

Foto: Tomas May



## Obtenção de Bebidas Fermentadas por Probióticos a partir de Diferentes Matérias-Primas da Soja

Eduardo Henrique Miranda Walter<sup>1</sup>  
Muriel da Silva Carneiro<sup>2</sup>  
Ilana Felberg<sup>3</sup>  
David Regis de Oliveira<sup>4</sup>  
Simone Duarte de Oliveira Costa<sup>5</sup>  
Carmine Conte<sup>6</sup>

### Introdução

Os probióticos são definidos como “microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo” (AGÊNCIA..., 2002). Existem relatos científicos, com diferentes níveis de evidência, de que os probióticos podem contribuir em funções digestivas, imunológicas e respiratórias, assim como no alívio de doenças infecciosas em crianças e grupos de risco (FAO, 2006). Os principais microrganismos probióticos empregados em produtos comerciais são cepas de bactérias dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*.

Para que um microrganismo possa ser considerado probiótico é necessário atender a uma série de requisitos. Além da segurança do produto, o microrganismo precisa passar por testes *in vitro* e *in vivo* para comprovação de propriedades funcionais ou de saúde. Existe a necessidade de estabelecer

a quantidade diária de microrganismos probióticos requerida para conferir benefícios à saúde e, preferencialmente, um regime de dosagem com duração definida (AGÊNCIA..., 2016; FAO; WHO, 2006). Assim, é fundamental que os probióticos estejam vivos e em concentrações adequadas no produto.

Os alimentos com probióticos tipicamente devem conter pelo menos  $10^8$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC) do microrganismo no produto pronto para o consumo (CHAMPAGNE et al., 2011). Para atender a essa recomendação diária de probióticos, uma porção de bebida de soja de 200 mL (um copo), por exemplo, deve apresentar uma quantidade mínima de 100 milhões de microrganismos. Alcançar e manter esta elevada concentração de microrganismos até o momento do consumo é um dos principais desafios tecnológicos no desenvolvimento de alimentos com probióticos.

<sup>1</sup> Engenheiro de Alimentos, D.Sc. em Tecnologia de Alimentos, pesquisador da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

<sup>2</sup> Nutricionista, mestranda profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

<sup>3</sup> Farmacêutica Bioquímica, D.Sc. em Ciência de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

<sup>4</sup> Químico, técnico da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

<sup>5</sup> Engenheira de Alimentos, M.Sc. em Ciência e Tecnologia de Alimentos, analista da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

<sup>6</sup> Engenheiro Químico, analista da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

A fermentação é um processo tecnológico tradicional, relativamente simples, em que ocorre a multiplicação de microrganismos e a transformação de constituintes do alimento. O processo de transformação por probióticos deve ser conduzido de modo a alterar desejavelmente tanto as características sensoriais quanto o valor nutricional do alimento, assim como obter uma elevada concentração dos microrganismos que conferem as propriedades funcionais (FARIA; WALTER; CRUZ, 2011).

Este trabalho apresenta o processo de fermentação por microrganismos probióticos de três bebidas obtidas com diferentes matérias-primas derivadas da soja. As bebidas foram elaboradas pelo processo tradicional a partir do grão de soja e pela reidratação direta de dois tipos de extratos de soja em pó comerciais. Todos os insumos e aditivos empregados no processo estão disponíveis no mercado nacional.

## Processo Tecnológico

As bebidas de soja foram preparadas a partir de três tipos de matérias-primas: i) grãos de soja (GS) do cultivar BRS 232; ii) extrato de soja em pó comercial obtido por meio de extração líquida (ESP-EL), envolvendo a formação de emulsão aquosa e secagem em "spray dryer"; iii) extrato de soja em pó comercial produzido por extração sólida (ESP-ES), incluindo as etapas de secagem e moagem.

