

VIABILIDADE DE BACTÉRIAS LÁTICAS EM IOGURTE ADICIONADO DE BIOMASSA DA MICROALGA *Spirulina platensis* DURANTE O ARMAZENAMENTO REFRIGERADO

Karla Joseane PEREZ*

Cíntia GUARIENTI**

Telma Elita BERTOLIN***

Jorge Alberto Vieira COSTA****

Luciane Maria COLLA***

■ **RESUMO:** A influência de longos períodos de estocagem sobre a contagem de bactérias lácticas viáveis tem sido estudada, uma vez que os produtos lácteos fermentados devem possuir um número mínimo de microrganismos, a partir do qual apresentam efeitos benéficos ao consumidor. A adição de biomassa seca da microalga *Spirulina platensis* pode influenciar benéficamente a sobrevivência das bactérias iniciadoras durante o armazenamento refrigerado, devido à sua composição em proteínas, vitaminas, aminoácidos essenciais, minerais e ácidos graxos essenciais como ácido γ -linolênico. Objetivou-se avaliar a viabilidade celular das bactérias lácticas sob refrigeração em iogurtes preparados com e sem a adição de extrato seco da microalga *Spirulina*. O iogurte foi elaborado sob condições assépticas e dividido em três amostras: controle, com adição de 0,5 e 1,0 % de biomassa da microalga *Spirulina* seca. Estas amostras foram armazenadas a 4°C durante 0, 15 e 30 dias, sendo realizadas contagens de bactérias lácticas nestes períodos. A adição de biomassa de *Spirulina platensis* influenciou positivamente a sobrevivência das bactérias ácido-lácticas durante o armazenamento refrigerado, diminuindo a perda de viabilidade durante os 30 dias de armazenamento refrigerado para as amostras adicionadas de 1,0 % de biomassa de *Spirulina platensis*.

■ **PALAVRAS-CHAVE:** Iogurte; bactérias ácido-lácticas; *Spirulina platensis*.

INTRODUÇÃO

Os iogurtes são produtos resultantes da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado, por fermentos lácticos próprios, cuja fermentação se realiza com cultivos protossimbóticos

de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, aos quais pode-se acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade contribuem para a determinação das características do produto final.²

Os efeitos benéficos das bactérias lácticas estão ligados ao aumento da digestibilidade, aumento do valor nutritivo, níveis elevados das vitaminas do complexo B e de alguns aminoácidos, melhor utilização da lactose, níveis reduzidos de lactose no produto e maior disponibilidade de lactase, comparando-se o leite in natura com o iogurte.^{5,7} Além disso, outros efeitos benéficos podem ser citados, tais como a modulação do sistema imune; ligação e/ou degradação dos potenciais carcinogênicos (melhorando a atividade metabólica intestinal); alteração da atividade metabólica da microflora intestinal; alterações das condições físico-químicas do cólon; melhoramento quali e quantitativo da microflora intestinal e redução de promotores carcinogênicos.¹¹

Os conhecimentos gerados a respeito da influência de longos períodos de armazenagem após o processamento sobre os iogurtes têm sido extremamente importantes para que se possam obter informações sobre a sua vida-de-prateleira, demonstrar características físicas, químicas ou sensoriais aceitáveis para o consumo e determinar a viabilidade das bactérias lácticas. Em iogurtes recém produzidos o número de microrganismos situa-se aproximadamente em torno de 10^9 microrganismos/g, embora este valor dependa do fabricante, devendo ser de no mínimo 10^7 microrganismos/g. Entretanto, durante o seu armazenamento, esse número pode baixar para 10^6 microrganismos/g, principalmente se o iogurte for mantido a 5°C por mais de 60 dias, sendo que, além disso, o número de bastonetes diminui mais rapidamente do que o número de cocos.¹²

Schillinger¹³ observou que a contagem de bactérias

* Curso de Especialização - Universidade de Passo Fundo - 99001-970 - Passo Fundo - RS - Brasil.

** Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos - Universidade de Passo Fundo - 99001-970 - Passo Fundo - RS - Brasil.

