

FERMENTAÇÃO LÁCTICA DE FRUTAS TROPICAIS

R.R. MALDONADO¹, L.C.ARAÚJO¹, L.C.S. DARIVA¹, K.N.REBAC¹, I.A.S., PINTO, J.P.R. PRADO¹, J.K.SAEKI¹, T.S. SILVA¹, E.K. TAKEMTASU¹, N.V. TIENE¹, E. AGUIAR-OLIVEIRA²

¹ Colégio Técnico de Campinas, Universidade Estadual de Campinas

² Universidade Estadual de Campinas, Departamento de Engenharia de Alimentos
E-mail para contato: ratafta@yahoo.com.br

RESUMO – Sucos de frutas vêm sendo utilizados na obtenção de bebidas lácticas de sabor diferenciado e baixo teor de lactose. Esse trabalho avaliou o potencial de frutas tropicais (carambola, goiaba, manga e pitaiá) na produção de fermentado láctico com e sem adição de soro de leite. As frutas foram trituradas e diluídas para concentração de 7 a 8 °Brix para obtenção do suco. Os sucos e soro de leite foram pasteurizados por 5 minutos a 80°C. As fermentações foram realizadas em frascos de 500 mL com volume útil de 300 mL, a 37°C por 72 horas, sem agitação. Foram avaliadas formulações com 100% de suco, 100% de soro de leite e mistura 50:50 (% v/v) de suco com soro, todos inoculados com 1.10⁶ UFC/mL de cultura láctica liofilizada (*L. casei*, *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*). Os resultados mostraram bom desenvolvimento da cultura láctica em todas as formulações, especialmente com manga e goiaba. O pH final variou entre 3,4 e 4,0; a acidez titulável de 0,20 a 1,00% m/v e a concentração de sólidos solúveis, de 5 a 7° Brix. Todas as formulações avaliadas mostraram bom potencial para obtenção de bebidas lácticas fermentadas de frutas com ou sem uso do soro de leite.

1. INTRODUÇÃO

A fermentação láctica de produtos alimentícios é uma alternativa interessante e bastante aplicada para a obtenção de produtos diferenciados a partir do leite e derivados; nesse processo, lactose é fermentada pelas denominadas bactérias do ácido láctico; tal processo resulta na diminuição do teor de lactose e na acidificação do meio e formação de metabólitos secundários conferindo ao produto características diferenciadas, maior vida útil além de um reduzido teor de lactose.

Entretanto, apesar de a fermentação láctica estar muito mais frequentemente associada ao leite e a subprodutos lácteos, como o soro de leite, ela também pode ser obtida a partir de outros substratos, como as polpas de frutas, desde que possuam açúcares fermentáveis em suas composições (Di Cagno et al., 2013). O uso de frutas apresenta ainda um grande diferencial, a incorporação de aromas e nutrientes específicos, resultando em produtos com características próprias e isentos de lactose, que podem ser bem aceitos pelo consumidor. Devido ao grande potencial de aplicação das polpas de frutas, diversas pesquisas vêm sendo realizadas visando a aplicação destes substratos não convencionais em fermentações láctica e resultados similares são

obtidos quando em comparação com o uso de leite e derivados. Sabe-se, entretanto, que a sobrevivência de microrganismos em substratos à base de frutas tende a ser mais complexa do que empregando-se leite e derivados, principalmente devido a acidez natural das frutas e altos níveis de açúcares e polifenóis que podem interferir na sobrevivência e crescimento de certos microrganismos, conforme observado nos estudos de Di Cagno et al. (2011) e Fonteles et al. (2013).

