

INOVAÇÃO E CRIATIVIDADE NO DESENVOLVIMENTO DE ALIMENTOS PROBIÓTICOS



O desenvolvimento de novos produtos alimentícios torna-se cada vez mais desafiador, à medida que procura atender à demanda dos consumidores por produtos que sejam saudáveis e atrativos.

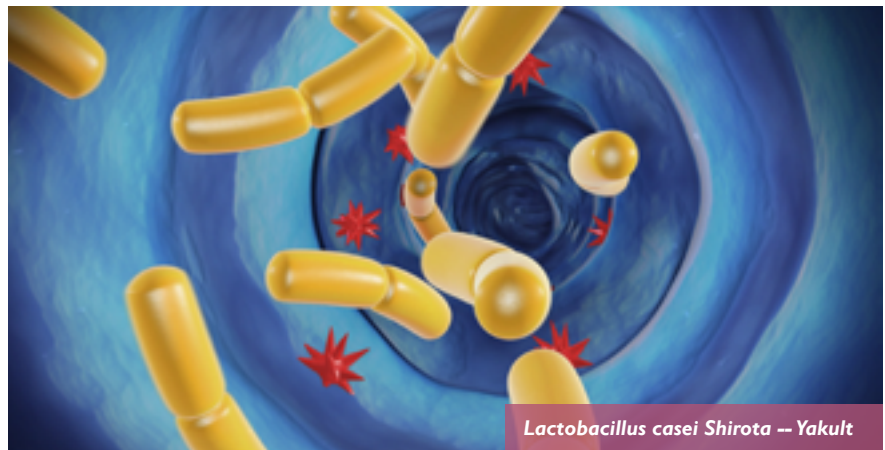
Os probióticos tem sido uma opção para quem busca no alimento um ato prazeroso e que ao mesmo tempo visa a saúde e o bem-estar.

OS PROBIÓTICOS

O termo probiótico é de origem grega e significa “para a vida”. Os probióticos eram classicamente definidos como “suplementos alimentares à base de microorganismos vivos que afetam beneficemente o animal hospedeiro, promovendo o balanço de sua microbiota intestinal”. Diversas outras definições de probióticos já foram publicadas, entretanto, a definição atualmente aceita internacionalmente é que “são microorganismos vivos, administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro”. De acordo com a Legislação Brasileira, probiótico é definido como um “suplemento alimentar microbiano vivo que afeta de maneira benéfica o organismo pela melhora no seu balanço microbiano”. Já o consumidor em geral conhece mais os probióticos não pelas suas definições científicas, mas como parte de alimentos, segundo a definição dada pela EU *Expert Group on Functional Foods in Europe* (FUFOSE), que os descreve como sendo “preparações viáveis em alimentos ou suplementos dietéticos que melhoram a saúde de humanos e animais”.

A influência benéfica dos probióticos na microbiota intestinal humana inclui fatores como efeitos antagônicos e efeitos imunológicos, resultando em um aumento da resistência contra patógenos. Assim, a utilização de culturas bacterianas probióticas estimula a multiplicação de bactérias benéficas, em detrimento à proliferação de bactérias potencialmente prejudiciais, reforçando os mecanismos naturais de defesa do hospedeiro.

Vários microorganismos são usados como probióticos, entre eles bactérias ácido-lácticas, bactérias não ácido-lácticas e leveduras. As bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e, em menor escala, *Enterococcus faecium*, são mais frequentemente empregadas como suplementos probióticos para alimentos, uma vez que têm sido isoladas de todas as porções do trato gastrointestinal do humano saudável. O íleo terminal e o cólon parecem ser, respectivamente, o local de preferência para



Lactobacillus casei Shirota -- Yakult

colonização intestinal dos lactobacilos e bifidobactérias.

Dentre as bactérias pertencentes ao gênero *Bifidobacterium*, destacam-se a *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. lactis*, *B. animalis*, *B. longum* e *B. thermophilum*. Dentre as bactérias lácticas pertencentes ao gênero *Lactobacillus*, destacam-se a *Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*, *Lb. casei* - subsp. *paracasei* e subsp. *tolerans*, *Lb. paracasei*, *Lb. fermentum*, *Lb. reuteri*, *Lb. johnsonii*, *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus* e *Lb. Salivarius*.