*** Laboratório de Fermentações - Universidade de Passo Fundo - 99001-970 - Passo Fundo - RS - Brasil.

**** Laboratório de Engenharia Bioquímica - Fundação Universidade Federal do Rio Grande - 96201-900 - Rio Grande - RS - Brasil.

láticas tende a variar até o final do período de estocagem, na maioria dos casos declinando, o que indica a baixa estabilidade das linhagens nos produtos lácteos. Beal et al.¹ evidenciaram que a concentração bacteriana foi influenciada pelo tempo de estocagem, pH final da fermentação, associação das linhagens e temperatura de incubação, decaindo de 40% a 75% em períodos de 7 e 21 dias de armazenamento refrigerado.

Diversas autoridades reguladoras ao redor do mundo têm demonstrado crescente preocupação com a viabilidade dos microrganismos presentes em produtos lácteos e probióticos, que devem possuir um número de microrganismos iniciadores suficientemente alto para garantir benefícios ao consumidor. Na Hungria, Japão, Suíça e Espanha, as regulamentações alimentares estipulam que os leites fermentados e probióticos devem, ao final do seu prazo de validade, apresentar contagens de microrganismos iniciadores em torno de 10^7 UFC/g de produto.^{9,12} Nos Estados Unidos, o mínimo de contagem de bactérias vivas requeridas, com exceção dos estados da Califórnia e Oregon, é de $2,0 \times 10^6$ UFC/mL em produtos lácteos e probióticos.¹⁸ No Brasil, a Resolução nº 5, de 13 de novembro de 2000 que Oficializa os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados,² estabelece que a contagem de bactérias lácticas totais (UFC/g) deve seguir a Norma FIL 117A: 1988, em que é exigido um mínimo de 10^7 UFC/g.

Diversas pesquisas têm sido realizadas com a finalidade de aumentar a viabilidade das bactérias lácticas durante o armazenamento refrigerado, assegurando que os efeitos benéficos proporcionados pelas mesmas estejam presentes e viáveis no iogurte quando o mesmo for consumido.¹³ Por exemplo, Karagüi-Yüceer et al.¹⁰ afirmam que a adição de dióxido de carbono (200 a 800 mg/kg) reduz a deterioração do leite e aumenta a vida-de-prateleira de leites inoculados com microrganismos de 50% a 100%. Os mesmos autores relatam também que o número de *S. thermophilus* em iogurte inoculado com bactérias lácticas decresceu após 90 dias de estocagem ($p < 0,05$) e que durante o período de armazenamento a 4°C, a acidificação afeta significativamente a população de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* neste leite inoculado, bem como ocorre um decréscimo da contagem de bactérias. De acordo com Thamer & Penna¹⁸ aumentando-se a concentração de soro em pó e de frutooligossacarídeo, há aumento na população de *Streptococcus thermophilus*.

A *Spirulina* é uma alga microscópica filamentosa que é rica em proteínas, vitaminas, aminoácidos essenciais, minerais e ácidos graxos poli-insaturados, como ácido γ -linolênico (GLA). Ela é produzida comercialmente e é utilizada como suplemento alimentício no mundo todo, sendo atualmente utilizada principalmente pelos seus valores nutritivos, apesar de se estar visando também os seus possíveis valores terapêuticos.⁶

A *Spirulina* está legalmente autorizada como alimento ou complemento alimentar na Europa, Japão e Estados Unidos além de ser uma das microalgas mais cultivadas no

mundo inteiro devido ao seu alto valor protéico e compostos bioquímicos de grande interesse pela indústria farmacêutica e alimentícia.^{6,21} No Brasil, a microalga *Spirulina* é aprovada como complemento nutricional de proteínas e vitaminas, segundo a Portaria nº 19 de 15 de março de 1995 da Anvisa.³ A microalga *S. platensis* apresenta 65% de proteína, 5% de lipídios, 3% umidade e 20% carboidratos. Cerca de 1% do peso seco de *Spirulina platensis* é de ácido gama linolênico.^{8,21} A importância deste está diretamente ligada à síntese das prostaglandinas, que é associada a regulação da pressão sanguínea, síntese do colesterol, inflamação e proliferação celular.⁶

Além disso, é importante enfatizar que pesquisas têm demonstrado que a adição de biomassa seca da microalga *Spirulina platensis* influencia benéficamente a sobrevivência das bactérias lácticas.¹⁹ Parada et al.¹⁶ estudaram o crescimento de bactérias lácticas em meios de cultivo adicionados de compostos extracelulares da microalga *Spirulina platensis* e observaram uma promoção no crescimento destas quando comparado ao crescimento das bactérias lácticas nos meios sem a adição destes compostos. Objetivou-se avaliar a viabilidade das bactérias lácticas durante o armazenamento refrigerado em iogurtes preparados com e sem a adição de biomassa seca da microalga *Spirulina*.