Muitas frutas tem sido selecionadas para a fermentação láctica e a princípio, qualquer fruta é passível de ser fermentada mas é necessário uma série de estudos que comprovem sua viabilidade. Suco de caju, por exemplo, foi utilizado por Pereira et al. (2011) como substrato para fermentação láctica por *Lactobacillus casei* a 30 °C; de acordo com estes pesquisadores, a adição de açúcar ao suco favoreceu a contagem de células viáveis e ao se estocar os sucos fermentados a 4 °C foi observado que *L. casei* é capaz de continuar a produzir ácido láctico por 42 dias e consequentemente reduzir o pH dos sucos mesmo em baixas temperaturas. Visando a obtenção de vitaminas fermentadas por culturas lácticas, Di Cagno et al. (2011) isolaram diversos microrganismos (*Wessalla cibaria*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sp.* e *Lactobacillus pentosus*) e os aplicaram em vitaminas preparadas a base de amora, ameixa, kiwi, mamão e erva-doce; foi observado que após a fermentação láctica, as vitaminas apresentaram maior aceitação sensorial e maior valor nutricional. Já a fermentação láctica de suco de romã por 3 cepas de *Lactobacillus plantarum* foi conduzida por Filannino e equipe (2013) e, de acordo com eles, algumas características naturais do suco (pH, compostos fenólicos, etc.) interferiram no desenvolvimento da cultura tendo sido necessário um longo tempo de fermentação (120 h), em comparação com outros substratos, para a obtenção de resultados nutricionais e sensoriais satisfatórios.

Tendo em vistas os resultados observados na literatura, este trabalho teve como objetivo realizar a fermentação láctica de sucos de diferentes frutas tropicais – manga, carambola, pitaita de casca vermelha e goiaba – visando a obtenção de fermentados lácticos com sabores e composição nutricional diferenciada. A utilização dos sucos em conjunto com soro de leite, um subproduto que possui grande aplicação em formulações de produtos lácteos, também foi avaliada quanto a concentração de sólidos solúveis, identificação de células viáveis, pH e acidez titulável.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

As frutas utilizadas foram adquiridas em um supermercado da região de Campinas - SP, Brasil. Para o preparo das polpas, as frutas foram higienizadas e descascadas; em seguida foram trituradas em liquidificador e a concentração de sólidos solúveis foi ajustada, quando necessário, por diluição com água destilada para 7 °Brix. As polpas foram então pasteurizadas em batelada, a 80 °C por 5 minutos (Nagpal, Kumar & Kumar, 2012), envasadas a quente em frascos de vidro e posteriormente congeladas a -18 °C.

O soro de leite foi obtido a partir da coagulação do leite *in natura* fornecido por um produtor local. O processo de coagulação foi conduzido com a adição da cultura láctica ($1,0 \cdot 10^6$

UFC/mL) e coalho; como cultura láctica foi empregado um pote (170 g) de iogurte natural comercial. Após uma hora de coagulação em temperatura ambiente, o soro do leite foi separado por filtração, pasteurizado, envasado e congelado segundo o mesmo procedimento descrito acima para as polpas de fruta.

Foram selecionadas, para este estudo, as frutas tropicais: manga (*Magifera indica L.*) variedade Tommy Atkins, carambola (*Averrhoa carambola L.*), pitáia de casca vermelha e polpa branca (*Hylocereus undatus*) e goiaba (*Psidium guajava*). No primeiro lote foram avaliados de formulações utilizando polpa de manga, polpa de pitáia, soro de leite e misturas das polpas de frutas com soro de leite na proporção 50:50 (% v/v). No segundo lote, repetiu-se o mesmo procedimento, desta vez, com a fermentação das polpas de carambola e goiaba. Cada formulação acima mencionada foi fermentada em triplicata, utilizando erlenmeyers de 500 mL previamente esterilizados, contendo 300 mL de substrato (polpa de fruta, soro de leite ou mistura de polpa de fruta com soro de leite). Em cada frasco inoculou-se diretamente a cultura láctica liofilizada (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*) em quantidade suficiente para contagem inicial de 1.10^6 UFC/mL, fornecida pela Rhodia Foods®. Os frascos foram mantidos a 37°C sem agitação por 72 horas. Amostras da fermentação foram coletadas nos tempos de 24, 48 e 72 horas para avaliação de concentração de sólidos solúveis, pH, acidez titulável e avaliação do crescimento microbiano.