O *Lactobacillus* foi isolado pela primeira vez a partir das fezes de lactentes amamentados ao peito materno, recebendo o nome de *Bacillus acidophilus*. Estes microorganismos são geralmente caracterizados como gram-positivos, incapazes de formar esporos, despro-

vidos de flagelos, possuindo forma bacilar ou cocobacilar, e aerotolerantes ou anaeróbios. O gênero compreende, atualmente, 56 espécies oficialmente reconhecidas. As mais utilizadas para fins de aditivo dietético são *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* e *L. casei*.

Já as bifidobactérias foram isoladas pela primeira vez no final do século XIX, sendo, em geral, caracterizadas por serem microorganismos gram-positivos, não formadores de esporos, desprovidos de flagelos, catálise negativos e anaeróbios. Atualmente, o gênero *Bifidobacterium* inclui 30 espécies, sendo que 10 delas são de origem humana, 17 de origem animal, duas de águas residuais e uma de leite fermentado.

A Tabela 1 apresenta os microorganismos com propriedades probióticas.

TABELA 1 - MICROORGANISMOS COM PROPRIEDADES PROBIÓTICAS

LACTOBACILLUS	BIFIDOBACTERIUM	OUTRAS BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS	BACTÉRIAS NÃO ÁCIDO LÁCTICAS
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus cereus</i> var. <i>Toyol</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i> cepa <i>nissie</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propionibacterim freudenreichii</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. Delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgarius</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. lactis</i>		<i>Sporolactobacillus inulinus</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. longum</i>		
<i>L. johnsonii</i>			
<i>L. paracasei</i>			
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			



Lactobacillus acidophilus casei

São vários os efeitos benéficos atribuídos aos probióticos, entre os quais se destacam o efeito trópico na mucosa intestinal, hipocolesterolêmico, anticarcinogênico, tratamento e prevenção da diarreia e melhora da digestão da lactose.

As leveduras contêm quantidades variáveis de poliaminas (espermidina e espermina), que são necessárias para a sua divisão celular, sínteses de DNA e de proteínas.

Estas seriam responsáveis pelos efeitos trópicos na mucosa do intestino delgado com aumento da atividade das dissacaríases, do conteúdo de DNA na mucosa, da concentração celular de imunoglobulinas poliméricas, de IgA secretora, além do aumento do componente secretor de IgA nas células das vilosidades e criptas.

Alguns probióticos podem exercer efeitos hipocolesterolêmicos, contribuindo para a diminuição do colesterol sanguíneo de três maneiras distintas: utilizando o colesterol no intestino e reduzindo a sua absorção; aumentando a excreção de sais biliares e produzindo ácidos graxos voláteis no cólon, os quais podem ser absorvidos e interferir no metabolismo dos lipídios no fígado. O efeito hipocolesterolêmico é, provavelmente, exercido pela inibição da enzima 3-hidroxi 3-metilglutaril (HMG) CoA redutase, que é uma enzima taxalimitante que catalisa o passo principal na biossíntese do colesterol endógeno.

Quanto ao efeito anticarcinogênico, vários mecanismos de atuação são sugeridos, incluindo o estímulo

da resposta imune do hospedeiro, a ligação e a degradação de compostos com potencial carcinogênico, alterações qualitativas e/ou quantitativas na microbiota intestinal envolvidas na produção de carcinógenos e de promotores, produção de compostos antitumorígenos ou antimutagênicos no cólon, alteração da atividade metabólica da microbiota intestinal, alteração das condições físico-químicas do cólon e efeitos sobre a fisiologia do hospedeiro.

As bifidobactérias que colonizam o cólon, em detrimento dos enteropatógenos, podem ligar-se ao carcinógeno final, promovendo sua remoção através das fezes. A redução do risco de câncer também é atribuída aos probióticos. Este efeito benéfico pode ser devido ao fato de que culturas de ácido láctico podem alterar a atividade de enzimas fecais, as quais estão envolvidas no desenvolvimento do câncer de cólon. Com o desequilíbrio na flora intestinal, as bactérias patogênicas, exógenas e endógenas podem se desenvolver.

A atividade beta-glicuronidase deste tipo de flora

pode aumentar, resultando na liberação de substâncias potencialmente carcinogênicas.

Isto também ocorre com algumas enzimas envolvidas no metabolismo do nitrogênio, que podem resultar na degradação do triptofano, indol, nitratos e aminas secundárias, para derivativos com potencial carcinogênico.