MATERIAL E MÉTODOS

Matéria-prima para fabricação do Iogurte

O leite pasteurizado e os fermentos lácteos (iogurte natural de consistência firme) utilizados nos experimentos foram obtidos no mercado local do município de Passo Fundo, RS. O iogurte natural utilizado como fermento lácteo continha os microrganismos *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* na concentração mínima de 10^7 UFC/g.

Elaboração do Iogurte

O leite foi aquecido até 90°C por 5 min, com os seguintes objetivos: redução da carga microbiana do leite, destruição de enzimas, redução da quantidade de oxigênio dissolvido, criando as condições de microaerofilia favoráveis ao crescimento do cultivo iniciador e desnaturação parcial das proteínas do leite, a fim de contribuir para uma melhor coagulação do leite e diminuição da sinerese após o término da fermentação.¹⁴ Posteriormente, o leite foi resfriado até 42°C e adicionado de 150 g de iogurte natural batido homogeneizado como inóculo. O leite inoculado foi incubado a 42°C durante 5 h. A seguir, o iogurte foi resfriado a 4°C, durante 24 h. Alíquotas foram retiradas a cada hora, para medição de pH e acidez titulável. O iogurte preparado foi dividido em amostras controle (sem adição de biomassa de *Spirulina*) e adicionadas de 0,5% e 1% de biomassa, as quais foram armazenadas durante 0, 15 e 30 dias.

Análises físico-químicas

Foram realizadas determinações de pH e de acidez titulável. A análise do pH foi realizada em pHmetro digital Digimed, DM 20, com eletrodo de vidro combinado. A acidez titulável⁸ foi determinada utilizando-se solução de NaOH 0,1 N.

Contagem de bactérias lácticas

A contagem de bactérias lácticas nas amostras contendo 0,5 e 1,0% de *Spirulina* e na amostra controle foi realizada nos tempos de 0, 15 e 30 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. Alíquotas de 25 g das amostras foram diluídas em 225 mL de água peptonada (H₂O_p) 0,1% (diluição 10⁻¹), homogeneizadas e submetidas a diluições sucessivas (10⁻² a 10⁻⁸) H₂O_p. Posteriormente foi realizada a semeadura em profundidade das diluições 10⁻⁵ a 10⁻⁸ em meio de cultura Ágar MRS (Man Rogosa & Sharpe) em duplicata. As placas foram incubadas a 42°C durante 48 h. Os microrganismos foram incubados em atmosfera microaerófila, através da adição de uma sobrecamada de meio de cultivo após a inoculação, segundo Silva et al.¹⁷

Análise Estatística

Os resultados de contagem foram avaliados através de análise de variância e teste de Duncan para comparação de médias em um intervalo de confiança de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A acidez titulável final do iogurte foi de 0,33% e o pH final foi de 5,40. A legislação brasileira preconiza que

os leites fermentados apresentem de 0,5% a 1,5% de acidez em ácido láctico. Verifica-se, portanto, que não foi atingido o nível de acidez requerido. O pH para a completa coagulação da caseína deve encontrar-se entre 4,5 e 4,6. Entretanto, embora não tenha sido atingida a acidez e o pH necessários para a caracterização do produto, este fato não influencia o estudo da viabilidade das bactérias lácticas na presença ou ausência de *Spirulina*, uma vez que a adição da biomassa seca da microalga *Spirulina* ao iogurte foi realizada após o processo de fermentação, sendo que o mesmo iogurte foi utilizado para a formulação dos iogurtes padrão e adicionados de *Spirulina*. Segundo Özer e Robinson¹⁵, em 180 min de incubação, os microrganismos encontram-se em fase exponencial de crescimento, permitindo o estudo de viabilidade realizado neste trabalho.