A concentração de sólidos solúveis foi medida diretamente em refratômetro (Atago - Master-53M) e o pH foi medido diretamente em pHmetro (Hanna - HI 3222-01). A acidez foi determinada através da titulação com NaOH 0,1 mol/L; o ponto final da titulação foi determinado através do acompanhamento do pH até valor final 7,8 - 8,2 com pHmetro. O crescimento microbiano foi avaliado através do método de coloração de Gram para identificar qualitativamente o crescimento e o tipo de microrganismos presentes no fermentado; as lâminas foram visualizadas em microscópio (Bioval - L-2000B-PL) com um aumento de 200 vezes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. CONCENTRAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS E IDENTIFICAÇÃO DE CÉLULAS VIÁVEIS

Os resultados obtidos para concentração de sólidos solúveis durante a fermentação láctica de diferentes formulações, contendo ou não polpa de frutas tropicais, podem ser visualizados na Figura 1.

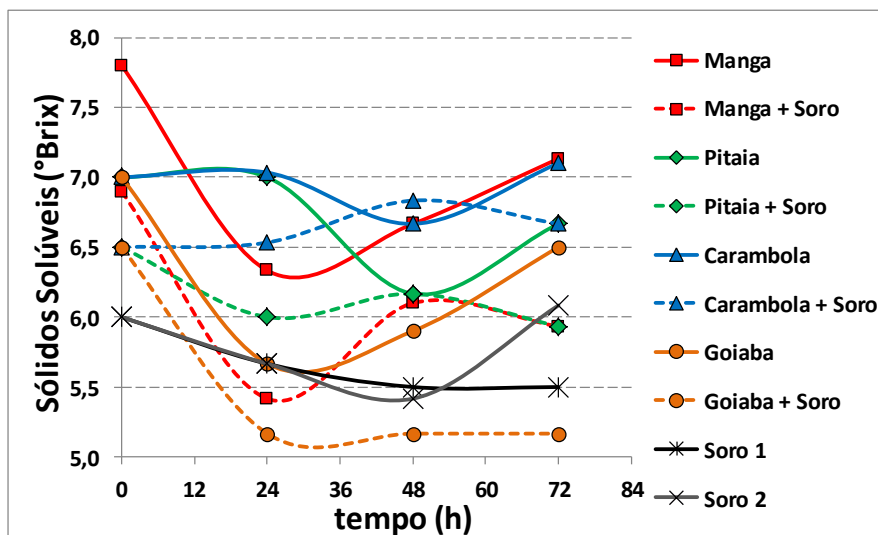


Figura 1 – Concentração de sólidos solúveis (°Brix) para fermentação láctica de frutas tropicais acrescidas (linhas pontilhadas) ou não (linhas sólidas) de soro de leite.

A concentração inicial de cada formulação variou de acordo com sua composição (Figura 1); as polpas de frutas apresentaram concentrações de sólidos solúveis maiores do que o soro de leite e as formulações contendo soro e polpa de frutas devido à diluição. De forma geral, é possível perceber que em todas as formulações há uma diminuição da concentração de sólidos solúveis no início da fermentação (até 24 horas), indicando o consumo de substrato para o desenvolvimento da cultura láctica. Após este período há uma estabilização ou ligeiro aumento na concentração de sólidos solúveis até o final do processo fermentativo.

A concentração de sólidos solúveis neste tipo de fermentado pode ser considerada como um balanço entre o consumo de açúcares e a formação de ácidos (principalmente ácido láctico) durante o processo fermentativo. No início do processo fermentativo o consumo de açúcares é mais intenso em função do crescimento celular acelerado. Após 24 horas, o crescimento celular provavelmente torna-se mais lento, havendo menor consumo de açúcares para o crescimento celular, no entanto, a produção de ácido láctico continua acontecendo até o final do processo fermentativo (conforme pode ser observado na Figura 2).

Resultado similar pode ser observado no trabalho de Fonteles et al. (2012) que avaliou a fermentação láctica em suco de melão; segundo esses autores, o crescimento celular é intenso nas primeiras horas de fermentação. A fase exponencial de crescimento foi de 8 horas para *L. casei*, no entanto o crescimento continua até 20 horas de fermentação, após este período foi observado um declínio na viabilidade das células no meio de fermentação. Ao fermentar vitaminas mistas de frutas, Di Cagno et al. (2011) observaram um aumento na contagem de bactérias do ácido láctico em 24 h de processo (30 °C) e com 30 dias de estocagem (4 °C) houve uma redução nesta contagem de meio ciclo logarítmico.

