
Potencial probiótico de leites fermentados adicionados de camu-camu

Antonia Raniely Vieira da Silva, Daniela Cavalcante dos Santos Campos, Lailson Oliveira de Sousa.

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-09-1.c2>

Resumo

Os produtos lácteos fermentados estão entre os principais produtos alvo de estudos que buscam elaborar alimentos probióticos que agreguem benefícios para saúde. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi elaborar leites fermentados com camu-camu e suplementados com *Bifidobacterium* (BB-12) e *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) e avaliar a viabilidade destes microrganismos durante 28 dias de armazenamento refrigerado. Os frutos de camu-camu foram coletados em plantas localizadas no Rio Urubu, Bonfim-RR. Os frutos foram encaminhados ao LTPA/EAGRO, sendo adicionado 100 mL de água mineral e triturados em liquidificador para obtenção da polpa, que em seguida foi armazenada em embalagens plásticas com capacidade de 100 mL e congelada em freezer a -18 °C. Para obtenção dos leites fermentados com camu-camu utilizou-se duas formulações: Leite fermentado Reduzido em Calorias (LFRC) e Leite Fermentado Integral (LFI), sendo elaborados com leite UHT desnatado e integral respectivamente, 10% de açúcar, 0,3% de sorbato de potássio e 0,08% de culturas probióticas presentes no fermento Bio Rich® da empresa Chr Hansen. Em seguida, foi adicionada polpa de camu-camu nas concentrações de 5%, 10%, 15% (p/p) sendo reservada amostra sem adição de polpa para constituir o tratamento controle. As duas formulações propostas LFRC e LFI atenderam a legislação quanto às contagens de bactérias probióticas LA-5, sendo classificados como produtos probióticos, apresentando contagem acima de 6 Log UFC g⁻¹, durante 14 dias de avaliação. O leite UHT desnatado, mostrou maior potencial probiótico, concluindo que houve influência positiva da redução no percentual de gordura do leite para o crescimento dos *Lactobacillus acidophilus*.

Palavras-chave: Alimentos funcionais, (*Myrciaria dúbia* (Kunth) McVaugh), produtos lácteos fermentados.

1. Introdução

O consumo de alimentos funcionais tem crescido e entre os mais consumidos estão os alimentos fermentados, que são definidos como alimentos ou bebidas produzidas através de crescimento controlado de microrganismos e conversão enzimática de determinados componentes (MARCO et al., 2017). Os produtos lácteos apresentam uma diversidade de possibilidades de consumo e uma variedade de formulações, com propriedades nutricionais e funcionais aprimoradas com o intuito de proporcionar benefícios à saúde (CAMPOS, 2017; CAVALLINI et al., 2018).

As bebidas lácteas, estão entre os principais selecionados para a produção de alimentos probióticos e estes têm sido inseridos na alimentação como um importante integrante da dieta funcional, (CAPITANI et al., 2014; SANTOS; CANÇADO, 2009). Novas formulações de leite fermentado saborizado com frutas têm sido desenvolvidas com agregação de probióticos, a fim de aumentar a sua aceitação e agregar valor nutricional ao produto (CAMPOS, 2017; TORREZAN, et al., 2021).

Os probióticos são suplementos alimentares de bactérias, que desempenham efeitos benéficos na microbiota intestinal, e são definidos como microrganismos vivos, adicionados a produtos alimentares, cuja ingestão afeta de forma positiva o organismo do consumidor (PINTO et al., 2015; SANTOS; CANÇADO, 2009).

A Amazônia apresenta uma diversidade de frutas nativas e exóticas, com potencial valor econômico, tecnológico e nutricional como açaí, murici, buriti e camu-camu, tendo em vista o conhecimento científico de suas propriedades nutricionais. No entanto, poucos trabalhos foram realizados visando elaborar leite fermentado probiótico adicionados destes frutos, principalmente com adição de camu-camu (CAMPOS, 2017).

O camu-camu está presente nas florestas amazônicas brasileiras, peruanas, colombianas e venezuelanas, ocorrendo naturalmente em áreas alagadas nas margens de rios e lagos (GRIGIO, 2017). Apresenta em sua composição, alto teor de vitamina C, diversos compostos fenólicos e antioxidantes como antocianinas e carotenoides (AZEVEDO et al., 2014; FUJITA, 2015). Entretanto, apresenta rápida perda de qualidade pós-colheita, inviabilizando a disponibilidade do fruto *in natura* no mercado (GRIGIO, 2017).