Os efeitos dos probióticos na diarreia aguda incluem a produção de substâncias antibacteriana (bacteriocinas, lactocinas, bifidinas), produção de ácidos graxos que acidificam o lúmen intestinal, inibindo bactérias e mantendo o bom funcionamento da mucosa intestinal, diminuição da permeabilidade intestinal, ação competitiva e imunomodulação com aumento de IgA, regulação de citosinas e da resposta imune. Segundo alguns estudos, a diarreia provocada por antibioticoterapia pode ser prevenida com a ingestão de probióticos contendo *Bifidobacterium longum* e, ainda, em associação e culturas probióticas de *Bifidobacterium longum* e *Saccharomyces boulardii*. Na síndrome do intestino irritável, o uso de *Lactobacillus acidophilus* e bifidobactérias mostrou-se eficiente para diminuir o tempo de diarreia.

A boa digestibilidade da lactose no iogurte é atribuída pelos pesquisadores a três hipóteses, que incluem a estimulação da atividade da lactase da mucosa intestinal; o tempo de trânsito intestinal reduzido para o iogurte quando comparado com o leite; e devido a ação da beta-galactosidase, que aumenta a



Bifidobacterium

digestão da lactose e, assim, reduz os sintomas da intolerância.

Estas funções são atribuídas a algumas bactérias probióticas, principalmente a *Lactobacillus acidophilus*.

A utilização de probióticos é recomendada a qualquer pessoa que queira favorecer o equilíbrio da microbiota intestinal. Os níveis de uso devem ser suficientemente elevados para se obter o impacto desejado. Em ecologia microbiana, considera-se que um microorganismo influi no ecossistema onde ele se encontra, somente quando a sua população for igual ou superior a 107 unidades formadoras de colônias/g ou ml (UFC/g ou UFC/ml) do conteúdo. Portanto, a concentração em células vivas viáveis do probiótico deve ser ajustada na preparação inicial, levando-se em consideração a capacidade de sobrevivência do microorganismo, sem se multiplicar no tubo digestivo, e o efeito de diluição intestinal, de maneira a atingir, no mínimo, 107 UFC/g do conteúdo intestinal.

Assim, para a obtenção dos efeitos desejados, as bactérias probióticas devem estar presentes em quantidades adequadas nos produtos; porém, este número não está, ainda, bem estabelecido. Em geral, dependendo da cepa utilizada e do efeito benéfico desejado, um consumo de bactérias probióticas entre 108 e 1011 UFC/dia é recomendado. Sugere-se que a concentração de bactérias probióticas seja de 106 UFC/g de produto.

Uma dose diária recomendada é de duas vezes ao dia de 1010 *Lactobacillus* GG; cada dose corresponde, em alimentos comercializados, a aproximadamente 80ml de leite fermentado.

OS ALIMENTOS PROBIÓTICOS

Os efeitos benéficos de determinados tipos de alimentos sobre a saúde já são conhecidos há muito tempo.

Os diferentes probióticos são estudados e comercializados na forma de preparações contendo um único ou uma combinação de microorganismos. O probiótico deve se apresentar viável na preparação e manter essa viabilidade



de no ecossistema digestivo, condição indispensável para a sua atuação. Os probióticos são comercializados na forma de preparações farmacêuticas, em cápsulas ou sachês, ou naturais, como leite fermentado ou iogurtes. Quando comercializados em cápsulas ou sachês, a liofilização do produto permite manter a viabilidade durante longo período de armazenamento na temperatura ambiente.

O grande uso das bactérias do gênero *Lactobacillus* em alimentos, decorre dos resultados de seu comportamento nos mesmos, como capacidade de fermentar açúcares, formando ácido láctico abundantemente; capacidade termodúrica, tornando-a resistente a tratamentos térmicos mais baixos; alta elaboração de ácido láctico, eliminando de seus substratos microorganismos competitivos; capacidade de formar substância voláteis, alterando valores sensoriais de determinados alimentos; e incapacidade de sintetizar a maioria das vitaminas exigidas, impedindo seu crescimento em meios carentes desses nutrientes reguladores.

Atualmente, os alimentos probióticos disponíveis no mercado incluem sobremesas à base de leite, leite fermentado, leite em pó, sorvete, iogurte e diversos tipos de queijo, além de produtos na forma de cápsulas ou produtos em pó para serem dissolvidos em bebidas frias, sucos fortificados, alimentos de origem vegetal fermentados e maioneses.