A avaliação do crescimento celular foi realizada através da coloração de Gram e os resultados obtidos mostraram-se dentro do esperado, ou seja, houve desenvolvimento da cultura láctica na forma de bactérias Gram-positivas e a população de microrganismos era formada por cocos e bastonetes em todas as formulações avaliadas, mostrando boa adaptação da cultura aos diferentes substratos avaliados.

A única exceção verificada foi com as formulações contendo polpa de carambola, nas quais se observou apenas o desenvolvimento de cocos e a ausência de bastonetes. Este resultado pode ser correlacionado ao comportamento diferente em relação à curva de sólidos solúveis observados na Figura 1. Tanto para a formulação com polpa de carambola quanto para a mistura polpa de carambola + soro de leite, o consumo de sólidos solúveis foi muito pequeno comparado às demais formulações; isto sugere que a adaptação da cultura láctica para este substrato não aconteceu da mesma forma que as demais condições. Este fato necessita ser melhor investigado, uma vez que a composição de macro nutrientes das frutas avaliadas são bastante semelhantes entre si conforme a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO (<unicamp.br/nepa/taco/>). É possível que a carambola apresente algum fator antinutricional que torne mais difícil o desenvolvimento das culturas lácticas, conforme mencionado anteriormente. De forma comparativa, Napahde et al. (2010) observaram ao produzir vinho de carambola, que a quantidade de açúcares fermentáveis da polpa não é suficiente para a produção de vinho, sendo necessário a adição de açúcar e um tempo de 21 dias para completar a fermentação.

3.2. ACIDEZ TITULÁVEL E pH

Os perfis de acidez titulável e pH obtidos durante a fermentação de preparados de polpas de frutas tropicais e soro de leite, podem ser visualizados nas Figuras 2 e 3.

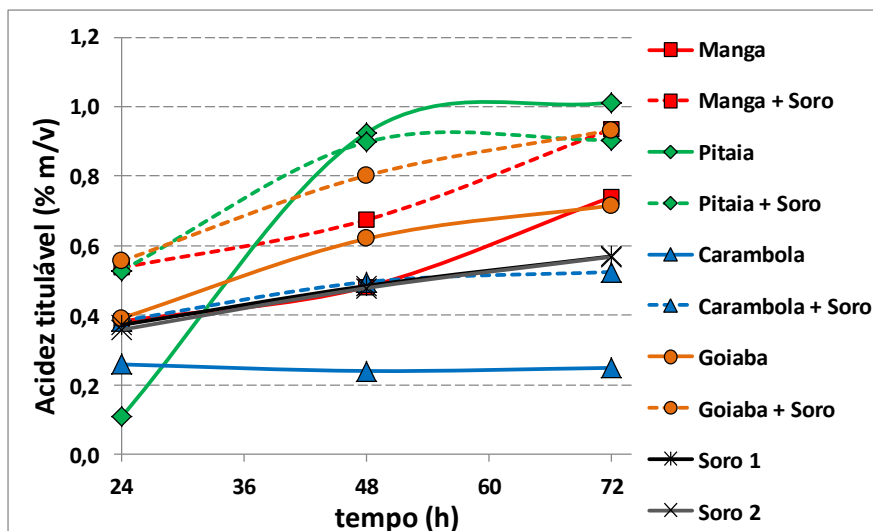


Figura 2 – Acidez titulável (% m/v) para fermentação láctica de polpas de tropicias acrescidas (linhas pontilhadas) ou não (linhas sólidas) de soro de leite.

