

## **SOBREVIVÊNCIA DE *Lacticaseibacillus casei* CSL3 EM BEBIDA FERMENTADA PROBIÓTICA À BASE DE AVEIA SABOR CHOCOLATE APÓS A PASSAGEM PELO TRATO GASTROINTESTINAL SIMULADO**

**VITÓRIA LOPES ROCHA<sup>1</sup>; SILVANA DE SOUZA SIGALI<sup>2</sup>; JOICE DA SILVA RAMSON<sup>3</sup>; KADHIJA BEZERRA MASSAUT<sup>4</sup>; MIRIAN RIBEIRO GALVÃO MACHADO<sup>5</sup>; ÂNGELA MARIA FIORENTINI<sup>6</sup>.**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – vitoriatro2@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – silvanasigali@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – joice.zootecniaufpel@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – khadijamassaut@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – miriangalvao@gmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – angefiore@gmail.com

### **1. INTRODUÇÃO**

As bactérias ácido-láticas (BAL) são amplamente utilizadas na indústria de alimentos devido à sua capacidade de fermentar diferentes substratos, incluindo leites e vegetais (RICE *et al.*, 2020). Muitas espécies de BAL podem ser consideradas probióticas, entretanto para tal denominação o microrganismo deve: ser seguro e funcional; sobreviver a passagem pelo trato gastrointestinal (TGI); tolerar as condições de baixo pH e enzimas na região estomacal; tolerar sais biliares e enzimas pancreáticas na região intestinal, além de se multiplicar e aderir à mucosa intestinal. Para propiciar benefícios ao hospedeiro, recomenda-se que os probióticos alcancem o intestino em concentrações mínimas de 6 log UFC/mL (HILL *et al.* 2014).

As bebidas vegetais são bebidas não lácteas (não contendo proteína animal), elaboradas com água e ingredientes de origem vegetal onde destacam-se aveia, soja e arroz na elaboração destas bebidas (CARVALHO, 2011).

Em virtude de seu perfil nutricional elevado, pouco açúcar, baixas calorias, e abundância em fibras, estas bebidas apresentam-se como uma ótima alternativa aos produtos lácteos e ideal para pessoas que procuram uma alimentação variada, ou que possuem alergia às proteínas lácteas ou são intolerantes a lactose do leite (MUNEKATA *et al.*, 2020; SHORI, 2016).

Bebidas vegetais quando fermentadas tem uma melhora significativa de suas propriedades nutricionais e promotoras de saúde, pois o processo fermentativo aumenta a disponibilidade de alguns minerais (ABREU, 2022). Algumas das bactérias mais usadas na fermentação de bebidas vegetais são *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* e a bactéria não lática *Bifidobacterium* spp. (REIS, 2022).

A bactéria *Lacticaseibacillus casei* CSL3 foi escolhida para a fermentação desta bebida vegetal por ser uma BAL, isolada de silagem de colostrum bovino e caracterizada com potencial probiótico *in vitro*, não apontando fatores de virulência, ou seja, sendo segura para aplicação em alimentos (VITOLA *et al.*, 2020).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a sobrevivência de *Lacticaseibacillus casei* CSL3 em bebida fermentada probiótica à base de aveia sabor chocolate, às condições simuladas do tratogastrointestinal.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1. ELABORAÇÃO DA BEBIDA FERMENTADA PROBIÓTICA (BFPA)

A formulação da bebida fermentada probiótica à base de aveia (BFPA) seguiu a metodologia de KLAJN *et al.* (2021), com algumas modificações.

Primeiramente, foram separados 6,54% de aveia, 78,46% de água, 10% de sacarose e 5% de cacau em pó. Onde 500g (35,2%) de farelo de aveia foi deixado em imersão em 750 mL (52,8%) de água a aproximadamente, 25 °C por 1 hora. Após o período de imersão, a aveia foi lavada com água, utilizando uma peneira (30 mesh), até a água de lavagem sair sem resíduos.

