

ELABORAÇÃO DE PRODUTO CÁRNEO PROBIÓTICO

ELABORATION OF PROBIOTIC MEAT PRODUCT

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi microencapsular espécies de *Lactobacillus* com carragena em combinação com proteína do farelo de arroz e albumina sérica bovina e aplicar em salame tipo Milano para elaboração de um produto cárneo probiótico. Duas formulações de salame (controle e com microcápsulas de *L. rhamnosus*) foram produzidas de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade para este produto e foram avaliadas quanto a composição-centesimal, qualidade microbiológica, resistência a digestibilidade e análise sensorial. Ambas formulações atenderam aos padrões físico-químicos e microbiológicos, sendo que a contagem de bactérias ácidos-láticas do salame com as microcápsulas de *L. rhamnosus* foi superior ($p < 0.05$) a do salame controle (sem microcápsulas). Os testes de digestibilidade indicaram maior resistência do microrganismo encapsulado quando comparado a cultura *starter* aplicada na forma livre ao salame controle que apresentou redução de 2 ciclos logaritmos. Na análise sensorial, não foram encontradas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre amostra controle e probiótica, indicando que a inserção do *L. rhamnosus* microencapsulado não alterou a qualidade sensorial do salame probiótico.

PALAVRAS-CHAVE: Proteína do farelo arroz. Microencapsulação. Produtos Cárneos .

ABSTRACT

The aim of this study was to microencapsulate *Lactobacillus* with carrageenan in combination with rice bran protein and bovine serum albumin and apply in salami type milano. Two formulations of salami (control and with microcapsules of *L. rhamnosus*) were produced according to the technical regulation of identity and quality for this product. The two salami formulations were evaluated regarding centesimal composition, microbiological quality, resistance to digestibility and sensory analysis. Both formulations met the physico-chemical and microbiological standards, and the bacterial counts of salami lactic acid with *L. rhamnosus* microcapsules presented higher counts. The digestibility tests indicated a higher resistance of the encapsulated microorganism when compared to the initial culture applied in the free form to the control of salami that presented reduction of 2 log cycles. In the sensory analysis, no significant differences ($p > 0.05$) were found between the control and probiotic samples, indicating that the insertion of the microencapsulated *L. rhamnosus* did not alter the sensory quality of the probiotic salami.

KEYWORDS: Rice bran protein. Microencapsulation. Meat products.

Gabriela Oro

gaabrielaoro@gmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil

Cristiane Canan

cristianecanan@gmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil

Thais Biasuz

thais.biasuz@gmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil

Ronana Aparecida da Silva-Buzanello

rosanabuzanello@gmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil

Daneysa Lahis Kalschne

daneysa@hotmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil

Ana Cristina Trindade Cursino

anacursino@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, Paraná, Brasil

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

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



INTRODUÇÃO

Os probióticos são microrganismos que quando ingeridos em quantidades adequadas são benéficos à saúde do hospedeiro por auxiliarem no equilíbrio e composição da microbiota intestinal, prevenção e diminuição de sintomas em doenças inflamatórias intestinais, efeitos anticarcinogênicos, antimicrobianos, modulação do sistema imunológico (AMBALAM et al., 2016, p.4).

Vários são os desafios para implantação de probióticos em produtos alimentares, como o pH, acidez, oxigênio, atividade de água, sal, açúcar e produtos químicos, bacteriocinas, aromatizantes e corantes, e as condições de processamento, podem diminuir a viabilidade do microrganismo. Na busca pela redução das condições adversas encontradas na produção e manutenção dos probióticos em alimentos, a técnica de encapsulação mostra-se promissora (CHOTIKO; SATHIVEL, 2016, p. 420).

A microencapsulação do probiótico deve utilizar um material de parede resistente às condições gástricas que possa permitir a liberação do microrganismo quando no intestino. A carragena, utilizada como material de parede neste estudo, é um polissacarídeo com propriedade geleificante e espessante, utilizada pela indústria de alimentos. A geleificação da carragena é aproveitada para o aprisionamento de componentes bioativos na microencapsulação. Assim como a carragena, as proteínas extraídas do farelo de arroz (subproduto da indústria arroseira) e a albumina sérica bovina também apresentam propriedades emulsificantes e estabilizantes, tornando possível o uso dos mesmos como material de parede, participando como coadjuvantes no processo de encapsulação (SHI et al., 2013, p. 148, CHANDI, SOGI, 2007, p. 592).

Considerando o efeito benéfico das espécies de *Lactobacillus rhamnosus* e o desafio de elaborar produtos cárneos probióticos, o objetivo deste trabalho foi realizar a microencapsulação deste microrganismo utilizando como material de parede a carragena em combinação com a proteína do farelo de arroz (PFA) e a albumina sérica bovina (BSA) e aplicar as microcápsulas em salame tipo Milano, a fim de elaborar um produto cárneo probiótico.

