

DESENVOLVIMENTO DE UMA BEBIDA SEMELHANTE AO ALUÁ, COM FERMENTAÇÃO CONTROLADA, UTILIZANDO BACTÉRIAS LÁTICAS ISOLADAS DA FERMENTAÇÃO ESPONTÂNEA DA CASCA DO ABACAXI.

Amanda Pereira Texeira¹; Elinalva Maciel Paulo e Ilana Maciel Paulo Mamédio³

¹ Bolsista PIBIT/CNPq, Graduanda do curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: amandatexeira28@hotmail.com

² Orientadora: Docente do Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: elinalvamaciell@yahoo.com.br

³ Co-orientadora: Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: ilana_mamedio@hotmail.com

PALAVRAS-CHAVE: Bactérias lácticas; *Ananas comosus*; Aluá.

INTRODUÇÃO

As bactérias lácticas (BAL) pertencem a um grupo de bactérias que têm como principal produto metabólico o ácido láctico. Estas bactérias possuem distribuição vasta na natureza, podendo ser encontradas em superfície de plantas, no trato digestório e genital dos animais, no leite, etc. A maioria das espécies pertencente a este grupo não são patogênicas, por isso são utilizadas na elaboração e obtenção de diversos produtos (PAULO, 2010).

Muitos destes produtos são elaborados pelo processo da fermentação e um exemplo típico de fermentação espontânea é o aluá. Essa é uma bebida refrigerante e de origem indígena que muda-se o ingrediente principal dependendo da região em que é consumida. No Acre e no resto da Amazônia é comum se usar o milho triturado ou a farinha de milho. Em outras regiões, como por exemplo, em Belém, se usam cascas de frutas como o abacaxi, raiz de gengibre (também conhecido regionalmente por Mangarataia) (esmagada ou ralada), açúcar ou caldo de cana e sumo de limão. Na cidade de Manaus e arredores, são usadas as cascas de abacaxi (postas de molho na água, por três dias, juntas às raízes de mangarataia (gengibre)) e milho, depois, adiciona-se açúcar, cravinho e erva-doce. Ferve-se, deixa-se esfriar e depois gelar (WIKIPÉDIA, 2015).

A utilização da casca do abacaxi, que normalmente é devolvida ao ambiente como resíduo sem aproveitamento algum, constitui um excelente substrato para a elaboração de uma bebida fermentada de propriedade funcional. A utilização de culturas lácticas starter, isoladas da própria planta (abacaxi) para a elaboração de uma bebida fermentada, com processo controlado e padronizado será de grande importância para o aprimoramento de uma bebida regional de grande promoção à saúde dos consumidores.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras de cascas de abacaxi que foram submetidas ao processo de fermentação baseado em experimentos realizados por Grizotto e Menezes (2004) para isolamento das BAL. A amostra foi coletada em feira-livre localizada na cidade de Feira de Santana-BA, onde os procedimentos de coleta e transporte da amostra foram realizados de forma asséptica. O isolamento das BAL procedeu-se de acordo com PAULO (2010) utilizando o meio ágar MRS (DE MAN; ROGOSA; SHARPE, 1960) sendo realizados primeiramente o teste de coloração de Gram e o teste da catalase (KONEMAN, 2008).

Em seguida, realizaram-se alguns testes em duplicata de caracterização bioquímica dos isolados: produção de gás a partir da glicose; lactofermentação a 15°C, 35°C e 45°C; tolerância bacteriana ao NaCl em diferentes concentrações (4%, 6% e 8%); redução do nitrato a nitrito; produção de amônia a partir do caldo descarboxila de lisina; fermentação de diferentes carboidratos (CHAVES, 1999) pelo Sistema API 50CHL (Bio-Mérieux); Voges-Proskauer.

Foram preparadas 8 bebidas com a cultura *starter* (2 bactérias lácticas ativadas isoladas do aluá e mais 1 pertencente à bacterioteca do Laboratório de Microbiologia Aplicada à Saúde Pública (LAMASP/UEFS)) e 1 com fermentação espontânea. Após cada incubação fez-se a determinação de parâmetros físico-químicos: pH, teor alcoólico e açúcar redutor total (BRASIL, 2005).