PRODUTOS LÁCTEOS PROBIÓTICOS

Uma cultura starter pode ser definida como “uma preparação microbiana contendo um grande número de células de pelo menos um microorganismo a ser adicionado à matéria-prima para produzir um produto alimentício fermentado”. O grupo das bactérias lácticas ocupa um papel central nessa técnica, acelerando e conduzindo o processo fermentativo. A adição direta de culturas selecionadas tem representado um avanço na elaboração de produtos fermentados, resultando em um alto grau de controle sobre o processo fermentativo e de padronização do produto final.

O metabolismo de bactérias lácticas e a interação entre as cepas selecionadas em leites fermentados e iogurtes são responsáveis pela produção de ácido láctico, levando à coagulação das proteínas do leite e à produção de diversos compostos. Variáveis como a temperatura, o pH, a presença de oxigênio e a composição do leite, contribuem para as características peculiares de um produto específico. De acordo com a temperatura e o tempo de fermentação, são formados diferentes produtos metabólicos. A temperatura de fermentação afeta, primariamente, a multiplicação bacteriana e, conseqüentemente, a estrutura e o sabor do produto.

A conversão de lactose em ácido láctico é resultante da multiplicação

das culturas no leite. Essa ocorre geralmente em velocidade muito lenta, não garantindo o pH adequado em um tempo considerado relativamente curto para a obtenção de certos derivados. Esse fato é observado particularmente para a obtenção de leites fermentados e queijos, produtos que necessitam de leite com pH adequado para que ocorra a coagulação. Durante a elaboração de leites fermentados, o efeito do pH sobre a coagulação é direto (ao atingir pH 4,3 a 4,5), enquanto na produção de queijos esse efeito é indireto, atuando em conjunto com a temperatura na promoção da atividade enzimática do coagulante.

Alternativamente, as culturas starter convencionais podem ser substituídas ou associadas a culturas probióticas. A ação dos probióticos nas fermentações durante a elaboração de produtos lácteos pode resultar na conservação do leite, resultante da produção de ácido láctico e, possivelmente, de outros compostos antimicrobianos; na produção de compostos aromáticos (como o acetaldeído em iogurte e queijo) e outros metabólitos (como os polissacarídeos extracelulares), os quais irão suprir o produto com as propriedades sensoriais desejadas pelo consumidor; na melhoria do valor nutricional do produto alimentício através, por exemplo, da liberação de aminoácidos livres ou da síntese de vitaminas; e no fornecimento de propriedades terapêuticas ou profiláticas. Entretanto, é importante salientar que as três primeiras características mencionadas estão relacionadas também à presença das culturas starter e que as culturas probióticas podem ou não desenvolver tais características.

As bactérias probióticas utilizadas na produção em escala indus-

trial e de processamento devem ser apropriadas para cada tipo de produto e manter-se com boa viabilidade durante o armazenamento. Esses pré-requisitos representam desafios tecnológicos significativos, uma vez que muitas bactérias probióticas são sensíveis à exposição a oxigênio, calor e ácidos. Consequentemente, em alimentos fermentados, o pH tende a ser bastante reduzido e o desempenho desses microorganismos é baixo. Por esse motivo, os produtos com menor vida de prateleira, como iogurte e leites fermentados, são os mais comumente utilizados como veículos de probióticos, apesar de já existirem produtos probióticos com maior vida de prateleira, como o queijo tipo Cheddar.

Uma excelente alternativa para aumentar a multiplicação de um probiótico é a adição de outra espécie probiótica em co-cultura. Entretanto, deve-se verificar a compatibilidade entre as culturas a serem empregadas.

As possíveis interações entre as espécies empregadas para a produção de alimentos fermentados devem ser levadas em consideração para selecionar a combinação capaz de oferecer o melhor resultado no processo tecnológico e garantir a viabilidade das células durante o armazenamento refrigerado. Entretanto, é importante salientar que o controle da proporção das diferentes cepas pode ser complicado e que a interação entre elas pode ser influenciada pelo meio. Consequentemente, a combinação de diferentes cepas probióticas e/ou starter deve ser testada especificamente para o produto a ser usado como veículo para aquele conjunto de cepas, bem como a proporção entre elas durante todas as etapas, desde a sua elaboração até o final de seu armazenamento.

