

Avaliação da Vida Útil de Bebidas Lácteas Fermentadas Obtidas por Fermentação Contínua e Descontínua

Autores

Camila Leonello Victal

Orientador

Ivana Cristina Spolidorio mc Knight

Apoio Financeiro

Fapic

1. Introdução

logurte é definido pelo Regulamento da Inspeção Industrial de Produtos de Origem Animal – RIISPOA, como o produto adicionado ou não de outras substâncias alimentícias, obtido por coagulação e diminuição do pH do leite, ou leite reconstituído, adicionado, ou não, de outros produtos lácteos, por fermentação láctea mediante a ação protosimbiótica de *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* e *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus*, 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 (Brasil, 1998).

Também tem sido verificado grande crescimento para os produtos do soro no Brasil. A expressiva produção brasileira de queijo gera grande quantidade dessa matéria-prima, ainda sub-aproveitada. (ALMEIDA, et al, 2001).

As proteínas do soro possuem um dos mais altos índices de valor biológico em comparação a outras fontes de proteínas. Quase todos os tipos de aminoácidos presentes no soro tipo doce superam as doses diárias mínimas de nutrientes recomendados pela Organização Mundial de Saúde (FAO/WHO).

Hoje em dia também se utilizam microorganismos probióticos, associados a esses tradicionais como agentes biotecnológicos, que melhoram as características do produto tradicional, ou como agentes terapêuticos, microorganismos que promovem efeitos benéficos nos indivíduos que os ingerem (Antunes, 2001 citado por Thamer, Penna, 2005).

A forte demanda por um produto de qualidade justifica o desenvolvimento de novas bebidas lácteas e de acordo com pesquisas de TAMINE & ROBINSON (1991) apontou-se nos últimos anos a tendência do consumo de bebidas lácteas de maneira notável, estas caracterizadas por apresentar baixa viscosidade e consumidas como bebidas suaves e refrescantes.

2. Objetivos

Este projeto de iniciação científica teve como objetivo avaliar a vida útil das bebidas lácteas fermentadas produzidas, através do monitoramento do pH, da acidez livre e determinação de proteína presente em cada bebidas lácteas; o controle de células viáveis de bactérias lácticas, lactobacilos, estreptococos e microorganismos probióticos, pelo uso de meios seletivo e a avaliação da ocorrência de microorganismos psicrotófilos, coliformes totais e *E. coli*, como indicadores de qualidade.

3. Desenvolvimento

As matérias-primas empregadas na fabricação das bebidas lácteas no Projeto foram: leite pasteurizado tipo B e soro de queijo doce em pó e reconstituído.

Como inóculo, foram utilizados culturas puras liofilizadas de misturas de microorganismos: *S. thermophilus* e *L. delbruecki subs. Bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbruecki subs. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterias* (cultura probiótica com quatro microorganismos).

Todos os tratamentos foram avaliados sob o ponto de vista microbiológico e físico-químico após zero, 7, 15 e 30 dias de vida , onde foram mantidos entre 4 e 5°C.

ANÁLISES FÍSICO- QUÍMICAS

Foi analisado o pH dos diferentes tratamentos, nos períodos de zero, 7 ,15 e 30 dias. Para a medição do pH foi utilizado um pHâmetro do fabricante GEAKHA. A acidez livre foi medida através da titulação da amostra com NaOH 9N ou soda Dornic (1° Dornic corresponde a 1 g ácido láctico/ mL de leite),e utilizando fenolftaleína como indicador de viragem.

Para a verificação da proteína foi utilizado o método Kjeldahl. Neste método o nitrogênio orgânico do material foi transformado em NH_4^+ , por digestão logo após foi feita a destilação do NH_4^+ , transformando-o em NH_3 onde foi utilizado NaOH a 18N para liberação do amônio e o ácido bórico para a recepção do NH_3 desprendido. Na ultima fase foi realizada a titulação com ácido sulfúrico a 0,04366 N. depois para a determinação da % de proteína foi feito o cálculo $m = N \cdot M \cdot V$ onde, m é a massa de nitrogênio em 1 ml de amostra N é a normalidade do ácido sulfúrico M é a molaridade do nitrogênio e V o volume utilizado da amostra, depois foi convertido o nitrogênio em proteína com $N \times 6,25$ determinando assim a quantidade de proteína em porcentagem.(LACERDA, 2002)

ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Foi realizado o controle de células viáveis, feitas por semeadura em placas pelo método “pour plate”, também nos períodos de zero, 7, 15 e 30 dias, com diluições em soluções peptonadas a 0,1%. Depois de realizadas as diluições as placas foram incubadas em jarros de anaerobiose a 42°C/ 48 horas para o desenvolvimento das colônias. As análises microbiológicas foram feitas com três tipos de meio. O meio Agar MRS (pH 6,9) para contagem de bactérias lácteas, meio Agar M17 (pH6,9) para contagem de estreptococos e meio Agar MRS acidificado (pH 5,4) para contagem de probióticos.

