



11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2017
02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-141-7

VIABILIDADE DE PROBIÓTICOS EM BEBIDA CARBONATADA ENVASADA EM DIFERENTES TIPOS DE EMBALAGENS

Angela Maria da Silva **Lima**¹; Leila Maria **Spadoti**²; Mariana Alves Gagnani **Vido**³; Thaís **Marini**⁴;
Adriana Torres **Silva e Alves**⁵

Nº 17246

RESUMO- *As indústrias de alimentos têm procurado utilizar o soro de queijo na formulação de diversos produtos alimentícios. As bebidas com funções de saudabilidade são cada vez mais populares e vão impulsionar o crescimento do mercado nos próximos anos. A incorporação de probióticos e manutenção de sua viabilidade é um desafio constante para a indústria e requer a compreensão de todos os fatores intrínsecos e extrínsecos do processamento, o que inclui a seleção do tipo de material de embalagem. O sistema de embalagem também é responsável pela manutenção das características sensoriais dos produtos, principalmente no caso de bebidas carbonatadas. Nesse sentido este projeto propôs a fabricação e o acompanhamento da viabilidade de probióticos em uma bebida carbonatada à base de soro de leite envasada em dois tipos de embalagens com diferenciais em relação à barreira de oxigênio. Após a fabricação em planta piloto a bebida carbonatada adicionada de probióticos foi acondicionada em dois tipos de embalagens, plástico (PET) com tampa rosqueáveis e vidro com sistema de fechamento tampa metálica tipo torção. A cultura de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) manteve sua viabilidade no mesmo log durante o período de estocagem até 14 dias nas duas embalagens. Aos 30 dias de análise houve queda de 1 log na de vidro e de 2 logs na de plástico. Os resultados deste trabalho mostraram que ao final da estocagem (30 dias) a cultura probiótica manteve uma viabilidade mais adequada na embalagem de vidro.*

Palavras-chaves: soro, subprodutos, bebidas, probióticos, embalagem.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biológicas, PUCC, Campinas-SP;angella.s.lima@hotmail.com.br

2 Colaborador: Pesquisador Científico, ITAL-TECNOLAT

3 Colaborador: Técnica de Apoio à Pesquisa, Graduação em Nutrição, Devry Metrocamp, Campinas-SP

4 Colaborador: Assistente de Pesquisa, Graduação em Ciências Biológicas, UNESP, Rio Claro-SP

5 Orientador: Pesquisador Científico do Instituto de Tecnologia de Alimentos, ITAL-TECNOLAT, atorres@ital.sp.gov.br.



ABSTRACT – The food industry has sought to use whey in the formulation of various food products. Healthy drinks are increasingly popular and will drive market growth in the coming years. The incorporation of probiotics and maintenance of its viability is a constant challenge for the industry and requires the understanding of all the intrinsic and extrinsic factors of the processing, which includes the selection of the type of packaging material. The packaging system is also responsible for maintaining the sensorial characteristics of the products, especially in the case of carbonated beverages. In this sense, this project proposed the manufacture and monitoring of the viability of probiotics in a carbonated beverage based on whey, packaged in two types of packages with differentials in relation to the oxygen barrier. After production in a pilot plant the carbonated beverage added with probiotics was packaged in two types of packaging, plastic (PET) with screw caps and glass with torsion metallic caps closure system. The culture of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) maintained its viability at the same log during the storage period up to 14 days in both packages. At 30 days of analysis there was a decrease of 1 log in glass and 2 logs in plastic. The results of this work showed that at the end of storage (30 days) the probiotic culture maintained a more adequate viability in the glass packaging.

Keywords: whey, byproducts, beverages, probiotics, packaging.

1. INTRODUÇÃO

O soro de leite é o líquido residual obtido a partir da coagulação enzimática do leite destinado à fabricação de queijos ou de caseína. É considerado um subproduto da indústria de laticínios e na sua composição encontram-se quantidades significativas de excelentes componentes como proteínas e lactose. Segundo GONZALES SISO (1996), o soro representa 85 a 95% do volume inicial do leite e contém, aproximadamente, 55% do total de nutrientes do leite. A utilização de soro de queijo na elaboração de bebidas lácteas constitui-se numa forma racional e sustentável de aproveitamento deste produto secundário. Porém, considerando a elevada produção nacional de queijos, a sua disponibilidade ainda é grande. Portanto, mais pesquisas sobre formas possíveis de aumentar o aproveitamento do soro ou de seus derivados se fazem necessárias.

