

PROCESSO FERMENTATIVO DO SUCO DE MANGABA (*Hancornia speciosa*) POR *Lactobacillus casei*

HUGO CALIXTO FONSECA¹; EMANUELLY GOMES ALVES MARIANO²;
GRAZIELLE LAYANNE MENDES SANTOS³; LARISSA BESSA FERNANDES⁴; ADAIR
DA SILVA SANTOS FILHO⁵

RESUMO: O presente estudo investigou a viabilidade de bactéria probiótica durante o processo fermentativo do suco de mangaba. Por isso, cepa de *Lactobacillus casei* foi usada no experimento, inoculada ao suco de mangaba e a viabilidade celular foi avaliada a cada quatro horas, por 16 horas. Sólidos solúveis totais e pH também foram monitorados. Os melhores resultados foram obtidos com oito horas de fermentação (7,31 Log UFC.mL⁻¹, pH de 4,19 e 17,4 °Brix). Em geral, o suco de mangaba mostrou-se ser alternativa matriz transportadora de probióticos.

PALAVRAS-CHAVE: ALIMENTOS FUNCIONAIS, BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS, FRUTOS DO CERRADO.

FERMENTATIVE PROCESS OF MANGABA (*Hancornia speciosa*) JUICE BY *Lactobacillus casei*

ABSTRACT: The present study investigated the viability of probiotic bacteria during mangaba juice fermentation process. Therefore, *Lactobacillus casei* strain was used in this experiment. It was inoculated to mangaba juice and the viability was evaluated every four hours, for 16 hours. Total soluble solids and pH were also monitored. The best results were obtained with eight hours of fermentation (7.31 Log CFU.mL⁻¹, pH of 4.19 and 17.4 °Brix). In general, mangaba juice showed up to be an alternative matrix carrier of probiotics.

KEY WORDS: FUNCTIONAL FOODS. ACID LACTIC BACTERIA. FRUITS OF THE CERRADO.

1 INTRODUÇÃO

O estudo e desenvolvimento de novos alimentos probióticos têm ganhado grande importância devido ao maior interesse das pessoas na busca por dietas saudáveis e,

¹ Engenheiro de Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. Montes Claros - MG. email: hugocfonseca@yahoo.com.br.

² Graduanda de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. Montes Claros - MG. email: manugmalves@hotmail.com.

³ Graduanda de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. Montes Claros - MG. email: grazilayanne@hotmail.com.

⁴ Graduanda de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. Montes Claros - MG. email: laryssabf@hotmail.com.

⁵ Engenheiro de Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. Montes Claros - MG. email: adairof@gmail.com.

consequentemente, na prevenção de doenças (PRADO et al., 2008). Com o aumento da demanda por produtos probióticos não lácteos, o uso de sucos de frutas como veículos para esses microrganismos tem se tornado tendência de mercado (FONTELES et al., 2011). Dentre os grupos reportados, *Lactobacillus* spp. representa um dos fundamentais que foram introduzidos em diversos produtos alimentares (BLANA et al., 2014).

As frutas do Cerrado, segundo maior ecossistema brasileiro, têm consumo consagrado e significativa importância cultural na região. Muitas são altamente nutritivas, ricas em vitaminas, sais minerais e apresentam propriedades medicinais (SILVA et al., 2001). Dentre essas frutas, a mangaba (*Hancornia speciosa*) destaca-se pelo alto teor de ácido ascórbico, compostos bioativos e capacidade antioxidante, além de apresentar quantidades consideráveis de micronutrientes, como ferro, cálcio e manganês (CARNELOSSI et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2006; ROSA, 2013). Porém, apesar do enorme potencial extrativista, os frutos são poucos conhecidos em outras região (FINCO et al., 2012).

