

## PRODUÇÃO DE IOGURTE PROBIÓTICO ADICIONADO DE MICROALGA *Spirulina platensis*

**Tamires Zuleica Folle, Emilia Maccari, Milene Armigliatto, Taiana França, Telma Elita Bertolin, Camila Pez Formighieri, Christian Oliveira Reinehr, Luciane Maria Colla\***

*Laboratório de Fermentações, Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade de Passo Fundo*

*\*Email: lmcolla@upf.br*

### RESUMO

Os probióticos são microrganismos viáveis que apresentam efeito benéfico sobre a saúde do hospedeiro após a ingestão, podendo ser usados em produtos como iogurtes e leites fermentados. A microalga *Spirulina platensis*, devido a sua composição química, pode ser utilizada no desenvolvimento de produtos com apelos de funcionalidade. Objetivou-se desenvolver um iogurte com adição de microrganismos probióticos (*Lactobacillus acidophilus*) e da microalga *Spirulina platensis*, estudando-se a cinética da fermentação, a influência da adição da microalga na aceitabilidade sensorial do iogurte e a viabilidade celular do probiótico ao longo de sua vida de prateleira. A microalga *Spirulina* e o uso do *L. acidophilus* influenciaram a cinética da fermentação, aumentando o tempo necessário para a ocorrência da acidificação. O iogurte fermentado com as culturas tradicionais e adicionado posteriormente de *L. acidophilus* e *Spirulina* apresentou maior aceitação sensorial na concentração de 0,125 % de *Spirulina*. A contagem de bactérias probióticas está de acordo com os valores estabelecidos pela legislação vigente, porém durante o armazenamento houve diminuição da viabilidade celular.

Palavras-chave: iogurte probiótico, *Spirulina*, viabilidade celular.

### 1 INTRODUÇÃO

Os iogurtes e leites fermentados são produtos resultantes da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado, por fermentos lácticos próprios, cuja fermentação se realiza com cultivos protosimbióticos de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* (FIGUEIREDO; PORTO, 2002)

Os probióticos são microrganismos viáveis (bactérias lácticas, leveduras liofilizadas ou fermentadas) que exibem efeito nutricional, fisiológico e antimicrobiano benéficos à saúde do hospedeiro. Podem ser agregados como suplementos na dieta, devendo resistir às condições adversas do estômago e colonizar o intestino, aderindo-se ao epitélio intestinal, mesmo que temporariamente.

A utilização da microalga *Spirulina* no desenvolvimento de produtos alimentícios justifica-se devido à funcionalidade destes produtos, uma vez que esta apresenta altas concentrações de proteínas (em média 65% do peso seco da microalga), ácidos graxos poliinsaturados, vitaminas, pigmentos tais como a clorofila-a, carotenóides (pró-vitamina A e antioxidante em sistemas alimentícios e biológicos), xantofilas e a ficocianina (antioxidante), além de enzimas. A ausência de celulose na parede celular torna a *Spirulina* facilmente digerível, pois não exige tratamento químico ou físico para romper a parede celular.

A adição de *Spirulina* a um leite fermentado probiótico pode contribuir para um incremento na sobrevivência das bactérias lácteas, pela adição de compostos extracelulares, principalmente os polissacarídeos, desta microalga.

A produção de leite fermentado de elevada qualidade contendo células viáveis de microrganismos probióticos tem sido um desafio para a indústria alimentar, pois tratam-se de microrganismos que se multiplicam muito lentamente naquele meio líquido, implicando em fermentações longas e invariavelmente exigência de anaerobiose (como consequência das necessidades de potencial redox baixo na fase inicial de crescimento e da adição de fatores de crescimento) (GOMES; MALCATA, 2001).

Objetivou-se desenvolver um iogurte com apelos de funcionalidade devido à adição de microrganismos probióticos (*Lactobacillus acidophilus*) e da microalga *Spirulina*, estudando-se a cinética da fermentação, o desenvolvimento da formulação do iogurte e a viabilidade celular do probiótico ao longo de sua vida de prateleira.

## **2 DESENVOLVIMENTO**

### **2.1 Material e métodos**

#### **2.1.1 Determinação da cinética da fermentação**

A cinética da fermentação foi estudada objetivando-se avaliar a influência da microalga *Spirulina* e do microrganismo probiótico sobre a acidificação do leite e tempo de fermentação, sendo realizados os seguintes experimentos: a) Fermentação direta com *Lactobacillus acidophilus* em experimentos com e sem *Spirulina platensis*; b) Fermentação com culturas tradicionais (*Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*) e adição do *Lactobacillus acidophilus* e da *Spirulina platensis* ao final da fermentação.

As determinações de pH e acidez titulável foram realizadas a fim de caracterizar a cinética do processo, sendo retiradas alíquotas do meio de fermentação a cada 30 min, até a caracterização do ponto final de fermentação, em pH em torno de 4,5.