Após a lavagem, a aveia foi transferida para um recipiente, onde se adicionou a mesma quantidade inicial de 750 mL de água mineral sem gás (52,8%). Em seguida, adicionou-se o cacau (5%) e a mistura foi homogeneizada por 2 minutos em liquidificador na potência máxima. Para a obtenção da bebida, a massa foi coada através de uma malha de voal extrafino (400 mesh), apoiada em uma peneira fina. O voal foi pressionado para maximizar a extração da bebida. Após a extração, a sacarose (7%) foi adicionada e a mistura foi homogeneizada.

A bebida foi então pasteurizada a 85 °C por 8 minutos e resfriada até aproximadamente 42 °C. Adicionou-se 1% de *Lacticaseibacillus casei* CSL3 e *Streptococcus thermophilus*, e a mistura submetida a fermentação em iogurteira por 6 horas. Após a bebida foi envasada e mantida sob refrigeração a ~4 °C.

### 2.2. SIMULAÇÃO DO TRATO GASTROINTESTINAL (TGI)

A sobrevivência ao TGI de *L. casei* CSL3 foi simulada em quatro etapas: antes da fase gástrica (AG), depois da fase gástrica (DG), duodeno (D) e íleo (I), de acordo com a metodologia proposta por (MADUREIRA *et al.*, 2011). A seguir são descritas as diferentes fases e procedimentos:

1) Fase AG: adicionou-se 10 g de amostra e 90 mL de solução salina 0,85%, em um frasco, e ajustado pH para 2,5. Na sequência, homogeneizou-se a solução por 30 segundos e foi coletado 100 µL. Procedeu-se com a diluição seriada, plaqueou-se as diluições desejadas e as placas contendo ágar MRS bile foram incubadas a 37 °C por 72 h, em anaerobiose.

2) Fase DG: Após a coleta da fase AG, adicionou-se ao frasco 4,5 mL de pepsina. Na sequência, foi incubado em shaker por 90 minutos, à 37 °C e 130 rpm. Coletou-se 100 µL e procedeu-se com a diluição seriada, plaqueou-se as diluições desejadas em ágar MRS bile e as placas foram incubadas a 37 °C por 72 h, em anaerobiose.

3) Fase D: Após a coleta da fase DG, adicionou-se ao frasco 11,8 mL de pancreatina e 11,8 mL de bile. O pH da solução foi ajustado para 5,0. Foi incubado em shaker por 20 minutos, à 37 °C e 45 rpm. Coletou-se 100 µL procedeu-se com a diluição seriada, plaqueou-se e incubou-se nas mesmas condições citadas anteriormente.

4) Fase I: Após a coleta da fase D, o pH da solução foi ajustado para 6,5 e incubou-se em shaker por 90 minutos, à 37 °C e 45 rpm e logo após, o plaqueamento e a incubação seguiram o procedimento das etapas anteriores.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração inicial de *L. casei* CSL3 foi de 10 log UFC/mL para simulação do TGI. Na etapa inicial AG (antes do gástrico) do TGI até o duodeno

(D) ocorreu uma redução de ~ 3 log UFC/mL, resultando em 7,33 log UFC/mL. No entanto, *L. casei* CSL3 mostrou capacidade de multiplicação ao alcançar o íleo, aumentando em 1 log UFC/mL, finalizando com a concentração de 8 log UFC/mL (Tabela 1).

Tabela 1 - Concentração de *Lacticaseibacillus casei* CSL3 durante a simulação das diferentes fases do trato gastrointestinal (TGI)

	Resultado TGI (log UFC/mL)
Concentração inicial	$10,43 \pm 0,36$
Antes do Gástrico	$10,18 \pm 0,76$
Depois do Gástrico	$7,33 \pm 0,85$
Duodeno	$7,34 \pm 0,79$
Íleo	$8,06 \pm 0,81$

Fonte: A autora, 2024.

Para que uma bactéria seja considerada probiótica e ofereça benefícios à saúde, ela deve sobreviver aos sucos gástricos e pancreáticos, bem como ter a capacidade de chegar ao intestino grosso para colonizar e se multiplicar em concentrações superiores a 6 log UFC/mL (LI *et al.*, 2011). A bactéria *L. casei* CSL3 demonstrou essa capacidade, considerando que aumentou 1 log UFC/mL na passagem do duodeno para o íleo atingindo 8 log UFC/mL em sua concentração final.