Nesse sentido, o estudo do potencial probiótico de leites fermentados adicionados de camu-camu é um passo importante para agregar valor a esse fruto nativo da Amazônia, que é rico em vitamina C, e colocar à disposição do mercado alimentício um probiótico de qualidade.

2. Materiais e Métodos

2.1. Obtenção dos frutos e da polpa de camu-camu

Os frutos de camu-camu foram coletados em plantas localizadas no Rio Urubu, situado na região da Serra da Lua, Bonfim-RR, parte leste do estado de Roraima. As plantas de camu-camu se encontravam próximas à ponte que corta o rio na Rodovia RR-207, distribuídas nas margens direita e esquerda, bem como em ilhas formadas pela deposição de sedimentos e afloramentos rochosos que são mais visíveis durante a seca do rio (CARVALHO, 2012). A temperatura média da região é de 27,5°C sendo o clima considerado tropical quente e semiúmido, com chuvas de abril a setembro.

Os frutos foram coletados em fevereiro de 2022, durante a safra da cultura. Após a colheita, os frutos foram acondicionados em sacos plásticos de 2kg e armazenados em isopor com gelo em escama, para serem transportados até o Laboratório de Tecnologia de Produtos Agropecuários da Escola Agrotécnica da Universidade Federal de Roraima (LTPA/EAgro-UFRR).

Para o despulpamento, os frutos íntegros e com mais de 85% da casca vermelha foram selecionados, lavados em água corrente para retirada de sujidades e higienizados em água clorada a 200 partes por milhão (ppm) durante 15 minutos. Em seguida foram submetidos à trituração em liquidificador, adicionado de 100 mL de água mineral para obtenção da polpa. A polpa foi armazenada em embalagens plásticas com capacidade de 100 mL e congelada em freezer a -18 °C até o momento da saborização dos leites fermentados.

2.2. Preparo dos Leites Fermentados com camu-camu

Os leites fermentados foram elaborados com leite UHT (Ultra-high Temperature) desnatado e integral, padronizados de acordo com as formulações a seguir: **Formulação 1 - Leite Fermentado Reduzido em Calorias (LFRC):** leite UHT desnatado + 10% de açúcar + 0,3% de sorbato de potássio e culturas bacterianas probióticas; **Formulação 2 - Leite Fermentado Integral (LFI):** leite

UHT integral +10% de açúcar + 0,3% de sorbato de potássio e culturas bacterianas probióticas.

O preparo do leite fermentado (LF) envolveu as seguintes etapas: tratamento térmico do leite adicionado de açúcar a 72 °C por 15 minutos, seguido do resfriamento a 43±2 °C para a incubação de 0,08% de cultura probiótica contendo *Lactobacillus acidophilus* (LA-5), *Bifidobacterium* (BB-12) e *Streptococcus thermophilus* presentes no fermento Bio Rich® da empresa Chr Hansen para fermentação em B.O.D. por 4 horas ou até pH 5,0. Em seguida o LF foi resfriado e mantido a 12±2 °C por 6 horas em B.O.D e após este período a temperatura foi ajustada para 4±2 °C, onde permaneceram até completar 24 horas, tempo suficiente para desenvolvimento dos sabores e aromas resultantes do metabolismo dos microrganismos lácticos. Posteriormente foram acrescentadas polpas de camu-camu nas concentrações de 5%, 10% e 15% (p/p) e separadas amostras controle, sem adição de polpa de camu-camu, expostas às mesmas condições experimentais para a avaliação dos produtos.

2.3. Contagem de microrganismos probióticos

As contagens das culturas probióticas foram realizadas em duplicata nas duas formulações de leites fermentados nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 de estocagem, para verificar a viabilidade das culturas no produto ao longo do período de avaliação.

Para contagem das colônias de *Bifidobacterium* (BB-12), o ágar MRS (Man Rogosa Sharpe) foi modificado para ágar MRS-LP, contendo 0,2% de cloreto de lítio, 0,3% de propionato de sódio. As placas foram incubadas utilizando jarras de anaerobiose pelo método da combustão com auxílio de uma vela, sendo a jarra hermeticamente fechada e mantida a 37 ± 1 °C por 72 horas (Figura 1). Os resultados foram expressos em log unidade formadora de colônia por grama (log UFC g⁻¹) (VINDEROLA; REINHEIMER, 1999; VINDEROLA et al., 2000).