### **2.1.2 Influência da concentração da microalga *Spirulina* na preferência e aceitação sensorial**

O iogurte foi preparado com leite comercial pasteurizado, adicionado dos estabilizantes LAC 8127-3 (amido modificado e estabilizantes gelatina e pectina cítrica) na concentração de 0,25 % e LAC 8172-4 (amido modificado, estabilizante gelatina e estabilizante goma guar) na concentração de 0,5 %, ambos fornecidos pela empresa Globalfood. A mistura foi aquecida a 90 °C e imediatamente resfriada a 42 °C.

A inoculação foi realizada com os microrganismos *L. bulgaricus* e *S. termophilus* presentes na cultura comercial Delvo-Yog, CY-340 DSL (desenvolvida pela empresa DSM Food Specialties e distribuída pela empresa Globalfood), na dosagem recomendada de 1 U ( $10^9$  microrganismos) para cada 1000 L de leite. A incubação foi realizada a 42°C em estufa até o pH atingir valor entre 4,5 e 4,6. Ao final da fermentação, foi realizado o resfriamento a 4°C em refrigerador, e adicionado, na dosagem recomendada, o microrganismo probiótico *L. acidophilus*, presente na cultura comercial Delvo ProLafiti L10 DSL, desenvolvida pela DSM Food Specialties e distribuída pela Globalfood. Adicionou-se também açúcar na proporção de 10 %, saborizante sabor coco ou morango, na proporção de 5 %, aromatizante na proporção de 0,1 % e a microalga *Spirulina platensis* em forma de pó, nas concentrações de 0 % (formulação 1), 0,125 % (formulação 2) e 0,25 % (formulação 3). Uma formulação sem a adição de *Spirulina* foi utilizada como controle. As formulações foram submetidas aos testes sensoriais de Ordenação da Preferência e Aceitabilidade, segundo FERREIRA et al. (2000).

### 2.1.3 Avaliação da viabilidade celular

As amostras de leites fermentados adicionadas de 0,125 % de *Spirulina* foram utilizadas para a determinação da influência da microalga sobre a viabilidade das bactérias lácticas probióticas durante o período de refrigeração. O leite fermentado foi armazenado a 4 °C durante 45 dias, sendo realizadas as análises nos tempos 0 d, 15 d, 30 d e 45 d.

A viabilidade celular foi determinada através da técnica de semeadura em profundidade, utilizando meio ágar M-MRS, específico para a contagem de *L. acidophilus*. As placas foram incubadas a 37 °C, por 72 h, em aerobiose, sendo o resultado expresso em UFC/mL.

## 2.2 Resultados e discussão

### 2.2.1 Cinética da fermentação

O processo de fermentação realizado com o microrganismo probiótico *L. acidophilus* levou cerca de 8 h para atingir valores de pH próximos aos indicados na legislação, que são de 4,5 a 4,6, sendo os pHs finais dos experimentos com e sem a microalga *Spirulina* de 4,93 e 4,5. Observou-se que a utilização de 0,5 % de *Spirulina platensis* tornou lento o processo fermentativo do leite com a cultura probiótica *Lactobacillus acidophilus*. Além disso, uma fermentação realizada com microrganismos probióticos torna-se inviável industrialmente devido ao seu elevado tempo de processo.

### 2.2.2 Análise sensorial

A Tabela 1 apresenta os resultados do teste de ordenação da preferência para as amostras de iogurte probiótico adicionado de *Spirulina*. As amostras A (sabor coco e 0,125 % de *Spirulina*), B (Sabor coco e 0,25 % de *Spirulina*) e D (sabor morango e 0,25 % de *Spirulina*) são estatisticamente iguais ( $p > 0,05$ ), assim como as amostras C (sabor morango e 0,125 % de *Spirulina*) e D (sabor morango e 0,25 % de *Spirulina*). A amostra D (sabor morango e 0,25 % de *Spirulina*) apresentou igual preferência que as amostras de menor pontuação, produzidas no sabor coco. A partir do resultado deste teste, todas as amostras

deveriam ter sido utilizadas no teste de aceitabilidade sensorial, porém optou-se por utilizar somente as amostras sabor morango, por este sabor ser o mais vendido comercialmente.

A Tabela 2 apresenta o resultado da comparação de médias das notas de aceitação sensorial a 5 % de significância para os iogurtes probióticos desenvolvidos no sabor morango e adicionados ou não da microalga *Spirulina*.

Tabela 1: Diferenças significativas entre a preferência das amostras segundo o teste de ordenação da preferência

	Amostra A	Amostra B	Amostra C	Amostra D
Soma das ordens	47 <sup>a</sup>	50 <sup>a</sup>	77 <sup>b</sup>	56 <sup>a,b</sup>

Amostra A – Sabor coco e 0,125 % de *Spirulina*; Amostra B – Sabor coco e 0,25 % de *Spirulina*; Amostra C – Sabor morango e 0,125 % de *Spirulina*; Amostra D – Sabor morango e 0,25 % de *Spirulina*

As amostras que obtiveram maior índice de aceitabilidade foram A e C, que apresentaram, respectivamente, 90 % e 93 % dos seus julgamentos indicando a aceitabilidade. A amostra B apresentou índice inferior, ou seja, 67 % dos julgadores atribuíram notas de que representam a aceitabilidade da mesma.