Através da realização da análise de variância dos dados obtidos nos diferentes tratamentos verificou-se que o tempo de refrigeração (0, 15 e 30 dias) e a concentração de biomassa de *Spirulina* seca adicionada no iogurte (0,5 e 1,0 %) foram significativos (p<0,001 e p=0,0047, respectivamente) na população de bactérias lácticas. Entretanto, como a interação dos fatores (X₁.X₂) também foi significativa (p=0,003), esta foi analisada em detrimento dos fatores individuais através da comparação de médias de contagem de bactérias lácticas pelo teste de Duncan. A Tabela 1 apresenta o resultado das contagens de bactérias lácticas (UFC/g e Log UFC/g) após 0, 15 e 30 dias de refrigeração e resultados do teste de Duncan para comparação de médias de populações de bactérias lácticas em função da % de *Spirulina* adicionada e tempo de refrigeração, para um intervalo de confiança de 95%. Os resultados também foram apresentados em Log UFC/g para normalização dos dados, o que é um pré-requisito para a realização da análise de variância.

Tabela 1 - Contagens de bactérias lácticas (UFC/g e Log UFC/g) após 0, 15 e 30 dias de armazenamento refrigerado e resultados do teste de Duncan para comparação de médias de populações de bactérias lácticas em função do % de *Spirulina* adicionado e tempo de refrigeração, para um intervalo de confiança de 95%.

Tempo (dias)		0	15	30
Controle	UFC/g	1,4.10 ⁹ ± 1,4.10 ⁸	4,2.10 ⁸ ± 7,1.10 ⁶	1,4.10 ⁸ ± 2,1.10 ⁷
	Log	9,15 ± 0,04 ^c	8,62 ± 0,01 ^c	8,13 ± 0,07 ^a
	UFC/g*			
0,5% de <i>Spirulina</i>	UFC/g	1,7.10 ⁹ ± 7,1.10 ⁷	4,0.10 ⁸ ± 1,6.10 ⁸	2,4.10 ⁸ ± 1,4.10 ⁷
	Log	9,22 ± 0,02 ^c	8,60 ± 0,18 ^{bc}	8,38 ± 0,03 ^b
	UFC/g*			
1,0% de <i>Spirulina</i>	UFC/g	8,8.10 ⁸ ± 1,8.10 ⁸	7,4.10 ⁸ ± 5,7.10 ⁷	3,5.10 ⁸ ± 1,1.10 ⁸
	Log	8,94 ± 0,09 ^d	8,87 ± 0,03 ^d	8,54 ± 0,14 ^{bc}
	UFC/g*			

* Dados submetidos à análise de variância. Médias seguidas de letras diferentes são estatisticamente diferentes a um nível de significância de 5%.

Os resultados apresentados na Tabela 1 sugerem que houve redução de bactérias lácticas viáveis durante o período em que as mesmas foram estocadas sob refrigeração em todas as formulações, ou seja, com e sem a adição de biomassa da microalga *Spirulina*.

No tempo de 15 dias de refrigeração, a amostra adicionada de 1% de *Spirulina* apresentou população de bactérias lácticas (log UFC/g) significativamente superior que as amostras controle ($p = 0,011$) e adicionada de 0,5% de *Spirulina* ($p = 0,018$). As amostras controle e 0,5% de *Spirulina* apresentaram populações de bactérias lácticas estatisticamente iguais ($p = 0,653$) no tempo de refrigeração de 15 dias.

As maiores populações de bactérias lácticas no iogurte no tempo de refrigeração de 30 dias foram obtidas com a adição de 0,5% e 1,0% de *Spirulina* ao iogurte, significativamente maiores que o resultado obtido na amostra controle ($p < 0,001$). As amostras adicionadas de 0,5% e 1,0% de *Spirulina* foram consideradas estatisticamente iguais ($p = 0,126$) pelo teste de Duncan no tempo de 30 dias de refrigeração.