Para contagem dos *L. acidophilus* foi utilizado o ágar MRS-M (Man, Rogosa, Sharpe) esterilizado (autoclave a 121 °C durante 15 minutos). Após a inoculação das bactérias, as placas foram dispostas em aerobiose a 37 ± 1 °C por 72 horas (Figura 1) e os resultados foram expressos em log unidade

formadora de colônia por grama ($\log \text{UFC g}^{-1}$) (VINDEROLA; REINHEIMER, 1999).

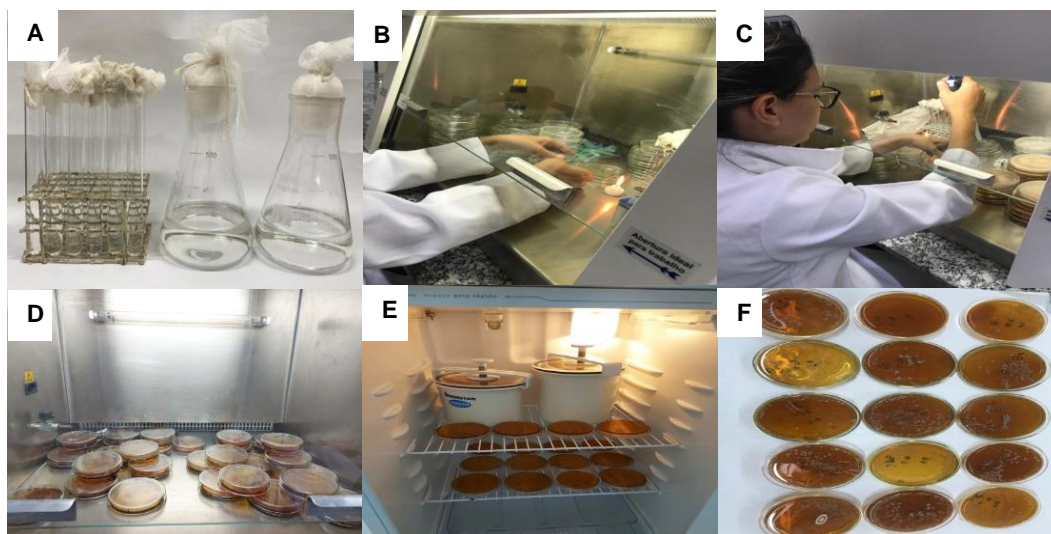


Figura 1. Etapas de incubação de bactérias probióticas. (A) Peptona para as diluições, (B; C) Placas sendo inoculadas, (D) Placas inoculadas e adicionadas de meio MRS-LP e MRS-M, (E) Placas de BB-12 em jarras de anaerobiose e placas de LA-5 em aerobiose na B.O.D.

Fonte: Autores (2022).

Para os dados das contagens de *Bifidobacterium* BB-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 foram estabelecidos delineamentos inteiramente casualizados (DIC) em fatorial triplo $2 \times 4 \times 5$ (2 tipos de leite \times 4 teores de polpa \times 5 períodos de avaliação) e $2 \times 4 \times 3$ (2 tipos de microrganismos \times 4 teores de polpa \times 3 períodos de avaliação). Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias avaliadas por Teste Tukey e regressão a 5%. Todos os dados foram avaliados utilizando o programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2011).

3. Resultados e Discussão

Os fatores isolados tipo de leite, teor de polpa e períodos de avaliação, assim como as interações entre os fatores foram todos significativos a 5% de confiança, quando se considerou a contagem de LA-5 nos LFRC e LFI.

A contagem de BB-12, assim como sua observação junto aos LA-5, ficou restrita ao LFI uma vez que este microrganismo não cresceu nas condições

estabelecidas no LFRC. Os fatores isolados tipo de microrganismo, teor de polpa e períodos de avaliação, assim como as interações duplas entre os fatores, foram significativos a 5%.

Observando o comportamento dos LA-5 nos leites fermentados reduzido em gordura e integral (Tabela 1), verificou-se redução significativa nas contagens em ambas as formulações no dia 7 de avaliação, confirmando a fase de adaptação dos LA-5 entre os dias 1 e 7. Além disso, quando se avaliou a influência do tipo de leite no crescimento desses microrganismos, observou-se maior contagem no leite fermentado integral, mostrando efeito negativo da redução no percentual de gordura do leite no crescimento deste microrganismo.

