

Efeito do pH na sobrevivência de *Bifidobacterium animalis* em matriz de fruta

RESUMO

Laura Carvalho Silva

llaura03@hotmail.com

<http://orcid.org/0000-0001-6241-3968>

Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil.

Cynthia Jurkiewicz Kunigk

cynthia@maua.br

<http://orcid.org/0000-0003-0388-8183>

Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil.

Alimentos probióticos que possam ser consumidos por pessoas com intolerância a produtos lácteos estão em crescente demanda. Para colaborar com o desenvolvimento de alimentos probióticos à base de frutas, este estudo teve por objetivo avaliar a sobrevivência de *Bifidobacterium animalis* em matriz de ameixa com diferentes valores de pH (3,5, 4,0, 5,0, 6,0, e 7,0) durante 42 dias de armazenamento em refrigeração. A matriz de ameixa foi produzida com ameixa seca, xarope de glicose e frutose, sacarose, e pectina e apresentou atividade de água de 0,91, com a textura semelhante a uma geleia. O pH foi ajustado com adição de ácido cítrico ou bicarbonato de sódio. Os dados foram ajustados ao modelo de distribuição de Weibull e o tempo para a primeira redução decimal da contagem do probiótico para cada pH foi determinado. Os resultados mostraram que a maior sobrevivência da bactéria ocorreu nas matrizes com pH 5,0, e 6,0 indicando que o produto apresenta potencial como alimento probiótico não lácteo. As maiores velocidades de morte ocorreram nas matrizes com pH 3,5 e 4,0. A matriz de pH 5,0, após 42 dias de armazenamento apresentou 6,28 Log UFC/g e o tempo para a redução de 1 Log UFC/g ocorreu apenas com 32 dias de armazenamento a 4°C. Os valores de pH nas matrizes de ameixa com pH 6,0 e 7,0 apresentaram variações decrescente durante o período de armazenamento, sugerindo atividade metabólica da bactéria.

PALAVRAS-CHAVE: probiótico; ameixa; geleia; pH; curva de sobrevivência.

INTRODUÇÃO

Alimentos funcionais quando consumidos na alimentação cotidiana, podem trazer benefícios fisiológicos específicos devido à presença de determinados ingredientes (SHAH, 2007). Os alimentos funcionais possuem potencial para promover a saúde através de mecanismos não previstos na nutrição convencional, devendo ser salientado que este efeito se restringe à promoção da saúde e não à cura de doenças (SANDERS, 1998).

As substâncias biologicamente ativas encontradas nos alimentos funcionais podem ser classificadas, dentre outras, em: probióticos e prebióticos, vitaminas, compostos fenólicos, ácidos graxos polinsaturados e fibras (MORAES e COLLA, 2006).

Os probióticos são definidos como “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FAO/WHO, 2006). Espécies probióticas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são as mais comumente aplicadas em alimentos.

As espécies de bifidobactérias tem um comportamento metabólico único em condições específicas. Nos alimentos, as cepas probióticas de *Bifidobacterium* devem resistir a condições adversas de pH baixo, tempo de armazenamento, temperatura e presença de oxigênio; fatores que afetam diretamente a viabilidade do microrganismo (SHOUKAT *et al.*, 2019). A aplicação de *Bifidobacterium* em matrizes alimentar de frutas é limitada, pois a sobrevivência é sensível ao meio, comparado ao probiótico *Lactobacillus* que tem aplicação em alimentos variados (vegetais, frutas, cereais e carnes) (SAARELA *et al.*, 2011).

Os alimentos probióticos com *Bifidobacterium animalis* disponíveis no mercado são à base de leite, principalmente leites fermentados, o que pode ser justificado pela boa viabilidade do microrganismo nesses produtos. A aplicação do probiótico BB12® também foi avaliada em queijo Minas Frescal feito com leite de Bufalá, e mostrou que a contagem da bactéria permaneceu estável no teste de resistência ao sistema digestivo, indicando que o queijo Minas Frescal apresenta um potencial protetor ao probiótico no trato gastrointestinal (VERRUCK *et al.*, 2015).

Tradicionalmente, probióticos são adicionados em produtos lácteos, mas a presença de lactose é um problema para pessoas com intolerância ao leite. Nos últimos anos, a procura por produto probióticos não lácteos aumentou, surgindo a necessidade do desenvolvimento de novos alimentos (PONCHIO, *et al.*, 2017). A inserção de probióticos em frutas é uma opção em substituição ao leite. Entretanto, o pH ácido das frutas é um dos principais fatores que podem afetar a sobrevivência do microrganismo probiótico neste tipo de alimento durante o armazenamento. (SAARELA *et al.*, 2011).

