

# DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE IOGURTE ADICIONADO DE GELEIADA DA CASCA DE JABUTICABA E DE CULTURA PROBIÓTICA.

Luma Rossi Ribeiro

Thamires Gonçalves Matias

Eliane Maurício Furtado Martins

Maurilio Lopes Martins ✉

Aurélia Dornelas de Oliveira Martins

Flávio Bittencourt

Renata Cristina de Almeida B. Campos

Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais, Rio Pomba – MG.

✉ maurilio.martins@ifsudestemg.edu.br

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar iogurte adicionado de gelejada de casca de jabuticaba e de *Lactobacilos acidophilus* LA-3 e analisar suas características microbiológicas e físico-químicas. Inicialmente, preparou-se gelejada com o resíduo do processamento de jabuticaba. Em seguida, o iogurte foi processado, adicionado de 5% de gelejada e dividido em dois tratamentos: iogurte adicionado de *L. acidophilus* LA-3 e controle, sem adição da cultura. Realizou-se análises de pH, acidez titulável, sólidos solúveis, coliformes a 30°C e a 45°C e de fungos filamentosos e leveduras nas amostras de gelejada. As amostras de iogurte foram submetidas às análises de pH, acidez titulável, extrato seco total, umidade, gordura, cinzas, proteína, além da contagem de bactérias lácticas, fungos filamentosos e leveduras e coliformes a 30°C e a 45°C. Verificou-se

resultados médios de 2,38 para pH, 1,166 para acidez (% ácido cítrico) e 67,33 °Brix para sólidos solúveis nas amostras de gelejadas. Por outro lado, as amostras de iogurte do tratamento controle diferenciaram daquelas adicionadas de cultura probiótica ( $p < 0,05$ ) em relação a pH, acidez, extrato seco e umidade. Os teores de cinzas e gordura não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos ao longo do tempo. Constatou-se  $< 3,0$  NMP/g de coliformes a 30°C e a 45°C em ambos os tratamentos e  $< 1,0 \times 10^1$  UFC/g estimado para fungos filamentosos e leveduras para gelejada e para iogurte. As contagens de *L. acidophilus* LA-3 e de *L. bulgaricus* no iogurte foram acima de  $10^8$  UFC/g logo após a produção, enquanto após 30 dias a 5°C observou-se contagens acima de  $10^7$  UFC/g. *Streptococcus thermophilus* manteve-se acima  $10^9$  UFC/g durante a estocagem. Portanto, o iogurte contendo

gelejada de casca de jabuticaba pode ser utilizado como substrato potencial para *L. acidophilus* LA-3 e para as culturas lácticas uma vez que estas se mantiveram com elevada viabilidade celular durante a vida de prateleira. O produto elaborado pode ser considerado de dupla funcionalidade por unir as características das culturas a da casca de jabuticaba.

**Palavras-chave:** Alimento funcional. Probiótico. *Lactobacilos acidophilus* LA-3.

## ABSTRACT

The objective of this study was to develop and characterize yogurt added of jelly of jabuticaba peel and of *Lactobacillus acidophilus* LA-3, and determine its microbiological and physical-chemical characteristics. Initially, there was prepared jelly with processing waste jabuticaba.

Then, the processed yogurt was added of 5% jabuticaba peel jelly and divided into two treatments: *L. acidophilus* yogurt added, and control without addition of this culture. The analyses of pH, acidity (% citric acid), soluble solids, coliforms at 30 °C and 45 °C, and molds and yeasts were made to the jelly samples. For yoghurt, pH, titratable acidity (% lactic acid and citric acid), total soluble solids, moisture, fat, protein and ash, as well as count of lactic acid bacteria, molds and yeasts, and coliforms at 30 °C and 45 °C were determined. For jelly, it was found average results of pH equal 2.38, 1.166 to acidity (% citric acid) and 67.33 °Brix to soluble solids. On the other hand the yogurt samples of control treatment differed from those added of probiotic culture ( $p < 0,05$ ) in relation to pH, acidity, solids and moisture. For analyzes of ash and fat it was not found significant difference between treatments over time. It was observed  $< 3.0$  MPN/g of coliforms at 30 °C and 45 °C in both treatments and  $< 1.0 \times 10^1$  CFU/g estimated of molds and yeasts in jelly and yogurt samples. *L. acidophilus* LA-3 and starter cultures of *Lactobacillus bulgaricus* were above  $10^8$  CFU/g after yogurt production, while after 30 days at 5 °C it was observed counts above  $10^7$  CFU/g. *Streptococcus thermophilus* remained above  $10^9$  CFU/g during storage. Therefore, yogurt containing the jelly may be used as a potential substrate for *L. acidophilus* LA-3 and for lactic cultures, since these cultures were maintained at high cell viability during shelf life. The product produced may be considered of dual functionality for combining the characteristics of the cultures and the jabuticaba peel.