A Tabela 2 apresenta o percentual de redução da população de bactérias lácticas durante 15 e 30 dias de armazenamento refrigerado, em comparação com o tempo inicial. O percentual de redução da população de bactérias lácticas foi calculado a partir dos dados de contagem em UFC/g, segundo a Equação 1.

$$\%R = \frac{C_0 - C_i}{C_0} \cdot 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

% R = Percentual de redução da população de bactérias lácticas

C₀ = contagem de bactérias lácticas no tempo inicial

C_i = contagem de bactérias lácticas no tempo analisado

O consumo de iogurte é benéfico para a saúde humana devido à quantidade de bactérias lácticas que este produto contém. A legislação brasileira define que o iogurte contenha 107 UFC/mL de bactérias viáveis (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*). Em virtude disto, pesquisas têm sido realizadas a fim de se descobrir formas para manter a viabilidade destes organismos para assegurar-se que as bactérias vivas ainda estejam presentes no iogurte quando o mesmo é consumido. Salvador & Fiszman¹² demonstraram que a 10°C há uma considerável redução de ambas as culturas, especialmente no final da estocagem. No presente estudo, em todos os tempos e concentrações de biomassa de *Spirulina platensis* e também na amostra controle, foi observado que as populações de bactérias lácticas excederam estes níveis.

A biomassa de cianobactérias também contribuiu para o aumento dos aminoácidos essenciais e conteúdo vitamínico do leite, melhorando a composição de ácidos-graxos, como relatado por Vonshak.²¹ A abundância de compostos com propriedades funcionais na *Spirulina platensis*, tais como as vitaminas A e E, os antioxidantes e os ácidos graxos poli-insaturados, possui importância sob o ponto de vista nutricional, uma vez que a adição da biomassa da *Spirulina* em produtos alimentícios, como os produtos lácteos, é uma alternativa para o desenvolvimento de alimentos funcionais a nível industrial.

Varga et al.¹⁹ observaram uma diminuição da população de *S. thermophilus* durante as primeiras quatro semanas de estocagem a 4°C. Porém, amostras de iogurte adicionadas de cianobactérias apresentaram uma queda menor nas contagens de *Streptococos*. Os produtos suplementados com *Spirulina* apresentaram populações de *S. thermophilus* 0,2 ciclos log mais superiores do que as amostras controle, após seis semanas de armazenamento refrigerado.

Tabela 2 - Percentual de redução da contagem de bactérias lácticas durante 15 e 30 dias de armazenamento refrigerado, em comparação com o tempo inicial.

Tempo (dias)	% de redução da Contagem de UFC/g em iogurte		
	Controle	0,5%	1,0%
15	70,4%	78,5%	15,4%
30	90,3%	85,4%	60,6%

Observa-se que na amostra controle a concentração bacteriana diminuiu 70,4% nos primeiros 15 dias de refrigeração e 90,3% em 30 dias de estocagem. Para as amostras adicionadas de 0,5% de biomassa da microalga houve uma redução de 78,5% e 85,4%, respectivamente, em 15 e 30 dias de refrigeração. Já para as amostras de iogurte acrescidas com 1,0% de biomassa de *Spirulina platensis*, nos primeiros 15 dias, a concentração de bactérias lácticas caiu apenas 15,4% e em 30 dias houve uma redução de 60,6% no número de microrganismos. Varga²⁰ demonstrou que após 45 dias de estocagem a população de lactobacilos em iogurte acrescido de mel foi de 36,3% e 42,3% da população inicial.

Robinson apud Varga et al.,¹⁹ relataram a sobrevivência de *L. acidophilus* em iogurte onde foram encontrados valores de $9,5 \cdot 10^6$, $7,6 \cdot 10^6$ e $4,0 \cdot 10^6$ UFC/mL no tempo inicial e após 7 e 14 dias de refrigeração, respectivamente. Neste estudo, valores de $1,4 \cdot 10^9$ UFC/g, $1,7 \cdot 10^9$ UFC/g e $8,8 \cdot 10^8$ UFC/g foram encontrados respectivamente na amostra controle e nas amostras adicionadas de 0,5% de *Spirulina* e de 1,0% de *Spirulina*, no tempo de 0 dias de refrigeração. Após 15 dias de estocagem, os resultados de população de bactérias lácticas apresentaram populações estatisticamente inferiores ($p < 0,05$) que os valores obtidos no tempo inicial para as amostras controle e adicionada de 0,5% de *Spirulina*, de