Bifidobacterium são sensíveis ao meio ácido (possuem baixa tolerância ao pH menor que 4,6) e condições aeróbicas; ambas situações estão presentes nos alimentos à base de frutas (SAARELA *et al.*, 2011). Estudos mostram que a espécie *Bifidobacterium animalis* é utilizada extensivamente como probiótico e tem ação eficaz na melhora do funcionamento do trânsito intestinal humano (DICKS; BOTES, 2009).

A ameixa (fruta acida, pH 3,6- 3,8), *Prunus spp*, é uma frutífera arbórea de clima temperado, da família *Rosaceae*, cujo potencial produtivo é altamente dependente das condições de clima e solo. Além do consumo *in natura* são muito usadas para a produção de conserva, geleia e doces (LORENZI, *et al.*, 2006). O processo de transformação em ameixa seca é feito por meio da desidratação logo após a colheita. (CELESTINO, 2010).

Neste contexto, para o desenvolvimento de um alimento probiótico a base de ameixa é importante avaliar o efeito do pH do produto na sobrevivência de *Bifidobacterium animalis*, de forma que a formulação possa ser ajustada para a manutenção de um número elevado da bactéria probiótica durante o armazenamento do alimento.

MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAL

Foram desenvolvidas cinco formulações de matrizes (geleia) de ameixa com diferentes valores de pH (3,5, 4,0, 5,0, 6,0 e 7,0). Os ingredientes para a produção da geleia foram a ameixa seca sem caroço, marca Argensun®, do lote 180123 018, de origem Argentina que foi adquirida no mercado da região da cidade de São Caetano do Sul-SP e foi mantida a 7 ± 2 °C até o momento da utilização; sacarose, água, xarope de glicose com açúcar invertido da marca Karo® Natural Unilever, pectina BTM (Danisco®-412452), cloreto de cálcio (CaCl₂), bicarbonato de sódio (NaHCO₂) e ácido cítrico (C₆H₈O₇).

A produção da geleia de ameixa foi realizada no equipamento Thermomix™ (VORMERK) que permitiu o controle a temperatura, velocidade e tempo de processamento.

Foi utilizada a cultura liofilizada *Bifidobacterium animalis* (BB12®), da empresa Christian Hansen, foi mantida a -18 °C até o momento da utilização.

PRODUÇÃO DA MATRIZ DE AMEIXA

As formulações das matrizes de ameixa estão apresentadas na Tabela 1. O preparo foi realizado no processador Thermomix™ de modo a obter uma massa final de 500 gramas de produto para cada formulação de pH. Inicialmente, as ameixas foram trituradas juntamente com 15 % de água e 1,3 % de sacarose por 5,0 minutos a 37 °C e velocidade de 1100 rpm. Em seguida acrescentou-se a mistura o xarope de glicose com açúcar invertido (Karo® Natural Unilever), a pectina BTM (Danisco®-412452), juntamente com mais 15 % de água e 3,65 % de sacarose e homogeneizou-se por 2,0 minutos a 37 °C. Por fim, o cloreto de cálcio foi adicionado e a mistura aquecida a 70°C por 2 minutos, resultando em uma matriz de ameixa com a consistência de uma geleia. O pH das matrizes foi ajustado com a adição de bicarbonato de sódio ou ácido cítrico.

As cinco formulações, de 500 g cada, foram realizadas em triplicata. Optou-se por utilizar ameixa seca sem caroço como matéria prima da matriz/geleia para que houvesse melhor durabilidade da fruta durante a estocagem do lote adquirido.

Tabela 1. Formulações das matrizes de ameixa

Componentes % (m/m)	pH 3,5	pH 4,0	pH 5,0	pH 6,0	pH 7,0
Ameixa seca sem caroço	57,00	58,75	58,40	58,20	57,90
Ácido cítrico anidro	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Bicarbonato de sódio	0,00	0,25	0,60	0,80	1,10
Água	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Cloreto de cálcio	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Pectina BTM	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Xarope de glicose e açúcar invertido	4,95	4,95	4,95	4,95	4,95
Sacarose	4,95	4,95	4,95	4,95	4,95