Para a contagem de colônias de microorganismos psicotrófilas foi utilizado o Agar PCA onde foi utilizado diluições com soluções peptonadas a 0,1% e posteriormente as placas incubadas a 5°C por 7 dias. APHA (1992).

Para a verificação da qualidade da bebida Láctea foram realizadas as análises de coliformes totais e *E.coli* empregando-se o teste rápido Petrifilm coliformes (AOAC 991.14), seguindo a metodologia do fabricante.

4. Resultados

O pH variou de 4,22 a 4,73 e a acidez variou de 71 a 147°D nas bebidas com cultura tradicional, e para as bebidas com a cultura probiótica, o pH variou de 4,16 a 4,69 e a acidez de 61 a 126.

Nas duas etapas, com a queda do pH houve um aumento na acidez pois, quanto mais baixo o pH mais ácida é a amostra, isso se deve ao fenômeno conhecido como pós acidificação, o *Lactobacillus delburekii ssp. Bulgaricus* produz ácido láctico durante o armazenamento refrigerado.

Nos tratamentos utilizando cultura probiótica houve uma leve redução na acidez em relação aos tratamentos utilizando cultura tradicional. Isso ocorre pois as culturas probióticas, caracterizam-se pela baixa capacidade de acidificação durante a estocagem, possuem a vantagem de promover acidificação reduzida durante a armazenagem pós-processamento podendo melhorar o sabor do produto final. (Gomes, Malcata, 1999 citado por Thamer, Penna, 2005).

O monitoramento do crescimento das bactérias lácticas em ágar MRS e o monitoramento do crescimento de *Streptococcus thermophilus* em ágar M17 para as bebidas com cultura tradicional está apresentado no gráfico do Anexo 1 e para as bebidas com cultura probiótica o crescimento microbiano pode ser melhor analisado nos gráficos do Anexo 2.

Os coliformes totais em todas as fermentações realizadas tiveram seu desenvolvimento desacelerado, chegando ao não crescimento nos períodos de 15 e 30 dias, decorrente do aumento da acidez do leite fermentado.

A *E. coli* também teve seu desenvolvimento desacelerado apenas com cultura tradicional e não teve desenvolvimento com a inclusão dos probióticos. O modo de ação dos probióticos não é completamente esclarecido. Uma hipótese é a exclusão competitiva, em que o probiótico competiria com os patógenos por sítios de fixação e nutrientes, impedindo sua ação transitoriamente. A exclusão competitiva explicaria a necessidade da administração continuada e as elevadas doses dos probióticos, para manifestar seus efeitos. Os probióticos podem também afetar patógenos através da síntese de bacteriocinas, de ácidos orgânicos voláteis e de peróxido de hidrogênio. (COPPOLA e TURNES, 2004).

O período ótimo do crescimento microbiano para as duas etapas, foi no período de 15 dias, devido a capacidade dos microorganismos de metabolização de lactose durante o período de armazenamento.

Para as bebidas em que foram utilizada cultura probiótica, era aconselhável manter o pH acima de 5,00. Pois, segundo SCARDOV citado por ALMEIDA, algumas espécies de bifidobactéria não se desenvolvem em pH entre 4,50 e 5,00.

A quantidade de proteína apresentou poucas variações em relações aos tratamentos, e as concentrações dos diferentes teores de soro de queijo não influenciaram na quantidade de proteína das bebidas lácteas. As bebidas elaboradas com a cultura probiótica apresentaram porcentagem de proteína ligeiramente superior em comparação as elaboradas com a cultura tradicional.

Segundo DAVE & SHAH citado por ALMEIDA, afirmam que o *Lactobacillus acidophilus* a apresentam atividade proteolítica, fator que beneficia o crescimento de bifidobactéria em produtos fermentados, que requer peptídeos ou aminoácidos derivados da degradação da caseína

5. Considerações Finais

A acidez aumentou com o passar do tempo nas fermentações na medida que o pH diminuía, este fato se deve ao fato do *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* produzir ácido láctico durante o armazenamento refrigerado, fenômeno este conhecido como pós acidificação. Quando o *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* é excluído da fermentação, o aumento da acidez é reduzido. Não houve ocorrência de microorganismos psicrótrófilos em nenhuma das fermentações realizadas. A ocorrência de coliformes totais, diminuíram em todas as fermentações com o passar do tempo, devido a acidez da bebida. A *E. coli* tem seu desenvolvimento inibido com a presença de microorganismos probióticos.