4,2.10⁸ UFC/g e 4,0.10⁸ UFC/g, respectivamente. A amostra adicionada de 1,0 % de *Spirulina* apresentou população de 7,4.10⁸ UFC/g, estatisticamente igual ($p > 0,05$) à população de bactérias lácticas presentes no tempo inicial. De modo similar, no estudo de Varga et al.,¹⁹ nenhuma perda de viabilidade de *Lactobacillus* ocorreu durante os primeiros 28 dias de armazenamento refrigerado. Um decréscimo de 0,2 ciclos log na população de *Lactobacillus* foi observado no controle entre 28 e 42 dias visto que uma alta porcentagem destes microrganismos viáveis foram mantidos nos produtos adicionados de cianobactérias durante o primeiro período. A população de *L. acidophilus* alcançou valores de 10⁷ UFC/mL, apresentando potencial probiótico de até 42 dias de armazenamento refrigerado.

O aumento da viabilidade das bactérias lácticas na presença da biomassa da microalga *Spirulina platensis* pode ter sido ocasionada pela presença de compostos bioativos na mesma, como relatado por Parada et al.,¹⁶ que estudaram a promoção do crescimento dos microrganismos *L. lactis*, *S. thermophilus*, *L. casei*, *L. acidophilus* e *L. bulgaricus* pela adição no meio de cultivo de produtos extracelulares da microalga *Spirulina platensis*. As bactérias lácticas necessitam de suplementos nutricionais como aminoácidos, vitaminas, precursores de ácidos nucléicos, entre outros, para o seu crescimento. Os exopolissacarídeos da microalga *Spirulina*, bem como outros compostos liberados a partir da biomassa da microalga, tais como vitaminas, aminoácidos, ácidos nucléicos, ácidos graxos poli-insaturados, podem promover o crescimento das bactérias lácticas.¹⁵ Segundo Falquet,⁴ a *Spirulina* apresenta quantidades consideráveis das vitaminas lipossolúveis A e E e das vitaminas do complexo B. Ainda apresenta-se como uma fonte de minerais, tais como cálcio, fósforo, magnésio, ferro, zinco, cobre, cromo, manganês, sódio e potássio.⁶ Quanto aos aminoácidos, a microalga apresenta quantidades apreciáveis dos aminoácidos isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina e valina.⁶

Em nosso estudo, a suplementação dos iogurtes com a microalga *Spirulina platensis* apresentou um efeito positivo na manutenção de altos níveis de bactérias lácticas. Aos 30 dias de armazenamento refrigerado, o iogurte apresentou contagem de bactérias ácido-lácticas na ordem de 10⁷ UFC/mL, garantindo a manutenção dos efeitos benéficos que o iogurte pode apresentar aos consumidores.

CONCLUSÃO

Este trabalho demonstrou que a adição de biomassa de *Spirulina platensis* influencia positivamente a sobrevivência das bactérias ácido-lácticas durante o armazenamento refrigerado do iogurte, diminuindo a perda de viabilidade em 30 dias de armazenamento refrigerado quando realizada a adição de 1,0% de biomassa de *Spirulina platensis* ao produto. Desta forma, a adição de biomassa de *Spirulina*

platensis em iogurtes torna-se uma alternativa importante para a manutenção das bactérias viáveis, garantindo os efeitos benéficos das altas populações de microrganismos ao consumidor.

PEREZ, K. G.; GUARIENTI, C.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M. Effect of adding dry biomass of the *Spirulina platensis* to yogurt on the survival of lactic-acid bacteria during refrigerated storage. *Alim. Nutr., Araraquara*, v.18, n.1, p. , 2007.