PREPARO DO INÓCULO

Em 100 mL de solução salina (0,85%) foi adicionado 0,1 g da cultura, *Bifidobacterium animalis* BB-12[®], liofilizada. A suspensão foi homogeneizada por 2 minutos à 260 rpm no Stomacher[®] e 1 mL foi transferido para frascos contendo 99 mL de caldo MRS (Oxoid) estéril contendo 0,5 mL de uma solução de cisteína (10 %). Os frascos foram incubados a 37°C por 20 horas, tempo suficiente para que a bactéria atingisse a fase estacionária de crescimento. O caldo foi centrifugado (Centrífuga Mega 21R – Hanil) a 6000 rpm por 15 minutos a 4,0 °C e o sobrenadante descartado. As células foram lavadas com solução salina 0,85 % estéril e o procedimento de centrifugação e lavagem foi repetido.

ADIÇÃO DE MICRORGANISMOS A MATRIZ

O “pellet” resultante da centrifugação foi suspenso em 4,2 mL de salina 0,85 % e adicionado de forma homogênea na matriz de ameixa na proporção de 1,0 % (v/m). A matriz de fruta contendo o probiótico foi dividida em porções de 35 g e armazenada à vácuo a 5 °C durante 42 dias. Em intervalos de 7 dias foram retiradas amostras para contagem do número de probiótico nas matrizes com pH 4,0, 5,0, 6,0, e 7,0, e em intervalo de 1 dia para a matriz com pH 3,5.

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Para a determinação do número de *Bifidobacterium animalis* nas matrizes de ameixa, 10 gramas da amostra foram transferidas para o saco Stomacher[®] com 90 ml de solução salina 0,85% estéril. A suspensão foi homogeneizada no Stomacher[®] a 260 rpm por 10 minutos. A partir dessa primeira diluição (10⁻¹), foram realizadas sucessivas diluições seriadas em solução salina 0,85% estéril. (SILVA et al., 2007).

Alíquotas de 1,0 ml das diluições adequadas foram transferidas para as placas de Petri, em duplicata, em seguida foi adicionado o meio de cultura MRS Agar suplementado com 0,5% de uma solução de cisteína à 10 %. As placas foram incubadas em jarra de anaerobiose com gerador anaerogem (Oxoid) a 37 °C por 72 horas e o número de unidades formadoras de colônias determinado (SPECK, 1984).

pH

Para a determinação do pH: uma amostra de 10 g foi diluída em 100 mL de água destilada e homogeneizada manualmente (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). A leitura do pH, na amostra diluída, foi realizada em potenciômetro em triplicata (Mettler Toledo Five Easy - FE20, Suíça).

AJUSTE DO MODELO DE SOBREVIVÊNCIA

A partir dos dados de Log UFC/g de *Bifidobacterium animalis* em função do tempo de armazenamento das matrizes de ameixa, com diferentes valores de pH, foi ajustado o modelo de Weibull (Equação 1) (MAFART *et al.*, 2002), utilizando o Software USDA Integrated Pathogen Modeling Program (IPMP) (HUANG, 2014).

$$\text{Log } N = \text{Log } N_0 - \left(\frac{t}{D}\right)^\alpha \quad (\text{Equação 1})$$

Onde N é o número de *Bifidobacterium* (Log UFC/g) em determinado tempo de armazenamento; N_0 é o número inicial de *Bifidobacterium* (Log UFC/g); t é o tempo de armazenamento (dias); α é o coeficiente de forma.

Para avaliação da adequação do ajuste do modelo foi determinado o valor do coeficiente de determinação R^2 (Equação 2) e da média quadrática do resíduo, RMSD (Equação 3).

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad (\text{Equação 2})$$

$$\text{RMSD} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - p}} \quad (\text{Equação 3})$$

Onde y_i é a população de microrganismo observada no tempo i; \hat{y}_i é a população de microrganismo predita pelo modelo no tempo i; \bar{y} é a média dos valores observados para população de microrganismo; n é o número de observações e p o número de parâmetros no modelo.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram avaliados por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, considerando um nível de significância de 5 %, utilizando o software Minitab 17.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As contagens de *Bifidobacterium* e os valores de pH das amostras de matriz de ameixa foram determinados durante 42 dias de armazenamento a 5 °C, e estão apresentados nas Tabela 2 e 3, respectivamente. As repetições experimentais de contagem de *Bifidobacterium* e dos valores de pH de cada formulação foram realizadas em triplicata.