**Keywords:** Functional food. Probiotic. *L. acidophilus* LA-3.

## INTRODUÇÃO

Uma tendência mundial em atender ao mercado consumidor com alimentos saudáveis, próximos ao natural e práticos vem desafiando a indústria de alimentos. O iogurte se enquadra neste contexto, pois trata-se de um alimento funcional rico em proteínas, ácido fólico, vitaminas A e do complexo B e sais minerais, cujo consumo traz diversos benefícios para a saúde (CHANDAN et al., 2006). É produzido a partir da fermentação do leite pasteurizado com adição de bactérias lácticas tradicionais, como *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* (BRASIL, 2007).

Buscando ainda o conceito de saudabilidade, o consumo regular de frutas e legumes mostra-se positivo na redução da incidência de doenças crônicas. As frutas possuem altos níveis de compostos bioativos, os quais fornecem valores nutricionais, além de trazerem benefícios à saúde (RUFINO et al., 2011).

Dentre os compostos bioativos, os antioxidantes naturais têm atraído grande atenção por exercerem efeito protetor em relação aos radicais livres liberados nos processos oxidativos do organismo (WOLFE; LIU, 2007). Rufino et al. (2011) demonstraram que a jabuticaba possui apreciável potencial antioxidante. Trata-se de uma fruta tipicamente brasileira, de coloração predominantemente roxo escuro, quase preta. Além de ser consumida fresca, a jabuticaba, principalmente a casca, apresenta potencial como matéria-prima para produção de geleias, sucos, licores e fermentados (ASQUIERI et al., 2009; DESSIMONIPINTO et al., 2011).

Os probióticos se enquadram na categoria de alimentos funcionais. Tratam-se de micro-organismos viáveis, que conferem benefícios à

saúde do hospedeiro quando administrados em quantidades adequadas (FAO/OMS, 2001). São responsáveis pela estabilização da microbiota intestinal após o uso de antibióticos, promoção da resistência gastrointestinal à colonização por patógenos, competição por nutrientes; competição por sítios de adesão; promoção da digestão da lactose em indivíduos intolerantes a esse carboidrato; estimulação do sistema imune; alívio da constipação e aumento da absorção de certos nutrientes, como proteínas, minerais e ácidos graxos de cadeia curta (SAAD; BEDANI; MAMIZUKA, 2011).

Este estudo objetivou elaborar iogurte enriquecido com geleia de casca de jabuticaba e contendo a bactéria probiótica *L. acidophilus* LA-3.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos nas dependências do Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais, campus Rio Pomba. A pesquisa concentrou-se em duas formulações: F1 - iogurte enriquecido com geleia de casca de jabuticaba, adicionado de cultura probiótica de *L. acidophilus* LA-3 e F2 - controle (sem a adição de *L. acidophilus* LA-3). Foram realizadas análises microbiológicas, incluindo viabilidade do probiótico e caracterização físico-química dos produtos desenvolvidos.

Para a elaboração da geleia de casca de jabuticaba, os frutos foram sanitizados em solução clorada a 200mg/L, sendo utilizadas as cascas e parte do suco da fruta, que foram adicionados de 50% de açúcar (p/p). Os ingredientes foram concentrados até 68°Brix e ao final do processo, adicionou-se 0,1% de ácido cítrico.