LEITE, IOGURTES E LEITES FERMENTADOS

O iogurte é um produto elaborado com culturas ativas de bactérias lácticas que fermentam o creme e/ou o leite, metabolizando parte da lactose presente em ácido láctico. Durante esse processo, que normalmente ocorre em um tempo inferior a quatro a cinco horas de incubação em temperaturas de 40°C a 44°C, o leite líquido tem a sua consistência alterada, em virtude da coagulação de suas proteínas. A redução de pH a 5,1 a 5,2, resultante da produção de ácido láctico durante a fermentação, causa a desestabilização das micelas de caseína e a coagulação completa ocorre a um pH de 4,6. Quando o pH desejado é atingido, o leite coagulado é resfriado rapidamente, para que a fermentação seja praticamente interrompida.

Diferentemente do leite fermentado, o iogurte é produzido com a utilização de cepas de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e de *Streptococcus thermophilus*. Essas bactérias utilizam o leite como nicho ecológico. Além disso, existe uma relação simbiótica entre esses dois microorganismos, na qual cada um deles estimula a multiplicação do outro. Assim, a *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* libera aminoácidos e peptídeos das proteínas do leite, o que possibilita a multiplicação da *S. thermophilus* nos primeiros estágios da fermentação. A *S. thermophilus*, por sua vez, produz ácido fórmico, o qual estimula a multiplicação de *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, diminuindo o tempo de fermentação e conferindo ao produto características peculiares.

Apesar de não sobreviverem às condições do trato gastrointestinal em concentrações compatíveis para exercerem efeitos probióticos *in vivo*, existe uma grande discussão atualmente sobre o caráter probiótico dos microorganismos do iogurte, uma vez que o *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e o *S. thermophilus*



melhoram a digestão de lactose e eliminam sintomas de intolerância a esse dissacarídeo. Pesquisas concluíram que, tanto no caso das culturas probióticas quanto das culturas starter, as características probióticas e a resistência às barreiras biológicas são variáveis para diferentes espécies e mesmo para diferentes cepas de uma mesma espécie. Quando ambos os grupos são utilizados em conjunto o valor probiótico do produto alimentício deve levar em conta a possível contribuição das cepas starter de bactérias lácticas envolvidas.

Alguns produtos à base de iogurte foram reformulados para incluir, além das culturas convencionais de iogurte, culturas de *L. acidophilus* e de *Bifidobacterium spp.* (conhecidas como culturas AB). Esses produtos passaram a ser denominados de bioiogurtes. Durante o seu processo de elaboração, as culturas probióticas podem ser adicionadas antes da fermentação, em conjunto com as culturas convencionais do iogurte, ou após a fermentação. Entretanto, cada condição de cultivo deve ser previamente testada, uma vez que cada cepa probiótica tem um comportamento peculiar em uma situação específica.

Nos últimos dez anos, período em que os produtos suplementados com culturas probióticas passaram a assumir um papel de importância no universo científico, muita pesquisa com probióticos tem sido voltada para leites fermentados e iogurtes, sendo estes os produtos probióticos que predominam no comércio mundial. Entretanto, é importante salientar que diversos fatores podem prejudicar a multiplicação das bactérias probióticas durante a elaboração desses produtos, bem como a sobrevivência desses microorganismos durante o período de armazenamento.

Os principais fatores a serem considerados durante a fabricação de leites fermentados e iogurtes probióticos, incluem a composição do meio de fermentação e a quantidade de oxigênio dissolvido. Assim, a adição de hidrolisados protéicos de caseína ou de soro, extrato de levedura, glicose, vitaminas



e minerais pode estimular a multiplicação e a sobrevivência das culturas probióticas e desenvolver a textura dos produtos. A adição de proteínas resulta, também, no aumento da capacidade tamponante do leite fermentado e pode retardar a queda de pH e impedir modificações desse parâmetro durante o armazenamento do produto, permitindo, assim, maior sobrevivência das cepas probióticas.

O leite fermentado probiótico pode ser definido como um leite fermentado que traz benefícios ao restabelecer um ecossistema ótimo da microbiota intestinal ou ao melhorar o balanço microbiano. A produção de leite fermentado probiótico é um grande desafio, uma vez que o leite não é um meio adequado para a multiplicação de microorganismos probióticos. Apesar de ser um meio rico do ponto de vista nutricional, o leite como meio de cultivo para as bactérias probióticas resulta em sua multiplicação lenta, em virtude, principalmente, da ausência de atividade proteolítica. A incorporação de micronutrientes, como peptídeos e aminoácidos, e de outros fatores de crescimento pode ser necessária para reduzir o tempo de fermentação e propiciar viabilidade às bactérias probióticas.

