AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E DE pH EM IOGURTES PRÓBIOTICO *light* DE MORANGO COM ADIÇÃO DE ESPIRULINA E PRÓPOLIS

**REIS, C. S.¹; JESUS, M. A.²; SANTOS, J. C.³ RIBEIRO, M. G.4 EVANGELISTA-BARRETO, N. S.\* 5**

1claritasreis@gmail.com, Universidade Federal da Bahia - UFBA, doutoranda; 2marcia.araujo.8276@gmail.com, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, graduanda; 3jailmaconceicaodossantos@gmail.com, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, graduanda; 4mylla-rybeiro@hotmail.com, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, graduanda; 5nsevangelista@ufrb.edu.br, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, docente.

# Resumo

O crescimento do mercado de alimentos funcionais tem impulsionado a inovação na produção de produtos que oferecem benefícios adicionais à saúde. Este trabalho teve como objetivo elaborar um iogurte probiótico *light* com adição de ingredientes funcionais e verificar a qualidade microbiológica e de pH durante o armazenamento. Foram elaboradas quatro formulações: formulação controle (FC), sem espirulina e própolis; F1 (com própolis verde); F2 (com espirulina) e F3 (com própolis e espirulina). A qualidade microbiológica dos iogurtes quanto a presença de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp*.* e bolores e leveduras, além da viabilidade do probiótico *Lactobacillus casei* Shirota foi monitorada durante 21 dias a 4°C. Nesse período também foi acompanhado os valores de pH. Todas as amostras se encontraram dentro dos parâmetros microbiológicos exigidos na legislação de alimentos para produtos fermentados. A ausência desses indicadores está relacionada com a manipulação correta e higienização durante o processo de preparo dos iogurtes. Para a viabilidade celular do probiótico todas as formulações mantiveram contagens de *L. casei* Shirota superiores a 107 UFC/g (log 7,0 UFC/g), exigidos pela legislação, até o 21º dia de armazenamento. No entanto, as formulações F2 e F3 apresentaram uma redução de 3 ciclos logarítmicos em relação à amostra controle no 21º dia, diferindo (p>0,05) das formulações FC e F1. Em relação ao pH não houve diferença estatística entre as diferentes formulações, no entanto, houve diferença (p>0,05) ao longo do armazenamento no 21ª dia em todas as amostras. A inclusão da espirulina e própolis não comprometeu a qualidade microbiológica nem a viabilidade do probiótico *L. casei* Shirota, indicando que a adição desses ingredientes apresenta potencial de comercialização em virtude de seus benefícios funcionais.

**Palavras–chave:** Alimento funcional; *Lactobacillus*; Produtos lácteos.

# INTRODUÇÃO

A crescente preocupação com a saúde tem levado os consumidores a buscar alimentos mais nutritivos e funcionais. Nesse contexto, os iogurtes se destacam como produtos ricos em vitaminas, minerais e proteínas, que promovem a saúde digestiva e imunológica (Braga, 2023). Em iogurtes, além de bactérias lácticas probióticas, ingredientes como frutas e compostos bioativos têm sido adicionados para potencializar seus efeitos benéficos. O morango é conhecido por suas propriedades antioxidantes (Lacerda *et al.,* 2011), enquanto a própolis verde e a microalga *Spirulina platensis* oferecem benefícios terapêuticos adicionais, como propriedades antimicrobianas e fortalecimento do sistema imunológico (Morais *et al.*, 2006). O objetivo deste estudo foi desenvolver e avaliar o efeito da adição da própolis e espirulina na qualidade microbiológica, viabilidade do probiótico e química de iogurtes probiótico *light* de morango durante um período de 21 dias de armazenamento.

# MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados o probiótico *Lactobacillus casei* Shirota isolado de yakult, extrato de própolis verde a 30%, *Spirulina platensis*, leite em pó desnatado e morangos congelados. A polpa de morango foi preparada, pasteurizada e congelada (Laguna; Egito, 2006). Foram formulados quatro tipos de iogurtes: formulação controle (FC), sem própolis e espirulina, formulação F1 (com própolis), F2 (com espirulina) e F3 (com própolis e espirulina). Todas as amostras continham a polpa de morango e o probiótico. O leite desnatado foi reconstituído com leite em pó, pasteurizado a 65°C, fermentado com *L. casei* Shirota a 42°C até atingir pH 4,6, resfriado a 7°C e posteriormente adicionado os demais ingredientes.

As amostras foram submetidas a análises microbiológicas quanto a presença de coliformes totais, *Escherichia coli, Salmonella,* bolores, leveduras e a viabilidade celular de *L. casei* Shirota, durante 21 dias a 4°C, conforme Instrução Normativa N° 46 de 2007 (Brasil, 2007) e metodologia proposta no Bacteriological Analytical Manual (BAM) e descrita em Silva *et al.* (2010). O pH foi medido com medidor de pH da marca Tecnal modelo Tec-3MP, calibrado com soluções padrão de pH 4,0 e 7,0 (IAL, 2008).

# RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as formulações de iogurte atenderam aos padrões de segurança alimentar ao longo do armazenamento conforme Instrução Normativa no. 60 de 2019 (BRASIL, 2019). A viabilidade celular do probiótico *L. casei* Shirota apresentada na Tabela 1, mostra que não houve diferença estatística significativa (p<0,05) entre as formulações nos primeiros 7 dias de armazenamento. No entanto, a formulação F2 (com espirulina) começa a diferir (p>0,05) da amostra controle a partir do 14º dia, enquanto a formulação F3 (com própolis e espirulina) a partir do 21º dia.

**Tabela 1.** Contagem de Lactobacillus casei Shirota nas diferentes formulações de iogurtes durante 21 dias de armazenamento a 4°C.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Parâmetro | Formulações | Tempos (dias) |
| **0** | **7** | **14** | **21** |
| *Lactobacillus casei Shirota* (Log UFC.g-1) | FC | 9,48a A | 9,60a A | 9,56ab A | 10,02a A |
| F1 | 9,44a A | 9,20a A | 9,58ab A | 9,97a A |
| F2 | 9,81a A | 9,63a AB | 8,59b BC | 7,93b C |
| F3 | 9,55aA | 9,42a A | 9,85a A | 7,77b B |

Letras minúsculas nas colunas indicam que as médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, e letras maiúsculas nas linhas indicam que as médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ao longo do tempo dentro de cada tratamento, de acordo com o teste de Tukey a 5%. FC: formulação controle; F1: com Própolis; F2: com espirulina; F3: com própolis e espirulina.

As formulações FC (controle) e F1 (com própolis) mantiveram as contagens do probiótico, acima de 107 ou log 7,0 UFC/g, como exigido na Instrução Normativa de no. 46 de 2007 (Brasil, 2007) até o final do período de armazenamento. Esses resultados indicam que a adição da própolis (F1) não afetou negativamente o crescimento do probiótico, e seu uso é respaldado pelo potencial biológico dos compostos presentes, que conferem propriedades farmacológicas diversas, incluindo atividades antiviral, anti-inflamatória, antioxidante, dentre outras (Oliveira, 2023).

Apesar da redução significativa na viabilidade do probiótico nas formulações F2 e F3 no 21º dia (Tabela 1), as amostras ainda são caracterizadas como probióticas (Brasil, 2007). A inclusão da espirulina e própolis é justificada pelos seus benefícios adicionais como aumento no teor de proteínas, vitaminas e minerais, além de estimular o sistema imunológico (Carvalho, 2023).

A Tabela 2 apresenta os valores de pH dos iogurtes. Percebe-se que o pH das amostras não diferiu (p<0.05) entre as formulações até o 14º dia, mas diferindo (p>0,05) no 21º dia em todas as amostras. Acredita-se que a partir do 14º dia o probiótico *L. casei* Shirota passou a utilizar o extrato de espirulina como fonte protéica formando compostos básicos que podem ter contribuído para o aumento do pH. Durante o processo de fermentação as bactérias lácticas utilizam a lactose do leite e consequentemente produzem ácido que reduz o pH do meio. Comportamento semelhante também foi observado por Perez *et al*. (2007) ao relatarem redução de 78 e 85% com 15 e 30 dias, respectivamente, na contagem de bactérias lácticas em amostras de iogurtes adicionados com 0,5% de extrato seco de espirulina.