O iogurte foi processado a partir de leite integral adicionado de 8% de açúcar, submetido ao tratamento térmico a 90°C por 5 minutos e resfriado a temperatura de 40 - 42°C, quando

foi inoculado com 3% de fermento para iogurte (Chr. Hansen®) e com cultura probiótica de *L. acidophilus* LA-3 (SACO BRASIL) para a formulação F1. Após incubação a 45°C até acidez de 0,65%, a massa foi resfriada a, aproximadamente, 20°C, quebrada por agitação e adicionada de 5% de geleia de casca de jabuticaba. O produto desenvolvido foi estocado sob refrigeração a 5°C por 30 dias.

Para a avaliação físico-química da geleia, foram realizadas análises de pH, acidez total titulável (% ácido cítrico) e de sólidos solúveis totais (°Brix) de acordo com Zenebon; Pascuet (2004). Para o iogurte foram realizadas análises de pH, acidez titulável (% de ácido láctico e % ácido cítrico), sólidos

totais, proteína, umidade e gordura conforme metodologia proposta pela Instrução Normativa nº 68 (BRASIL, 2006) logo após o processamento e após 15 e 30 dias de fabricação.

A geleia e iogurte foram submetidos às análises microbiológicas de coliformes a 30° e a 45°C, além de fungos filamentosos e leveduras (BRASIL, 2003). O iogurte foi ainda caracterizado em relação à contagem de bactérias lácticas viáveis em ágar Man Rogosa Sharpe (MRS) e em ágar M17, que permite o crescimento de *Streptococcus thermophilus* (HALL; LEDENBACH; FLOWERS, 2001).

A análise estatística baseou-se no modelo de delineamento inteiramente casualizado com 3

repetições, com tratamentos em estrutura fatorial 2x3, sendo um fator qualitativo (iogurte controle e iogurte contendo *L. acidophilus* LA-3) e outro quantitativo (três tempos: 0, 15 e 30 dias) para as análises microbiológicas e físico-químicas. Os dados foram submetidos à análise de variância com o auxílio do pacote ExDes do programa R (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2011).

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados médios da avaliação físico-química da geleia da casca de jabuticaba após o processamento foram: pH de 2,38, acidez em % de ácido cítrico de 1,166% e 67,33 °Brix. Dessimoni-Pinto et al. (2011), em trabalho com diferentes

**Tabela 1** - Resultados médios de pH, acidez (% ácido cítrico e láctico), extrato seco total, cinzas, umidade e gordura das amostras de iogurte ao longo do tempo.

Tratamento	Tempo 0 hora	Tempo 15 dias	Tempo 30 dias
	pH		
Controle	4,30 aA	3,74 aB	3,32 aC
Contendo <i>L. acidophilus</i>	4,06 bA	3,40 bB	3,12 bC
Acidez (% ácido láctico)			
Controle	0,69 aA	0,75 aB	0,88 aC
Contendo <i>L. acidophilus</i>	0,79 bA	0,86 bB	0,98 bC
Acidez (% ácido cítrico)			
Controle	0,49 aA	0,53 aA	0,62 aB
Contendo <i>L. acidophilus</i>	0,56 bA	0,61 bA	0,70 bB
Extrato seco total			
Controle	20,66 aA	20,67 aA	21,65 aB
Contendo <i>L. acidophilus</i>	20,74 aA	21,17 aA	22,21 aB
Cinzas			
Controle	0,67 aA	0,56 aB	0,53 aB
Contendo <i>L. acidophilus</i>	0,66 aA	0,59 aB	0,54 aC
Umidade			
Controle	79,34 aA	79,33 aA	78,35 aB
Contendo <i>L. acidophilus</i>	79,26 aA	79,00 aA	77,79 aB
Gordura			
Controle	2,27 aA	2,23 aA	2,20 aA
Contendo <i>L. acidophilus</i>	2,27 aA	2,23 aA	2,20 aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna para um mesmo parâmetro e maiúscula na linha para um mesmo tratamento não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $p > 0,05$ ).

concentrações de casca e polpa de jabuticaba para elaboração de geleia, encontraram valores de acidez titulável em % de ácido cítrico entre 1,67 e 1,98. Além das diferenças nas proporções dos ingredientes, a discrepância nos valores de acidez titulável pode ser explicada pela possível diferença no estágio de maturação dos frutos (LEMOS et al., 2013). O teor de sólidos solúveis da gelejada se aproximou do ideal recomendado para geleia que é de 67 °Brix (FILGUEIRAS et al., 1985).