Tabela 1. Contagem de *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) considerando a interação “tipo de leite x período de avaliação”.

| Períodos de avaliação (Dias) | LFRC | LFI |
|------------------------------|--------|--------|
| 0 | 7,66Ab | 8,44Aa |
| 7 | 6,18Bb | 7,56Ca |
| 14 | 7,59Ab | 8,13Ba |

Letras minúsculas diferentes na mesma linha mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade.

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade.

Verificou-se redução significativa nas contagens de LA-5 nos LFRC com camu-camu, conforme o teor de polpa foi aumentado (¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.). Comportamento semelhante foi observado por Campos (2017), que ao estudar o crescimento de LA-5 em leites fermentados com camu-camu e açaí, constatou decréscimo nas contagens de LA-5 associados ao aumento nos percentuais de polpa, nos dias 7 e 14 de avaliação. De acordo com Thamer; Pena (2006), o efeito deletério da polpa de camu-camu está relacionada à sensibilidade dos microrganismos probióticos ao abaixamento do valor de pH, sendo, portanto, menos viáveis em produtos acidificados abaixo de pH 5,0. Apesar de não estarem previstos neste trabalho, os valores de pH dos LF obtidos

neste estudo variaram de 4,5 – LFRC com 5% de polpa a 3,8 – LFRC com 15% de polpa, justificando o comportamento deste produto.

Tabela 2. Contagem de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, segundo teor de polpa (%) e o tipo de leite fermentado avaliado.

| Teor de polpa (%) | LFRC | LFI |
|-------------------|---------|--------|
| 0 | 7,72Ab | 8,21Aa |
| 5 | 7,08Bb | 7,61Ca |
| 10 | 6,85BCb | 8,23Aa |
| 15 | 6,76Cb | 8,13Ba |

Letras minúsculas diferentes na mesma linha mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade.

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade.

Ao contrário do que se analisou para os LF reduzidos em gorduras, os LF integrais não obtiveram reduções em suas contagens nos maiores percentuais de polpa (10% e 15%) e mantiveram valores de Log UFC g⁻¹ próximos aos observados para os LF sem adição de polpa. A redução mais significativa foi observada no LF com 5% de polpa de camu-camu. Esse comportamento pode estar relacionado ao percentual de extrato seco total (EST) dos produtos estudados, já que o leite integral utilizado na formulação apresenta mais sólidos quando comprado com o leite desnatado utilizados nos LFRC. Segundo ÖZER (2010), o EST contribui para as propriedades físicas do produto como: consistência do iogurte firme, viscosidade do iogurte batido e atributos sensoriais de sabor e aroma.

De acordo com a Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007 do MAPA, as contagens de bactérias lácticas totais devem ser de no mínimo de 6,0 Log UFC g⁻¹ de leite fermentado. Nesse sentido, considerando os limites previstos na legislação, verificou-se no dia 7 de avaliação que LFRC com 10% e 15% de polpa de camu-camu apresentaram contagens de LA-5 inferiores ao estabelecido para contagens de bactérias lácticas totais em leite fermentado (mínimo 6,0 Log UFC g⁻¹), mostrando o efeito negativo da polpa de camu-camu,

provavelmente relacionado ao elevado teor de ácido ascórbico presente naturalmente neste fruto (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).

Tabela 3. Contagem de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 nas diferentes formulações propostas, considerando a interação “tipo de leite x teor de polpa x períodos de avaliação”.

| Teor de polpa (%) | LFRC | | | LFI | | |
|-------------------|-------------------|--------|--------|-------------------|--------|---------|
| | Dias de avaliação | | | Dias de avaliação | | |
| | 0 | 7 | 14 | 0 | 7 | 14 |
| 0 | 7,81abA | 7,46bA | 7,88aA | 8,25abA | 8,00bA | 8,38aA |
| 5 | 7,69aA | 6,15bB | 7,39aB | 8,4aA | 6,15bB | 8,30aA |
| 10 | 7,51aA | 5,81bB | 7,25aB | 8,57aA | 8,00bA | 8,12bAB |
| 15 | 7,64aA | 5,30bC | 7,33aB | 8,54aA | 8,14bB | 7,71cB |

Letras minúsculas diferentes na mesma linha mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade.

