



AÇÃO DO ÓLEO DE CÁRTAMO NA VIABILIDADE DE FERMENTO PROBIÓTICO DURANTE ESTOCAGEM DE LEITES FERMENTADOS FUNCIONAIS

Letícia Lamas **Dias**¹; Fabiana Kátia Helena de Souza **Trento**²; Sueli Regina **Baggio**³; Ariene Gimenes Fernandes **Van Dender**⁴; Patrícia Blumer **Zacarchenco**⁵

Nº 15230

RESUMO - Este trabalho avaliou o efeito da adição de óleo de cártamo na viabilidade de *Lactobacillus casei* 01 (fermento probiótico comercial) durante a estocagem de leites fermentados. No primeiro bloco de testes avaliaram-se modos de incorporação do óleo vegetal ao leite desnatado. Na sequência analisaram-se os efeitos de diferentes concentrações do óleo (2, 4, 8 e 16%) sobre a viabilidade do probiótico durante 21 dias de estocagem refrigerada. Este microrganismo fermentou a 37°C os leites desnatados com 10% de sacarose e óleo de cártamo e também o leite padrão (sem adição de óleo de cártamo) em, aproximadamente, 16hs. Nos leites fermentados com e sem adição do óleo, logo após a obtenção e durante a estocagem, foram realizadas contagens de células viáveis de *L. casei*, além de determinações de pH e acidez. Durante o período de estocagem também foram realizadas contagens neste mesmo meio nas amostras controle e com adição do fermento. Ao final de 21 dias de estocagem refrigerada as contagens de células viáveis de *L. casei* nos leites fermentados com diferentes concentrações de óleo de cártamo mantiveram-se acima do que a “Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas” da ANVISA determina para probióticos na porção de consumo que é de 200 g ou mL para leites fermentados (10^8 a 10^9 UFC/200 g). Isto demonstra que a adição de óleo de cártamo nas concentrações avaliadas para este microrganismo não influenciou sua viabilidade durante estocagem. Este resultado é positivo, pois permite o desenvolvimento de leites fermentados probióticos com adição de óleo de cártamo.

Palavras-chaves: leite fermentado, probiótico, óleo de cártamo

1. Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Engenharia de Alimentos, FAJ, Jaguariúna-SP; leticia_lamasdias@yahoo.com.br
2. Colaborador: Assistente Técnico de PCT (TECNOLAT-ITAL).
3. Colaborador: Pesquisador CCQA-ITAL.
4. Colaborador: Pesquisador TECNOLAT –ITAL
- 5 Orientador: Pesquisador GESP, do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas-SP; pblumer@ital.sp.gov.br



ABSTRACT - *This study evaluated the effect of the addition of safflower oil on the viability of Lactobacillus casei 01 (commercial probiotic yeast) during the storage of fermented milks. Initially, different types of incorporation of the vegetable oil to the skim milk were tested. In sequence, the effects of different concentrations of oil (2, 4, 8 and 16%) on the viability of the probiotic were examined during 21 days of storage. The fermentation time (37°C) was around 16 hours for skim milks with sucrose (10%) and safflower oil and also for the milks without safflower oil (standard). The viable cells counts of L. casei, the pH and acidity of the fermented milks with oil, without oil and without the probiotic (standard) were determined immediately after obtaining and during storage. After 21 days of refrigerated storage the viable cells counts of L. casei in the fermented milks with different safflower oil concentrations remained above the limits established by the legal parameters of Brazil (10^8 a 10^9 CFU/200 g). This demonstrates that the addition of safflower oil in different concentrations did not affect the viability of probiotic during storage. This result is positive and allows the development of probiotic fermented milks with the addition of safflower oil.*

Key-words: fermented milk, probiotic, safflower oil

1 INTRODUÇÃO

Alguns tipos de gorduras estão entre os componentes da dieta relacionados ao prejuízo à saúde, mas a eliminação total de sua ingestão pode não trazer benefícios (ZACARCHENCO et al, 2013). A gordura dos alimentos é fonte de energia, compõe a estrutura de membranas celulares, exerce efeitos na expressão gênica, modifica o metabolismo, crescimento e diferenciação celular (CAMPOS, 2007). Contudo, a fração gordurosa de produtos de origem animal e lácteos, em particular, contém colesterol e ácidos graxos saturados cuja ingestão deve ser restringida para a prevenção de doenças. Assim, a incorporação de óleos vegetais em produtos lácteos desnatados e, especificamente, em leites fermentados por probióticos é uma alternativa importante para o desenvolvimento de produtos lácteos mais saudáveis e com propriedades funcionais conferidas por estes microrganismos.