Os resultados das análises de pH e acidez em % de ácido láctico e de ácido cítrico das formulações de iogurte nos tempos 0, 15 e 30 dias de armazenamento podem ser observados na Tabela 1. Verificou-se diferença significativa entre os tratamentos quanto ao pH ( $p < 0,05$ ), sendo que o tratamento contendo *L. acidophilus* LA-3 apresentou valores menores ( $p < 0,05$ ).

Constatou-se que o tempo foi significativo para os parâmetros pH e acidez total titulável (% ácido cítrico

e láctico), sendo verificado que o pH reduziu, enquanto a acidez aumentou ao longo do tempo, ambos explicáveis pela síntese de ácidos durante a fermentação e ao longo do tempo da estocagem.

Foi objetivo de estudo de Espírito Santo et al. (2012), iogurte probiótico adicionado de *L. acidophilus* L10 e *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis*: BL04, HN019 e B94 contendo fibra de maçã, de banana e de maracujá. Os autores observaram uma redução do pH inicial de todos os tratamentos ao longo dos 21 dias avaliados. Já para acidez (% ácido láctico), verificou-se aumento ao longo do tempo, semelhante ao verificado neste estudo.

Constatou-se para os resultados de extrato seco total e umidade, diferença entre os tempos avaliados ( $p < 0,05$ ), porém os tratamentos foram estatisticamente iguais ( $p > 0,05$ ) (Tabela 1). Para o extrato seco total verificou-se um aumento, enquanto a umidade reduziu ao longo do tempo. A explicação para tal ocorrência

pode ser atribuída ao armazenamento dos produtos em embalagens que permitiram a interação com a baixa umidade relativa do ar fazendo com que o produto perdesse umidade para o meio, e, conseqüentemente, aumentasse os percentuais de extrato seco total durante o armazenamento refrigerado.

Espirito Santo et al. (2012), ao estudar iogurte probiótico adicionado de *L. acidophilus* e de estirpes de *B. animalis* subsp. *lactis*, encontraram resultados de cinzas para a amostra contendo fibra de maçã, banana e maracujá de  $0,72\% \pm 0,01$ ,  $0,81\% \pm 0,01$  e  $0,74\% \pm 0,01$ , respectivamente. Para umidade, os autores constataram  $85,68\% \pm 0,61$ ,  $85,47\% \pm 0,59$  e  $85,27\% \pm 0,47$  nas amostras de iogurte contendo fibra de maçã, banana e maracujá, respectivamente.

Não foi verificada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tempos e tratamentos para análise de gordura (Tabela 1), sendo que o iogurte desenvolvido deve ser considerado semidesnatado, de acordo com

Figura 1 - Viabilidade de *L. acidophilus* LA-3 e *L. bulgaricus* em iogurte contendo casca de jabuticaba ( $p > 0,05$ ).