MATERIAL E MÉTODOS

Alíquotas de 0,5 g da cultura liofilizada de *L. rhamnosus* ATCC 53103 foram pré-ativadas e ativadas em caldo MRS e congeladas a -18°C na fase estacionária. Após o processo de congelamento as alíquotas foram liofilizadas por 24 h a -37 °C e pressão de 0,050 mBar. As microcápsulas de *L. rhamnosus* foram produzidas utilizando-se uma proporcionalidade de microrganismo, correspondente à 0,6%, carragena, mantida fixa em 0,5 % m/v (SCREMIN et al., 2017, p. 654), e, como material de parede, a PFA (BERNARDI et al., 2018, p. 1136) e BSA, nas proporções de 1,5%. A produção do salame tipo Milano seguiu os padrões propostos pela Instrução Normativa nº 22, de 31 de julho de 2000 (Brasil, 2000), que respeitaram as duas formulações dispostas na Tabela 1, sendo uma controle (sem adição de microcápsulas) e outra com adição de microcápsulas de *L. rhamnosus*.

As duas formulações de salame (Tabela 1) foram avaliadas quanto à composição-centesimal (BRASIL, 1999), qualidade microbiológica (BRASIL, 2003) e contagem de bactérias lácticas. Para o salame probiótico foi realizada a contagem de células não encapsuladas, localizadas na porção externa das microcápsulas ou aderidas à superfície, e a contagem das células viáveis totais encapsuladas e não encapsuladas. A abertura das cápsulas se deu com 25 g de amostra e 225 mL da solução tampão de NaHCO_3 0,1 mol/L ($\text{pH} \cong 8,5$), mantida sob agitação por 5 min em vortex e repouso de 30 min para a abertura total da cápsula. A contagem de *L. rhamnosus* encapsulado baseou-se na Eq. (1).

$$R = (N_2 - N_1) \quad (1)$$

Sendo N_1 a contagem do salame probiótico disperso em água destilada e N_2 a contagem do salame probiótico disperso em tampão NaHCO_3 , ambos expressos em $\log \text{UFC g}^{-1}$.

Tabela 1 – Formulações de salame controle e salame com microcápsulas de *L. rhamnosus*

Ingredientes	Salame controle	Salame probiótico
Carne suína (retalho magro) (%)	76,49	76,49
Toucinho suíno lombar (%)	18,00	18,00
Cura Ibrac (%)	0,25	0,25
Ibracor 501 (%)	0,30	0,30
Cultura Starter Bactoferm SM (%)	0,04	0,04
<i>L. rhamnosus</i> encapsulado (%)	-	0,15
Sal refinado (%)	2,70	2,70
Açúcar cristal (%)	0,80	0,80
Condimentos (%)	0,22	0,22
Vinho tinto seco (%)	1,20	1,20
Total	100,00	100,00

Fonte: Autoria própria (2019).

Foram, ainda, determinadas a resistência a digestibilidade (ECKERT et al., 2017, p. 177) e análise sensorial (CAAE: 74222117.4.0000.0092). Para a análise sensorial, foram dispostas quatro amostras de salame, sendo duas sem a adição de probióticos microencapsulados e duas com sua adição. Cada uma delas foram colocadas em copos plásticos transparentes e identificadas por um código de três números. O teste sensorial foi realizado com 40 provadores, que puderam analisar as duas amostras de cada salame. O julgador foi instruído a agrupar as amostras em dois conjuntos contendo amostras similares, observando a diferença sensorial geral entre eles. Visando mascarar diferenças visuais, a análise foi realizada sob luz vermelha. A análise foi feita baseada no teste tetraédrico e foi realizada conforme os critérios propostos por Roessler et al. (1978, p. 492), no qual o número de respostas corretas deve ser maior que o número mínimo de respostas corretas tabeladas para que exista diferença entre elas ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a Instrução Normativa nº 22 (Brasil, 2000) e a Resolução – RDC nº 12 (Brasil, 2001), os salames apresentaram-se de acordo para as análises físico-químicas e microbiológicas, respectivamente. Foram observadas contagens satisfatórias de bactérias ácidos-láticas, sendo elas de 10^9 UFC g^{-1} para o salame com microcápsulas de *L. rhamnosus* (SMLR) sem abertura de cápsula, que se refere à dispersão de água, e 10^{10} UFC g^{-1} para o SMLR com abertura das cápsulas por meio de sua solubilização pela solução tampão $NaHCO_3$ 1 mol/L (pH \cong 8,5), e comparando seus valores com o valor referente ao probiótico encapsulado referente à Eq. (1) (Tabela 2).

Tabela 2 – Contagem de Bactérias ácidos-láticas em amostra de salame tipo Milano controle e salame com microcápsulas de *L. rhamnosus* (SMLR)

Amostra	Bactérias ácido-láticas totais
Salame Controle (UFC g^{-1})	10^9
SMLR sem abertura das cápsulas (UFC g^{-1})	10^9
SMLR com abertura das cápsulas (UFC g^{-1})	10^{10}
Valor referente ao probiótico encapsulado (UFC g^{-1})	10^{10}

Fonte: Autoria própria (2019).

Ambas as amostras foram analisadas pelos testes de digestibilidade que demonstra resistência do microrganismo encapsulado quando comparados a contagem da cultura *starter* aplicada na forma livre ao salame controle com redução de 2 ciclos logaritmos e a contagem de bactérias ácido-láticas totais nos salames – contagem inicial (Tabela 3).