Neste estudo escolheu-se o óleo de cártamo para incorporação ao leite desnatado a ser usado em fabricação de leites fermentados. Este óleo é extraído das sementes de uma planta pertencente à família das *Asteraceae*, que botanicamente é classificada como *Carthamus tinctorius*. O seu nome comum é açafão-bastardo, açafroa, açafrol, falso açafão ou cártamo.



Segundo Schulze et al (2014), as sementes de cártamo são ricas em óleo onde predominam ácidos graxos do tipo mono e poliinsaturados (PUFA/ SFA) (90%), sendo composto principalmente pelo ácido oléico (20-30%) e ácido linoléico (55-88%), gorduras do tipo ômega 9 e 6, respectivamente. Atualmente o óleo de cártamo é considerado entre os demais óleos, o que apresenta maior teor de gorduras poli-insaturadas e a razão PUFA/ SFA mais favorável. Além disso, o óleo de cártamo é uma fonte rica em α -tocoferóis desempenhando assim potente ação antioxidante.

No presente trabalho estão apresentados os resultados do acompanhamento, durante 21 dias de estocagem refrigerada, do pH, acidez titulável e da contagem de células viáveis do microrganismo probiótico *Lactobacillus casei* 01 em leites fermentados contendo 2, 4, 8 e 16% de óleo de cártamo. Para verificação do efeito da adição do óleo de cártamo sobre a viabilidade do probiótico também foram produzidos leites fermentados com *L. casei* sem adição de óleo de cártamo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

Leite em pó desnatado Itambé; *Lactobacillus casei* (*L. casei* 01 CHR-HANSEN); Óleo de cártamo bruto; açúcar União; emulsificante - Lygomme FM 4753 (Cargill).

2.2. Métodos

2.2.1. Produção dos leites fermentados

Este projeto se iniciou buscando incorporar o óleo de cártamo ao leite desnatado de modo homogêneo e estável na estocagem para evitar a separação de fase. As formulações produzidas continham 10% de leite em pó desnatado; 10% de açúcar; 0,4% de emulsificante e 2, 4, 8 ou 16% de óleo de cártamo. Para verificação do efeito da adição do óleo de cártamo sobre a viabilidade do probiótico também foram produzidos leites fermentados com *L. casei* sem adição de óleo de cártamo. Foram realizados testes com 2 tipos de homogeneizadores (centrífugo e de pistão), 3 diferentes pressões de homogeneização (100, 200 e 250 bar) e 2 binômios de tratamento térmico após a homogeneização (85°C/5min e 112°C/10min). A combinação de parâmetros de processo que gerou mistura com estabilidade na estocagem envolveu o uso de homogeneizador de pistão, pressão de homogeneização de 250 bar e tratamento térmico após homogeneização de 85°C/5



min. A seguir estão apresentadas as etapas de obtenção dos leites fermentados adicionados de óleo de cártamo. Foram realizados dois processamentos e respectivas análises de todos os leites fermentados deste estudo.