Segundo Oliveira et al. (2002), na tecnologia de fabricação de produtos alimentícios, as culturas probióticas devem ser empregadas com base no desempenho tecnológico, sem perder a viabilidade. Recentemente, várias frutas foram utilizadas como substratos e submetidas com sucesso à fermentação por bactérias ácido lácticas (FARIAS; SOARES; GOUVEIA, 2016; FONTELES et al., 2013; REDDY; MIN; WEE, 2015). A fermentação ácido láctica é um processo de baixo custo e sustentável que, além de manter as características sensoriais e nutricionais das matrizes utilizadas, prolonga a vida útil em condições seguras (FILANNINO et al., 2014). Porém, frutas podem possuir parâmetros físicos e químicos que podem dificultar o crescimento microbiano (FILANNINO et al., 2014).

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo determinar os parâmetros viabilidade celular, pH e sólidos solúveis totais durante a fermentação do suco de mangaba por cepa de *Lactobacillus casei*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de *L. casei*

A cepa de *L. casei* foi isolada de leite fermentado comercial, sendo selecionadas colônias típicas que, de acordo com Vinderola e Reinheimer (2000), são colônias redondas, cor branco cremoso, com diâmetro de 0,9 a 1,3 mm. A estirpe bacteriana foi ativada em 10 mL de caldo MRS à 37 °C por 24 h e o procedimento foi realizado duas vezes no intuito de garantir a ativação da bactéria.

Elaboração do suco de mangaba

A polpa congelada do produto foi adquirida da Cooperativa Grande Sertão, situada no município de Montes Claros. O material polposo foi diluído em água potável até 3 °Brix e, em seguida, adicionou-se açúcar na concentração de 15% (m/v). Então, o suco foi pasteurizado a 70 °C/5 min e, posteriormente, fez-se o ajuste do pH para 5,8 com solução estéril de NaOH a 35% (COSTA et al., 2013). O inóculo contendo as células de *L. casei* ativadas, aproximadamente 9 Log UFC.mL⁻¹, foi transferido ao suco na proporção de 3% (v/v) e o produto foi incubado por 16 h à 37 °C.

Análises de contagens de *Lactobacillus*, pH e sólidos solúveis totais (SST) foram realizadas em cinco tempos diferentes, com intervalos de 4 h, durante 16 h de fermentação.

Análises físico-químicas

Realizou-se a determinação do pH do produto fermentado via potenciômetro digital com eletrodo de vidro combinado e os sólidos solúveis totais (SST) por meio de refratômetro Abbe (Biobrix®), sendo os resultados, do último, expressos em °Brix. Ambas análises seguiram a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

Contagem de células viáveis do probiótico

As amostras do produto fermentado probiótico foram diluídas em água peptonada esterilizada (0,1%) e diluições decimais seriadas de cada amostra foram plaqueadas em duplicata em ágar MRS pela técnica de "Pour Plate" de acordo com Lima et al. (2009) e incubadas a 37 °C durante 72 h. Placas com número de colônias de 25 a 250 foram enumeradas. Os resultados foram expressos como Log UFC.mL⁻¹.

Análises estatísticas

Foi realizada análise de variância, utilizando o delineamento inteiramente casualizado, com intervalo de confiança de 95%, e os resultados foram apresentados pelas médias de 3 repetições. Os dados relativos à variação de SST, pH e viabilidade da bactéria probiótica obtidos experimentalmente foram analisados por regressão linear simples, com auxílio do programa estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento bacteriano iniciou-se após a inoculação e obteve-se contagem de 7,83 Log UFC.mL⁻¹ após quatro horas de fermentação (Tab. 1). Além disso, durante todo período de fermentação a viabilidade de *L. casei* foi superior a 6 Log UFC.mL⁻¹. Os probióticos devem estar viáveis e disponíveis para exercerem os efeitos benéficos e, sendo assim, ser considerado funcional, com consumo de dose mínima diária de 8-9 Log UFC por mL/g, o que corresponde ao consumo de 100 mL/g do produto contendo 6-7 Log UFC por mL/g (GALLINA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2002).

Tempo de fermentação	Viabilidade (Log UFC.mL ⁻¹)	pH	SST (°Brix)
0 (0 h)	7,10	5,80	18,0
1 (4 h)	7,83	5,01	17,5
2 (8 h)	7,31	4,19	17,4
3 (12 h)	6,82	3,91	17,4
4 (16 h)	7,02	3,85	17,3
P-valor	0,0702*	<0,0001	0,0016
Coeficiente de variação	5,32%	1,58%	0,88%

* Não significativo a 95% de confiança (p>0,05).