Existe, ainda, a possibilidade de uma adição complementar de bactérias do iogurte, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, para melhorar o processo de fermentação durante a fabricação de leites fermentados contendo probióticos. Pesquisadores verificaram um índice de proteólise

mais elevado em bebidas lácteas fermentadas fabricadas com a cultura mista ABY, composta de *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *Bifidobacterium* e *L. acidophilus*, em comparação às bebidas fabricadas apenas com a adição dos microorganismos tradicionais do iogurte. Segundo as pesquisas, esse aumento na proteólise do produto pode resultar em uma melhor sobrevivência dos microorganismos probióticos, decorrente da produção de aminoácidos essenciais por *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*. Por outro lado, o *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* é um microorganismo oriundo do leite que compete com os lactobacilos probióticos durante a fermentação. Além disso, durante o armazenamento sob refrigeração, o *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* produz peróxido de hidrogênio e ácido láctico, que também afetam a sobrevivência de bactérias probióticas. Outro inconveniente é a pós-acidificação do produto. Entretanto, quando a cultura starter está ausente de *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*, o tempo de fermentação é de duas a três vezes maior, já que a ação proteolítica dessa bactéria estimula a acidificação por *S. thermophilus*. Apesar do tempo de fermentação maior utilizando apenas *S. thermophilus* como cultura starter na elaboração de leites fermentados probióticos, esse microorganismo não tem sido descrito como inibitório para microorganismos probióticos e pode, inclusive, estimular a sua multiplicação, devido ao consumo de oxigênio. Para superar o problema da pós-acidificação a tendência é utilizar a cultura mista denominada ABT, a qual contém *L. acidophilus*, *bifidobactéria* e *S. thermophilus* como starter.



Em alguns casos, quando os lactobacilos não se multiplicam de maneira satisfatória, pode-se aumentar a quantidade inoculada ou fortificar o leite com aditivos capazes de promover uma melhor multiplicação. Esses aditivos incluem, entre outros, suco de tomate, hidrolisado de caseína, casitona, proteína de soro de leite, polpa de mamão e açúcares simples fermentáveis. Muitas cepas de *L. acidophilus* não conseguem se multiplicar no leite e quase não sobrevivem em produtos fermentados e, desta maneira, deve-se considerar a escolha da cepa mais adequada para cada tipo de produto.

OS QUEIJOS

Os queijos são produtos com características peculiares que conferem proteção às bactérias probióticas contra a ação do oxigênio, baixo pH e sais biliares, durante a sua passagem pelo trato gastrointestinal. Esse conjunto de características, o qual inclui, entre outros, pH próximo ao neutro, atividade de água normalmente elevada, matriz sólida e concentração relativamente elevada de gordura, leva a crer que esses produtos sejam mais adequados como veículos para os probióticos do que leites fermentados e iogurtes.

Diversos tipos de queijo foram testados como veículos para cepas probióticas de *Lactobacillus* e de *Bifidobacterium*: cheddar ou semelhante ao cheddar, cottage, Crescenza, Gouda, petit suisse, queijos frescos, incluindo o minas frescal e o queijo fresco cremoso, entre outros. Assim como ocorre com praticamente todos os outros produtos alimentícios, os principais pontos relacionados a modificações nos processos de elaboração de queijos podem sucumbir quanto à sua eficiência, qualidade, sabor, segurança, saúde e nutrição. No caso específico dos queijos elaborados com a adição de culturas probióticas, o produto deve garantir uma concentração razoável de probióticos no momento do consumo para que, ao final do trato gastrointestinal, se apresente em doses benéficas à saúde. Estudos com diferentes tipos de queijos mostraram variações em seu período máximo de armazenamento, no sentido de garantir a viabilidade das bactérias probióticas.

No Brasil, vários estudos foram realizados com queijo minas frescal, que revelaram populações de probióticos superiores a 10^6 ufc g⁻¹ durante o armazenamento refrigerado do produto por até 21 dias. O queijo mostrou-se um veículo apropriado dos seguintes probióticos testados: *L. paracasei* LBC-82, *L. acidophilus* La-5, cultura ABT - *L. acidophilus* La-5 + *B. animalis* Bb-12 + *Streptococcus thermophilus*, e *L. acidophilus* La-5 + *S. thermophilus*.

Estudos com queijos petit suisse, produzidos com massa base de queijo quark contendo o starter *S. thermophilus* e os probióticos *L. acidophilus* e *B. lactis*, também foram realizados; as populações de probióticos mantiveram-se acima de $6,40 \log$ ufc g⁻¹ para *L. acidophilus* Lac4, e de $7,30 \log$ ufc g⁻¹ para *B. animalis subsp. lactis* BL04, em diferentes formulações de queijo petit suisse contendo combinações das gomas xantana, guar, carraçena e pectina.