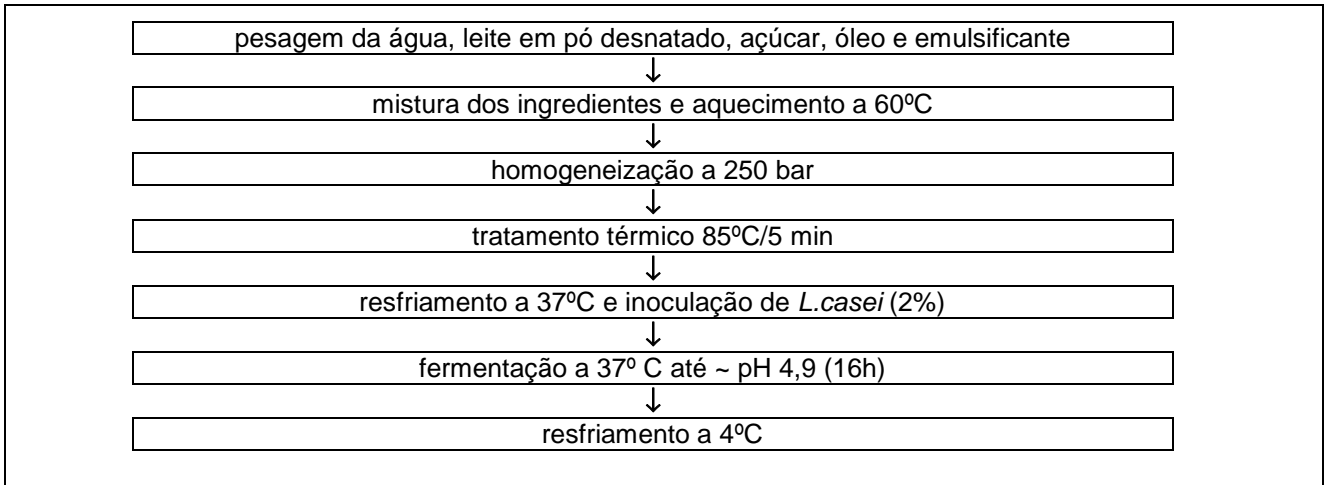


Figura 1. Etapas de produção dos leites fermentados adicionados de diferentes teores de óleo de cártamo

O fermento usado para inocular estes leites preparados com óleo de cártamo a 2% foi preparado pela dissolução, em assepsia, do conteúdo de um envelope do probiótico liofilizado em 1L de leite desnatado reconstituído a 10% esterilizado.

2.2.2. Análises dos leites fermentados

Os leites fermentados foram analisados quanto ao pH e acidez titulável segundo IAL (2005). A contagem de células viáveis foi realizada segundo Frank, Yousef (2004). Para a quantificação de bactérias lácticas totais as amostras adequadamente diluídas foram plaqueadas em ágar MRS com sobrecamada com incubação a 37°C/72hs. Estas análises foram realizadas logo após a fermentação e durante 21 dias de estocagem refrigerada. Para confirmação da presença de *L. casei*, foi realizado o plaqueamento do leite adicionado de óleo sem inoculação do fermento nas mesmas condições. Estas amostras sem adição de fermento também foram analisadas quanto ao pH e acidez Dornic durante 21 dias de estocagem refrigerada.

2.2.3. Caracterização do óleo de cártamo

A composição de ácidos graxos do óleo de cártamo foi obtida utilizando-se as metodologias descritas em AOCS (2014), AOAC (2010), FSA (2002).



3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Resultados das contagens microbianas, pH e acidez dos leites com óleo de cártamo fermentados ou não por *L. casei*

Nas Tabelas 1 a 3 estão apresentados os resultados das contagens de células viáveis do probiótico, do pH e da acidez nos leites fermentados com e sem óleo de cártamo. Também foram analisados os leites preparados com o óleo sem adição de fermento para acompanhamento e comparação durante a estocagem.

Tabela 1. Contagens de *L. casei* (UFC/g) em ágar MRS dos leites com diferentes concentrações de óleo de cártamo – experimento em duplicata

Tempo de estocagem (dias)	leite sem óleo		leite com 2% de óleo		leite com 4% de óleo		leite com 8% de óleo		leite com 16% de óleo	
	Exp.1	Exp.2	Exp.1	Exp.2	Exp.1	Exp.2	Exp.1	Exp.2	Exp.1	Exp.2
1	3,5x10 ⁹	2,2x10 ⁹	4,6x10 ⁹	1,9x10 ⁹	1,7x10 ⁹	4,4*10 ⁹	3,6x10 ⁹	3,0x10 ⁹	3,1x10 ⁹	1,7x10 ⁹
7	2,7x10 ⁹	2,3x10 ⁹	3,3x10 ⁹	3,2x10 ⁹	3,2x10 ⁹	3,9x10 ⁹	4,1x10 ⁹	1,7x10 ⁹	4,6x10 ⁹	3,1x10 ⁹
14	1,7x10 ⁹	4,5x10 ⁹	1,9x10 ⁹	3,9x10 ⁹	2,5x10 ⁹	4,6x10 ⁹	3,0x10 ⁹	3,9x10 ⁹	3,9x10 ⁹	2,1x10 ⁹
21	1,8x10 ⁹	3,8x10 ⁹	1,6x10 ⁹	2,2x10 ⁹	2,8*10 ⁹	5,5x10 ⁹	1,7x10 ⁹	2,7x10 ⁹	1,3x10 ⁹	3,4x10 ⁹