Tabela 1 - Médias da viabilidade celular de *Lactobacillus casei*, pH e sólidos solúveis totais (SST) durante a fermentação do suco de mangaba.

Fonte: Autoria própria (2017)

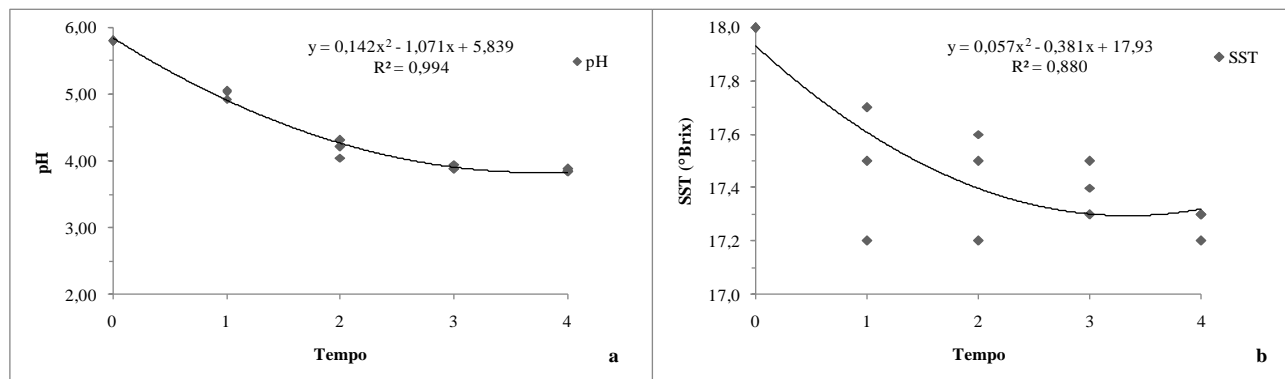
O tipo de substrato, assim como a cepa utilizada e sua adaptação ao meio de cultivo, têm grande influência na velocidade da fermentação e contribuem no tempo das fases do crescimento celular. Cepa de *L. casei* foi utilizada no desenvolvimento de bebida probiótica a partir de suco de maçã, com melhor resultado obtido com 10 h de fermentação a 37 °C (ELLENDERSEN et al., 2012). Fonteles et al. (2013) reportaram boa viabilidade celular de *L. casei* após 12 h de fermentação em suco de melão não adoçado que, com 8 h, atingiu pH de 4,5. Os melhores resultados do suco de caju fermentado por *L. casei* foram obtidos com 16 h de fermentação, segundo Pereira (2013), que ainda relata que o pH final de 4,5 influenciou na escolha desse tempo.

No presente estudo, apesar da alta viabilidade celular com 4 h de fermentação, o pH do produto foi de 5,01. Contudo, com 8 h de fermentação, o pH do produto reduziu para 4,19 (Tabela 1). Produtos com pH abaixo de 4,5 dificultam o crescimento de microrganismos indesejáveis (DOS SANTOS, 2008). Além dessa segurança microbiológica, o pH influencia na qualidade sensorial e pode afetar a viabilidade do microrganismo probiótico, encurtando a vida de prateleira do produto (FONTELES et al., 2013). Costa et al. (2013) relataram que após 12 h de fermentação do suco de abacaxi por *L. casei*, o pH do produto foi de 4,21 e que, de acordo com os autores, é um valor seguro para o armazenamento da bebida. Pereira, Maciel e Rodrigues (2011) reportaram pH abaixo de 4,6 com 16 h de fermentação do suco de caju por *L. casei*. Os autores ainda relataram que, após 24 h, diferentes valores de pH foram observados para diferentes concentrações da bactéria probiótica inoculadas no produto. Em estudo realizado por Demir, Bahçeci e Acar (2006), os resultados mostraram que diferentes concentrações iniciais de *Lactobacillus plantarum* resultaram em diferenças significativas ($p < 0,05$) nos valores de pH do suco de cenoura fermentado. Os autores recomendaram tempo de 15-16 h de fermentação para que o produto atinja pH abaixo de 4,5. De acordo com a equação do modelo de regressão linear, o produto atingiu esses valores com pouco mais de 6 h de fermentação (Figura 1a).