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade.

A respeito das colônias de *Bifidobacterium* (BB-12), a adição de polpa reduziu significativamente suas contagens nos percentuais propostos neste estudo (Tabela 4), evidenciando que a polpa de camu-camu afeta negativamente o crescimento desses microrganismos, conforme já relatado nas contagens de LA-5 nos LFRC.

Tabela 4. Contagem de *Bifidobacterium* considerando fator isolado “teor de polpa”.

| Teor de polpa (%) | BB-12 | LA-5 |
|-------------------|--------|--------|
| 0 | 6,77Ab | 8,21Aa |
| 5 | 6,42Bb | 7,61Ca |
| 10 | 6,30Bb | 8,23Aa |
| 15 | 6,20Bb | 8,13Ba |

Letras minúsculas diferentes na mesma linha mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade.

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa ($p \leq 5$) a 5% de probabilidade.

Observando as contagens de ambos os microrganismos se verificou maior sensibilidade do BB-12 ao efeito do ácido conferido pela polpa de camu-camu. De acordo com SHAH (2007) o pH ótimo para a multiplicação das bifidobactérias está entre 6 e 7, com praticamente nenhuma multiplicação em pH < 5,1 ou pH > 8, enquanto para os *Lactobacillus* o pH ótimo está entre 5,5 - 6,0 e a sua multiplicação é reduzida em pH abaixo de 4,0 (SHAH et al., 1995; FERNÁNDEZ-GARCÍA et al., 1998; SHAH, 2007), justificando a menor contagem da BB-12 em relação a LA-5.

Assim como os LA-5, as contagens dos BB-12 reduziram no dia 07 com posterior aumento do dia 14 (fase de adaptação). A partir do dia 21 de avaliação as BB-12 entraram em fase de declínio mostrando contagens 4,81 Log UFC g⁻¹, valores abaixo do previsto na legislação brasileira para um produto ser considerado probiótico (Figura 2). Entretanto, os LA-5 mantiveram-se viáveis com contagens acima de 7,0 Log UFR g⁻¹, mantendo os LFI probióticos até os 21 dias de avaliação.

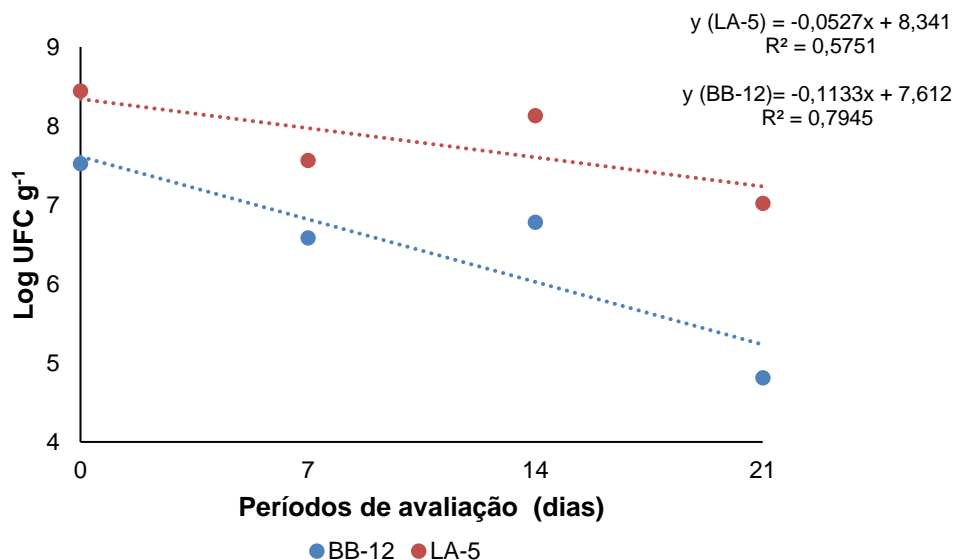


Figura 2. Contagem de BB-12 e LA-5 durante 21 dias de avaliação.

4. Conclusão

A partir das análises das contagens das BB-12 e dos LA-5 em leites fermentados reduzidos em gorduras e integrais adicionados de camu-camu pode-se concluir que o aumento na concentração de polpa afetou negativamente o desenvolvimento dos microrganismos.

Não houve crescimento de BB-12 no LFRC, assim como as contagens dos LA-5 foram menores que as observadas no LFI, indicando que a redução no EST (leite desnatado) tornou o meio menos viável ao crescimento destes microrganismos.