Tabela 2 - Contagem de *Bifidobacterium* em matriz de ameixa de diferentes pH

Tempo (Dias)	Log UFC/g				
	pH				
	3,5	4,0	5,0	6,0	7,0
0	7,97 ^{Aa} ± 0,24	7,85 ^{Aa} ± 0,38	8,16 ^{Aa} ± 0,08	8,19 ^{Aa} ± 0,05	8,36 ^{Aa} ± 0,18
1	7,35 ^{AB} ± 0,06	Nd	nd	Nd	nd
2	7,46 ^A ± 0,00	Nd	nd	Nd	nd
3	6,59 ^{BC} ± 0,04	Nd	nd	Nd	nd
4	6,46 ^{BC} ± 0,01	Nd	nd	nd	nd
5	5,61 ^C ± 1,01	Nd	nd	nd	nd
6	3,86 ^D ± 0,10	Nd	nd	nd	nd
7	< 1	7,21 ^{Aa} ± 0,41	7,75 ^{ABa} ± 0,15	7,98 ^{Aa} ± 0,14	7,62 ^{ABa} ± 0,34
14	nd	6,57 ^{ABb} ± 0,14	7,56 ^{ABa} ± 0,33	7,35 ^{ABab} ± 0,49	7,34 ^{ABCab} ± 0,05
21	nd	5,76 ^{ABb} ± 0,73	7,48 ^{ABa} ± 0,18	7,50 ^{ABa} ± 0,19	7,02 ^{ABCa} ± 0,26
28	nd	5,00 ^{BCc} ± 0,32	7,38 ^{ABa} ± 0,42	6,98 ^{ABab} ± 0,36	6,38 ^{BCb} ± 0,31
35	nd	3,17 ^{CDb} ± 0,99	6,52 ^{Ba} ± 0,74	6,17 ^{BCa} ± 0,73	5,54 ^{CDa} ± 0,61
42	nd	1,24 ^{Db} ± 0,89	6,28 ^{Ba} ± 0,81	5,25 ^{Ca} ± 0,81	4,23 ^{Da} ± 1,21

NOTA: nd (não determinado). A, B, C, D, E – médias que compartilham letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p > 0,05$). a, b, c - médias que compartilham letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente ($p > 0,05$).

Tabela 3 - Valores de pH nas matrizes de fruta ao longo do armazenamento

	pH 3,5	pH 4,0	pH 5,0	pH 6,0	pH 7,0
0	3,41 ^A ± 0,04	4,08 ^A ± 0,07	4,99 ^A ± 0,05	6,08 ^A ± 0,06	7,11 ^A ± 0,12
1	3,48 ^A ± 0,00	Nd	nd	nd	nd
2	3,47 ^A ± 0,01	Nd	nd	nd	nd
3	3,47 ^A ± 0,00	Nd	nd	nd	nd
4	3,48 ^A ± 0,00	Nd	nd	nd	nd
5	3,48 ^{AB} ± 0,00	Nd	nd	nd	nd
6	3,48 ^{AB} ± 0,00	Nd	nd	nd	nd
7	3,49 ^A ± 0,00	4,03 ^A ± 0,10	4,97 ^A ± 0,01	5,97 ^{AB} ± 0,04	7,07 ^A ± 0,13
14	Nd	4,01 ^A ± 0,14	4,97 ^A ± 0,01	5,94 ^B ± 0,07	7,02 ^{AB} ± 0,16
21	Nd	4,04 ^A ± 0,14	4,99 ^{AB} ± 0,04	5,95 ^B ± 0,02	6,97 ^{AB} ± 0,23
28	Nd	4,05 ^A ± 0,17	4,99 ^{AB} ± 0,04	5,92 ^B ± 0,02	6,93 ^{AB} ± 0,19
35	Nd	4,05 ^A ± 0,16	4,98 ^{AB} ± 0,03	5,77 ^C ± 0,07	6,86 ^{BC} ± 0,26
42	Nd	4,04 ^A ± 0,15	4,92 ^B ± 0,01	5,69 ^C ± 0,08	6,73 ^C ± 0,21

NOTA: nd (não determinado). A, B, C, D, E – médias que compartilham letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente ($p > 0,05$).

Observa-se na Tabela 2, que o número de *B. animalis* na matriz de ameixa com pH 3,5 sofreu redução acentuada nos primeiros dias, não sendo mais possível detectar a presença da bactéria probiótica no sétimo dia de armazenamento. Em pH 4,0 observa-se que a contagem de *B. animalis* apresentou redução muito menos acentuada que em pH 3,5. Com 28 dias de armazenamento o número de probióticos ainda era 5,0 Log UFC/g. Já em pH 5,0 a contagem em 28 dias era maior que 7,0 Log UFC/g. A variação de uma unidade de pH mostrou influenciar a sobrevivência do microrganismo consideravelmente.