Tabela 3 – Efeito da digestibilidade na viabilidade de bactérias ácido-láticas em salame tipo Milano controle e salame com microcápsulas de *L. rhamnosus*

Ensaio	Contagem inicial	Contagem gástrica	Contagem intestinal
Salame controle (UFC g^{-1})	10^9	10^5	10^7
SMLR (UFC g^{-1})	10^{10}	10^7	10^{10}

Fonte: Autoria própria (2019).

Na análise sensorial, 17 provadores realizaram as combinações corretas entre os pares e 23 não conseguiram identificar quais amostras pertenciam ao mesmo grupo (Tabela 4). Segundo Roessler et al. (1978, p. 942), é necessário um mínimo de 19 julgamentos corretos para que haja diferença significativa entre as amostras, representados pelas letras sobrescritas iguais na Tabela 4. Sendo assim, não houve diferenças entre o salame controle e salame com microcápsulas de *L. rhamnosus*. Isso indica que a inserção das microcápsulas não interferiu sensorialmente no produto.

Tabela 4 – Avaliação sensorial do salame tipo Milano probiótico pelo teste tetraédrico

Número mínimo de acertos N = 40	Acertos	Erros
19	17 ^a	23 ^a

Fonte: Autoria própria (2019).

CONCLUSÃO

A aplicação de microcápsulas de *L. rhamnosus* em salame resultou em contagem satisfatória e foi identificado no teste de digestibilidade o seu efeito protetor adicional ao alimento. A partir da análise sensorial embasada por Roessler et al. (1978), não foram encontradas diferenças entre amostra controle e probiótica, não havendo alteração da qualidade.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos e suporte financeiro e à Universidade Tecnológica Federal do Paraná –UTFPR/MD.

REFERÊNCIAS

AMBALAM, P. et al. **Probiotics, Prebiotics and Colorectal Cancer Prevention**. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, v. 30, n. 1, p. 119–131, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2016.02.009>. Acesso em: 18 ago. 2019.

BERNARDI, S., CORSO, M.P., BARALDI, I.J, COLLA, E., CANAN, C. **Obtaining concentrated rice bran protein by alkaline extraction and stirring – Optimization of conditions**. International Food Research Journal, v. 25, n. 3, p. 1133-1139, 2018. Disponível em: [http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20\(03\)%202018/\(34\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20(03)%202018/(34).pdf). Acesso em: 18 ago. 2019.

BRASIL. (MAPA). **Instrução Normativa nº 20 de 21 de julho de 1999**. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, de 27/07/1999. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 23 jul. 2016.

BRASIL. (MAPA). **Instrução Normativa nº 22 de 31 de julho de 2000**. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, de 03/08/2000. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2239>. Acesso em: 18 ago. 2019.

BRASIL. (MAPA). **Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003**. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil. Poder Executivo, Brasília, DF,

de 18/09/2003. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>. Acesso em: 18 ago. 2019.

BRASIL. (MAPA). **RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001**. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil. Poder Executivo, Brasília, DF, de 10 de janeiro de 2001. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2001/res0012_02_01_2001.html. Acesso em: 18 ago. 2019.

CHANDI, G. K., SOGI, D. S. **Functional properties of rice bran protein concentrates**. Journal of Food Engineering, v. 79, p. 592–597, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.02.018>. Acesso em: 18 ago. 2019.

CHOTIKO, A.; SATHIVEL, S. **Development of a combined low-methoxyl-pectin and rice-bran-extract delivery system to improve the viability of *Lactobacillus plantarum* under acid and bile conditions**. LWT - Food Science and Technology, v. 66, p. 420–427, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.058>. Acesso em: 18 ago. 2019.

ECKERT C., SERPA V.G., CRISTINA A., et al. **Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 through spray drying and using dairy whey as wall materials**. LWT - Food Science and Technology. V. 82, n. 1, p. 176-183, 2017. Disponível em: <https://doi:10.1016/j.lwt.2017.04.045>. Acesso em: 18 ago. 2019.

ROESSLER, E.B.; PANGBORN, R.M.; SIDEL, J.L.; STONE, H. **Expanded statistical tables for estimating significance in paired preference, paired difference, duo-tro and triangle tests**. Journal of Food Science, Chicago, v. 43, n. 3, p. 940–943, 1978. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1978.tb02458.x>. Acesso em: 23 jul. 2016.

SCREMIN, F.R.; VEIGA, R.S.; CORSO, M.P.; et al. **Synthesis and characterization of protein microcapsules for eugenol storage**. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, p.18, 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10973-017-6302-8>. Acesso em: 18 ago. 2019.

SHI, L.E., LI, Z. H., ZHANG, Z. L., ZHANG, T. T., YU, W. M., ZHOU, M. L., TANG, Z. X. **Encapsulation of *Lactobacillus bulgaricus* in carrageenan-locust bean gum coated milk microspheres with double layer structure**. LWT - Food Science and Technology, v. 54, p.147-152, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.027>. Acesso em: 18 ago. 2019.