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

Foram obtidos 16 isolados da fermentação espontânea. Os isolados que apresentaram morfologia de bastonetes, Gram positivos, catalase negativa e não redutores de nitrato a nitrito foram considerados preliminarmente como pertencentes ao grupo das bactérias lácticas (PAULO, 2010). A partir daí 3 isolados foram escolhidos para serem identificados e caracterizados.

Nenhum dos isolados produziu gás a partir da glicose sendo considerados homofermentativos de acordo com os critérios de CHAVES (1999). No teste de lactofermentação (Tabela 1) ocorreu 100% de crescimento a 35°C, mas a formação de coágulo firme foi para apenas 1 dos isolados (ABX 3), à 15°C este crescimento foi de 33,3% e à 45°C não houve crescimento. As bactérias ABX4.1 e ABX5.2 foram consideradas bactérias mesófilas, já a ABX 3 foi considerada psicodúrica.

Tabela 1. Apresentação de coagulação do meio LDR 10% em diferentes temperaturas (* formação de coágulo pouco estruturado).

Isolado	15°C	35°C	45°C
ABX 3	Positivo	Positivo	Negativo
ABX4.1	Negativo	Positivo*	Negativo
ABX 5.2	Negativo	Positivo*	Negativo

Foram observadas algumas características importantes para identificação dessas bactérias, estas características referem-se ao aspecto do meio LDR 10% após o crescimento delas, características, como formação de soro (100% dos resultados positivos) e aspecto do coágulo que influencia na escolha da linhagem que deverá ser utilizada na elaboração de produtos lácteos fermentados.

Tabela 2. Teste de halotolerância em diferentes concentrações de NaCl (+ pouco crescimento; ++ bom crescimento; +++ ótimo crescimento).

Isolado	4%	6%	8%
ABX 3	Positivo+++	Positivo+	Negativo
ABX4.1	Positivo+++	Positivo++	Negativo
ABX 5.2	Positivo+++	Positivo++	Negativo

O teste de tolerância bacteriana ao cloreto de sódio (NaCl) demonstrou que todos os isolados cresceram a 4% e a 6%, mas nenhum cresceu a 8% (Tabela 2). Caso crescessem em todas as concentrações poderiam, segundo POFFO (2011), serem consideradas halófilas, pois as taxas de crescimento de algumas bactérias tendem a aumentar com o aumento da concentração salina. No teste de redução do nitrato e produção da amônia pelo caldo descarboxila de lisina, houve 100% de resultados negativos. Já para o Voges-Proskauer apenas ABX 3 apresentou formação de diacetil.

Para a fermentação de diferentes carboidratos foi utilizado o sistema API 50CHL (Bio-Mérieux), sua leitura forneceu a identificação fenotípica das bactérias e sua porcentagem de identificação: *Lactobacillus plantarum* (ABX 3 – 99,4% ID e ABX 4.1 – 99,9% ID) e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* 1 (ABX 5.2 – 99,7% ID) ambas são bactérias com

propriedades probióticas (ÁVILA, 2007) podendo ser utilizadas na bebida fermentada deste projeto.

As bebidas fermentadas feitas foram 9 no total: 4 com as bactérias isoladas do Aluá (ABX 3 e ABX 5.2), 2 com um isolado pertencente à bacterioteca do LAMASP/UEFS (U205 - *Lactobacillus plantarum*), 2 com cultura mista (ABX 3 + ABX 5.2 + U205) e 1 com fermentação espontânea.

Em relação às análises físico-químicas das bebidas produzidas observando a Tabela 3, tem-se em todos os períodos de fermentação uma grande redução do pH, sendo que na temperatura de 35°C esta redução é mais drástica, o que torna o produto impalatável pelo excesso de produção de ácido láctico. Mas quando fermentado a 6°C ocorre uma menor produção de ácido láctico, resultado parecido com o aluá produzido de forma artesanal. Os pHs obtidos são suportáveis para as bactérias lácticas, característica que as capacita a eliminar a competição da maioria das bactérias em ambientes ricos em nutrientes (TORO, 2005; BERNARDEAU et. al, 2008). Em relação ao teor alcoólico, a bebida fermentada pela cultura mista a 35°C/48h e a bebida da cultura espontânea obtiveram um maior valor deste parâmetro e um menor valor de °Brix, comparados aos outros ensaios deste trabalho, inferindo que quando o aluá é produzido com mais de uma espécie de micro-organismo ocorre maior produção de álcool. Apesar das linhagens isoladas serem homofermentativas no caldo MRS, elas mostraram-se como heterofermentativa, pois produziram além de ácido láctico o álcool. Isto é possível de acontecer se elas forem heterofermentativas facultativas.

