FERMENTAÇÃO POR *Streptococcus thermophilus* E *Lactobacillus delbrueckii SUBSP. bulgaricus* DE EXTRATO AQUOSO DAS FOLHAS DE FEIJOA (*Acca sellowianna*) ADICIONADO EM CALDO MRS

Eduarda Heck Sumny[1], Luniele Beilke[2], Cassandro Talamini do Amarante[3], Liziane Schittler Moroni[3], Aniela Pinto Kempka[4]

[1] Acadêmico(a) do Curso de Engenharia de Alimentos CEO - bolsista PIVIC/UDESC
[2] Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
[3] Pesquisador participante – UDESC.
[3] Orientador, Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química – CEO – aniela.kempka@udesc.br

Palavras-chave: Atividade antioxidante, compostos fenólicos, cultura lática, Acca Sellowiana

Feijoa (*Acca sellowiana*) é uma planta nativa do Brasil e de outros países do sul da América do Sul e tem sido estudada pela presença de compostos fenólicos em seus frutos, folhas e flores. O uso das folhas é considerado mínimo, restringindo-se ao preparo das infusões, mas as folhas possuem a presença de compostos capazes de promover diversos benefícios à saúde. Nonante é um genótipo brasileiro de Feijoa, lançado pela EPAGRI, com grande potencial comercial de frutos, e as folhas têm despertado interesse em apresentar considerável conteúdo de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. A fermentação por bactérias ácido-lácticas é uma alternativa que tem sido estudada para a aplicação de vegetais ricos em compostos fenólicos totais. Estes produtos podem manter ou ter uma melhoria nas propriedades antioxidantes, pela produção de novos compostos fenólicos totais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da adição do extrato de folhas de Feijoa (*Acca sellowiana*) do genótipo Nonante na fermentação láctica realizada por cultura mista de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* em caldo MRS. As folhas foram coletadas no Banco Ativo de Germoplasma da EPAGRI, Estação Experimental de São Joaquim/SC. As folhas foram selecionadas, lavadas, congeladas à -86°C, liofilizadas e trituradas. Para a obtenção dos extratos, a mistura de 0,5 g de folhas e 50 ml de água destilada foi colocada em banho ultrassom de baixa frequência por 60 min, seguida de filtração e congelamento. Para a reativação, propagação da cultura lática e fermentação em caldo MRS, a cultura mista de *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* foi reativada à 37°C/24h em leite em pó desnatado esterilizado. A partir dessa cultura, 1 ml foi adicionado em 100 ml de caldo MRS esterilizado, posteriormente incubado à 37°C/24h, obtendo-se o inóculo. A fermentação foi feita a partir da mistura de 14 ml do extrato aquoso, 236 ml de caldo MRS e 2,5 ml do inóculo. Os testes de atividade antimicrobiana, realizados preliminarmente, não demonstraram interferência da concentração de extrato (utilizada na fermentação) no crescimento dos microrganismos. O meio a ser fermentado foi incubado à 37°C até o final da fase exponencial (16 h). A cada 4 h, foram retiradas amostras para a determinação do teor de compostos fenólicos totais (CFT), com leitura das amostras em comprimento de onda de 720 nm, sendo os resultados expressos de acordo com a curva padrão de ácido gálico, em miligramas de equivalente em ácido gálico por grama de amostra (mg EAG g^{-1}). Determinou-se a

atividade antioxidante (AA) contra o radical DPPH, em amostras do início e término da fermentação. A absorção das soluções foi medida à 515 nm e apresentou-se os resultados em IC_{50} (g mL^{-1}). Os valores de pH foram determinados em potenciômetro digital e a contagem de mesófilos foi determinada por contagem em ágar PCA, sendo os resultados expressos em Log UFC ml^{-1}. Para a microscopia eletrônica de varredura (MEV), o meio fermentado foi centrifugado por 10 min à 4.000 rpm e liofilizado por 48 h. Foi utilizado um Microscópio Eletrônico de Varredura de Emissão de Campo equipado com sistema de microanálise por espectrometria de raios-x (EDS) que foi executado com 15 kV de tensão de aceleração de elétron com imagens aumentadas em 10.000 a 20.000 vezes. A Fig.1 apresenta os resultados de CFT, AA, pH e contagem de mesófilos. A adição dos extratos aquosos de Feijoa no caldo MRS permitiu o crescimento da cultura mista, com redução do pH, como acontece em fermentações lácticas. O pH inicial e final apresentaram diferença significativa ($p<0,05$), mas no final de 16 h o pH da fermentação foi superior ao ideal para os iogurtes, que é de aproximadamente 4,3. Houve também alterações no conteúdo do CFT ao longo do tempo, o que pode ter influenciado na AA do fermentado, que diferiu estatisticamente ($p<0,05$) entre o tempo 0 e 16 h. Houve um aumento em AA no final da fermentação. Valores mais baixos de IC_{50} indicam maior AA. Oscilações de CFT ao longo do tempo podem estar relacionadas com a degradação ou formação de novos compostos. O interesse em manter os compostos fenólicos ou aumentá-los com fermentação lática tem relação com o decréscimo desses compostos em vegetais após a digestão simulada; a fim de garantir que estes compostos tenham uma maior biodisponibilidade para ingestão. Através da MEV (mostrado na Fig.2), pode-se observar a predominância do *S. thermophilus*. Essa predominância pode estar relacionada ao pH, que não atingiu condições ideias para o desenvolvimento de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Na fermentação ácido-lática, o *S. thermophillus* rapidamente inicia a produção de ácido lático, reduzindo o oxigênio que estimula o crescimento de Lactobacilos. A partir dos resultados apresentados, conclui-se que é possível a fermentação lática na presença de extrato das folhas de Feijoa, com a permanência de compostos fenólicos totais e com atividade antioxidante.

Tempo (h)	0	4	8	12	16
pH	6,39 ± 0,01^{a}	6,35 ± 0,01^{a}	6,19 ± 0,01^{b}	5,33 ± 0,01^{b}	5,03 ± 0,01^{c}
Contagem de mesófilos aeróbios (LOG UFC mL^{-1})	3,56 ± 0,10^{c}	4,42 ± 0,01^{c}	6,40 ± 0,02^{b}	7,70 ± 0,04^{a}	7,75± 0,01^{a}
CFT (mg EAG g^{-1} MS)	55,82 ± 1,22^{b}	48,11 ± 1,05^{c}	62,84 ± 2,79^{a}	55,47 ± 2,79^{b}	60,39 ± 3,72^{ab}
IC_{50} (µg mL^{-1})	0,394 ± 0,012^{b}	-	-	-	0,351 ± 0,010^{a}

Média ± desvio padrão; Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente entre si ($p<0,05$), pelo Teste de Tukey.

Fig. 1 *Compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, pH e contagem de mesófilos aeróbicos nos tempos de 0, 4, 8, 12 e 16 h de fermentação.*

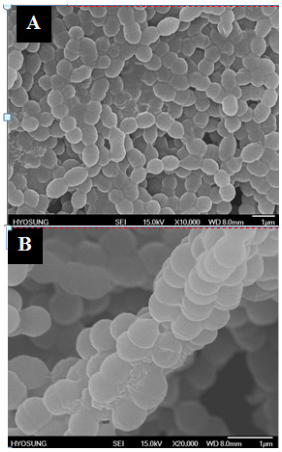

Fig. 2 *MEV, com aumento de 10.000x (A) e 20.000x (B) de S. thermophillus e L. delbrueckii subsp. bulgaricus fermentados com adição do extrato de folhas de feijoa.*