



Universidade de Brasília  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Departamento de Nutrição

Gustavo Alves de Carvalho Lopes

**EFEITO DO TEOR DE AÇÚCAR E CONGELAMENTO NA  
SOBREVIVÊNCIA DE *L. paracasei* LBC 81 EM POLPA DE MARACUJÁ**

Brasília, DF  
2020

Universidade de Brasília  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Departamento de Nutrição

Gustavo Alves de Carvalho Lopes

**EFEITO DO TEOR DE AÇÚCAR E CONGELAMENTO NA  
SOBREVIVÊNCIA DE *L. paracasei* LBC 81 EM POLPA DE MARACUJÁ**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao curso de Nutrição da Universidade de  
Brasília como requisito parcial para  
obtenção do título de Bacharel em Nutrição.  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliana dos Santos  
Leandro

Brasília, DF  
2020

Gustavo Alves de Carvalho Lopes

**EFEITO DO TEOR DE AÇÚCAR E CONGELAMENTO NA  
SOBREVIVÊNCIA DE *L. paracasei* LBC 81 EM POLPA DE MARACUJÁ**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Nutrição da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Nutrição.

Brasília, 9 de dezembro de 2020.

**BANCA EXAMINADORA**

Prof<sup>a</sup> Viviane Belini Rodrigues  
(Avaliador 1 )

Maria Carolina Mesquita  
(Avaliador 2 )

Dedicatória:

*Agradeço primeiramente a Deus, motivo maior da minha fé. Em seguida, minha família e amigos próximos que sempre me incentivaram a seguir meus sonhos e estiveram me apoiando nos momentos de luta e de felicidade. Um agradecimento especial à minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliana dos Santos Leandro, que me auxiliou em cada etapa do processo desse trabalho. Gratidão a todos os professores que fizeram parte da minha trajetória na querida Universidade de Brasília, todos foram essenciais na minha trajetória como graduando.*

<b>RESUMO</b>	<b>6</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>7</b>
<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>8</b>
<b>JUSTIFICATIVA DO ESTUDO</b>	<b>9</b>
<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b>	<b>9</b>
<b>Bactérias Lácticas e Probióticos</b>	<b>9</b>
<b>Alimentos Probióticos</b>	<b>10</b>
<b>Polpas de Frutas Congeladas</b>	<b>12</b>
<b>Sobrevivência de Probióticos em Produtos Congelados Probióticos</b>	<b>12</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>13</b>
<b>Objetivo Geral</b>	<b>13</b>
<b>Objetivos Específicos</b>	<b>13</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>14</b>
<b>Micro-organismo</b>	<b>14</b>
<b>Obtenção do Concentrado de Células</b>	<b>14</b>
<b>Preparo da polpa de maracujá adicionada de <i>L. paracasei</i> LBC 81</b>	<b>14</b>
<b>Análise microbiológica</b>	<b>15</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>16</b>
<b>CONCLUSÃO</b>	<b>18</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>19</b>



## RESUMO

**Introdução:** Os benefícios provenientes da ingestão de alimentos probióticos são disseminados cada vez mais na sociedade. As bactérias lácticas são geralmente utilizadas como cultura probiótica em alimentos como leite e seus derivados, e por isso acabam não sendo acessíveis à pessoas que não consomem esses grupos de alimentos, como vegetarianos e pessoas alérgicas. **Objetivo:** desenvolver uma polpa de maracujá congelada adicionada de *L. paracasei* LBC 81 elaborada com diferentes teores de açúcar. **Metodologia:** para realização do experimento, a cultura *L. paracasei* LBC 81 foi ativada, centrifugada e inoculada à polpa de maracujá com diferentes teores de açúcar. Foram realizadas diluições seriadas de  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$  e em seguida o plaqueamento seguindo o método *Drop Plate* antes do primeiro congelamento para avaliação da sobrevivência do *L. paracasei* LBC 81. A polpa com a cultura ativa foi congelada por 24h e descongelada em temperatura ambiente para avaliar a sobrevivência do *L. paracasei* LBC 81. **Resultado e discussão:** o preparo das polpas com adição do microrganismo, com diferentes teores de açúcar, no tempo inicial do experimento demonstrou uma contagem de Unidade Formadora de Colônias dentro da faixa esperada, nas variadas diluições. Entretanto, a partir do primeiro ciclo de congelamento não houve sobrevivência das bactérias em nenhuma das polpas preparadas, indiferente dos graus de diluição. **Conclusão:** O estudo concluiu que possivelmente, fatores físico-químicos presentes no maracujá, além dos fatores de estresse que as bactérias foram submetidas, inviabilizam sua sobrevivência e crescimento em meio à polpa de maracujá.