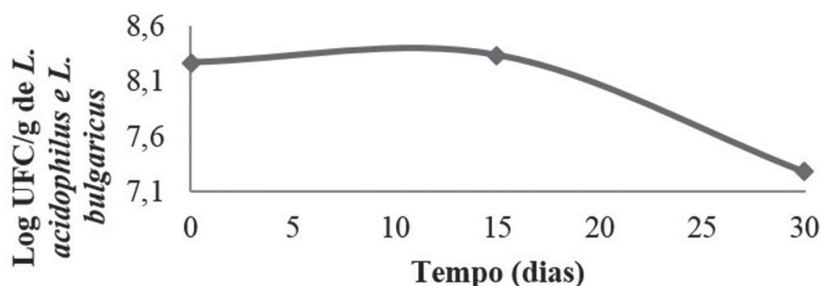
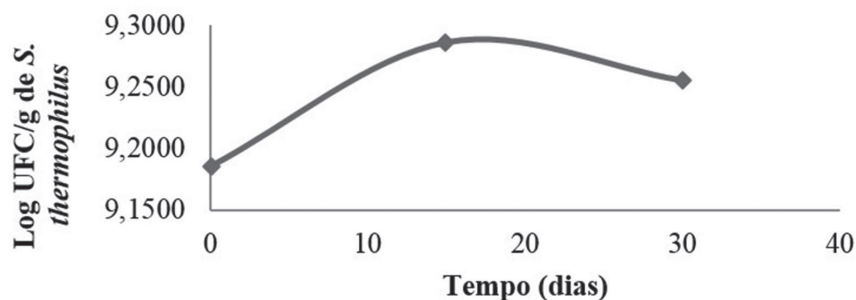


Figura 2 - Viabilidade de *Streptococcus thermophilus* em iogurte adicionado de casca de jabuticaba ( $p>0,05$ ).



a classificação fornecida pela Instrução Normativa nº 46 (BRASIL, 2007). Os resultados médios das análises de proteína também atenderam ao valor mínimo estabelecido por Brasil (2007) que é de 2,9%.

Constatou-se como resultado para coliformes a 35 e a 45°C, na geleia-da de casca de jabuticaba e nas formulações de iogurte valores de <math>3,0</math> NMP/g e para a contagem de fungos filamentosos e leveduras <math>1,0 \times 10^1</math> UFC/g estimado, estando estes valores de acordo com o estabelecido na legislação vigente (BRASIL, 2001), demonstrando que tanto a gelejada, quanto o iogurte foram processados sob condições higienicossanitárias adequadas.

Verificou-se que as contagens da cultura probiótica de *L. acidophilus* LA-3 e da cultura láctica de *L. bulgaricus* no iogurte foram acima de  $10^8$  UFC/g logo após a produção, enquanto após 30 dias de armazenamento a 5°C observou-se contagens

acima de  $10^7$  UFC/g (Figura 1).

Os resultados de viabilidade são desejáveis, uma vez que para ser considerado probiótico, o alimento deve veicular acima de  $10^7$  UFC/g de bactérias probióticas. Assim, o consumo de 100 gramas desse iogurte no tempo 30 dias oferece ao consumidor uma população acima de  $10^9$  UFC/g, quantidade suficiente de bactérias para promover benefícios ao organismo hospedeiro (SAAD, 2006). Pimentel et al. (2012) encontraram contagens superiores a  $10^7$  UFC/g de *Lactobacillus paracasei* em iogurte após 28 dias de armazenamento.

Após 30 dias de estocagem a viabilidade de *S. thermophilus* foi de 9,26 log UFC/g (Figura 2).

Isler; Gigante (2011) verificaram que a adição de probiótico em iogurte não afetou a viabilidade de *L. bulgaricus* e de *S. thermophilus*, os quais apresentaram contagens de  $6,3 \times 10^8$  e  $7,8 \times 10^8$  UFC/g, respectivamente, após 30 dias de armazenamento,

resultados estes acima do mínimo,  $10^7$  UFC/g, de bactérias lácticas totais exigido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados da Instrução Normativa nº 46 (BRASIL, 2007).

## CONCLUSÃO

A adição de *L. acidophilus* LA-3 em iogurte mostrou resultados satisfatórios uma vez que após 30 dias de armazenamento obteve-se contagens acima de  $10^7$  UFC/g para o produto contendo *L. acidophilus* LA-3 e *L. bulgaricus*, sendo possível afirmar que esse produto é um bom veículo para carrear culturas probióticas. Além disso, acredita-se que esse iogurte possa ser um novo produto funcional, uma vez que agrega as funcionalidades do micro-organismo probiótico das culturas lácticas às da casca de jabuticaba. Além disso, o produto pode ser consumido por um público de ampla faixa etária.