O nitrogênio total não houve grandes variações, os tratamentos contendo microorganismo probióticos apresentaram um ligeiro aumento na porcentagem de nitrogênio presente.

As diferentes concentrações dos teores de soro de queijo não influenciaram na quantidade de proteína bruta.

Referências Bibliográficas

ALMEIDA, Keila E., et al. **Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal**. Ciências e tecnologia alimentar, Campinas, 21(2):187-192, maio-agosto 2001.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 16ª ed. Washington: AOAC, 1995. 2v.

BEHMER, M.L.A. **Tecnologia do leite**. Editora Nobel, 13ª edição revisada e atualizada, São Paulo, 2ª edição, 1999.

BRASIL. Leis, decretos, etc. **Nova legislação de produtos lácteos e alimentos especiais, diet e enriquecidos**. São Paulo: Fonte, 1998. 212 p.

BROWN, R.B. **Estudo da viabilidade de produção de iogurte batido por fermentação contínua**. Tese de Doutorado, Escola Politécnica da USP, São Paulo, 2001, 98p.

COPPOLA, M.M.; TURNES, C.G. **Probióticos e resposta imune**. Probióticos Ciência Rural, Santa Maria, v.34, n.4, p.1297-1303, jul-ago, 2004 Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/cr/v34n4/a56v34n4.pdf> > Acesso dia: 04 de julho de 2006.

KARDEL, G. & ANTUNES, L.A. F. **Culturas Lácticas e Probióticas empregadas na Fabricação de leites fermentados**. IN: **Leites Fermentados e Bebidas Lácteas, Tecnologias e Mercados**. Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, Abr. 1997.

LACERDA, Thais H. M. **Análise de alimentos**. Universidade metodista de Piracicaba-UNIMEP, p.6-11, março 2002.

LUQUET, F. M. (b) **O Leite – A Qualidade na Indústria dos Laticínios**. Vol. 4, Coleção EUROAGRO:Portugal, 1993, 467p.

MARTIN, A . F. **Armazenamento do iogurte comercial e o efeito na proporção das bactérias lácticas**. Dissertação - Mestrado, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, Piracicaba, SP, 2002, 50p.

PENNA A.L.B.; THAMER, K.G. **Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas**. Rev. Bras. Cienc. Farm. v.41 n.3 São Paulo jul./set. 2005.Disponível em: <

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S151693322005000300013&lng=pt&nrm=iso
> Acesso dia: 30 de junho de 2006.

PORTO, L. M. ; SANTOS, R.C.; MIRANDA T.L.S. **Determinação das melhores condições operacionais do processo de produção da ricota**. B.CEPPA, Curitiba, v. 23, n. 1, jan./jun. 2005

PUPIN, A .M. **Probióticos, Prebióticos e Simbióticos: aplicações em alimentos funcionais**. IN: Seminário: Novas alternativas de mercado. Alimentos funcionais e biotecnologia. Campinas: ITAL, 2002, p. 133-143.

SOUZA, G. Iogurte: tecnologia, consumo e produção em alta. Leite e **Derivados**, 5(28) - 44-54, 1996.

TAMIME, A.Y.; ROBINSON, R. K. **Yogur ciência y tecnologia**, Zaragoza, Acribia, 1991.

TRINDADE,C.; GROSSO, C. Encapsulação de culturas probióticas.**Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos (SBCTA)**, 37(supl):88-94.2003.

YOUNG, S. **Aditivos & Ingredientes em Produtos Lácteos: Indústria de Produtos Lácteos nos Estados Unidos**. Aditivos & Ingredientes. 6: 60-61, 2000.

ZACARCHENCO,P.B., MASSAGUER-ROIG, S. **Avaliação sensorial, microbiológica e de pós acidificação durante a vida de prateleira de leites fermentados contendo *Streptococcus thermophilus*, *bifibacterium longum* e *Lactobacillus acidophilus***. Ciência e tecnologia alimentar, Campinas, 24(4): 674-679, out-dez. 2004 .