**Palavras chaves:** Polpa de maracujá, probiótico, congelamento, bactérias lácticas.

## ABSTRACT

**Introduction:** The benefits of eating probiotic foods are increasingly disseminated in society. Lactic acid bacteria are generally used as a probiotic culture in foods such as milk and its derivatives, which is why they are not sought after by people who do not consume these food groups, such as vegetarians and allergic people. **Objective:** to develop a frozen passion fruit pulp Drawn by *L. paracasei* LBC 81 elaborated with different levels of sugar. **Methodology:** for carrying out the experiment, the culture *L. paracasei* LBC 81 was activated, centrifuged and inoculated to the passion fruit pulp with different sugar contents. Serial dilutions of  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$  were performed and then plated using the Drop Plate method before the first freeze to evaluate the survival of *L. paracasei* LBC 81. The pulp with the active culture was frozen by 24h and thawed at room temperature to evaluate the inside of the *L. paracasei* LBC 81. **Results and discussion:** the preparation of the pulps with the addition of the microorganism, with different levels of sugar, in the initial time of the experiment verified a number Colonies Forming Unit of the expected range, at various dilutions. However, from the first freezing cycle there are no bacteria in any of the prepared pulps, regardless of the degrees of dilution. **Conclusion:** The study concluded that possibly, physical-chemical factors present in the passion fruit, in addition to the stress factors that the bacteria were subjected to, make their survival and growth in the middle of the passion fruit pulp unfeasible. **Key words:** Passion fruit pulp, probiotic, frozen, lactic acid bacteria.



## 1. INTRODUÇÃO

No Brasil, o consumo de produtos lácteos fermentados com bactérias probióticas já é comum, embora nem todos saibam dos seus benefícios, ou até mesmo quando estão consumindo esses laticínios. A ingestão regular desses produtos fermentados pode promover uma melhora na saúde intestinal do indivíduo, potencializar o sistema imunológico e auxiliar na regulação de quadros de diarreia e constipação (MARCO et al., 2017).

As pessoas que consomem produtos fermentados buscam alternativas cada vez mais diversificadas. Diante disso, estudos sobre novos produtos que possuam bactérias ácido lácticas (BAL) em sua composição, intensificam-se a cada dia (SANTOS et al., 2020). O desenvolvimento de produtos fermentados não derivados de produtos lácteos, como sucos de diversas frutas, é uma alternativa para promover o consumo de probióticos advindos da fermentação de BAL para pessoas com restrições alimentares, alergias ou intolerância ao leite, ou até mesmo para vegetarianos e veganos que não fazem o consumo de laticínios e seus derivados, grupo esse que vem crescendo no Brasil ao longo dos anos de acordo com as pesquisas do IBOPE (INTELIGÊNCIA, 2018).

Para estimular o consumo de alimentos probióticos, as frutas e seus processamentos são alternativas a serem consideradas para essa produção. Dentre elas, há o maracujá amarelo, fruta tropical e bastante produzida no solo brasileiro, que é apreciada em diversas culinárias. Seu consumo, muitas vezes, está vinculado ao seu suco, à produção de doces, sobremesas e até mesmo molhos para saladas. Já as suas propriedades físico-químicas, como altos teores de vitaminas e minerais, de compostos antioxidantes e de compostos flavonóides e polifenólicos, tornam o maracujá bastante desejável para ser incluído em uma alimentação saudável (DUARTE et al., 2020).

Conseguir associar o maracujá amarelo à fermentação com bactérias ácido lácticas, como, por exemplo, da família *Lactobacillus*, pode trazer inúmeros benefícios para a saúde humana, como, por exemplo, a melhora da saúde intestinal. Além disso, é uma opção viável para indivíduos que não consomem leite e derivados terem acesso a produtos fermentados com essa família de BAL (LYNCH et al., 2018).

## **2. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO**

Este estudo buscou analisar a possibilidade da produção de uma polpa de fruta de maracujá probiótica, uma vez que produtos probióticos encontrados na indústria alimentícia geralmente envolvem leites e seus derivados, principalmente, os que possuem cultura de bactéria lácticas. A incorporação de bactérias lácticas é em sua maioria realizada em produtos derivados do leite, o que acaba restringindo o consumo por pessoas adeptas ao veganismo, com intolerância a lactose e alergia à proteína do leite. Diante disso, a possibilidade da produção de uma polpa de fruta adicionada de probiótico abre novas oportunidades de produtos saudáveis para a população em geral e, principalmente, à população com restrições alimentares.