## REFERÊNCIAS

- ASQUIERI, ER; SILVA, AGM; CÂNDIDO, MA. Aguardente de jaboticaba obtida da casca e borra da fabricação de fermentado de jaboticaba. **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas, v.29, n.4, p. 896-904, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa n.º62, de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **DOU**, Brasília, 18 set., 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa n.º68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos, em conformidade com o anexo desta instrução normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **DOU**, Brasília, 14 dez., 2006. Seção I.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.º46, de 23 de outubro de 2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **DOU**, Brasília, 24 out., 2007. Seção I.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n.º12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **DOU**, Brasília, 10 jan 2001, Seção 1, p. 45-53.
- CHANDAN, RC; WHITE, CH; KILARA, A; HUI, YH. **Manufacturing Yogurt and Fermented Milks**. London: Blackwell Publishing Ltd., 2006. 364 p.
- DESSIMONI-PINTO, NAV; MOREIRA, WA; CARDOSO LM; PANTOJA, LA. Jaboticaba peel for jelly preparation: an alternative technology. **Ciênc Tecnol Aliment**, v.31, p.864-869, 2011.
- ESPÍRITO-SANTO, AP; CARTOLANO, NS; SILVA, TF; SOARES, FASM; GIOIELLI, L A; PEREGO, P; CONVERTI, A; OLIVEIRA, MN. Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts. **International Journal of Food Microbiology**, v.154, p.135-144, 2012.
- FERREIRA, EB; CAVALCANTI, PP; NOGUEIRA, DA. Experimental Designs: um pacote R para análise de experimentos. **Rev de Estatística da UFOP**, v.1, p.1-9, 2011.
- FILGUEIRAS, HAC; CARDOSO, MP; LOPEZ, RLT. **Fabricação de geléias**. Belo Horizonte: CETEC, 1985. 42 p.
- FAO/WHO - Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. (2001). **Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria**. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Córdoba, Argentina.
- HALL, PA; LEDENBACH, L; FLOWERS, RS. Acid-Producing Microorganisms. DOWNES, FP; ITO, K. (Ed.). **In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4.ed. Washington, DC: American Public Health Association - APHA, p.201-207, 2001.
- ISLER, FV; GIGANTE, ML. Produção e caracterização físico-química e microbiológica de iogurte firme probiótico adicionado de *Lactobacillus acidophilus* LA-5. In: Congresso Interno de Iniciação Científica, XIX, 2011, Campinas. **Anais....** XIX Congresso interno de iniciação científica, Campinas, Unicamp, 2011. Disponível em: <<http://www.prp.rei.unicamp.br/pibic/congressos/xixcongresso/resumos/081435.pdf>>. Acesso em: 10/11/2014.
- LEMONS, DM; FIGUEIREDO, RMF; QUEIROZ, AJM; SILVA, SF; LIMA, JCB. Avaliação físico-química de um blend de laranja tangor Ortanique e beterraba. **Rev Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.7, p.207-211, 2013.
- PIMENTEL, PT; GARCIA, S; PRUDÊNCIO, SH. Probiotic yoghurt with inulin-type fructans of different degrees of polymerization: physicochemical and microbiological characteristics and storage stability. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, p.1059-1070, 2012.
- RUFINO, MSM; ALVES, RE; FERNANDES, FAN; BRITO, ES. Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts. **Food Research International**, v.44, p.2072-2075, 2011.
- SAAD, SMI. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Rev Bras Ciênc Farmacêuticas**, v.42, p.1-16, 2006.
- SAAD, SMI; BEDANI, R; MAMIZUKA, EM. Benefícios à Saúde dos Probióticos e Prebióticos. In: SAAD, SMI; CRUZ, AG; FARIA, JAF. (Eds.). **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Varela, 2011. Cap. 2, p.51-84.
- WOLFE, KL; LIU, RH. Cellular antioxidant activity (CAA) assay for assessing antioxidant, foods, and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.8896-8907, 2007.
- ZENEBO, O; PASCUET, NS. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2004.