**Tabela 2.** Valores de pH dos iogurtes probiótico light de morango enriquecidos com própolis e espirulina ao longo de 21 dias de armazenamento a 4°C.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Parâmetro | Formulações | Tempo (dias) |  |
| **0** | **7** | **14** | **21** | Legislação |
| pH | FC | 3,98a B | 4,07a AB | 3,89a AB | 4,27a A | Brasil (2007)3,6 a 4,5 |
| F1 | 4,05a B | 3,99a B | 4,01a B | 4,56a A |
| F2 | 4,13a B | 4,04a B | 3,94a B | 4,59a A |
| F3 | 4,02a B | 4,25a AB | 4,13a AB | 4,43a A |

Letras minúsculas nas colunas indicam que as médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, e letras maiúsculas nas linhas indicam que as médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ao longo do tempo dentro de cada tratamento, de acordo com o teste de Tukey a 5%. FC: Formulação Controle; F1: Formulação com Própolis; F2: Formulação com *Spirulina platensis*; F3: Formulação com Própolis e *Spirulina platensis*; pH: Potencial Hidrogeniônico.

Feitosa *et al*. (2020) ao produzir iogurte adicionado de mel relataram que o aumento gradual do pH ao longo do tempo é comum em produtos lácteos fermentados devido à redução da atividade fermentativa das bactérias probióticas

# CONCLUSÕES

Todas as formulações atenderam aos padrões microbiológicos e de acidez estabelecidos pela legislação para leites fermentados. A adição da espirulina e da própolis não comprometeu a viabilidade celular do probiótico *L. casei* Shirota, no entanto, a adição da espirulina reduz as contagens do probiótico após 21 dias.

# REFERÊNCIAS

BRAGA, W. E. **Elaboração e avaliação sensorial de iogurte adicionado na microalga Spirulina (*Arthrospirina platensis*)**. 2023. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Nutrição) – Centro de Educação e Saúde, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité – Paraíba – Brasil.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 46 de 23 de outubro de 2007. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados.** Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, 24 out. 2007. Seção 1, p. 4.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa n° 60, de 23 de dezembro de 2019. **Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos.** Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 26 dez. 2019. Seção 1, p. 133.

CARVALHO, L. **Ação antimicrobiana combinada de nisina e extratos de *Spirulina platensis* contra bactérias gram-positivas e gram-negativas**. 2023. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira.

FEITOSA, V. B. D.; OLIVEIRA, E. N. A.; SOUZA, R. L. A.; FEITOSA, B. F.; FEITOSA, R. M. Estabilidade físico-química de iogurtes adoçados com mel de abelha *Apis mellifera* L. **Ciência Animal Brasileira**, v. 21, p. 1-15, 2020.

IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

LACERDA, R. C. C.; TIVERON, A. P.; ALENCAR, S. M. de. Própolis e Segurança Alimentar. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, SP, v. 18, n. 2, p. 99–106, 2011.

LAGUNA, L. E.; EGITO, A. S. Iogurte Batido de Leite de Cabra Adicionado de Polpa de Frutas Tropicais. **Circular Técnica**, 2006.

MORAIS, M. G.; MIRANDA, M. Z.; COSTA, J. A. V. Biscoitos de chocolate enriquecidos com *Spirulina platensis*: características físico-químicas, sensoriais e digestibilidade. **Alimentação e Nutrição**, Araraquara, v. 17, n. 3, p. 323-328, 2006.

OLIVEIRA, G. C. C. **Própolis: uma revisão sobre origem, características, composição, aplicação e perspectivas**. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista (Unesp).

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

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos.** 3. ed. Viçosa: UFV, 2010. 235 p.