## **3. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **3.1. Bactérias Lácticas e Probióticos**

As bactérias ácido lácticas (BAL) são microrganismos que podem ser encontradas nas formas de cocos ou bacilos. Essas bactérias se caracterizam como gram positivas, não esporulantes, catalase negativas, anaeróbias aerotolerantes e apresentam baixa porcentagem, menor que 50%, de bases nitrogenadas guanina e citosina em seus genomas (DE FILIPPIS; PASOLLI; ERCOLINI, 2020; WYSZYŃSKA et al., 2015).

As BAL tem seu crescimento ideal em meios ricos nutricionalmente falando, mas especificamente em carboidratos, nas quais elas podem, através da metabolização dos mesmos, crescer e sobreviver trazendo como produto metabólico o ácido láctico (WYSZYŃSKA et al., 2015). Os produtos finais da fermentação caracterizam esses microrganismos em dois grupos. As bactérias homofermentativas produzem, predominantemente, o ácido láctico enquanto as heterofermentativas, além do ácido láctico, produzem etanol, ácido acético e CO<sub>2</sub> (BRUNO, 2011).

Devido a habilidade de realizar fermentação as bactérias ácido lácticas vem sendo utilizadas como culturas iniciadoras para produção de alimentos há milhares de anos (LINARES et al., 2017). Através do processo de fermentação as BAL contribuem com

características organolépticas dos alimentos como sabor, aroma e textura além de contribuir com seu valor nutricional (WU; HUANG; ZHOU, 2017). Além disso, as BAL ácido lácticas aumentam a vida útil de vários produtos uma vez que seu metabolismo gera bacteriocinas, substância capaz de inibir o crescimento de microrganismos deteriorantes de alimentos (ABBASILIASI et al., 2017).

Um grande impulsionamento para aumentar a quantidade de pesquisas e de utilização dessas bactérias são suas características probióticas que podem trazer benefícios à saúde humana (FAO et al., 2002). Os microrganismos com potencial probiótico comumente utilizados pela indústria de alimentos envolvem geralmente bactérias da família *Lactobacillus* e as bifidobactérias da família *Bifidobacterium* (LINARES et al., 2017).

Segundo a Anvisa, a quantidade mínima de microrganismos para que um produto possua uma característica como potencial probiótico, está na faixa de  $10^8$  e  $10^9$  Unidades Formadoras de Colônia (ANVISA, 2008), e é sempre ressaltada a importância de o acompanhamento de um profissional da área para especificar a recomendação do consumo adequado.

Ao longo dos anos diversas pesquisas foram realizadas para estudar os benefícios à saúde do hospedeiro devido a ação dos mais diversos probióticos. Os probióticos, segundo revisão de literatura feita por Vijayaram e Kannan (SEERENGERAJ, 2018), podem atuar tanto na prevenção quanto no tratamento de diarreia, síndrome do intestino irritável, doença inflamatória intestinal, doenças metabólicas como diabetes e obesidade, infecção urinária, alergias, câncer do colo intestinal, má digestão de lactose entre outros.

Porém, com o intuito de trazer os benefícios esperados, os probióticos precisam sobreviver a todos os possíveis empecilhos derivados do trato gastrointestinal, bem como acidez devido ao baixo pH e enzimas presentes durante todo o TGI (DE MELO PEREIRA et al., 2018).

### **3.2. Alimentos Probióticos**

Alimentos fermentados são utilizados de maneira extensiva na indústria alimentícia para conter microrganismos probióticos. O motivo disso se dá ao fato que, comumente, os microrganismos utilizados para realizar a fermentação desses alimentos são as próprias bactérias com potenciais probióticos (LINARES et al., 2017).

Produtos lácteos e seus derivados geralmente são utilizados para realizar fermentações, pois suas características físico-químicas, bem como pH e composição nutricional, favorecem a sobrevivência das bactérias que fermentam o produto (LINARES et al., 2017). Entretanto, isso não exclui a possibilidade de outros alimentos, como algumas preparações com frutas e alguns tipos de vegetais a serem utilizados para inocular bactérias probióticas (VIJAYA KUMAR; VIJAYENDRA; REDDY, 2015).

O grupo de alimentos lácteos que carregam subdivide-se em dois grupos: os fermentados, como iogurtes, e queijos, que são vastamente produzidos e utilizados pela indústria alimentícia como alimentos probióticos, e os não fermentados, como fórmulas infantis e sorvetes, que são menos propagados como alimentos probióticos mas que ainda assim podem oferecer um aporte desses microrganismos com esse potencial (LINARES et al., 2017).