Embora em pH 5,0 a sobrevivência de *Bifidobacterium animalis* tenha sido elevada na matriz de ameixa é possível observar uma redução de 2 Log UFC/g durante os 42 dias de armazenamento.

A viabilidade de *B. animalis* em matriz de ameixa com pH 7,0 também foi elevada, porém menor que em pH 6,0. Em 28 dias de armazenamento a contagem do probiótico era próxima de 6 Log UFC/g no pH 7,0 e após 42 dias de armazenamento, a redução na população do microrganismo foi de quase 4 Log UFC/g. Esta redução acentuada não era esperada tendo em vista que o pH ótimo para o crescimento de *Bifidobacterium* é 6 e 7 (RAIZEL *et al.*, 2011).

O controle do pH é fundamental para a sobrevivência de *Bifidobacterium*. A bactéria apresentou baixa resistência ao pH 3,5, e maior resistência na matriz de ameixa com pH mais elevados (5,0; 6,0 e 7,0). As matrizes de ameixa com pH 5,0 e 6,0 parecem ser adequadas para a incorporação de *Bifidobacterium animalis*.

Assim como verificado na matriz de ameixa com pH 5,0, Cruxen *et al.* (2017) observaram elevada resistência de *B. animalis* em pH 4,7, em sorvete a base da fruta butiá. Após 90 dias de armazenamento a -18 °C a contagem do probiótico era superior a 8,0 Log UFC.

Assim como observado na matriz de ameixa, Chaikham (2015), verificou menor sobrevivência de *Bifidobacterium animalis* em sucos com pH mais baixo. Em suco de amora, com pH 3,16, após 30 dias de armazenamento a 4 °C, houve uma redução 5,4 log UFC no número do probiótico, ao passo que no suco de melão (pH 6,81), a redução foi de 2,0 log UFC no mesmo período.

A Tabela 3 apresenta a variação do pH das matrizes de ameixa ao longo do período de armazenamento. Observa-se uma variação decrescente ao longo do tempo para as matrizes de pH 5,0, 6,0 e 7,0 principalmente a partir do trigésimo quinto dia de armazenamento, podendo indicar uma atividade metabólica da bactéria.

Apenas na matriz de pH 4,0 não houve diferenças significativas durante os 42 dias de armazenamento.

Nualkaekul *et al.*, (2011) verificaram que *Bifidobacterium animalis* em suco de abacaxi alterou o pH após 6 semanas de armazenamento, de $3,71 \pm 0,03$ para $3,62 \pm 0,04$. A acidificação deu-se devido a produção de ácido láctico e ácido acético na quantidade final de 0,5 g/L e 0,7 g/L, respectivamente.

A Tabela 4 apresenta os valores dos parâmetros do modelo e os índices de avaliação da qualidade do ajuste.

Todos os ajustes do modelo podem ser considerados satisfatórios, já que os valores dos coeficientes de determinação R^2 são maiores que 0,98 e os valores de RMSD são menores que 0,5. As correlações entre os valores observados e preditos

pelo modelo do Log UFC/g também foram adequadas, com R² acima de 0,98, conforme se observa na Tabela 4.

Tabela 4- Redução logarítmica de *Bifidobacterium* em função do pH

pH	(D')	Y ₀ (Log N ₀)	α	RMSD	R ²
3,5	4,3 ^B ± 0,4	7,40 ± 0,04	4,1 ± 0,8	0,412	0,982
4,0	16 ^{AB} ± 3	7,6 ± 0,3	1,9 ± 0,4	0,265	0,993
5,0	32 ^A ± 14	8,0 ± 0,1	1,5 ± 0,5	0,218	0,986
6,0	27 ^{AB} ± 7	8,0 ± 0,2	2,2 ± 0,5	0,235	0,989
7,0	20 ^{AB} ± 8	8,1 ± 0,6	2,2 ± 1,8	0,257	0,987

NOTA: A, B, médias com letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente (p>0,05).

Observa-se na Tabela 4 que os valores iniciais das contagens de *B. animalis* (Y₀) nas matrizes de ameixa preditos pelo modelo não diferiram significativamente (p > 0,05) para os diferentes valores de pH, indicando que a metodologia adotada para a adição do probiótico nas matrizes garantiu uma boa homogeneidade das amostras.