A participação da bebida láctea no mercado tem se ampliado devido às suas características, tais como: valor nutricional com a presença de cálcio e proteínas de alto valor biológico; papel dos componentes bioativos e de bactérias lácticas para a saúde; custo baixo do produto para o



fabricante e preço final acessível para o consumidor (FERREIRA, 1997; 2002; NIELSEN, 1997; SANTOS; FERREIRA, 2001; USDEC, 2011) e bebidas carbonatadas são produtos com grande aceitabilidade junto ao mercado consumidor (PAULA, 2005).

Entre os produtos lançados pela indústria de alimentos estão os alimentos funcionais, que além das funções nutritivas que lhes são inerentes, promovem saúde. Dentre o segmento dos alimentos funcionais os produtos que contém microrganismos probióticos tem grande importância e representatividade. A adição destes microrganismos em produtos não fermentados também é viável, visto que, segundo SHIHATA; SHAH, (2000), tais culturas apresentam metabolismo mais lento e são pouco proteolíticas.

A incorporação de probióticos e manutenção de sua viabilidade nos alimentos para garantir seus benefícios à saúde é um desafio constante para a indústria e requer a compreensão de todos os fatores intrínsecos e extrínsecos do processamento, o que inclui a seleção do tipo de material de embalagem. MATTILA-SANDHOLM et al. (2002) destacaram que os materiais de embalagens e as condições de estocagem são fatores importantes para a qualidade dos produtos contendo probióticos. Em função das linhagens normalmente usadas de probióticos serem anaeróbias ou microaerófilas, o nível de oxigênio dentro da embalagem durante a estocagem do produto deve ser tão baixo quanto possível para evitar a morte dos micro-organismos e perda de funcionalidade. A sobrevivência das bactérias probióticas nos produtos comerciais é de extrema importância, necessitando alcançar populações suficientemente elevadas (tipicamente acima de 10^6 UFC/mL ou para ser de importância fisiológica ao consumidor. Assim a avaliação do sistema de embalagem sobre a viabilidade de culturas probióticas e características organolépticas é essencial para esses produtos.

Nesse sentido este trabalho teve como objetivos a fabricação e o acompanhamento da viabilidade de probióticos em uma bebida carbonatada à base de soro de leite envasada em dois tipos de embalagens com diferenciais em relação à barreira de oxigênio.

2. MATERIAS E METODOS

2.1 Seleção das Embalagens

Foi realizado um teste preliminar para seleção das embalagens a serem utilizadas para o envase da bebida. Adicionou-se água carbonatada a aproximadamente 2-3°C em quatro tipos de embalagens pré-selecionadas, sendo duas embalagens de plásticos e duas embalagens de vidro com diferentes formatos, cor, sistemas de fechamento e volume. As 2 embalagens de plástico



eram de poliéster termoplástico–polietileno tereftalato (PET), transparentes, com tampa rosqueável. Uma com capacidade de armazenamento de 650mL e outras duas com capacidade de armazenamento de 290mL. Das embalagens de vidro uma tinha a capacidade de armazenamento de 270mL, com sistema de fechamento rosqueável com coloração marrom. A outra tinha a capacidade de armazenamento de 320mL, cor transparente e com sistema de fechamento tampa metálica tipo torção. As embalagens adicionadas da água carbonatada foram armazenadas a 5°C por 30 dias. Logo após este período foi feita a abertura das garrafas e verificada a perda de gás por meio de avaliação organoléptica por técnicos e estagiários do Laboratório. Após essa análise foi feita a seleção das embalagens. A Figura 1 apresenta as embalagens que foram testadas.



Figura 1. Embalagens de plástico e vidro avaliadas durante os testes preliminares.

2.2. Processamento da Bebida

O estudo foi realizado no Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Laticínios (TECNOLAT) do ITAL. Para elaboração da bebida foi utilizado o soro do leite, obtido do processamento do queijo Minas Frescal.

As bebidas foram elaboradas, em uma constituição de: soro (subproduto da fabricação de queijos), açúcar como adoçante, citrato de sódio que age como estabilizante, ácido fumárico e ácido cítrico que atuam como acidulantes, sorbato de potássio que é um conservante, aromatizante de limão que confere o sabor, e pectina que estabiliza o pH. A cultura probiótica, utilizada foi *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12 (Chr. Hansen). Os processamentos foram feitos de acordo com Fluxograma representado na Figura 2.