De acordo com a “Lista de alegações de propriedade funcionais aprovadas” da ANVISA (BRASIL, 2008) a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada na faixa de 10⁸ a 10⁹ Unidades Formadoras de Colônias (UFC) na recomendação diária do produto pronto para o consumo. A porção para leites fermentados definida pela Resolução RDC nº 359/2003 (BRASIL, 2003) é de 200g ou mL. Assim, verificou-se que a adição de óleo de cártamo nas concentrações avaliadas para este microrganismo não influenciou sua viabilidade durante estocagem, permitindo a obtenção de produtos com contagens que mantiveram-se acima do estabelecido pela legislação, mesmo após 21 dias de estocagem. Em relação à contagem de células viáveis, as amostras de leites sem o fermento e com diferentes concentrações de óleo de cártamo não apresentaram colônias durante os 21 dias de estocagem, mesmo quando analisadas em baixas diluições.

Embora não tenha sido realizada avaliação sensorial nesta etapa do projeto, degustando os leites fermentados com 8 e 16% de óleo verificou-se que o sabor ficou desagradável. Nas etapas



posteriores deste estudo serão realizadas avaliações sensoriais de leites fermentados com óleo de cártamo.

Tabela 2. Dados de determinação de pH e acidez nos leites com e sem óleo de cártamo não adicionados de fermento

Análises	Sem óleo de cártamo	2% de óleo	8% de óleo	16% de óleo
pH	6,86	6,81	6,69	6,59
Acidez ¹	16,35±0,27	16,67±0,00	19,05±0,00	23,17±0,27
Experimento 2				
pH	6,83	6,84	6,80	6,82
Acidez ¹	19,52±0,00	21,58±0,28	22,38±0,00	22,85±0,00

¹ média de três determinações, resultado obtido em °Dornic.

Tabela 3. Determinações de pH e acidez nos leites fermentados por *L. casei* com diferentes concentrações de óleo de cártamo

Dias de estocagem	Amostras	Determinações			
		pH		Acidez média ¹	
		Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2
1	Sem óleo	4,55	4,32	0,65±0,00	0,98±0,01
	2% de óleo	4,42	4,66	0,84±0,03	0,82±0,00
	4% de óleo	4,46	4,54	0,92±0,00	0,87±0,01
	8% de óleo	4,32	4,47	0,84±0,01	0,86±0,10
	16% de óleo	4,38	4,34	0,92±0,00	1,02±0,02
7	Sem óleo	4,32	4,0	0,81±0,01	1,21±0,00
	2% de óleo	4,24	4,23	0,96±0,00	1,03±0,00
	4% de óleo	4,29	4,14	1,10±0,01	1,10±0,00
	8% de óleo	4,19	4,16	0,99±0,05	1,08±0,01
	16% de óleo	4,22	4,08	0,99±0,00	1,18±0,00
14	Sem óleo	4,21	3,84	0,99±0,01	1,34±0,01
	2% de óleo	4,17	3,99	1,00±0,00	1,23±0,01
	4% de óleo	4,10	3,97	1,25±0,20	1,22±0,01
	8% de óleo	4,11	3,97	1,13±0,00	1,24±0,01
	16% de óleo	4,15	3,92	1,11±0,01	1,22±0,01
21	Sem óleo	4,11	3,80	1,09±0,01	1,47±0,00
	2% de óleo	4,09	3,91	1,20±0,01	1,28±0,01
	4% de óleo	3,94	3,92	1,25±0,01	1,30±0,00
	8% de óleo	4,05	3,92	1,24±0,00	1,32±0,05
	16% de óleo	4,08	3,88	1,22±0,01	1,36±0,00

¹ média de três determinações, resultado obtido em % ácido láctico.