Os ingredientes utilizados na formulação das bebidas de soja incluíram: açúcar (sacarose) (Camil Alimentos, Araquari - SC), fosfato tricálcico (Granotec do Brasil S.A., Curitiba - PR), sorbato de potássio (Tate & LyleGemacom Tech Ind. e Com. S.A., Juiz de Fora - MG), sal (cloreto de sódio) (Refinorte, Refinaria de Sal Dunorte, Mossoró - RN) e dois tipos de fermentos lácticos: *Bifidobacterium animalis* subesp. *lactis* BB-12 (Chr. Hansen Ind. e Com. Ltda., Valinhos - SP) e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 (Chr. Hansen Ind. e Com. Ltda., Valinhos - SP). Os fermentos em pó foram adquiridos em sacos laminados e armazenados em congelador até o momento de uso.

## Obtenção das bases líquidas de soja

As três bebidas de soja foram obtidas a partir de bases líquidas preparadas com GS, ESP-EL e ESP-ES, conforme Figura 1. A base líquida GS foi elaborada por extração aquosa do grão, de acordo com o processo tecnológico estabelecido por Felberg et al. (2009). As bases líquidas ESP-EL e ESP-ES foram preparadas pela reidratação dos respectivos extratos de soja em pó a 6% p/v com água potável.

## Formulação

As três bases líquidas de soja foram formuladas com açúcar a 6% p/v, fosfato tricálcico a 0,4% p/v e sorbato de potássio a 0,1% p/v. Estes aditivos e ingredientes foram misturados às bases líquidas em cubas de 1,8 L.

## Pasteurização e resfriamento inicial

Após a formulação, as bebidas foram submetidas à pasteurização em batelada, para destruição de microrganismos potencialmente patogênicos e deterioradores, de modo a garantir a adequação da fermentação e a segurança do produto. As bebidas foram aquecidas sob agitação lenta até atingirem a temperatura de 70 °C, sendo mantidas na faixa de 70 a 75 °C por dois minutos. O resfriamento foi efetuado em banho de água, à temperatura ambiente, até as bebidas atingirem temperaturas entre 45 e 40 °C.

## Condicionamento

As bebidas pasteurizadas foram mantidas em banho termostático, sem agitação, à temperatura de  $42 \pm 2$  °C. Este condicionamento antes da inoculação visa estabelecer temperaturas adequadas ao início do processo de fermentação.