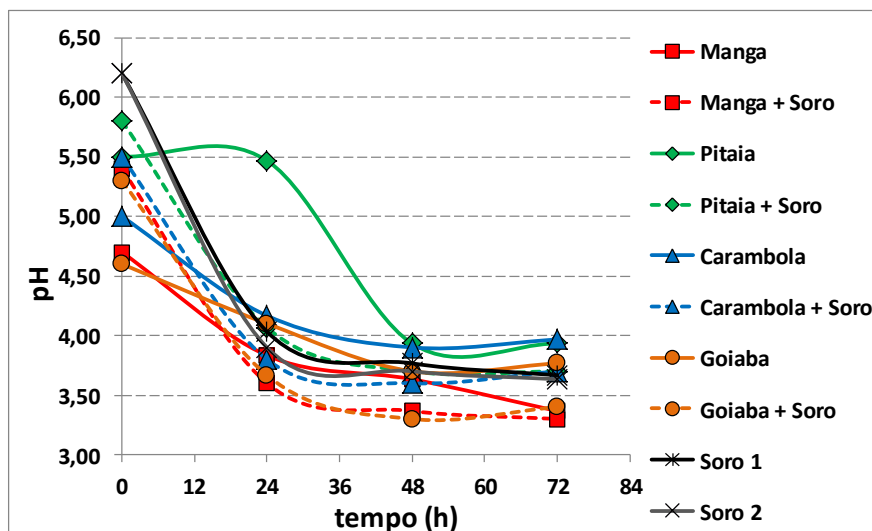


Figura 3 – pH para fermentação láctica de frutas tropicais acrescidas (linhas pontilhadas) ou não (linhas sólidas) de soro de leite

Com base ainda na Figura 1, e de acordo com as Figuras 2 e 3, é possível confirmar que há uma rápida adaptação dos microrganismos aos substratos fornecidos e uma consequente estabilização da fermentação após 24 h de processo. De forma geral, o pH decaiu nas primeiras 24 h estabilizando em valores entre 3,0 e 4,0 pelas próximas horas de processo e a acidez titulável apresentou perfil crescente a partir de 24 h refletindo o crescimento microbiano.

Resultados semelhantes foram observados por Fonteles et al. (2012) com suco de melão fermentado por *L. casei* em que foi relatado um perfil de pH decrescente em 24 h de processo com o pH caindo de 6,0 para 3,5. Já Kourkoutas et al. (2005), empregando o mesmo microrganismo porém imobilizado em pedaços de marmelo e de maçã, observaram reduções no pH, por exemplo, de 6,6 para 4,8 após 16 horas de fermentação. Filannino et al. (2013) observaram, em média, com suco de romã (pH 3,52) uma leve redução para 3,20 e após 30 dias um leve acréscimo para 3,42.

Entretanto, a utilização da polpa de pitaia resultou em perfis de pH e acidez tituláveis diferenciados das demais frutas (Figuras 2 e 3). Com a condição contendo apenas a polpa da fruta, observou-se que a acidez titulável e o pH permaneceram praticamente inalterados até 24 h, sugerindo uma adaptação mais difícil da cultura láctica a este substrato. Os dados de concentração de sólidos solúveis também demonstram essa dificuldade de adaptação, uma vez que até 24 horas praticamente não houve consumo de açúcares.

A análise microbiológica mostrou a presença de cocos no início da fermentação, mas praticamente não havia presença de bactérias na forma de bastonetes, o que sugere que a adaptação dos *Lactobacillus* foi mais difícil para esta fruta. Nas amostragens de 24 e 48 horas, havia presença de bastonetes nas formulações utilizando pitaia, no entanto, sempre em quantidade inferior a de cocos.

Já a condição contendo a polpa de pitaiá e o soro apresentou perfil de pH decrescente durante as 72 h de fermentação e seu perfil de acidez titulável apresentou um decréscimo considerável após 48 h. A avaliação microbiológica demonstrou um melhor desenvolvimento de bastonetes quando foi utilizado soro de leite na formulação. Tais observações indicam que a polpa de pitaiá pode ser um bom substrato para o desenvolvimento de *Streptococcus* mas é um meio pobre para o crescimento de *Lactobacillus*.

A polpa de carambola, conforme discutido anteriormente, teve comportamento diferenciado que foi comprovado pelo perfil de acidez titulável (Fig. 2). Tanto na formulação contendo apenas carambola como na formulação contendo carambola + soro de leite, a concentração de ácidos no meio de fermentação permanece praticamente inalterada, o que está de acordo com a observação microbiológica que indicou um menor desenvolvimento da cultura láctica neste meio. A Figura 3 demonstra ainda que a fermentação com carambola foi a que exibiu a menor redução de pH ao longo do processo fermentativo.

4. CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos é possível concluir que as polpas de manga e de goiaba em composição ou não com o soro de leite mostraram boa potencialidade como substratos para a fermentação láctica de uma cultura mista de *L. casei*, *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* a 37°C e sem agitação. Nessas condições pode-se afirmar que o tempo de 24 horas de fermentação é suficiente para se atingir o máximo do desenvolvimento da cultura láctica e uma estabilização nos valores de pH do fermentado obtido. Com relação a utilização da polpa de carambola esta mostrou-se inibidora do desenvolvimento da cultura láctica, uma vez que a análise microbiológica apontou apenas o desenvolvimento de cocos nas fermentações com esta fruta; já o emprego da polpa de pitaiá resultou em uma longa fase de adaptação com resultados aquém dos observados com as outras polpas; recomenda-se, portanto, estudos complementares da fermentação destas duas polpas para seu melhor emprego. De forma geral, todas as frutas avaliadas podem ser utilizadas para obtenção de fermentados lácticos, com ou sem adição de soro de leite existindo um grande potencial a ser explorado nesta área tanto na utilização das frutas tropicais para obtenção de novos produtos como no melhor aproveitamento do soro de leite. As frutas utilizadas apresentam sabores bastante característicos e rica composição nutricional, podendo ser uma excelente alternativa para o desenvolvimento de bebidas fermentadas, com valor nutricional elevado e também isentas de lactose, uma vez que o leite ou soro de leite não são ingredientes indispensáveis ao processo de fermentação láctica.

6. REFERÊNCIAS

- DI CAGNO, R.; CODDA, R.; DE ANGELIS, M.; GOBBETTI, M. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiol.*, v. 33, p. 1-10, 2013.
- DI CAGNO, R.; MINERVINI, G.; RIZZELLO, C.G.; DE ANGELIS, M.; GOBBETTI, M. Effect of lactic acid fermentation and antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green smoothies. *Food Microbiol.*, v.28 (5), p.1062-1071, 2011.

FILANNINO, P.; AZZI, L.; CAVOSKI, I.; VINCENTINI, O.; RIZZELLO, C.G.; GOBBETTI, M.; DI CAGNO, R. Exploitation of the health-promoting and sensory proprieties of organic pomegranate (*Punica granatum* L.) juice through lactic acid fermentation. *Intern. J. Food Microbiol.*, v.163(2), p. 184-192, 2013.

FONTELES, T.V.; COSTA, M.G.M.; DE JESUS, A.L.T.; RODRIGUES, S. Optimization of the fermentation of cantaloupe juice by *Lactobacillus casei* NRRL B-442. *Food and Bioprocess*, v.5 (7), p.2819-2826, 2012.

FONTELES, T.V.; COSTA, M.G.M.; DE JESUS, A.L.T.; FONTES, C.P.M.L.; FERNANDES, F.A.N.; RODRIGUES, S. Stability and Quality Parameters of Probiotic Cantaloupe Melon Juice Produced with Sonicated Juice. *Food Bioprocess Technology*, v. 6, p. 2860–2869, 2013.

KOURKOUTAS, Y.; XOLIAS, V.; KALLIS, M.; BEZIRTZOGLU, E.; KANELLAKE, M. *Lactobacillus casei* cell immobilization on fruit pieces for probiotic additive, fermented milk and lactic acid production. *Process Biochem.*, v. 40(1), p.411-416, 2005.

NAGPAL, R.; KUMAR, A.; KUMAR, M. Fortification and fermentation of fruit juices with probiotic lactobacilli. *Annals of Microbiol.*, v. 62(4), p.1573-1578, 2012.

NAPAHDE, S.; DURVE, A.; BHARATI, D.; CHANDRA, N. Wine Production from Carambola (*Averrhoa carambola*) Juice Using *Saccharomyces cerevisiae*. *Asian J. Exp. Biol. Sci. Special* Vol. 1, p. 20-23, 2010.

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

PEREIRA, A.L.F.; ALMEIDA, F.D.L.; DE JESUS, A.L.T., DA COSTA, J.M.C.; RODRIGUES, S. Storage Stability and Acceptance of Probiotic Beverage from Cashew Apple Juice. *Food and Bioprocess Techn.*, v.6(11), p.3155-3165, 2013.