SOBREMESAS COM BASE LÁCTEA

O congelamento e descongelamento em produtos probióticos mantidos congelados, como o frozen yogurt e o

sorvete, causam prejuízo às células, como morte celular, inibição do desenvolvimento e redução ou interrupção da atividade metabólica. Por outro lado, diversos estudos mostram que temperaturas mais baixas podem assegurar maior taxa de sobrevivência e que a mortalidade aumenta com o tempo de armazenamento.

A baixa viabilidade de microorganismos probióticos em sobremesas fermentadas e geladas, como o frozen yogurt, deve-se, principalmente, à acidez do produto (pH <4,5), à intolerância pelo frio e à toxicidade do oxigênio, conseqüente à incorporação de ar ao produto durante a sua elaboração, para a obtenção de um overrun adequado. Com o intuito de diminuir os efeitos prejudiciais às bactérias, sugere-se a utilização da microencapsulação. A tecnologia da microencapsulação foi testada em partículas de alginato de cálcio e seu efeito sobre a viabilidade de *L. acidophilus* MJLA1 incorporado à sobremesa láctea fermentada e gelada, com bons resultados. Comparada ao produto com bactérias livres, a população do probiótico naquele com a bactéria encapsulada foi maior ao final de 12 semanas de armazenamento, com uma diminuição 2 a 3 ciclos log menor.

A atividade metabólica das bactérias do iogurte (*L. delbrueckii ssp. bulgaricus* e *S. thermophilus*) e das bactérias probióticas pode ocasionar mudanças químicas e, conseqüentemente, influenciar as características sensoriais do produto. O sabor ácido do frozen yogurt deve-se, principalmente, ao ácido láctico. O frozen yogurt revelou-se um excelente veículo para a incorporação de bactérias probióticas, sendo que o armazenamento sob congelamento apresenta pouca influência sobre a sobrevivência de *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* e *S. thermophilus*. Além disso, a adição de probióticos (*L. acidophilus* e *B. longum*) altera minimamente o sabor e as características do produto.

Já a influência de *Lactobacillus johnsonii* La1, e de *L. rhamnosus* GG em sorvetes com diferentes formulações, com variações nas quantidades de açúcar e de gordura, apresentam elevadas taxas de sobrevivências dos probióticos durante o armazenamento



dos produtos por, respectivamente, 8 meses e 365 dias, sem decréscimo na população inicialmente inoculada (7 e 8 log ufc g⁻¹, respectivamente).

Outros estudos com sorvete como veículo de probióticos, testaram uma mistura de cepas de *Lactobacillus acidophilus*, *L. agilis* e *L. rhamnosus* de origem humana. Nestes estudos a viabilidade dos probióticos não foi alterada durante o armazenamento do sorvete por até seis meses, independentemente da presença de açúcar ou aspartame como edulcorante; deve-se ressaltar que o emprego de adoçantes em sorvetes suplementados com culturas probióticas poderá contribuir para carrear esses microorganismos benéficos para pessoas com doenças como a diabetes e obesidade.

As sobremesas aeradas, como a mousse, vêm ganhando espaço no mercado, sendo atualmente produzidas em escala industrial. Pesquisadores desenvolveram uma mousse probiótica e simbiótica de chocolate, verificando, dentre outros parâmetros, a sobrevivência de *L. paracasei* ssp. *paracasei* LBC82, ao longo de seu armazenamento refrigerado. A diminuição de pH ao longo das quatro semanas de armazenamento do produto não foi suficiente para comprometer a sobrevivência do microorganismo probiótico, que manteve viabilidade acima de 7 log ufc g⁻¹. Em outro estudo com mousses de chocolate, entretanto, observou-se um decréscimo de 3 log da população de probióticos, após o vigésimo dia de armazenamento das mousses adicionadas de 1% *L. acidophilus* livres. Com o emprego da mesma proporção de *L. acidophilus* microencapsulados no produto, ainda foi observado um decréscimo de 2 log na população do probiótico.