O óleo de cártamo foi analisado para determinação da composição em ácidos graxos. Na Tabela 4 está o resultado desta caracterização.



Tabela 4. Caracterização do óleo de cártamo

Determinação		Resultado
Ácidos graxos (g/100g)		
Saturados		7,40
Monoinsaturados		71,85
Poli-insaturados		16,35
Ômega 6		16,35
Composição em ácidos graxos (g/100g)		
C 16:0	Palmítico	4,91
C 18:0	Esteárico	2,49
C 18:1 ômega 9	Oléico	68,86
C 18:2 ômega 6	Linoléico	16,35
C 20:1 ômega 11	Cis-11-eicosenóico	2,99

O óleo de cártamo empregado neste estudo apresenta teores predominantes de ômega 9. Segundo Guiné, Henriques (2011) o ácido oléico monoinsaturado (ômega 9) reduz o risco de ataque cardíaco e arteriosclerose, e auxilia na prevenção do câncer.

4 CONCLUSÃO

Ao final de 21 dias de estocagem refrigerada as contagens de células viáveis de *L. casei* nos leites fermentados em diferentes concentrações de óleo de cártamo mantiveram-se acima do que a “Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas” da ANVISA determina para probióticos na porção de consumo que é de 200g ou mL para leites fermentados. Isto demonstra que a adição de óleo de cártamo nas concentrações avaliadas para estes microrganismos não influenciou sua viabilidade durante estocagem. Este resultado é positivo, pois permite o desenvolvimento de leites fermentados probióticos com adição de óleo de cártamo.

5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa PIBIC e pela bolsa de Produtividade em Desenvolvimento Tecnológico e Extensão Inovadora - DT 2012 (Processo: 310370/2012-4) concedidas.

6 REFERÊNCIAS

AOAC Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. 18th ed. Gaithersburg, MD, USA, 2010.



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015
10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

AOCS Official Methods and Recommended Practices of the AOCS. 6th. Ed., Urbana, IL, USA, 2014.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos, Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas 2008 disponível em <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acessado em 18/06/2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos**. Instrução Normativa n.22 de 14 de abril de 2006. Disponível em: www.agricultura.gov.br

BRASIL. ANVISA. Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003. Aprova Regulamento Técnico de Porções de Alimentos Embalados para Fins de Rotulagem Nutricional. **Diário Oficial [da] União**; Poder Executivo, de 26 de dezembro de 2003. Disponível em: www.portal.anvisa.gov.br

CAMPOS TBF. **A suplementação crônica com ácido linoléico conjugado promove redução da massa adiposa e compromete a sensibilidade à insulina no tecido adiposo branco periepidimal**. Tese de Doutorado. São Paulo: USP; 2007.

FRANK, J. F.; Yousef, A. E. Tests for groups of microorganisms. In: WEHR, H. M. e FRANK, J. F. (ed). **Standards Methods for the examination of dairy products**, 17th. American Public Health Association, Washington, D.C., 2004. Chapter 8. p. 227-247

FSA Food Standards Agency. **The Composition of Foods**. 6th Summary Ed. Cambridge; 2002. 537p.

Guiné, R.; Henriques, F. O Papel dos Ácidos Gordos na Nutrição Humana e Desenvolvimentos Sobre o Modo Como Influenciam a Saúde. **Millenium**, v. 40, p. 7-21, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005, p. 827, 828, 851, 852, 855, 856, 865

SCHULZE, B.N.; SCHULTZ, C.; ULBRICH, A.Z.; BERTIN, R.L. Efeito da Suplementação de Óleo de Cártamo sobre o Perfil Antropométrico e Lipídico de Mulheres com Excesso de Peso Praticantes de Exercício Físico. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 18, S. 4, p. 89-96 2014

ZACARCHENCO, P.B.; GALLINA, D.A.; SPADOTI, L.M.; TRENTO, F.K.H.S.; MEDEIROS, M.I.M. Ácido Linoleico Conjugado (CLA) - Benefícios Para Saúde, Sua Presença e Estabilidade em Produtos Lácteos. **UNOPAR Cient. Ciênc. Biol. Saúde**; 15(ESP):401-9, 2013.