O maior consumo de açúcares ocorreu nas primeiras horas de fermentação, caracterizado pela redução do SST, que passou de 18 para 17,5 °Brix (Tabela 1). Além disso, houve redução de 0,7 °Brix com 16 h de fermentação do suco de mangaba. Souza (2014) reportou redução dos valores de SST de 0,4 e 0,6 °Brix em sucos de manga e uva, respectivamente, após 6 h de fermentação por *Lactobacillus acidophilus*. Na elaboração de sucos, a adição de açúcar pode melhorar a aceitação sensorial do produto (MATSUURA et al., 2004), porém, esse componente, apesar de ser utilizado pelas bactérias ácido lácticas durante a fase de crescimento e manutenção, em elevadas concentrações, pode tornar-se inibidor (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001; SHAH et al., 1995).

A significância estatística do modelo foi determinada pelo teste F e a análise de variância (ANOVA) para o modelo polinomial quadrático. Os valores de P-valor ($< 0,0001$ e $0,0016$) indicam que o modelo foi significativo no nível de probabilidade de 0,05, para pH e SST, respectivamente (Tabela 1). Porém, P-valor de 0,0702 indica que o modelo não foi significativo ($p > 0,05$) para a viabilidade da bactéria.

A qualidade do ajuste dos modelos polinomiais foi verificada através do coeficiente de determinação (R^2). Nesse caso, os valores de R^2 iguais a 0,994 e 0,880 para pH e SST significaram que apenas 0,6% e 12%, respectivamente, da variabilidade nas respostas não foi explicada pelo modelo de regressão (Figura 1).



Nota: R²: coeficiente de determinação; y: pH ou SST; x: tempo de fermentação.

Figura 1 - Representação gráfica obtida por regressão linear do pH (a) e dos SST (b) do suco de mangaba fermentado por *Lactobacillus casei*.

Fonte: Autoria própria (2017)

4 CONCLUSÕES

O produto apresentou alta viabilidade celular de *L. casei* durante todo processo fermentativo. Considerando os resultados referentes à viabilidade e pH, os valores ideais foram observados com 8 horas de fermentação, ou seja, alta viabilidade e pH abaixo de 4,5, que pode garantir a funcionalidade e estabilidade do produto. Os valores de SST pouco variaram durante o processo. Sendo assim, o suco mangaba pode ser considerado excelente substrato no crescimento da bactéria probiótica, tornando-se alternativa ao consumo de produtos lácteos.

Ademais, existe a necessidade de avaliação da estabilidade do produto durante o armazenamento, além de caracterizá-lo sensorialmente.

REFERÊNCIAS

BLANA, V. A. et al. Inoculated fermentation of green olives with potential probiotic *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus plantarum* starter cultures isolated from industrially fermented olives. **Food microbiology**, v. 38, p. 208-218, 2014.

CARNELOSSI, M. A. G. et al. Physico-chemical quality changes in mangaba (*hancornia speciosa gomes*) fruit stored at different temperatures. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. 4, p. 985-990, 2009.

COSTA, M. G. M. et al. Sonicated pineapple juice as substrate for *L. casei* cultivation for probiotic beverage development: process optimisation and product stability. **Food chemistry**, v. 139, n. 1, p. 261-266, 2013.

DEMIR, N.; BAHÇECİ, K. S.; ACAR, J. The effects of different initial *Lactobacillus plantarum* concentrations on some properties of fermented carrot juice. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 30, n. 3, p. 352-363, 2006.

DOS SANTOS, G. M. et al. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Archivos latinoamericanos de nutricion**, v. 58, n. 2, p. 187, 2008.

