

# Utilização de Diferentes Concentrações de Soro de Queijo e Culturas no Processo da Fermentação Descontínua Empregada na Elaboração de Bebida Láctea

## Autores

---

Melina Moure Malavazzi

## Orientador

---

Tais Helena Martins Lacerda

## Apoio Financeiro

---

Fapic

## 1. Introdução

---

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea da Instrução Normativa n.º 16, de 23/08/2005 (BRASIL, 1999), entende-se por bebida láctea o produto lácteo resultante da mistura do leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado e em pó) adicionado ou não de produto(s) ou substância(s) alimentícia(s), gordura vegetal, leite(s) fermentado(s), fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. A base Láctea representa pelo menos 51% (cinquenta e um por cento) massa/massa (m/m) do total de ingredientes do produto.

Ainda neste Regulamento, considera-se que bebida láctea fermentada é o produto já descrito, porém fermentado mediante a ação de cultivo de microrganismos específicos e/ou adicionado de leite(s) fermentado(s) e que não poderá ser submetido a tratamento térmico após a fermentação. A contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de  $10^6$  UFC/g, no produto final, para o(s) cultivo(s) láctico(s) específico(s) empregado(s), durante todo o prazo de validade. E, bebida láctea fermentada com adição é o produto descrito anteriormente, adicionado de leite fermentado, produto ou substância(s) alimentícia(s).

A importância do soro utilizado como matéria-prima ou ingrediente, na produção de bebidas lácteas, tem sido, por diferentes motivos, estudada por pesquisadores, sendo sua conversão em bebidas, fermentadas ou não, é uma das mais atrativas opções, seja pela simplicidade do processo, ou pela utilização de equipamentos do próprio beneficiamento do leite ou em função das propriedades funcionais da proteína do soro (ALMEIDA et al., 2001).

O soro de queijo não só permite ao fabricante reduzir o custo total dos ingredientes como também apresentam a importante vantagem de possuir propriedades funcionais excepcionais, além de serem uma fonte concentrada de nutrientes lácteos, sobretudo proteínas de elevado valor nutricionais e cálcio.

Para Pien apud Almeida et al. (2001) e Burrington (2000), bebidas lácteas à base de soro são de grande valor dietético, de fácil digestão. Leves e agradáveis para ser consumidas. Iogurte e bebidas lácteas com excelente sabor é produzido com o uso de soro desmineralizado ou soro concentrado. A concentração de ácido láctico, acetaldeído e diacetil (compostos associados ao *flavor* característico de iogurte e bebida láctea) é igual ou mais alta em amostras de iogurte ou bebida láctea no qual se utilizou soro concentrado para substituir parcialmente os sólidos de leite desnatado (HUGUNIM, 1999).

A justificativa do trabalho baseou-se na elaboração de bebidas lácticas empregando diferentes substratos constituídos de base láctea, dentre eles o soro de queijo e organismos probióticos que requerem condições adequadas para sua produção. Teve como objetivo definir as condições de operações para produzir bebidas lácticas por fermentação descontínua e estabelecer os parâmetros cinéticos da fermentação, bem como verificar a influencia da concentração de soro de queijo utilizado nas formulações das bebidas e comportamento das culturas nestas concentrações.

## 2. Objetivos

---

Verificar o efeito de diferentes concentrações de soro de queijo frente a culturas lácteas, dentre elas a tradicional, constituídas por *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbruecki subs. bulgaricus* e a probióticas, constituídas por *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbruecki subs. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterias* no processo fermentativo empregado na elaboração da bebidas lácteas.

Elaborar bebidas lácteas empregando leite pasteurizado e soro de queijo doce desidratado nas concentrações de 10, 20, 30 e 40% em fermentação descontínua, e acompanhar a cinética do processo fermentativo.

Monitorar o pH, a acidez, e crescimento celular por contagem de bactérias durante o tempo de fermentação e calcular as máximas velocidade de produção de ácido láctico (g/L.h) e da velocidade máxima específica de crescimento celular (UFC/L/h).