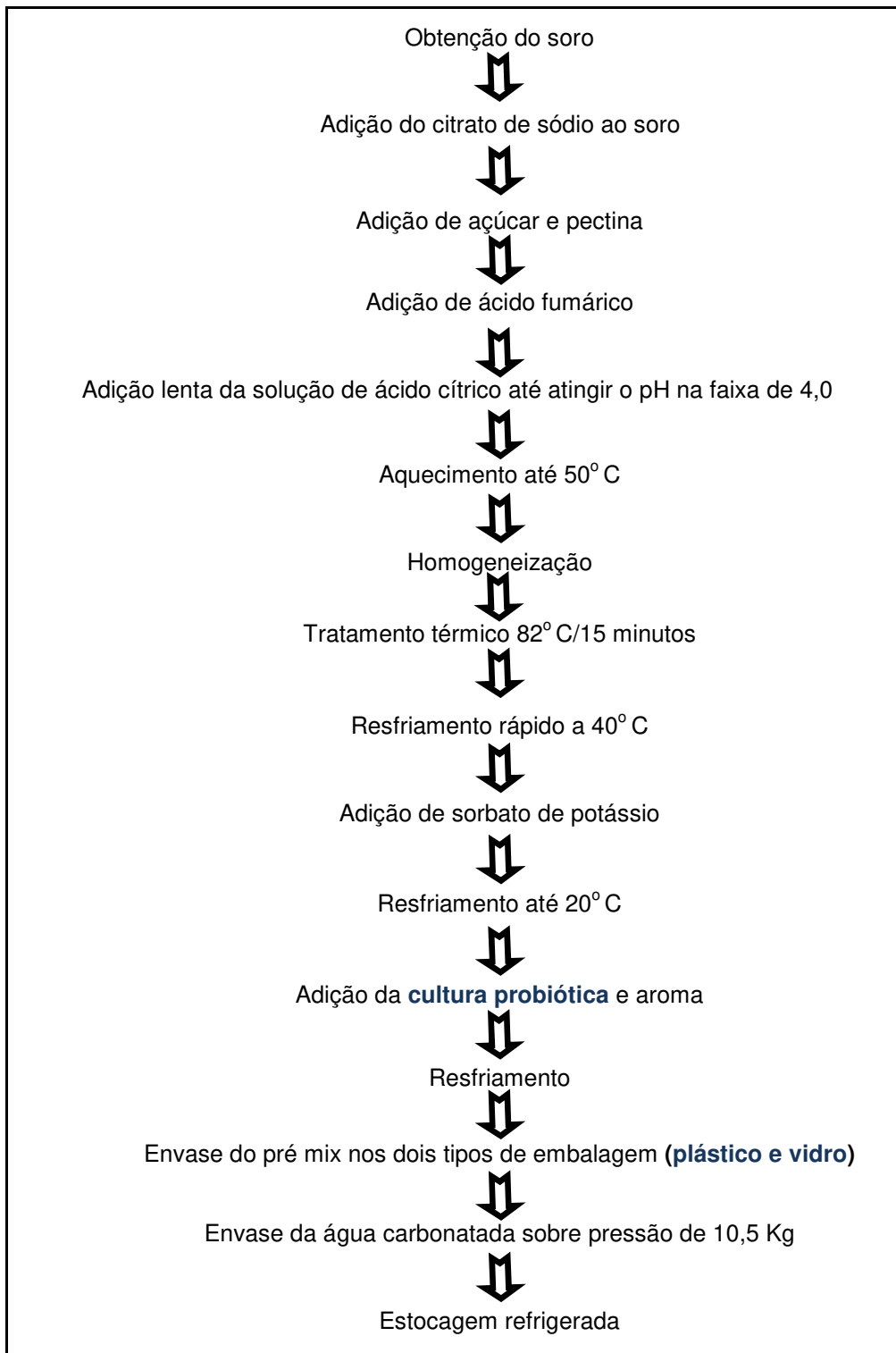


Figura 2. Representação esquemática do processamento da bebida carbonatada com adição de probióticos.