ELLENDERSEN, L. S. N. et al. Development and sensory profile of a probiotic beverage from apple fermented with *Lactobacillus casei*. **Engineering in Life Sciences**, v. 12, n. 4, p. 475-485, 2012.

FARIAS, N.; SOARES, M.; GOUVEIA, E. Enhancement of the viability of *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 in passion fruit juice: Application of a central composite rotatable design. **LWT-Food Science and Technology**, v. 71, p. 149-154, 2016.

FILANNINO, P. et al. Metabolic responses of *Lactobacillus plantarum* strains during fermentation and storage of vegetable and fruit juices. **Applied and environmental microbiology**, v. 80, n. 7, p. 2206-2215, 2014.

FINCO, F. D. B. A.; SILVA, I. G.; OLIVEIRA, R. B. Physicochemical characteristics and antioxidant activity of three native fruits from Brazilian savannah (cerrado). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 23, n. 2, p. 179-185, abr./jun. 2012.

FONTELES, T. V. et al. Optimization of the fermentation of cantaloupe juice by *Lactobacillus casei* NRRL B-442. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 7, p. 2819-2826, 2011.

FONTELES, T. V. et al. Stability and quality parameters of probiotic cantaloupe melon juice produced with sonicated juice. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 10, p. 2860-2869, 2013.

GALLINA, D. A. et al. Caracterização de leites fermentados com e sem adição de probióticos e prebióticos e avaliação da viabilidade de bactérias lácticas e probióticas durante a vida-de-prateleira. **Journal of Health Sciences**, v. 13, n. 4, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 1a ed. digital, São Paulo, 2008. 1020 p.

LIMA, K. G. C. et al. Evaluation of culture media for enumeration of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* in the presence of *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42, n. 2, p. 491-495, 2009.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. C. Yogurt as probiotic carrier food. **International dairy journal**, v. 11, n. 1, p. 1-17, 2001.

MATSUURA, F. C. A. U. et al. Sensory acceptance of mixed nectar of papaya, passion fruit and acerola. **Scientia Agricola**, v. 61, n. 6, p. 604-608, 2004.

SCIENTIA RURAL

Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais – CESCAGE

www.cescage.edu.br/publicacoes/scientiarural

16ª Ed./JUL-DEZ/2017

ISSN 2178 – 3608

OLIVEIRA, M. N. et al. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. São Paulo. v. 38, n. 1, Mar. 2002.

OLIVEIRA, A. L. et al. Elemental contents in exotic Brazilian tropical fruits evaluated by energy dispersive X-ray fluorescence. **Scientia Agricola**, v. 63, n. 1, p. 82-84, 2006.

PEREIRA, A. L. F.; MACIEL, T. C.; RODRIGUES, S. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1276-1283, 2011.

PEREIRA, A. L. F. **Elaboração e secagem em spray dryer de bebida probiótica formulada a partir da fermentação do suco de caju**. 2013. 114 f. : Tese (doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Fortaleza-CE, 2013.

PRADO, F. C. et al. Trends in non-dairy probiotic beverages. **Food Research International**, v. 41, n. 2, p. 111-123, 2008.

R Development Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

REDDY, L. V.; MIN, J.; WEE, Y. Production of Probiotic Mango Juice by Fermentation of Lactic Acid Bacteria. **Microbiology and Biotechnology Letters**. v. 43, n. 2, Jun. 2015.

ROSA, F. R. **Atividade antioxidante de frutos do cerrado e identificação de compostos em *Bactris setosa* Mart., *Palmae* (Tucum-do-Cerrado)**. 2013. 145 f., il. Tese (Doutorado em Nutrição Humana) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

SHAH, N. P. LANKAPUTHRA, E. V. W. BRITZ, M. L. KYLE, W. S. A. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in Commercial Yoghurt During Refrigerated Storage. **International Dairy Journal**, p. 515-521, 1995.

SILVA, D. B. et al. **Frutas do cerrado**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 178 p.

SOUZA, R. S. **Elaboração de bebida probiótica sabor manga e uva com *Lactobacillus acidophilus***. 2014. 24 f. Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2014.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. **International Dairy Journal**, v. 10, n. 4, p. 271-275, 2000.