A produção de alimentos probióticos congelados vem sendo estudada cada vez mais ao longo dos anos com o intuito de produzir alimentos mais duráveis, que tem a qualidade preservada em meio à baixas temperaturas (TERPOU et al., 2019). É uma estratégia interessante de observar-se pois as características intrínsecas do alimento, e fatores que permitem uma possível deterioração do alimento estejam em menor influência sobre a qualidade do produto, promovendo assim um maior tempo de prateleira, que favorece tanto o produtor quanto o consumidor (ANVISA, 2018).

Um ótimo exemplo de produto mantido a baixas temperaturas e que já existe a produção como carreador de bactérias probióticas é o sorvete. Sua composição geralmente tem presente glóbulos de gordura, proteínas e açúcares, tende a favorecer a sobrevivência de microrganismos com potencial probiótico, o que é interessante já que os sorvetes geralmente são mantidos em baixas temperaturas e possuem um bom tempo de prateleira caso manuseado corretamente (AKDENIZ; AKALIN, 2019). O fato de ser um produto em que seu consumo não envolve um descongelamento completo faz com que isso possa preservar as bactérias lá presente. Além disso, há outros fatores em sua composição, como nutrientes, que podem promover uma maior proteção a esses microrganismos (BALTHAZAR et al., 2018).

Outras opções interessantes de alimentos congelados probióticos são as sobremesas provenientes de vegetais e hortaliças. Essas opções de alimentos probióticos são importantes pois, juntamente com outros alimentos como sucos, oferecem opção de consumo para indivíduos veganos e com restrições a lactose que normalmente não consumiriam os probióticos derivados de leite que representam o maior número desse tipo de produtos no

mercado. Dessa forma é possível incluir esse tipo de alimento funcional para pessoas com restrições dietéticas (SZYDŁOWSKA; KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, 2019).

### **3.3. Polpas de Frutas Congeladas**

De acordo com a Resolução nº 12, de 1978 do Ministério da Saúde – ANVISA, revogada pela Resolução RDC nº 175, de 08 de julho de 2003, polpa de fruta é o produto não fermentado, não concentrado e não diluído, com teor mínimo de sólidos totais, provenientes da parte comestível da fruta, obtidos de frutas polposas, por processo tecnológico adequado. No Brasil, a fabricação de polpas de frutas congeladas é um método estratégico para a redução da perda de frutas, tendo em vista a alta perecibilidade que as frutas geralmente têm. Dessa maneira, produzir um produto com maior durabilidade de prateleira torna-se algo interessante tanto para o vendedor, quanto para o consumidor (ANVISA, 2018).

Dentre as polpas que são bastante consumidas no Brasil, o maracujá amarelo também possui sua produção em polpas congeladas presentes, isso pois o maracujá é uma fruta sazonal e que o seu transporte in natura pode acarretar em muitas perdas. Sua produção geralmente envolve uma pasteurização em temperaturas mais abaixo do padrão utilizado pela indústria, variando entre 69°C à 82°C (MONTEIRO et al., 2005).

Como geralmente envolvem a produção das polpas de frutas, a polpa de maracujá possuem fatores que podem influenciar na qualidade físico-química do produto, bem como sua estocagem, que envolve temperatura de armazenamento e também a permeabilidade da embalagem. Entretanto, apenas o processo de pasteurização já pode levar à essas alterações no produto, como por exemplo em aroma, sabor e qualidade nutricional (MONTEIRO et al., 2005).

### **3.4. Sobrevivência de Probióticos em Produtos Congelados Probióticos**

As dificuldades para garantir que um produto realmente possua potencial probiótico são diversas. Fatores como a produção, manuseio e armazenamento podem ser empecilhos para a sobrevivência do microrganismo. Além disso, as bactérias precisam passar pelo trato gastrointestinal (TGI), que acaba sendo um meio ‘hostil’ para elas, devido à presença de um baixo pH e enzimas digestivas. Isso gera uma dificuldade na chegada de quantidades adequadas dessas bactérias no intestino humano (ERTEM; ÇAKMAKÇI, 2018).

Com os alimentos congelados, a dificuldade se intensifica, pois, o produto passa por momentos em que está submetido a variações de temperatura. Isso prejudica a sobrevivência do microrganismo pois o descongelamento inadequado pode ser nocivo à bactéria, além de poder acarretar em alterações físico-químicas no produto (GURRUCHAGA et al., 2018). Além disso, pode haver comprometimento da integridade das bactérias no período de congelamento do produto, devido à formação de cristais de gelo que acabam danificando a membrana celular dos microrganismos (TRIPATHI; GIRI, 2014).