■ **ABSTRACT:** The influence of long storage times on the viability of lactic-acid bacteria in yogurt has been studied, as it is known that fermented dairy products need to have a minimum number of microorganisms to be beneficial to consumers. It has been demonstrated that the addition of dried biomass of the cyanobacterium *Spirulina platensis* as a dietary supplement has a beneficial influence on the survival of the starter bacterial culture, owing to its large contents of protein, vitamins, essential amino acids, minerals and essential fatty acids such as γ -linolenic acid (GLA). The aim in this study was to prepare a plain yogurt and evaluate the cell viability of lactic-acid bacteria under refrigeration in yogurts prepared with and without the addition of *Spirulina* biomass. The yogurt was prepared under aseptic laboratory conditions and its pH and acidity were controlled during the process. The yogurt was then divided into three portions: without supplement (control), with 0.5% and with 1.0% of *Spirulina* biomass, respectively. These samples were stored at 4°C for 0, 15 and 30 days, after which the viable lactic-acid bacteria in each sample were counted by growth on MRS lactobacillus agar. The results show that the addition of 1.0% of *Spirulina platensis* biomass had a positive effect on the survival of the lactic-acid bacteria during refrigerated storage of yogurt, reducing the loss in viability of these bacteria for the first 30 days.

■ **KEYWORDS:** Yogurt; lactic-acid bacteria; *Spirulina platensis*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BEAL, C. et al. Combined effects of culture conditions and storage time on acidification and viscosity of stirred yogurt. *J. Dairy Sci.*, v. 82, n. 4, p. 673-681, 1999.
2. BRASIL. Resolução nº 5, de 13 de novembro de 2000. Padrões de identidade e qualidade (PIQ) de leites fermentados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 27 de nov. 2000. Seção 1, p. 9.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portarias nº 19 de 15 de março de 1995. Disponível em: <http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS>. Acesso em: 22 set. 2006.
4. FALQUET, J.; HURNI, J. P. **Spiruline**: aspects

- nutritionnels. Genève: Antenna Technologie, 1996. 41p.
5. GOMES, A.M.P.; MALCATA, F.X. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas. **Bol. Biotechnol. Al.**, São Paulo, v. 64, p. 12-22, 1999.
 6. HENRIKSON, R. Microalga *Spirulina* - superalimento del futuro. Barcelona:Urano, 1994. 220p.
 7. HONG, S. H.; MARSHALL, R. T. Natural exopolysaccharides enhance survival of lactic acid bacteria in frozen dairy desserts. **J. Dairy Sci.**, v. 84, n.6, p. 1367-1374, 2001.
 8. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 2.ed. São Paulo, 1976. v. 1, 371p.
 9. JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712p.
 10. KARAGÜI-YÜCEER, Y.; WILSON, J. C.; WHITE, C.H. Formulations and processing of yogurt affect the microbiol quality of carbonated yogurt. **J. Dairy Sci.**, v. 84, p. 543-550, 2001.
 11. MERCENIER, A.; PAVAN, S.; POT, B. Probiotics as biotherapeutic agents: present knowledge and future prospects. **Curr. Pharm. Design**, v.8, p.99-110, 2003.
 12. SALVADOR, A.; FISZMAN, S. M. Textural and sensory characteristics of whole and skimmed flavored set-type yogurt during long storage. **J. Dairy Sci.**, v. 87, n. 12, p. 4033-4041, 2004.
 13. SCHILLINGER, U. Isolation identification of lactobacilli from novel-type probiotic and mild yoghurts and their stability during refrigerated storage. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 47, n. 1-2, p. 79-87, 1999.
 14. ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. v.2
 15. ÖZER, B. H.; ROBINSON, R. K. The behavior of starter cultures in concentrated yogurt (labneh) produced by different techniques. **Lebensm-Wiss u.-Techonol.**, v. 32, n. 7, p. 391-395, 1999.
 16. PARADA, J.L. et al. Lactic acid bacteria growth promoters from *Spirulina platensis*. **Int. Food Microbiol.**, v. 45, p. 225-228, 1998.
 17. SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo:Varela, 1997. p. 105-106.
 18. THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, v. 41, n.3, p. 393-400, 2005.
 19. VARGA, L. et al. Effect of acacia (*Robinia pseudo-acacia* L.) honey on the characteristic microflora of yogurt during refrigerated storage. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 108, p. 272-275, 2006.
 20. VARGA, L. et al. Influence of a *Spirulina platensis* biomass on the microflora of fermented ABT milks during storage (R1). **J. Dairy Sci.**, v. 85, n. 5, p. 1031-1038, 2002.
 21. VONSHAK, A. Appendices. In:____. **Spirulina platensis (Arthonspira): physiology, cell-biology and biotechnology**. London: Taylor and Francis, 1997. p. 213-226

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.