A mesma bactéria *L. casei* CSL3 aplicada na BFPA, foi avaliada por AMES *et al.* (2021), onde observaram a sobrevivência da mesma quando imobilizada em aveia no iogurte, na concentração de 7,71 log UFC/g. Anteriormente, VITOLA *et al.* (2020) obtiveram resultados promissores ao aplicar CSL3 em queijo *petit-suisse*, alcançando valores acima de 7 log UFC/g.

No presente estudo, *L. casei* CSL3 estava presente em BFPA, uma matriz alimentar diferente dos estudos anteriores, porém, da mesma forma, contribuiu consideravelmente, para a alta taxa de sobrevivência de *L. casei* CSL3 (8 log UFC/mL), durante a passagem pelo TGI simulado.

#### 4. CONCLUSÕES

Após a simulação da passagem pelo trato gastrointestinal a bactéria *Lacticaseibacillus casei* CSL3, apresentou uma ótima viabilidade chegando a 8 log UFC/mL ao final da fase intestinal, mostrando-se capaz de sobreviver às situações de estresse e se multiplicar no intestino, evidenciando que apresenta potencial probiótico. Diante disso, a bebida fermentada probiótica à base de extrato de aveia sabor chocolate, pode ser considerada um alimento funcional.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, Roblessa, Sant'Anna de. **Potencial prebiótico de polpa de uvaia (*Eugenia pyriformis*) adicionada em bebida fermentada vegetal.** Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina. 2022. Florianópolis.

AMES, Waschburger, et al. Evaluation of potentially probiotic *Lactobacillus casei* CSL3 immobilized on oats and applied to yogurt production. **Journal of food processing and preservation**, v. 45, n. 10, 2021.

CARVALHO, Weber, Tavares. et al. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE EXTRATOS DE ARROZ INTEGRAL, QUIRERA DE ARROZ E SOJA. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, [s.l.], v. 41, n. 3, p.422-429, 6 jul. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.5216/pat.v41i3.9885>.

HILL, Colin. et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.** 11, 506–514, 2014.

KLAJN, Vera Maria., et al. Probiotic fermented oat dairy beverage: viability of *Lactobacillus casei*, fatty acid profile, phenolic compound content and acceptability. **J Food Sci Technol**, v.58, p. 3444–3452, 2021.

Li, Xiao.Yian, Chen, Xi, Guang., Sun, Zhong. Wo., Park, Hyun.Jin., CHA, Dong-Su.. (2011). Preparation of alginate/chitosan/carboxymethyl chitosan complex microcapsules and application in *Lactobacillus casei* ATCC 393. **Carbohydrate Polymers**, 83(4), 1479–1485.

MADUREIRA, A.R., AMORIM, M., GOMES, A.M., PINTADO, M.E., MALCATA, F.X. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, 2011. v. 44, p. 465–470. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.010>.

MARTINS, Eliane. Mauricio. Furtado. et al. Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bactéria. **Food Research International**, v.51, p.764-700, 2013.

MUNEKATA, Paulo, et al. Effect of innovative food processing technologies on the physicochemical and nutritional properties and quality of non-dairy plantbased beverages. **Foods**, [s.l.], v.9, n. 3, p. 288, 2020.

REIS, Aline, Resende, Nogueira. **Bebidas vegetais à base de jabuticaba (*myrciaria cauliflora*) e aveia (*avena sativa*)**: uma estratégia para aliar tecnologia e fornecimento de bioativos no contexto da longevidade. Dissertação para obtenção do título de Mestre em Nutrição e Longevidade pela Universidade Federal de Alfenas. Alfenas,2022.

RICE, Tom. et al. Isolation, characterization and exploitation of lactic acid bacteria capable of efficient conversion of sugars to mannitol. **International Journal of Food Microbiology**, [S. I.], v. 321, p. 108546, 2020.

SHORI, A. B. Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. **Food Bioscience**, v. 13, p. 1-8,2016.

VITOLA, Helena. Reissig. Soares., et al. (2020). *Lactobacillus casei* CSL3: Evaluation of supports for cell immobilization, viability during storage in Petit Suisse cheese and passage through gastrointestinal transit *in vitro*. **LWT - Food Science and Technology** 127, 109381.