A velocidade do congelamento afeta diretamente a sobrevivência dos probióticos em alimentos congelados. Congelamentos mais lentos produzem cristais de gelos maiores influenciando sua localização e distribuição e, conseqüentemente, gerando dano maior às membranas celulares. O congelamento rápido por sua vez produz cristais de gelo menos, que podem causar menos danos estruturais às bactérias e, dessa forma, auxiliam na sobrevivência do microrganismo (KIM et al., 2017; TRIPATHI; GIRI, 2014). Além disso, no período de descongelamento ou até mesmo no descongelamento que pode ocorrer durante o transporte ou manuseio deste produto, pode ocorrer um possível desequilíbrio osmótico, o que acarreta em danos e prejuízo na sobrevivência de microrganismos (CALINOIU; VODNAR; PRECUP, 2016).

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo Geral**

Avaliar a sobrevivência do *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* LBC 81 em polpa de maracujá congelada elaborada com diferentes teores de açúcar

### **4.2. Objetivos Específicos**

- Desenvolver polpa de maracujá com diferentes teores de açúcar e adicionada de cultura probiótica;
- Verificar a sobrevivência de *L. paracasei* LBC 81 na polpa de maracujá exposta ao congelamento e descongelamento;

- Analisar a sobrevivência de *L. paracasei* LBC 81 em polpa de maracujá durante o período de estocagem sob congelamento; .

## **5. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **5.1. Micro-organismo**

A cultura comercial de *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* LBC 81 foi utilizada neste estudo. A cultura estocada a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  foi cultivada em 5mL de caldo MRS em estufa bacteriológica a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  por aproximadamente 16 horas. A cultura ativa foi utilizada para a obtenção do concentrado de células.

### **5.2. Obtenção do Concentrado de Células**

Inóculo de 4 % da cultura foram adicionados em tubos contendo 10 mL de caldo MRS e, em seguida, os tubos foram incubados a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 16 horas. Posteriormente, esta cultura ativa foi inoculada em tubos contendo 30 mL de caldo MRS e, imediatamente, os tubos foram incubados a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 16 horas. Após o período de incubação, os tubos foram submetidos à centrifugação (5000 rpm,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 10 minutos). O sobrenadante obtido foi eliminado, e o pellet de células obtido foi lavado em 5 mL de solução salina 0,85 % e novamente centrifugado sob as mesmas condições. Novamente, o sobrenadante foi eliminado e o pellet de células foi utilizado para ser inoculado nas polpas de maracujá elaboradas com diferentes percentuais de açúcar.

### **5.3. Preparo da polpa de maracujá adicionada de *L. paracasei* LBC 81**

Neste estudo foi utilizada polpa de maracujá congelada adquirida do comércio local de Brasília, Distrito Federal. A polpa foi utilizada na elaboração de uma polpa de maracujá com adição de uma cultura com potencial probiótico, e também com adição de diferentes percentuais de açúcar. A polpa de maracujá foi descongelada, e imediatamente distribuída na quantidade de 30 mL em três frascos: (i) Tratamento 1- sem adição de açúcar; (ii) Tratamento

2 – adição de 2,0 % de açúcar; (iii) Tratamento 3 – adição de 4,0 % de açúcar. Imediatamente, os frascos foram autoclavados a 121 °C por 15 minutos. Após o resfriamento das amostras submetidas ao tratamento térmico, cada tratamento foi adicionado aos tubos contendo o pellet de células obtido por centrifugação, conforme descrito no item 2.2. Em seguida, os tubos foram homogeneizados em vortex. Após esta homogeneização, foi obtida a suspensão de células em polpa de maracujá elaborado com diferentes percentuais de açúcar. Todos os tratamentos foram armazenados em freezer a -18 °C.

#### **5.4. Análise microbiológica**

Antes do congelamento, as suspensões de células em polpa de maracujá foram analisadas para avaliar o tamanho da população de *L. paracasei* LBC 81. Os três tratamentos foram submetidos a diluição seriada em solução salina 0,85 %, e as diluições  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$  foram selecionadas para serem plaqueadas em placas de Petri contendo MRS agar. A técnica de plaqueamento utilizada foi a *Drop plate*. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por 48 horas.

As polpas congeladas também foram avaliadas durante o período de estocagem a -18 °C.