## Inoculação

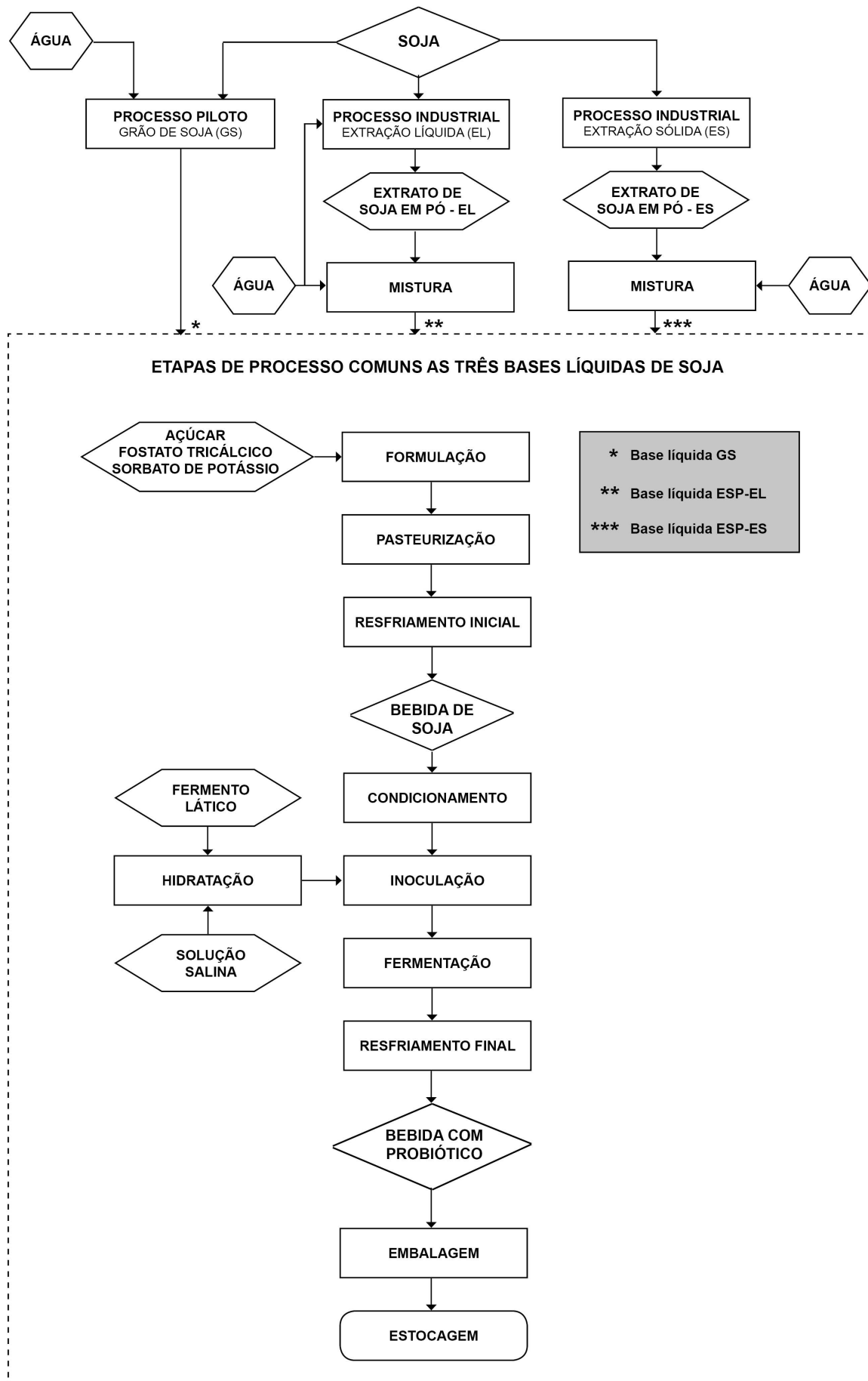
Para realização da inoculação, a primeira etapa consistiu no preparo do inóculo de *Bifidobacterium* e do inóculo de *Lactobacillus*, da seguinte forma: 1,0 g de cada fermento láctico foi reidratado separadamente em 33 mL de solução de cloreto de sódio a 0,5% p/v e agitado lentamente em intervalos de 10 minutos, durante 30 minutos. A inoculação foi conduzida pela adição de uma alíquota de 10 mL do inóculo de *Bifidobacterium* em 1.250 mL de cada uma das três bebidas de soja. Após as inoculações, as bebidas foram agitadas lentamente, com dois e quatro minutos de incubação. Este procedimento foi repetido nas inoculações de *Lactobacillus*.

## Fermentação

A fermentação também foi conduzida no banho termostático, sem agitação das bebidas. O controle do processo foi efetuado pela manutenção da temperatura a  $42 \pm 2$  °C e pela medição de pH. As bebidas de soja foram fermentadas até atingirem a faixa de pH entre 4,90 - 4,80, conforme parâmetros estabelecidos por Walter (2014). Após período de quatro a cinco horas de fermentação, as bebidas atingiram a faixa de pH especificada e foram submetidas ao resfriamento final.

## Resfriamento final

O resfriamento final foi realizado pela agitação lenta das bebidas em banho de água com gelo até atingirem temperaturas inferiores a 10 °C. O resfriamento em faixa específica de pH (4,90 - 4,80) tem como objetivo desacelerar o processo de fermentação, de modo que as bebidas apresentem características sensoriais desejáveis e uma concentração adequada de bactérias probióticas.



**Figura 1.** Fluxograma de processo das bebidas de soja fermentadas por probióticos (*Bifidobacterium animalis* subesp. *lactis* BB-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5).

## Embalagem e estocagem

As bebidas foram envasadas em garrafas plásticas de politereftalato de etileno (PET) com tampas de rosca de polipropileno (PP). A estocagem foi conduzida à temperatura de  $8 \pm 2$  °C por um período de seis semanas.

## Caracterização dos Produtos

O processo tecnológico permitiu a produção de seis produtos:

- Bebida fermentada GS, com *Bifidobacterium animalis* subesp. *lactis* BB-12;
- Bebida fermentada ESP-EL, com *Bifidobacterium animalis* subesp. *lactis* BB-12;
- Bebida fermentada ESP-ES, com *Bifidobacterium animalis* subesp. *lactis* BB-12;
- Bebida fermentada GS, com *Lactobacillus acidophilus* LA-5;
- Bebida fermentada ESP-EL, com *Lactobacillus acidophilus* LA-5;
- Bebida fermentada ESP-ES, com *Lactobacillus acidophilus* LA-5.