A proporção de sacarose acrescentada para a elaboração do aluá, foi de 8,34%. Pode observar pela Tabela 3 que os experimentos que ocorreram maior detecção de açúcar redutor em glicose foram os aluás elaborados pela fermentação espontânea a 6°C por 15 dias e pela cultura mista 35°C por 48h, indicando onde houve maior conversão da sacarose em glicose pelo processo da fermentação, mas também indicando o consumo da glicose pelos micro-organismos, uma vez que se este açúcar não fosse consumido, a concentração de glicose seria bem maior do que o apresentado na tabela.

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos das bebidas fermentadas em cada período de incubação.

Isolado / Tempo de Incubação	pH	Teor Alcoólico (Alcohol By Volume (%))	Açúcar Redutor em glicose %
<i>Lactobacillus plantarum</i> ABX 3 / 35°C por 48 h	3,05	0,00	1,40
<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> 1 ABX5.2 / 35°C por 48 h	2,87	0,96	1,66
<i>Lactobacillus plantarum</i> U205/ 35°C por 48 h	2,76	3,36	1,16
Cultura mista/ 35°C por 48 h	2,67	4,13	2,14
<i>Lactobacillus plantarum</i> ABX3 / 6°C por 1 mês	4,00	0,00	0,81
<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> 1 ABX5.2 / 6°C por 1 mês	3,99	0,00	1,04
Espontâneo / 6°C por 1 mês	4,00	3,37	2,00
<i>Lactobacillus plantarum</i> U205 / 6°C por 15 dias	3,66	0,12	0,47

Cultura mista / 6°C por 15 dias	3,71	0,12	0,57
---------------------------------	------	------	------

CONCLUSÃO

A partir da fermentação espontânea da casca do abacaxi (aluá) é possível obter bactérias com características probióticas e de boa capacidade de crescimento durante a fermentação como o *Lactobacillus plantarum* e o *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* 1 e produzir o aluá através da fermentação controlada com micro-organismos específicos, obtendo parâmetros físico-químicos desejáveis. Sendo assim é possível transformar o aluá produzido de forma artesanal, em uma bebida com padrões de identificação de qualidade e possivelmente com características organolépticas apreciáveis pelo consumidor e, portanto, passível de ser industrializado.

REFERÊNCIAS

- ÁVILA, C. L. S. *Isolamento e uso de Lactobacillus buchneri na ensilagem de capim-mombaça e cana-de-açúcar*. 2007. 175f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos*. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. p.1018.
- CHAVES, A. H. et al. Isolamento de *Lactobacillus acidophilus* a Partir de Fezes de Bezerros. *Rev. bras. zootec.*, v.28,n.5, p.1086-1092, 1999.
- DE MAN, J.C.; ROGOSA, M.; SHARPE, M.E. A medium for cultivation of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.* v. 23, p.130-135, 1960.
- GRIZZOTO, R. K.; MENEZES, H.C. Efeito da fermentação na qualidade de “chips” de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.24, n.2, p.170-177, abr.-jun.2004.
- KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA. et al. *Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2008. p.1600.
- PAULO, E. P. *Produção de exopolissacarídeos (EPS) por bactérias lácticas visando microencapsulação de Lactobacillus acidophilus La-5 pelo processo de Spray drying*. 2010. Tese 212f. (Doutorado em Biotecnologia), Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2010.
- POFFO, F.; SILVA, M. A. C. *Caracterização taxonômica e fisiológica de bactérias ácido-láticas isoladas de pescado marinho*. 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v31n2/v31n2a04>>. Acesso em: 12 maio 2015.
- TORO, C. R. *Uso de bactérias lácticas probióticas na alimentação de camarões *Litopenaeus vannamei* como inibidoras de microrganismos patogênicos e estimulantes do sistema imune*. 2005. 153 f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- WIKIPÉDIA. *Aluá*. 2015. Disponível em: < <http://pt.wikipedia.org/wiki/Alu%C3%A1>>. Acesso em: 26 maio. 2015.