Anexos

Contagem de células viáveis de microorganismos probióticos em ágar MSR acidificado com cultura probiótica

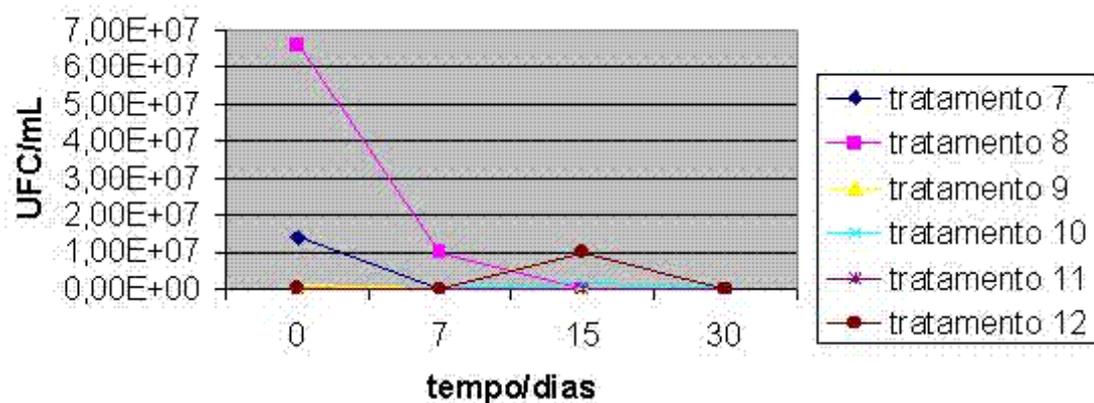


FIGURA 3. Contagem de células viáveis de *microorganismos probióticos* em ágar MSR acidificado, com cultura probiótica (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delburecki subs. Bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterias*)

ANEXO 2

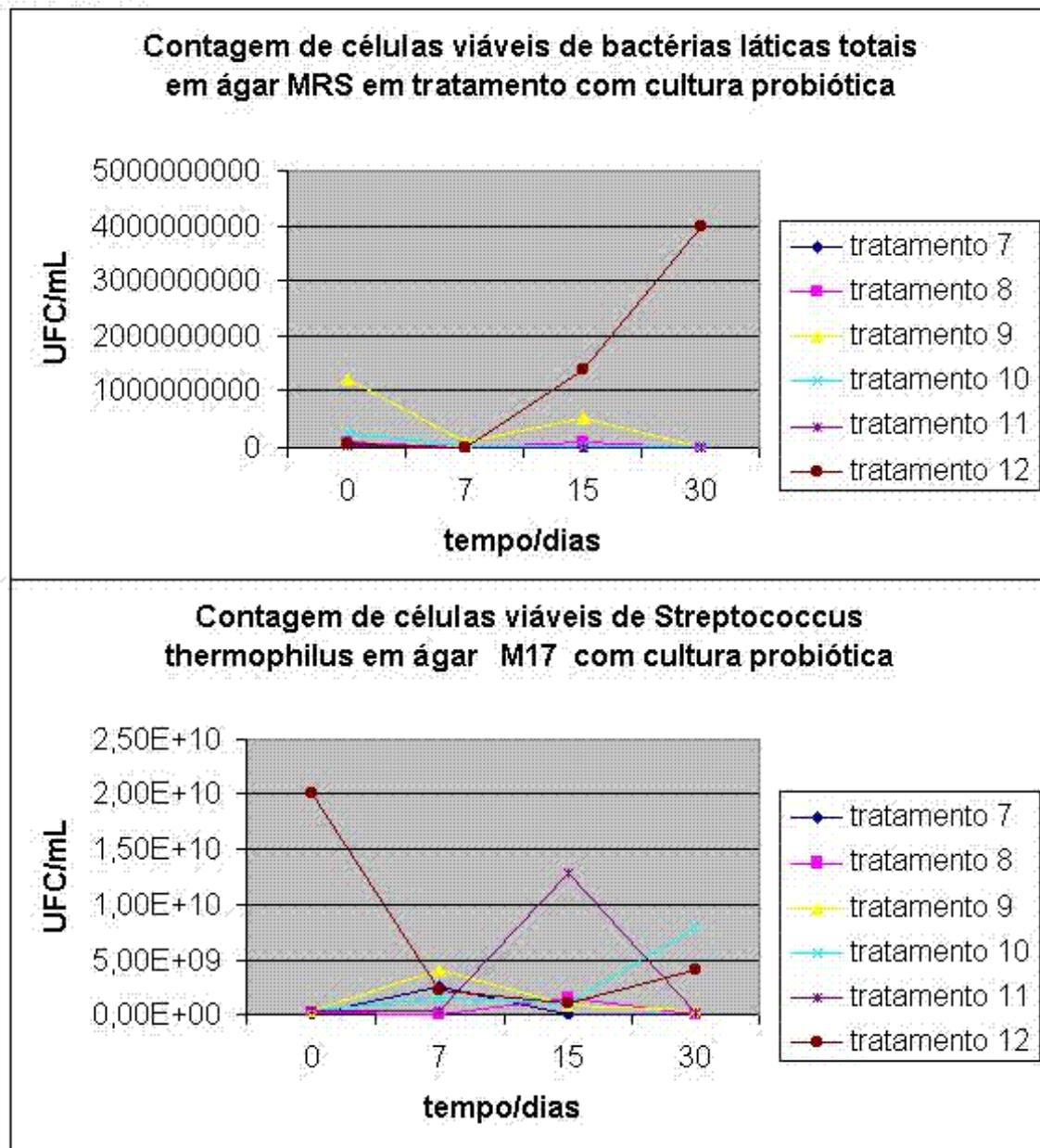
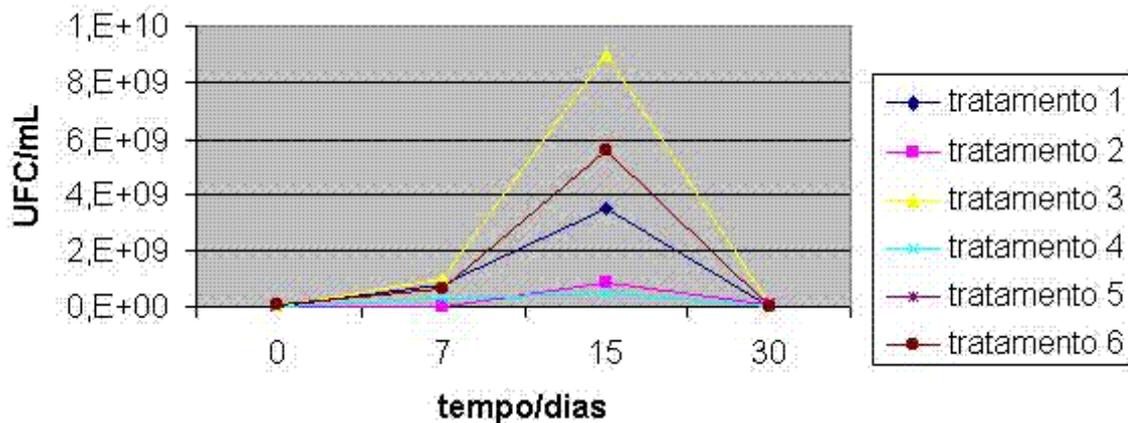