## 3. Desenvolvimento

---

As matérias-primas empregadas na fabricação das bebidas foram: leite pasteurizado e para a reconstituição do teor de sólidos não gordurosos (SNG) foi empregado soro de queijo doce e leite desnatado desidratado.

Como inóculo foram empregados dois tipos de culturas, a cultura tradicional de dois microrganismo ( *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbruecki subs. Bulgaricus*) denominada de cultura A, e cultura probiotica com quatro microrganismo ( *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbruecki subs. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterias* ) denominada de cultura B.

A fermentação foi realizada em um fermentador com capacidade de 2 litros onde tinha a temperatura e agitação controladas.

Os substratos das bebidas passaram por processo de aquecimento em banho-maria (90°C/ 15 min) e após por resfriamento. Em seguida, misturado ao inóculo e adicionados no fermentador, mantendo-se a temperatura em 42°C aproximadamente. A partir deste tempo (0 minutos) deu-se início a fermentação e durante o processo, seu controle foi monitorado através das análises de pH (AOAC, 1995) e formação de ácido láctico (LANARA, 1981), bem como o controle de células viáveis foi feito por cultivo em placas, *pour plate* utilizando o meio de cultivo "De Man, Rogosa, Sharp – MRS" o qual permite o desenvolvimento das culturas lácticas totais (PELCZAR, 1997; VANDERZANT e SPLITTSTOESSER, 2001 e o Meio M17 a seletividade para estreptococos (BROWN, 2001).

Quando o pH das bebidas aproximaram-se de 4,6 a fermentação foi interrompida. Durante a fermentação foram retiradas amostras de 30 em 30 minutos para o controle microbiológico e físico-químico.

Através do monitoramento dos dados experimentais, o estudo cinético do processo fermentativo foi realizado através do desenvolvimento da acidez (g/L) em função do tempo, velocidade de produção de ácido láctico (g/L.h), curva de crescimento microbiano ( $\ln X$ )/h, e velocidade específica de crescimento celular ( $h^{-1}$ ) (BROWN, 2001).

Foram propostos doze tratamentos, que caracterizam a elaboração de 12 bebidas lácteas com diferentes formulações, caracterizadas pela diferenciação de substrato (concentração de soro de queijo) e culturas (Tabela 1).

#### **Tabela 1:**

Os cálculos da velocidade instantânea de produção de ácido láctico e da velocidade instantânea de crescimento microbiano foram efetuados com base no estudo de SINCLAIR e CANTERO sobre Modelagem em fermentação (BROWN, 2001), de acordo com as equações 1 e 2.

$$dP/dt = [ (\ln P_3 - \ln P_1) / (t_3 - t_1) ] \times P_2 \quad (1)$$

Onde:

P = concentração de ácido láctico (g/L);  $P_1$  = concentração de ácido láctico no tempo  $t_1$ ;  $P_2$  = concentração de ácido láctico no tempo  $t_2$ ;  $P_3$  = concentração de ácido láctico no tempo  $t_3$ ; e t = tempo de fermentação.

$$dX/dt = [ (\ln X_3 - \ln X_1) / (t_3 - t_1) ] \times X_2 \quad (2)$$

Onde:

$X_2$  = concentração de microrganismos no tempo  $t_2$ ;  $X_3$  = concentração de microrganismos no tempo  $t_3$ ; t =

tempo de fermentação.

#### 4. Resultados

---

Nas seis formulações, representados pelos tratamentos 1, 2, 3, 4, 5 e 6, e que utilizou a cultura láctea tradicional (cultura A), notou-se que a fermentação representada pelo trat. 1 foi a que mais tempo necessitou para atingir o pH próximo de 4,6, único tratamento onde não adicionou nenhum tipo de sólidos para a correção dos SNG. O tratamento 2 necessitou 4 horas e 30 minutos para atingir o valor proposto no trabalho (pH próximo de 4,6) e os demais tratamentos, foram interrompidos em 4 horas de fermentação, fermentações estas empregando soro de queijo para ajustar o teor de SNG das bebidas.