Os valores obtidos para o parâmetro de forma (α) do modelo de Weibull são maiores que 1 para todas as matrizes de ameixa, portanto as curvas possuem concavidade para baixo, como pode ser observado na Figura 1. Entretanto, no pH 3,5 o valor de α é mais alto que no pH 5,0 (p < 0,05) indicando que a intensidade do agente letal é maior, refletindo no acúmulo de danos à célula e, portanto, maior sensibilidade entre os sobreviventes (PELEG, 1999).

O tempo para a primeira redução decimal (D') do número de probióticos na matriz de ameixa com pH 5,0 foi de 32 dias, já em pH 3,5 foram necessários apenas 4,3 dias para a queda de 1 Log UFC/g. Nas matrizes com pH 4, 6 e 7, os valores de D' foram superiores ao pH 3,5 e inferiores ao pH 5,0, entretanto as diferenças não foram significativas (p > 0,05) devido ao elevado desvio-padrão observado.

O parâmetro D'apresentou uma relação de segunda ordem com o pH da matriz de ameixa, conforme pode ser observado na Figura 1 e Equação 4.

$$D' = -159,6 + 68,5 \text{ pH} - 6,14 \text{ pH}^2 \quad (R^2 = 0,958) \quad (\text{Equação 4})$$

De acordo com a Equação 4, determinou-se um modelo matemático que correlaciona a velocidade de morte da bactéria em função do pH da matriz do alimento. Observa-se na Figura 1 e na Equação 4 que a faixa de pH entre 5 e 6, o tempo para reduzir 90 % da população de *Bifidobacterium animalis* é próximo de 30 dias, mostrando uma boa estabilidade da bactéria na matriz de ameixa. Neste caso, o consumo de uma porção de 10 g de produto, mesmo após 30 dias de armazenamento, garantiria a ingestão de 10⁸ células do probiótico, número considerado adequado para que os efeitos benéficos à saúde sejam obtidos de um alimento funcional.

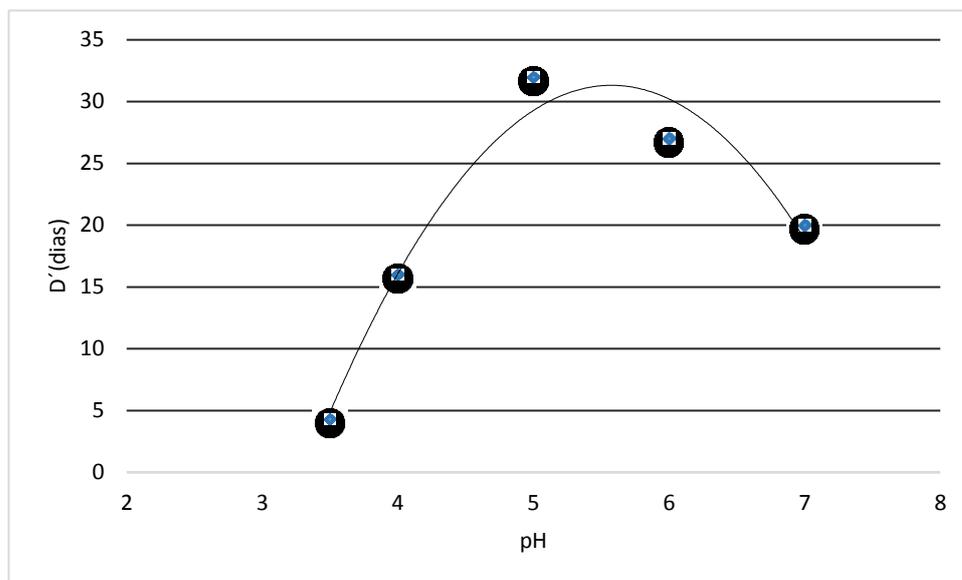


Figura 1- Relação entre o tempo para a primeira redução dedução decimal (D') e o pH da matriz de ameixa.

CONCLUSÕES

O pH da matriz de ameixa mostrou ser fator decisivo na sobrevivência de *Bifidobacterium animalis* BB-12 durante o armazenamento, cabendo provavelmente, uma estratégia para melhorar a proteção dos microrganismos ao meio ácido, como a encapsulação.

As matrizes de ameixa com pH 5,0 e 6,0 parecem apresentar potencial para a sobrevivência de *Bifidobacterium animalis* BB-12[®] no alimento, embora tenham que ser conservadas refrigeradas durante a vida de prateleira. A matriz de ameixa com pH 3,5 mostrou ser a pior condição para a sobrevivência de *Bifidobacterium animalis*.