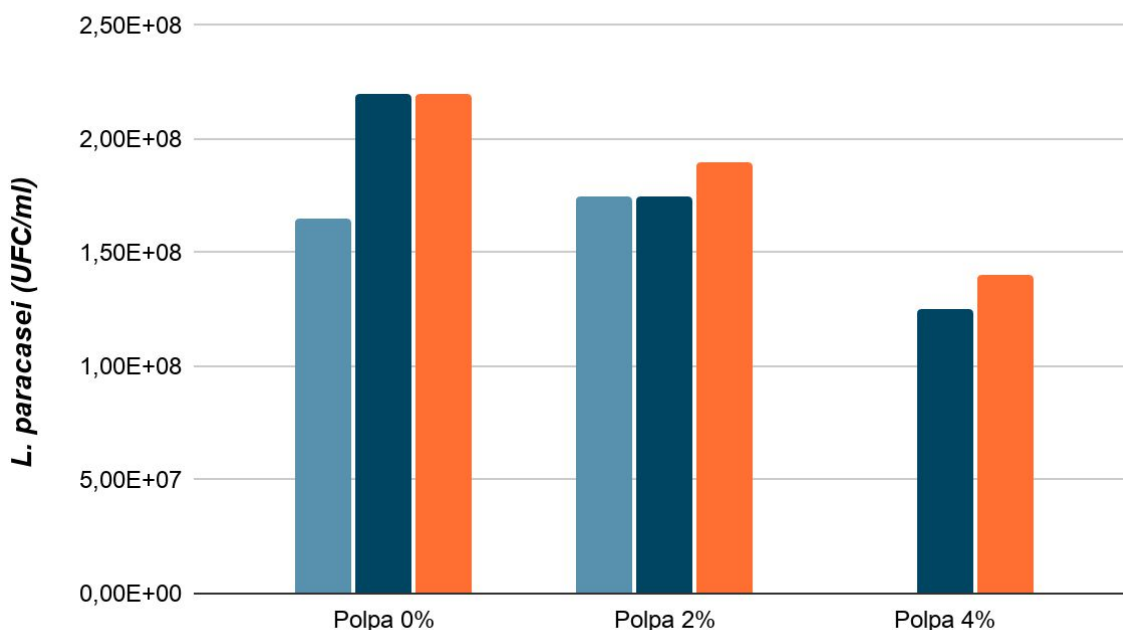
As polpas com 5 dias de congelamento foram submetidas a 5 cinco ciclos de congelamento e descongelamento durante 5 dias. Cada tratamento foi descongelado à temperatura ambiente, e imediatamente foram submetidos à análise microbiológica conforme descrito acima. O mesmo tubo descongelado, foi congelado novamente a -18 °C. Este procedimento foi realizado por mais 4 dias.

As placas contendo entre 20 a 80 colônias foram selecionadas para contagem. Todo experimento foi realizado com três repetições.



## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos durante o experimento realizado com o maracujá amarelo, através do plaqueamento conforme descrito no item 4.4, porém com adaptações devido ao resultado do plaqueamento, realizou-se a contagem apenas da diluição  $10^{-5}$ , devido à valores inadequados das outras diluições, estando fora da faixa de colônias estabelecida no item 4.4. A contagem de colônias foi de 33, 45 e 44 para a polpa de maracujá sem adição de açúcar. Para a polpa com 2% de adição de açúcar, a contagem de colônia foi de 35, 35 e 38. E por fim, a polpa de 4% de adição de açúcar apresentou resultado no tempo 0 de 18, 25 e 28, sendo o primeiro valor também desconsiderado por estar fora da faixa estabelecida para contagem de colônias.



**Figura 1** – Sobrevivência de *L. paracasei* LBC 81 em polpa de maracujá elaborada com diferentes teores de açúcar.

A partir desses resultados, realizou-se o cálculo de Unidades Formadoras de Colônias (UFC), de acordo com a Figura 1, com resultado de  $1,65 \times 10^8$  UFC/ml,  $2,2 \times 10^8$  UFC/ml e

$2,2 \times 10^8$  UFC/ml para a polpa com 0% de adição de açúcar. Para a polpa com 2% de adição de açúcar, o resultado contagem de UFC foi de  $1,75 \times 10^8$  UFC/ml,  $1,75 \times 10^8$  UFC/ml e  $1,9 \times 10^8$  UFC/ml. E por fim, o resultado da contagem de UFC da polpa com 4% de adição de açúcar foi de  $1,25 \times 10^8$  UFC/ml e  $1,4 \times 10^8$  UFC/ml.

Os resultados subsequentes provenientes do congelamento e descongelamento não apresentaram sobrevivência de *L. paracasei* LBC 81 logo após o plaqueamento. Tal resultado também foi observado quando foi plaqueada a menor diluição da polpa de maracujá.

Acredita-se que os fatores intrínsecos do maracujá, como seus fatores físico-químicos caracterizados pela fruta com polpa ácida, rica em antioxidantes, como alfa-carotenos e beta-carotenos, além do kaempferol, um flavonóide, todos esses fatores podem ter potencial antimicrobiano, e assim ter interferido na sobrevivência de *L. paracasei* LBC 81 na polpa de maracujá (DOS REIS et al., 2018).