Um outro estudo foi realizado com uma sobremesa bastante difundida no Brasil, o manjar branco ou manjar de coco, como veículo para cepas de *L. paracasei* e *B. lactis*, isoladas ou em co-cultura. Nesse estudo, a sobrevivência de *B. lactis* isolado ou em co-cultura com *L. paracasei* variou entre 7 e 7,5 log ufc g⁻¹. A população de *L. paracasei* ao início do armazenamento do manjar branco foi menor, aproximadamente 6,5 log ufc g⁻¹, entretanto, alcançou até 8,6

log ufc g⁻¹ ao final do armazenamento na ausência de *B. lactis*.

A SOJA

Produtos derivados da soja têm se revelado veículos apropriados de culturas probióticas. O leite de soja, mais apropriadamente chamado de extrato solúvel de soja, é uma bebida bastante popular em países asiáticos e seu consumo tem aumentado na América do Norte. O grão de soja é rico em proteínas de alta qualidade e, também, contém oligossacarídeos, como a rafinose e a estaquiose, que não são digeridos pelos humanos, podendo causar flatulência. A fermentação do extrato solúvel de soja com bactérias probióticas traz benefícios múltiplos, no sentido de reduzir os açúcares causadores de flatulência e conservar melhor o produto, contribuindo também, para a saúde do consumidor. Estudos verificaram uma redução na quantidade desses oligossacarídeos em extrato solúvel de soja fermentado por culturas mistas de bifidobactérias e bactérias lácticas. Adicionalmente, as bactérias lácticas e bifidobactérias sobreviveram melhor no produto liofilizado quando comparado ao produto submetido à secagem em *spray dryer*.

O extrato solúvel de soja é um meio satisfatório para as bactérias lácticas que conseguem metabolizar os carboidratos presentes nesse veículo. Pesquisas relataram que a suplementação do extrato solúvel de soja com soro de leite em pó promoveu a multiplicação de bactérias probióticas como a *E. faecium* CRL 183, uma bactéria capaz de reduzir a quantidade de colesterol do meio. Além disso, a adição de *Lactobacillus jugurti* em co-cultura com *E. faecium* melhorou o sabor do produto final.

Outro estudo testou a sobrevivência de cepas probióticas em sobremesa não fermentada vegetariana congelada (pH neutro). O congelamento do produto resultou em uma diminuição na viabilidade de *L. rhamnosus* 100-C e *Sacharomyces boulardii* 74012. Por outro lado, as cepas de *L. acidophilus* MJLA 1, *L. paracasei* ssp. *paracasei* Lp-01, *B. lactis* BDBB2, e *B. lactis* Bb-12 permaneceram com populações acima

de 7 log ufc g⁻¹ no produto, ao longo de seu armazenamento por até 28 dias. Os pesquisadores verificaram que a sobremesa congelada com *L. acidophilus* não se diferenciou sensorialmente da sobremesa controle, enquanto que aquela adicionada de levedura desenvolveu aromas indesejáveis durante o armazenamento.

Em um estudo realizado com uma emulsão adicionada de culturas probióticas de *L. casei* e *B. infantis*, observou-se que, após 24 horas de armazenamento refrigerado a 4°C, as populações de *L. casei* foram de 7,0×10⁷ ufc mL⁻¹, enquanto que as populações de *B. infantis* permaneceram abaixo de 1×10⁵ ufc mL⁻¹. No entanto, populações de 4,5×10⁸ e 1,0×10⁶ ufc mL⁻¹ de *L. casei* e *B. infantis*, respectivamente, foram observadas quando foram testadas diferentes composições da fase aquosa, contendo diferentes ingredientes, como L-cisteína, alginato de sódio e soro de leite em pó.

Outros produtos que vêm sendo estudados quanto ao seu potencial como veículo de microorganismos probióticos, incluindo maionese, carnes, alimentos infantis, produtos de confeitaria, patês, extratos de sementes vegetais, suco de pepino e produtos de peixe.

CONCLUSÃO

A evolução acelerada dos conhecimentos científicos sobre a atuação dos probióticos veiculados por produtos lácteos e por determinados produtos não lácteos sobre a saúde do hospedeiro certamente resultará na ampliação do leque de opções de produtos probióticos disponíveis ao consumidor.

Aliado a esse fato, o consumidor mais consciente e com estilo de vida equilibrado opta, cada vez mais, por produtos que, ao mesmo tempo, resultem em benefícios à saúde e sejam atrativos do ponto de vista sensorial. Consequentemente, o mercado desses produtos tende a ser cada vez mais competitivo.

O que se espera para o futuro é que as inovações resultem em produtos probióticos mais diversificados que visem contribuir com a melhoria da saúde do consumidor.