FIGURA 2. Contagem de células viáveis em bebidas lácteas fermentadas com cultura probiótica (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delburecki subs. Bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterias*)

ANEXO 1

Contagem de células viáveis de bactérias lácticas totais em ágar MRS, com cultura tradicional



Contagem de células viáveis de *Streptococcus thermophilus* em ágar M 17, com cultura tradicional

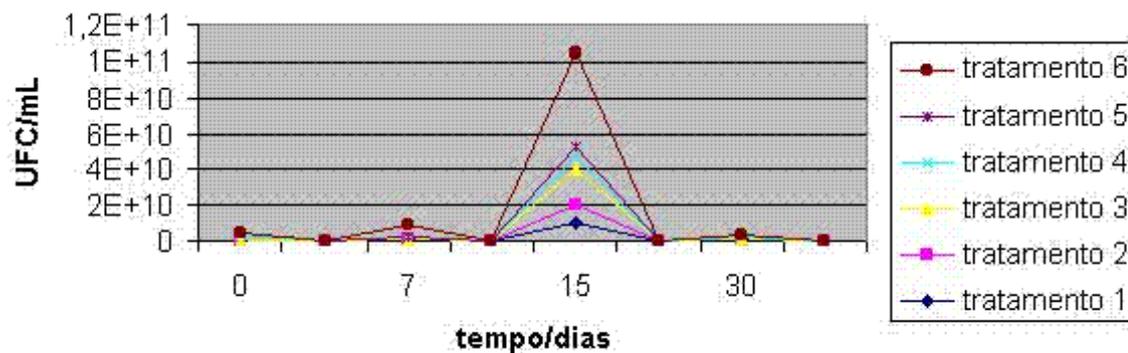


Figura 1. Contagem de células viáveis em bebidas lácteas fermentadas com cultura tradicional (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delburecki subs. Bulgaricus*)