Em todos os tratamentos que empregaram a cultura B (7 a 12) cultura mista contendo microrganismos probióticos (*S.thermophilus*, *Lactobacillus delburuecki subs bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterias*), o tempo necessário para atingir o pH de referência para o término da fermentação para todos os tratamentos foi de 2 horas e 30 minutos.

Os valores de acidez, expresso em °D, quando do emprego da cultura A, foram observados abaixo do valor estabelecido segundo Regulamento Técnico de Identidade para as Bebidas Lácticas Fermentadas, o valor de acidez final deste produto deverá estar compreendido na faixa de 80° a 90°D, e somente o tratamento 1 a acidez ultrapassou o valor estabelecido pela legislação. Nos tratamentos que empregaram a cultura B a acidez observada apontou níveis mais baixos do estabelecido pela Legislação e não ultrapassando o valor de 76°D.

Na Figura 1 são apresentadas as velocidades instantâneas de produção de ácido láctico expressa em g /L/h. A produção máxima no tratamento 1 ocorreu no tempo de 4 h e 30 min de fermentação, observando valor de 4,17 g/L/h; para o trat. 2 observou valor de 3,3 g/L/h depois de 3 h e 30 min de fermentação e nos demais tratamentos a máxima produção ocorreu mais rapidamente, isto é, após 3 horas de fermentação, observando valores de 3,6; 3,7; 4,9 e 3,6 g/L/h para os tratamentos 3, 4, 5 e 6 respectivamente. Quando do emprego da cultura B, a velocidade máxima de produção de ácido ocorrida nos tratamentos 7 e 10 ocorreu no tempo de 1 horas e 30 minutos de fermentação, observando valores de 3,47 g/L/h e 2,92g/L/h respectivamente; para os tratamentos 8, 9, 11 e 12 observou a velocidade máxima de formação de ácido láctico no tempo de 2 horas.

#### Figura 1:

Pode-se observar que o maior crescimento ocorreu no tempo de duas horas nos tratamentos 1, 4 e 5, já nos demais tratamentos isso ocorreu no tempo de três horas. Quando do emprego da cultura B a máxima velocidade de crescimento celular pode ser observada tempo de 1 h nos tratamentos 7,8, 11 e 12, enquanto que nos tratamentos 9 e 10 ocorreu no tempo de duas horas.

As velocidades instantâneas de crescimento celular ( $dX/dt$ ) ocorrida nos tratamentos 1 a 6 pode ser verificada na Figura 2. Após 3 horas de fermentação, observou-se que a velocidade máxima de crescimento microbiano teve seu ponto máximo no trat. 4.

## Figura 2.

### 5. Considerações Finais

---

- Empregando cultura tradicional, trat. 1 ao 6, houve necessidade de um maior tempo de fermentação, quando não foi utilizado nenhum tipo de material para a correção dos sólidos não gordurosos (variação de 5 h a 3h e 30 min). Quando do emprego da cultura B (cultura contendo organismos probióticos), todos os tratamento foram interrompidos após 2 h e 30 minutos.

Somente a bebida 1 ultrapassou os valores estabelecidos pelo Regulamento e atingindo o valor de 97°D.

•

A máxima velocidade de produção de ácido láctico (g/L/h) para o tratamento 1 ocorreu após 4h e 30 minutos (4,17 g/L/h), enquanto que para o tratamento 2 o valor foi de 3,3 g/L/h em 3 horas e 30 min, e para os demais tratamento que empregaram o soro de queijo (3,4,5 e 6) atingiu a máxima velocidade de formação de ácido em 3 horas e com valores de 3,6; 3,7; 4,9; e 3,6 respectivamente. Para os tratamento 7 e 10 ocorreu após 1 hora e 30 e observando valores de 3,47 e 2,92 g/L/h respectivamente, enquanto que para os tratamento 8, 9, 11 e 12 a máxima velocidade ocorreu após 2 horas e observando os valores de 2,91; 3,05; 3,98 e 3,67 g/L/h respectivamente.