Mesmo com estudos apresentando possibilidades dos compostos fenólicos presentes no maracujá funcionarem como uma segunda via metabólica para bactérias lácticas, pode haver uma dependência da proteção da bactéria lácticas por meio da microencapsulação (MONTEIRO et al., 2020). Entretanto, como o *L. paracasei* LBC 81 no presente estudo foi inoculado na polpa de maracujá sem adição de fatores protetores para a bactéria, possivelmente o meio que estava inserido não possibilitou a sobrevivência desta bactéria, até mesmo nas amostras com adição de açúcar.

As condições de estresse às quais *L. paracasei* LBC 81 foi submetido, além do próprio meio adverso para sua sobrevivência, pode ter sido um fator coadjuvante em relação ao não crescimento de *L. paracasei* em meio à cultura. Um estudo que envolve a inoculação do *L. paracasei* LBC 81 a ciclos de congelamento e descongelamento, semelhantes ao utilizados neste estudo, além de um pH similar ao do suco gástrico, de aproximadamente 3, mostrou que a bactéria pode resistir essas condições (CAVALCANTI et al., 2019). Entretanto, o maracujá amarelo pode apresentar um pH ainda mais ácido, de até aproximadamente 2,66, além dos próprios fatores intrínsecos citados anteriormente, que juntos podem inviabilizar a sobrevivência de *L. paracasei* LBC 81.

Outro fator imprescindível ao falar do congelamento e descongelamento de meios nos quais microrganismos são inseridos é a formação de cristais de gelo. Essa formação de cristais está diretamente envolvida com o método de descongelamento na qual submete-se a amostra, se é um congelamento rápido ou não. Durante o congelamento rápido, há formação de cristais de gelos menores, o que pode ser menos nocivo ao microrganismo inoculado. Porém, quando esse congelamento é feito de maneira lenta, em temperaturas não tão baixas,

os cristais de gelo que se formam durante o período de congelamento são maiores e podem se tornar um grande revés para a sobrevivência do microrganismo, causando a morte bacteriana ao entrar em contato com a membrana celular da bactéria (GURRUCHAGA et al., 2018).

A adição de açúcares, em diferentes proporções, tinha como estratégia potencializar as vias metabólicas da bactéria para potencialização de sua sobrevivência. Entretanto, o aumento de substrato disponível para a sobrevivência de *L. paracasei* LBC 81 mostrou-se também ineficiente para auxiliar na sobrevivência desta bactéria durante o experimento.

## **7. CONCLUSÃO**

Dessa forma, conclui-se através da realização do experimento e desenvolvimento do presente trabalho a inviabilidade da produção de uma polpa congelada de maracujá adicionada da bactéria láctica *L. paracasei* LBC 81. A possibilidade de novos experimentos, envolvendo outras estratégias para promover uma maior resistência do microrganismo para sobreviver às condições de estresse a que o mesmo foi submetido pode ser considerada.

Ainda assim, reforça-se a necessidade de mais estudos envolvendo bactérias lácticas e alimentos não lácteos, como por exemplo frutas e seus processamentos. O Brasil é um país com uma vasta biodiversidade de frutas que podemos cogitar associar com a incorporação de bactérias probióticas, a fim proporcionar mais benefícios às pessoas que consomem polpa de fruta.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA. Comissões Tecnocientíficas de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. **Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos: lista das alegações aprovadas**. Brasil, 2008.

ABBASILIASI, S. et al. Fermentation factors influencing the production of bacteriocins by lactic acid bacteria: A review. **RSC Advances**, v. 7, n. 47, p. 29395–29420, 2017.

AKDENIZ, V.; AKALIN, A. S. New approach for yoghurt and ice cream production: High-intensity ultrasound. **Trends in Food Science and Technology**, v. 86, n. February, p. 392–398, 2019.

ANVISA. Guia para determinação de prazos de validade de alimentos. **Diário da União**, p. 1–76, 2018.

BALTHAZAR, C. F. et al. The addition of inulin and *Lactobacillus casei* 01 in sheep milk ice cream. **Food Chemistry**, v. 246, p. 464–472, 2018.

BRUNO, L. M. Manual de Curadores de Germoplasma – Micro-organismos: Bactérias Ácido-Láticas. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnológicos**, p. 15, 2011.

CALINOIU, L.-F.; VODNAR, D.-C.; PRECUP, G. A Review: The Probiotic Bacteria Viability under Different Conditions. **Bulletin UASVM Food Science and Technology**, v. 73, n. 2, p. 55–60, 2016.