O modelo de Weibull foi adequado para o ajuste aos dados experimentais das contagens de *Bifidobacterium animalis* em função do tempo de armazenamento. O tempo da primeira redução decimal do número de *Bifidobacterium animalis* apresentou uma correlação de segunda ordem com o pH da matriz de ameixa.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao IMT- Instituto Mauá de Tecnologia ao suporte recebido as análises durante a pesquisa.

Effect of pH on the surface of *Bifidobacterium animalis* in a fruit matrix

ABSTRACT

Probiotic foods that can be consumed by people with dairy intolerance are in increasing demand. In order to collaborate with the development of fruit-based probiotic foods, this study aimed to evaluate the survival of *Bifidobacterium animalis* BB-12 in plum matrix with different pH values (3.5, 4.0, 5.0, 6.0, and 7.0), during 42 days of refrigerated storage. The plum matrix with water activity of 0.91 was produced with prune, glucose and fructose, sucrose, and pectin, presented the texture resembling of a plum jam. The pH was adjusted with the addition of citric acid or sodium bicarbonate. The data were adjusted to the Weibull distribution model and the time for the first decimal reduction of the probiotic count for each pH was determined. The results showed that the highest survival of the bacteria occurred in the matrices with pH 5.0 and 6.0 indicating that the product has potential as non-dairy probiotic food. The matrices with pH 3.5 and 4.0 had the highest death rate. The pH 5.0 matrix after 42 days of storage showed 6.28 Log CFU / g and the reduction of 1 Log CFU / g occurred only with 32 days of storage at 4 ° C. The pH of plum matrices with pH 6.0 and 7.0 decreased during the storage period, suggesting bacterial metabolic activity.

KEYWORDS: probiotic; plum; jam; pH; survival curve.

REFERÊNCIAS

BASHOLLI-SLIHU, M.; MUELLER, M.; BEHZADI, S. S.; UNGER, F. M.; VIERNSTEI, H. Effect of lyprotectants on b-glucosidase activity and viability of Bifidobacterium infantis after freeze-drying and storage in milk and low pH juices. **LWT- Food Science and Technology**, Viena, v. 57, n. 1, p. 276-282, Junho 2014. ISSN 0023-643.

CANDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. Alimentos funcionais. Uma revisão. **Boletim da SBCTA.**, 29, 2005. 193-203.

CASAROTTI, S. N.; PENNA, A. L. B. Acidification profile, probiotic in vitro gastrointestinal tolerance and viability in fermented milk with fruit flours. **International Dairy Journal**, São José do Rio Preto, v. 34, p. 1-6, Outubro 2015. ISSN 1678-457X.

CELESTINO, S. M. C. **Princípios de Secagem de Alimentos**. EMBRAPA. Planaltina-DF, p. 41. 2010. (2176-5081).

CHAIKHAM, P. Stability of probiotics encapsuled with Thai herbal extracts in fruit juices and yoghurt refrigeration storage. **Food Bioscience**, Phranakhon si Ayutthaya, v. 12, p. 61-66, Dezembro 2015. ISSN 2212-4292.

CRUXEN, C. E. D. S.; HOFFMANN, J. F.; ZANDONÁ, G. P.; FIORENTINI, Â. M.; ROMBALDI, C. V.; CHAVES, F. C. Probiotic butiá (Butia odorata) ice cream: Development, characterization, stability of bioactive compounds, and viability of Bifidobacterium lactis during storage. **LWT- Food Science and Technology**, v. 75, p. 379-385, Janeiro 2017.

DICKS, L. M. T.; BOTES, M. Probiotic lactic acid bacteria in the gastro-intestinal tract: health benefits, safety and. **Wageningen Academic Publishers**, South Africa, v. 1, n. 1, p. 11-29, 4 Junho 2009.

FAO/WHO. **Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation**. World Health Organization. Rome, p. 2. 2006.

FRANCO, B. D. G. D. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos Alimentos. *In*: FRANCO, B. D. G. D. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. p. 16.

GARDINER, G.; ROSS, R. P.; J. K. COLLINS, J. K.; FITZGERALDD, G.; STANTON, C. Development of a Probiotic Cheddar Cheese Containing Human-Derived Lactobacillus paracasei Strains. **American Society for Microbiology**, Oxford, v. 64, p. 2192-2199, março 1998. ISSN 6.