Todas as bebidas atingiram valores de pH na faixa entre 4,90 - 4,80. A concentração de microrganismos probióticos foi maior que  $10^8$  UFC por porção de 200 mL das bebidas, durante pelo menos seis semanas de estocagem refrigerada a  $8 \pm 2$  °C, independentemente da matéria-prima de soja e do tipo de bactéria probiótica. Estes resultados indicam que as bebidas podem atender aos requisitos legais para alimentos com alegações de propriedades funcionais (AGÊNCIA..., 2016), por conterem bactérias probióticas que contribuem para o equilíbrio da flora intestinal.

## Considerações Finais

O processo tecnológico mostrou-se adequado para fermentação e manutenção da viabilidade das bactérias probióticas nas bebidas de soja estudadas, durante pelo menos seis semanas de estocagem refrigerada. A produção das bebidas com extratos de soja em pó representa uma simplificação substancial em relação ao processo tradicional, a partir do grão.

Esta tecnologia amplia as possibilidades industriais de produção das bebidas, incluindo especialmente os laticínios, amplamente distribuídos pelo país. As bebidas de soja com probióticos podem ser produzidas com insumos similares e com os equipamentos tipicamente empregados pelos laticínios para elaboração de bebidas lácteas fermentadas.

## Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução RDC nº 2, de 9 de janeiro de 2002. Regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 9 jan. 2002. Seção 1, v. 6, p.191-192.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>>. Acesso em: 22 dez. 2016.

CHAMPAGNE, C. P.; ROSS, R. P.; SAARELA, M.; HANSEN, K. F.; CHARALAMPOPOULOS, D. Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. **International Journal of Food Microbiology**, v. 149, p. 185-193, 2011.

FARIA, J. A. F.; WALTER, E. H. M.; CRUZ, A. G. Sistemas de embalagem para alimentos prebióticos e probióticos. In: SAAD, S. M. I.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. **Probióticos e prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Varela, 2011. p. 163-194.

FAO. **Probiotics in food: health and nutritional properties and guidelines for evaluation**. Rome: FAO/WHO, 2006. 50 p. (FAO. FOOD AND NUTRITION PAPER, 85).

FELBERG, I.; ANTONIASSI, R.; DELIZA, R.; FREITAS, S. C.; MODESTA, R.C.D. Soy and Brazil nut beverage: processing, composition, sensory, and color evaluation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, p. 609-617, 2009.

WALTER, E. H. M. Desenvolvimento de bebidas fermentadas de soja com funcionalidade probiótica. In: WORKSHOP EMBRAPA/MONSANTO, 5, 2014, Brasília. **Acompanhamento da carteira de projetos**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. 4 p.

### Comunicado Técnico, 219

Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
**Embrapa Agroindústria de Alimentos**  
**Endereço:** Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba  
23020-470 - Rio de Janeiro - RJ  
**Fone:** (21) 3622-9600 / **Fax:** (21) 3622-9713  
**Home Page:** [www.embrapa.br/agroindustria-de-alimentos](http://www.embrapa.br/agroindustria-de-alimentos)  
**SAC:** [www.embrapa.br/fale-conosco](http://www.embrapa.br/fale-conosco)

1ª edição  
1ª impressão (2016): tiragem (50 exemplares)

### Comitê de Publicações

**Presidente:** Virginia Martins da Matta  
**Membros:** Ana Iraidy Santa Brígida, André Luis do Nascimento Gomes, Celma Rivanda Machado de Araujo, Daniela De Grandi Castro Freitas de Sá, Elizabete Alves de Almeida Soares, Leda Maria Fortes Gottschalk, Renata Torrezan e Rogério Germani

### Expediente

**Supervisão editorial:** Daniela De Grandi C. F. de Sá  
**Revisão de texto:** Virginia Martins da Matta  
**Normalização bibliográfica:** Celma R. M. de Araujo  
**Editoração eletrônica:** André Luis do N. Gomes