CAVALCANTI, M. H. et al. Production of frozen probiotic fermented milk enriched with green banana biomass: The effects of freezing, acid stress conditions and bile salts on *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* LBC 81 viability. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 2, p. 1–9, 2019.

DE FILIPPIS, F.; PASOLLI, E.; ERCOLINI, D. The food-gut axis: lactic acid bacteria and their link to food, the gut microbiome and human health. **FEMS Microbiology Reviews**, n. January, p. 1–36, 2020.

DE MELO PEREIRA, G. V. et al. How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 8, p. 2060–2076, 2018.

DOS REIS, L. C. R. et al. Antioxidant potential and physicochemical characterization of yellow, purple and orange passion fruit. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 7, p. 2679–2691, 2018.

DUARTE, I. DE A. E. et al. Acute effects of the consumption of passiflora setacea juice on metabolic risk factors and gene expression profile in humans. **Nutrients**, v. 12, n. 4, 2020.

ERTEM, H.; ÇAKMAKÇI, S. Shelf life and quality of probiotic yogurt produced with *Lactobacillus acidophilus* and *Gobdin*. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 3, p. 776–783, 2018.

- FAO, J. et al. **Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food**. p. 1–11, 2002.
- GURRUCHAGA, H. et al. Advances in the slow freezing cryopreservation of microencapsulated cells. **Journal of Controlled Release**, v. 281, p. 119–138, 2018.
- INTELIGÊNCIA, I. **Pesquisa de opinião pública sobre vegetarianismo**. Disponível em: <[https://www.svb.org.br/images/Documentos/JOB\\_0416\\_VEGETARIANISMO.pdf](https://www.svb.org.br/images/Documentos/JOB_0416_VEGETARIANISMO.pdf)>. Acesso em: 22 out. 2020.
- KIM, H. W. et al. Probiotic supplementation and fast freezing to improve quality attributes and oxidation stability of frozen chicken breast muscle. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 34–41, 2017.
- LINARES, D. M. et al. Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria with Potential to Design Natural Biofunctional Health-Promoting Dairy Foods. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. MAY, p. 1–11, 2017.
- LYNCH, K. M. et al. Lactic Acid Bacteria Exopolysaccharides in Foods and Beverages: Isolation, Properties, Characterization, and Health Benefits. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 9, p. 155–176, 2018.
- MARCO, M. L. et al. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 44, p. 94–102, 2017.
- MONTEIRO, M. et al. Avaliação Físico-Química E Microbiológica Da Polpa De Maracujá Processada E Armazenada. **Alim. Nutr., Araraquara**, v. 16, p. 71–76, 2005.
- MONTEIRO, S. S. et al. Production of Probiotic Passion Fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* Deg.) Drink Using *Lactobacillus reuteri* and Microencapsulation via Spray Drying. **Foods**, v. 9, n. 3, 2020.
- Resolução RDC no 175, de 08 de julho de 2003. Aprova o Regulamento Técnico de Avaliação de Matérias Macroscópicas e Microscópicas Prejudiciais à Saúde Humana em Alimentos Embalados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2003. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/rdc/175\\_03rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/rdc/175_03rdc.htm). 14 abril 2004.
- SANTOS, M. C. M. DOS et al. Fermentation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and coconut (*Coccus nucifera* L.) beverages by *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* LBC 81: The influence of sugar content on growth and stability during storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 132, 2020.
- SEERENGERAJ, V. Probiotics: The Marvelous Factor and Health Benefits. **Biomedical and Biotechnology Research Journal**, v. 2, p. 1–8, 2018.
- SZYDŁOWSKA, A.; KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA, D. Development of potentially probiotic and synbiotic pumpkin frozen desserts. **CYTA - Journal of Food**, v. 17, n. 1, p. 251–259, 2019.

TERPOU, A. et al. Novel frozen yogurt production fortified with sea buckthorn berries and probiotics. **Lwt**, v. 105, n. February, p. 242–249, 2019.

TRIPATHI, M. K.; GIRI, S. K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. **Journal of Functional Foods**, v. 9, n. 1, p. 225–241, 2014.

VIJAYA KUMAR, B.; VIJAYENDRA, S. V. N.; REDDY, O. V. S. Trends in dairy and non-dairy probiotic products - a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 10, p. 6112–6124, 2015.

WU, C.; HUANG, J.; ZHOU, R. Genomics of lactic acid bacteria: Current status and potential applications. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 43, n. 4, p. 393–404, 2017.

WYSZYŃSKA, A. et al. Lactic acid bacteria—20 years exploring their potential as live vectors for mucosal vaccination. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 7, p. 2967–2977, 2015.