HUANG, L. **Introduction to USDA Integrated Pathogen Modeling Program (IPMP) 2013**. USDA Agricultural Research Service. Wyndmoor, PA 19038. 2014.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físicos-químicos para análise de alimentos. *In: Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. 3. ed. São Paulo: [s.n.], v. 1, 2008. p. 27.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. Frutas Brasileiras e Exóticas Cultivadas (De Consumo In Natura). São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006. p. 672.

MAFART, P.; COUVERT, O.; GAILLARD, S.; LEGUERINEL, I. On calculation sterility in thermal preservation methods: application of weibul frequency distribution model. **International Journal of Food Microbiology**, v. 72, n. 1-2, p. 107-113, Janeiro 2002.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos Funcionais e Nutraceuticos: Definições, Legislação e Benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Passo Fundo, v. Vol 3(2), n. 1808-0804 , p. 99-112, 19 Novembro 2006.

NUALKAEKUL, S.; SALMERON, I.; CHARALAMPOPOULOS, D. Investigation of the factor influencing the survival of Bifidobacterium longum in model acidic solutionc and fruit juices. **Food Chemistry**, v. 129, n. 3, p. 1037-1044, Dezembro 2011.

PONCHIO, F.; SOLIZETTO, J.; OLIVEIRA, T.; ARIA, V. **Aplicação de probióticos encapsulados em barra de frutas**. Instituto Mauá de tecnologia. São Caetano do Sul. 2017.

RAIZEL, R.; SANTINI, E.; MAGALI, K. A. M.; FILHO, A. D. D. R. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos. **Revista Ciência & Saúde**, Porto Alegre, v. 4, n. 2, p. 66-74, Jul/Dez 2011.

SAARELA, M.; MATTO, H. L. A. J.; AHONEN, A. M.; PUHAKKA, A.; TYNKKYNNEN, S. Improving the storage stability of Bifidobacterium breve in low pH fruit juice. **International Journal of Food Microbiology**, Valio, v. 149, n. 1, p. 106-110, Setembro 2011. ISSN 0168-1605.

SANDERS, M. E. Overview of Functional Foods: Emphasis on Probiotic Bacteria. **International Dairy Journal**, v. 8, n. 5–6, p. 341-347, Maio 1998.

SHAH, N. P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 11, p. 1262-1277, Novembro 2007.

SHOUKAT, S.; LIU, Y.; REHAMAN, A.; ZHANG, B. Screening of Bifidobacterium strains with assignment of functional groups to bind with benzo[a]pyrene under food stress factors. **Journal of Chromatography B**, Beijing, v. 114-1115, p. 100-109, Maio 2019. ISSN 1570-0232.

SILVA, N. D.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. D.; GOMES, R. A. R. Manual de métodos de análise Microbiológica de Alimentos. In: SILVA, N. D. *et al.* **Manual de métodos de análise Microbiológica de Alimentos**. 3ª. ed. São Paulo: Varela, v. Único, 2007. Cap. 2, p. 34.

SPECK, M. L. COMPEDIUM OF METHODS FOR THE MICROBIOLOGICAL EXAMINATION OF FOODS. 2 ed. ed. WASHINGTON: APHA, 1984. p. 300.

SPERS, E. E.; BEGIATO, G. F.; THOMÉ, L.; NEVES, C. M. F. Mercado de frutas secas. **Mercado & Negócios**, Dezembro 2008. 13-14.

VERRUCK, S.; PRUDÊNIO, E. S.; VIEIRA, C. R. W.; AMANTE, E. R.; AMBONI, R. D. D. M. C. The buffalo Minas Frescal chesse as a protective matrix of bifidobacterium BB-12 under in vitro simulated gastrointestinal conditions. **LWT- Food Science and technology**, Florianópolis, v. 63, p. 1179-1183, Abril 2015. ISSN 0023-6438.

Recebido: 10 dez. 2019.

Aprovado: 22 jul. 2020.

DOI: 10.3895/rebrapa.v10n4.11388

Como citar:

SILVA, L. C.; KUNIGK, C. J. Análise do efeito do pH na sobrevivência de *Bifidobacterium animalis* em matriz de fruta. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 10, n. 4, p. 118-130, out./dez. 2019. Disponível em: <https://periodicos.ufpr.edu.br/rebrapa>

Correspondência:

Laura Carvalho Silva

Instituto Mauá de Tecnologia, Praça Mauá, 1, Mauá, CEP 09580-900, São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil.

Direito autoral: Este artigo está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.