•

A maior contagem de bactérias lácticas totais (meio MRS) ocorreu em cerca de 3 horas de fermentação para todos os tratamentos que empregaram a cultura A e para a cultura B após 2 horas de fermentação.

### Referências Bibliográficas

---

ALMEIDA, K. E.; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. O. Avaliação sensorial de bebida láctea preparada com diferentes teores de soro, utilizando-se dois tipos de cultura láctea. **Indústria de Laticínio**, **32**: 50-54, 2001.

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.

BURRINGTON, K. Aditivos: Os Benefícios do Soro. **Leites & Derivados**, **50**: Jan./Fev., 2000.

HUGUNIM, A. O Uso de Produtos de Soro em Iogurtes e Produtos Lácteos Fermentados. **Leites &**

Derivados, 49: 22-33, 1999.

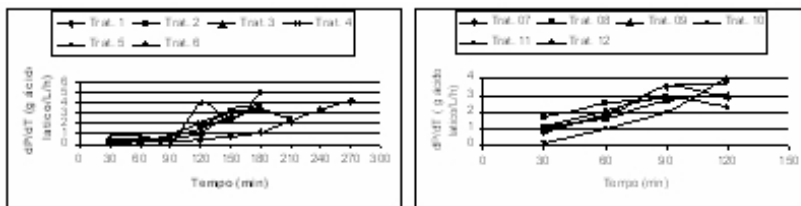
<p style=""TEXT-INDENT: "><span style=""FONT-FAMILY: ">LANARA. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II - Métodos físicos e químicos. Brasília, Ministério da Agricultura, 1981.

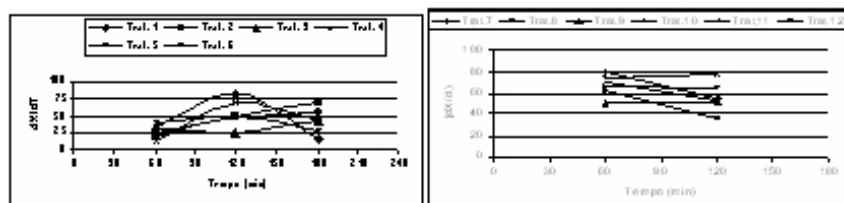
<p style=""TEXT-INDENT: "><span style=""FONT-FAMILY: ">PELCZAR, M.; REID,R.; CHAN, E.C.S. **Microbiologia**. São Paulo, McGraw-Hill do Brasil. Vol. I e II. 1997.

<p style=""TEXT-INDENT: "><span style=""FONT-FAMILY: ">PEREIRA, D.B.C.; SILVA, P.H.F. , et al **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**.2ª edição, Juiz de Fora – Minas Gerais, Editora EPAMIG, 2001, 234p.

<p style=""TEXT-INDENT: "><span lang=""EN-US"" style=""FONT-FAMILY: ">VANDERZANT, T. & SPLITTSTOESSER,E.F Conpendium of methods for the microbiological examination of foods. 3ª ed. Washington American Public Health Association (APHA), 1992. 1919 p.

## Anexos





**Tabela 1:** Delineamento Experimental

Tipo de Fermentação	Cultura	Substrato empregado na fermentação
DESCONTÍNUA	Cultura Mista tradicional (dois microrganismos)	Leite (Trat.1)
		Leite + leite em pó desnatado (Trat. 2)
		Leite + soro de queijo (90:10%) (Trat. 3)
		Leite + soro de queijo (80:20%) (Trat. 4)
		Leite + soro de queijo (70:30%) (Trat. 5)
		Leite + soro de queijo (60:40%) (Trat. 6)
DESCONTÍNUA	Cultura probiótica com quatro microrganismos	Leite (Trat. 7)
		Leite + leite em pó desnatado (Trat. 8)
		Leite + soro de queijo (90:10%) (Trat. 9)
		Leite + soro de queijo (80:20%) (Trat. 10)
		Leite + soro de queijo (70:30%) (Trat.11)
		Leite + soro de queijo (60:40%) (Trat. 12)