As contagens de LA-5 nos LFRC e LFI atenderam a legislação, sendo classificados como produtos probióticos durante os 21 dias de avaliação.

A análise dos tipos de leite, mostrou um maior potencial probiótico no LFI, mostrando influência negativa da redução no percentual de gordura do leite, no crescimento dos BB-12 e LA-5.

5. Referências

AZEVÊDO, J. C. S. et al. Dried camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh) industrial residue: A bioactive-rich Amazonian powder with functional attributes. **Food Research International**, [S.l.], v. 62, n. 1, p. 934-940, maio. 2014.

CAMPOS, D. C. S. **Compostos bioativos em produtos lácteos adicionados de polpa de açaí e camu-camu suplementados com bactérias probióticas**. 2017. 117 f. Tese de doutorado. Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, RR, 2017.

CAPITANI, C. et al. Caracterização de iogurtes elaborados com probióticos e fibra solúvel. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Curitiba, v. 8, n. 2, p. 1285-1300, 2014.

CARVALHO, A. dos S. **Ocorrência, distribuição geográfica e estudo fenológico de Camu-Camuzeiro (*Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc Vaugh no Estado de Roraima**. 2012. 79 f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2012.

CAVALLINI, D. C. U. et al. A soy-based probiotic drink modulates the microbiota and reduces body weight gain in diet-induced obese mice. **Journal of Dairy Science**, v.18, p. 302-313, set. 2018.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, E.; MCGREGOR, J.U.; TRAYLOR, S. The addition of oat fiber and natural alternative sweeteners in the manufacture of plain yogurt. *Journal of Dairy Science*. v. 81, p. 655-663. 1998.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FUJITA, A. **Produtos derivados de camu-camu: efeito da secagem sobre elagitaninos e flavonoides atividades antioxidantes e antimicrobiana**. 2015. 147 f. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

GRIGIO, M. L. **Atributos qualitativos e funcionais do camu-camu e elaboração de produtos com potencial funcional.** 2017. 112 f. Tese de doutorado. Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, RR, 2017.

MARCO M. L. et al. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 44, p. 94-102, abr. 2017.

PINTO, L. P. S. et al. O uso de probióticos para o tratamento do quadro de intolerância à lactose. **Revista Ciência e Inovação**, [S.l.], v. 2, n. 1, p. 56-65, dez. 2015.

SANTOS, L. C. dos.; CANÇADO, I. A. C. Probióticos e prebióticos: vale a pena incluí-los em nossa alimentação. **Revista Digital FAPAM**, Pará de Minas, v.1, n.1, p. 308-317, out. 2009.

SHAH, N. P. Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal*. v.17, p.1262–1277, 2007.

SHAH, N. P.; LANKAPUTHRA, W.E.V.; BRITZ M. L.; KYLE W.S.A.; Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* commercial Yoghurt During Refrigerated Storage. *International Dairy Journal*. v. 5, p.515-521,1995.

TORREZAN, R. et al. **Processamento de Leite Fermentado Probiótico com um Preparado de Albúmen Sólido de Coco Verde.** Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2021. 8 p. (Embrapa Agroindústria de Alimentos. Comunicado Técnico, 246).

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. *International Dairy Journal*, [S.l.], v. 9, n. 8, p. 497-505, ago. 1999.

VINDEROLA, C. G. et al. Characteristics of carbonated fermented milk and survival of probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, [S.l.], v. 10, n. 3, p. 213-220, mar. 2000.

6. Agradecimentos

A Escola Agrotécnica da Universidade Federal de Roraima, a minha orientadora Dra. Daniela Campos responsável técnica pelo Laboratório de Tecnologia de Produtos Agropecuários da EAgro/UFRR e aos meus parceiros de Laboratório pelo apoio na execução da pesquisa.

Autores

Antonia Raniely Vieira da Silva¹, Daniela Cavalcante dos Santos Campos^{2,*},
Lailson Oliveira de Sousa²

1. Universidade Federal de Roraima, Rua Rio Tocantins, n.189, Jardim Bela Vista, Boa Vista, Brasil.
2. Escola Agrotécnica da Universidade Federal de Roraima, BR 174, Km 37, 69310-000, Boa Vista, Brasil.

* Autor para correspondência: daniela.campos@ufrr.br