofilme probiótico ou como base probiótica para formulação de outros produtos nos quais o IPS e probióticos sejam ingredientes.

Agradecimentos

À Funadep pela concessão da bolsa de iniciação científica à ARB e DAB.

Referências

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 278, de 22 de setembro de 2005, atualizada em Julho de 2008. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. Disponível em:

<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 25 mar. 2016.

CAMARGO, D.S. *et al.* Bebida fermentada a base de soro de leite e isolado protéico de soja. *Semina: Ciências Agrárias*, v.15, n.1, p.45-51, 2000.

COPPOLA, M.M; TURNES, C.G. Probióticos e resposta imune. *Ciência Rural*, v.34, n.4, p.1297-1303, 2004.

FELICORI, A.F. *et al.* Efeito da adição de concentrado proteico de soro de leite nas propriedades tecnológicas de extrudados expandidos (snacks). In: SIMPOSIUM OF FOOD EXTRUSATION, 2., 2010.

GOMES, A.M.P.; MALCATA, F.X. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos e aplicações tecnológicas. *BOLETIM DE BIOTECNOLOGIA*, 2006. Disponível em: <http://sklpharma.com.br/pdf/est_agen_pro_alim_20061002.pdf>.

GOSSETT, P.W.; RIZVI, S.S.H.; BAKER, R.C. Quantitative analysis of gelation in egg protein systems. *Food Technology*, v.38, n.5, p.67-96, 1984.

GUERGOLETTO, K.B. *et al.* Survival of *Lactobacillus casei* (LC-1) adhered to prebiotic vegetal. *Innovative Food Scie. Emerging Technol.*, v.11, n.2, p.415-421, 2010.

HARAGUCHI, F.K.; ABREU, W.C.; PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. *Rev. Nutr.*, v.19, n.4, p.479-488, 2006.

JELLEN, P. Industrial whey processing technology: an overview. *J. Agric. Food Chem.*, v.27, n.4, p.658-661, 1979.

OLIVEIRA, M.N. *et al.* Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. *Rev. Bras. Ciênc. Farm.*, v.38, n.1, 2002.

PAGNO, C.H. *et al.* Obtenção de concentrados protéicos de soro de leite e caracterização de suas propriedades funcionais tecnológicas. *Aliment. Nutr. Araraquara*, v.20, n.2, p.231-239, 2009.

SGARBIERI, V.C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. *Rev. Nutr.*, v.17, n.4, p.397-409, 2004.