Tabela 2: Comparação de médias (teste de Tukey) das notas de aceitação sensorial a 5 % de significância para os iogurtes probióticos desenvolvidos no sabor morango e adicionados ou não da microalga *Spirulina*

Amostra	A	B	C
A	-	0,022838	0,402561
B	0,022838	-	0,000492
C	0,402561	0,000492	-

Amostra A – Sabor morango e 0,125 % de *Spirulina*; Amostra B – Sabor morango e 0,25 % de *Spirulina*;  
 Amostra C – Amostra controle, sabor morango sem a adição de *Spirulina*

Desta forma, verificou-se que as amostras C (amostra controle, sem a adição da microalga *Spirulina*) e A (com *Spirulina* na concentração 0,125 %) foram igualmente aceitas pelos julgadores, o que demonstra que a adição da microalga não interferiu na aceitabilidade da amostra. Já a amostra B (com *Spirulina* na concentração 0,25 %) apresentou diferença significativa quando comparadas às demais.

### 2.2.3 Viabilidade Celular

Os valores médios (UFC/mL) das contagens de bactérias lácticas probióticas de *L. acidophilus* do iogurte com adição de *Spirulina platensis*, durante o período de armazenamento a 4 °C (0 d, 15 d, 30 d e 45 d) foram de  $5,37 \times 10^6$  UFC/mL,  $5,83 \times 10^5$  UFC/mL,  $3,96 \times 10^5$  UFC/mL e  $3,58 \times 10^5$  UFC/mL, respectivamente.

No tempo inicial de refrigeração a quantidade de bactérias lácticas presentes no iogurte foi suficiente para caracterizar o iogurte como probiótico ( $10^6$  UFC/mL). Os valores verificados para contagem de bactérias probióticas estão de acordo com os valores estabelecidos pela legislação vigente, porém durante o armazenamento a viabilidade das bactérias diminuiu com a acidificação do meio.

A adição da microalga *Spirulina* não influenciou benéficamente a concentração de bactérias lácticas durante o período de armazenamento refrigerado devido a baixa concentração utilizada (0,125 %), visto que em trabalhos anteriormente realizados adicionando-se 0,5 % da mesma, houve influência benéfica sobre a sobrevivência de bactérias lácticas (PEREZ et al., 2007).

## 3 CONCLUSÃO

A fermentação do leite com o microrganismo *L. acidophilus* apresentou-se superior à fermentação com as culturas lácteas tradicionais, além disso, a caracterização da cinética do processo fermentativo demonstrou que a adição da microalga *Spirulina platensis* aumenta ainda mais o tempo de fermentação do leite fermentado, não sendo afetada pela concentração de microalga adicionada, desta forma, a adição da cultura probiótica e da microalga *Spirulina platensis* deve ocorrer após o término do processo fermentativo.

As contagens de bactérias lácticas revelaram que até o 15º dia as formulações desenvolvidas atendem à legislação vigente quanto à quantidade de bactérias lácticas presentes no iogurte para que o mesmo seja caracterizado como probiótico, porém durante armazenagem refrigerada o número de células viáveis de *L. acidophilus* é inferior aos valores estabelecidos pela legislação brasileira.

O teste sensorial de ordenação da preferência demonstrou que entre as formulações de morango e coco, apresentadas com diferentes concentrações de *Spirulina platensis*, as do sabor morango foram as preferidas pelos julgadores. Já o teste de aceitação definiu que a

concentração ideal de *Spirulina* a ser adicionada à formulação é de 0,125 %, para que a mesma seja aceita pelos consumidores.

## REFERÊNCIAS

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL. **Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados**, Resolução Nº 5, 13 de novembro de 2000. Disponível em: [www.agricultura.gov.br/sislegis](http://www.agricultura.gov.br/sislegis). Acesso em 01.12.2008.

FERREIRA, V. L. et al. **Análise sensorial-Testes discriminativos e afetivos**. 1 ed. São Paulo, SBCTA, 2000.

FIQUEIREDO, G. M.; PORTO, E. **Avaliação do Impacto da Qualidade da Matéria-Prima no processamento Industrial do Iogurte Natural**. Como fazer melhor, 2002.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas. **Biotecnologia Alimentar**, 2001.

PEREZ, K. J.; GUARIENTI, C.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Viabilidade de bactérias lácticas em iogurte adicionado de biomassa da microalga *Spirulina platensis* durante o armazenamento refrigerado. **Alim. Nutr.**, v.18, n.1, p.77-82, 2007.

SILVA, C. A. et al. Estudo da Produção de Cultura Mista de *Spirulina platensis* e *Spirulina maxima* em Batelada. **Simpósio Nacional de Bioprocessos**, p. 1-6, 2007.