2.3 Determinações Analíticas

Foram feitas análises da bebida, logo após a fabricação, para verificação da qualidade microbiológica da mesma, segundo a APHA (2004). As análises realizadas foram determinação de coliformes a 30 °C e a 45 °C ou termotolerantes, contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos, bolores e leveduras e detecção de *Salmonella spp.*

Além disso, a viabilidade da cultura probiótica, o pH e a acidez foram avaliadas semanalmente após a fabricação e durante a estocagem refrigerada de 30 dias. Para *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 foi utilizada a metodologia Boletim Técnico P-12 da Chr-Hansen, com adaptações à metodologia padrão da IDF No. 411/2007 conforme Grosso; Fávoro-Trindade, 2004. Foi utilizado o Ágar MRS (Difco) suplementado com Dicloxacilina (Sigma), Cloreto de Lítio (Vetec) e L-cisteína (Inlab). A semeadura foi feita por profundidade e incubação anaeróbia (Anaerogen, Oxoid) a 37±1 °C por 72 ±3 horas. Foram feitos testes de catalase e coloração de Gram (Laborclin), para confirmação de Gram positivo. A morfologia foi observada em microscópio Zeiss com objetiva 40x e ocular 10x. Ambas as metodologias são descritas em HARRIGAN (1998). O pH foi medido em potenciômetro digital modelo Micronal – B 474. A acidez foi realizada por titulação com NaOH 0,1N e expressa em % de ácido láctico (% AL) (BRADLEY et al., 1992).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Resultados dos Processamentos em escala piloto da bebida adicionada da cultura probiótica

No teste preliminar foram selecionadas a embalagem de vidro com capacidade de armazenamento de 320mL, com sistema de fechamento tampa metálica tipo torção, e a embalagem de plástico com capacidade de 290mL, com sistema de fechamento rosqueável. Após essa seleção foram feitos os processamentos da bebida em planta piloto e o envase feito nos dois tipos de embalagens selecionados. Os resultados das análises higiênico sanitárias das bebidas são apresentados na Tabela 1 e da viabilidade da cultura, pH e acidez durante a estocagem na Tabela 2. A morfologia apresentada pela cultura probiótica adicionada à bebida pode ser visualizada na Figura 3. A cultura apresentou catalase negativa, coloração de gram G+ e características morfológicas, bastonetes curtos e curvados e com arranjo típico para bifidobactérias. A Figura 4 apresenta o produto envasado nas duas embalagens.



11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2017
02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-141-7

Tabela 1. Resultados das análises higiênico-sanitárias da bebida carbonatada à base de soro.

Microrganismo	Contagem
Contagem total de aeróbios mesófilos (UFC/mL) ^a	< 1 ^c
Contagem total de aeróbios psicotróficos (UFC/mL)	< 1 ^c
Coliformes a 30-35°C (NPM/mL) ^b	<0,3 ^c
Coliformes a 45°C (NMP/mL)	< 0,3 ^c
<i>Salmonella spp</i> (presença/ ausência em 25 mL)	Ausente
Bolores e leveduras (UFC/mL)	2,5x10 ¹

^a UFC/ mL – Unidade formadora de colônia por mL da amostra.

^b NMP/ mL – Número mais provável por mL da amostra.

^c Valor estimado, abaixo do limite de detecção do método.

Tabela 2. Resultados da análise microbiológica em média (n=2) de UFC/mL, e em Log UFC/mL, da contagem de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 e resultado da análise de pH na bebida carbonatada envasada nos dois tipos de embalagem durante a estocagem.

Resultados Contagem <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp <i>lactis</i> (Bb-12)						
Tempo	Plástico			Vidro		
	UFC/ml	Log UFC.ml	pH	UFC/ml	Log UFC.ml	pH
1 dia	6,5x10 ⁶	6,8		6,5x10 ⁶	6,8	4,09
7 dias	1,25x10 ⁶	6,1	4,05	1,2x10 ⁶	6,1	4,06
14 dias	1,0x10 ⁶	6,0	4,07	1,2x10 ⁶	6,1	4,10
30 dias	5,2x10 ⁴	4,7	4,06	3,2x10 ⁵	5,5	4,09

*UFC/mL-unidade formadora de colônias por mL de amostra.

Os resultados apresentados na Tabela 2 evidenciam que o produto apresentou qualidade microbiológica adequada. Esses resultados estão de acordo com os padrões exigidos pela legislação brasileira para bebidas lácteas.

A contagem de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* nos dois tipos de embalagem manteve-se no mesmo log até 14 dias de estocagem. Aos 30 dias de fabricação houve queda de um log na contagem da cultura probiótica (embalagem vidro) e de dois logs na embalagem (plástico-PET).

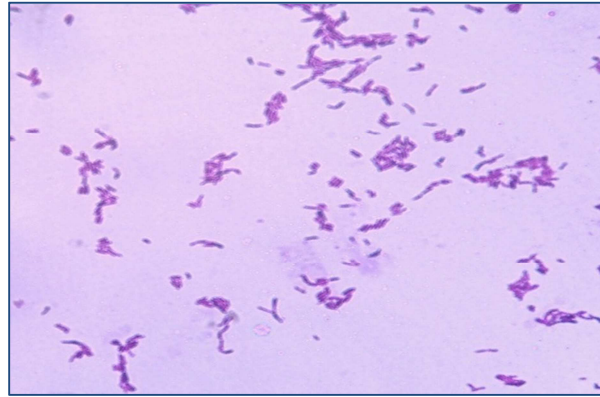


Figura 3: Morfologia de colônia isolada a partir da bebida carbonatada (objetiva 40x e ocular 10x)



Figura 4. Fotos ilustrativas da bebida carbonatada com probióticos envasada nos dois tipos de embalagem PET-plástico (a) e vidro (b).



4. CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho mostraram que ao final da estocagem (30 dias) a cultura probiótica (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12) manteve uma viabilidade mais adequada na embalagem de vidro. Esta embalagem também apresentou maior retenção de gás ao final do período de estocagem (avaliação organoléptica).

Esses resultados devem ser considerados no início da fabricação. Os cálculos da dosagem do fermento adicionado talvez devam levar em consideração o material de embalagem utilizado no envase da bebida carbonatada adicionada de probióticos.

O consumo de bebidas carbonatadas à base de soro adicionadas de probióticos, considerando as excelentes características nutricionais do soro e os benefícios da cultura probiótica pode proporcionar dietas mais saudáveis. Além disso, esse consumo pode contribuir para uma grande diminuição do impacto ambiental dos resíduos gerados pela indústria de laticínios.

5. AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pela bolsa PIBIC e ao ITAL-TECNOLAT pela oportunidade de estágio.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.P.H.A. 2004. **Standard methods for the microbiological examination of dairy products**. 17th ed. American Public Health Association. Washington, D.C.

BRADLEY, R. L. *et al.* Chemical and physical methods. *In: MARSHALL, R.T. (Ed) Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, 1992, **American Public Health Association**, Washington, p. 433 – 529.

FERREIRA, A. C. **Breve história e perspectivas para a indústria de laticínios no Brasil**. 2º Simpósio de Tecnologia de Produtos Lácteos – Germinal, 2002.

FERREIRA, A. C. Tendências mercadológicas de produtos lácteos fermentados e bebidas lácteas. *In: LERAYER, A. L. S., SALVA, T. J. G. (coords.). Leites fermentados e bebidas lácticas*. Campinas: ITAL, p. 7.21-7.40, 1997.

GONZALEZ SISO, M.I. The biotechnological utilization of cheese whey: a review. **Bioresource Technology**. V. 57, p. 1-11, 1996.

GROSSO, C. R. F.; FÁVARO-TRINDADE, C. Stability of free and immobilized *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in acidified milk and of immobilized *B. lactis* in yoghurt. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 151-156, 2004.

HARRIGAN, W.F. **Laboratory methods in food microbiology**. Academic Press, San Diego, 1998.



11º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2017
02 a 04 de agosto de 2017 – Campinas, São Paulo
ISBN 978-85-7029-141-7

IDF 411 (2007). Selective enumeration of Bifidobacteria in Dairy Products: Development of a Standard Method. **Bulletin of the International Dairy Federation.**

MATTILA-SANDHOLM, T., MYLLARINEN, P. M., CRITTENDEN, R., MOGENSEN, G., FONDEN, R., SAARELA, M. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dairy Journal**, n.12, p.173–182, 2002.

NIELSEN, A. C. Tendência do mercado de iogurtes e bebidas lácteas: evolução dos segmentos. In: LERAYER, A. L. S., SALVA, T. J. G. (coords.). **Leites fermentados e bebidas lácteas.** Campinas: ITAL, p. 2.11-2.25, 1997.

PAULA, J.C.J. **Elaboração e estabilidade de bebida carbonatada aromatizada à base de soro de leite.** Tese. Universidade Federal de Viçosa, 2005, 57p.

SANTOS, J. P. V.; FERREIRA, C. L. L. F. Alternativas para o aproveitamento de soro de queijo nos pequenos e médios laticínios. **Rev. do Inst. de Lat. Cândido Tostes**, v. 56, n. 3, p. 44-50, 2001.

SHAH, NP. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.4, p.894 – 907.2000.

SHIHATA, A; SHAH, N.P. Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria. **International Dairy Journal.** v.10, p. 401-408. 2000.

UNITED STATES DAIRY EXPORT COUNCIL (USDEC). 2011a. **Whey products definition, composition, and function.** Page 37 in Reference Manual for US Whey and Lactose Products. US Dairy Export Council, Arlington, VA