



15º Congresso de Iniciação Científica

ACOMPANHAMENTO DA VIDA ÚTIL DE BEBIDAS LÁCTEAS: INFLUENCIA DO SORO DO QUEIJO E CULTURAS CONTENDO ORGANISMOS PROBIOTICOS

Autor(es)

PAULA BIANCHINI SOAVE

Orientador(es)

Taís Helena Martins Lacerda

Apoio Financeiro

FAPIC

1. Introdução

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% massa/massa (m/m) do total de ingredientes do produto (AKALIN, 2004)

A produção de bebidas lácteas pode envolver essencialmente, através de cultura mista, realizada com cultivos proto-simbióticos de *Streptococcus salivares* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckei* subsp. *bulgaricus* aos quais pode-se acompanhar, de forma complementar, outras bactéria ácido-lácticas que por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final. Durante a fermentação, a lactose se transforma em ácido láctico, o pH do leite se aproxima do ponto isoelétrico das proteínas que então se precipitam, formando assim a massa características do iogurte (BARON, 2000) A contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10⁶ UFC/g, no produto final, para o(s) cultivo(s) láctico(s) específico(s) empregado(s), durante todo o prazo de validade. (BRASIL, 2000)

A importância do soro utilizado como matéria-prima ou ingrediente, na produção de bebidas lácteas, tem sido, por diferentes motivos, estudada por diversos pesquisadores. Para os laticínios, a conversão do soro líquido em bebidas, fermentado ou não, é uma das mais atrativas opções, para a utilização do soro para consumo humano, devido à simplicidade do processo, utilização de equipamentos de beneficiamento do leite, além das excelentes propriedades funcionais da proteína do soro (CASTRO, 2004).

O soro constitui a fase líquida do leite e resulta dos processos de obtenção de produtos industriais. Não deve confundir-se com o leite desnatado que, em linguagem vulgar, se chama impropriamente soro branco.

O verdadeiro soro é o líquido residual da fabricação dos queijos ou da obtenção da caseína ou, ainda, da precipitação da lacto - albumina ou da lacto - globulina, quer pela ação do calor quer pela ação dos ácidos diluídos, dado que mesmo o resíduo da malaxagem da manteiga possui gordura, embora em pequeníssima quantidade.

Os concentrados protéicos de soro apresentam características desejáveis para indústria de alimentos tais como: boa solubilidade, estabilidade, viscosidade, emulsificante, geleificante e boa absorção de água (BRASIL,2000).

O soro de queijo é um subproduto de importância relevante na indústria queijeira, tendo em vista o volume produzido e sua composição nutricional. As proteínas do soro – lactoalbuminas, lactoglobulinas, imunoglobulinas e protease-peptonas – possuem aminoácidos essenciais, facilmente digeríveis e considerados altamente completos, tanto fisiológica quanto nutricionalmente. Além disso, apresentam características funcionais excelentes. Porém, possui vida útil muito curta, quando não são tomadas medidas de conservação adequadas, devido à grande proliferação microbiana. Portanto, deve-se usar refrigeração e/ou adição de conservantes (LATÍCINIO, 2004).

Diversos autores estudam parâmetros para avaliação da vida útil de bebidas lácteas fermentadas. A vida útil de um iogurte deve ser de 2 a 4 semanas conservado a 5°C (BRASIL, 2000). Porém segundo Gonzalez (2004) deve ser de 10 dias a mesma temperatura. Lima (2001) demonstrara alta qualidade no produto sob parâmetros físico-químicos e microbiológicos. Sugeriram para prolongar a vida útil do produto um número mínimo de microrganismos de 10⁸ UFC/g e conservação do produto nunca superior a 5°C. Aqui coloque os objetivos do projeto

2. Objetivos

- Conhecer a tecnologia de processamento de bebidas lácteas e a metodologia de análise da vida de prateleira do produto; e
- Avaliar a vida útil das bebidas lácteas fermentadas produzidas, através do monitoramento do pH e da acidez livre, o controle de células viáveis de bactérias lácticas, lactobacilos, estreptococos, pelo uso de meios seletivos e a avaliação da ocorrência de microrganismos psicrófilos, coliformes totais e E. coli, como indicadores de qualidade.

3. Desenvolvimento

Foram realizados dez tratamentos fermentativos nos quais foram empregados como substrato: leite desnatado em pó reconstituído; soro de queijo doce em pó reconstituído e dois tipos de culturas comerciais, tradicional, constituída de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* e probiótica, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterias*.

As bebidas lácteas foram armazenadas sob refrigeração na temperatura de 4° a 5° C por 30 dias. Todos os tratamentos, isto é, as bebidas lácteas obtidas por fermentação no laboratório da UNIMEP foram avaliadas sob o ponto de vista microbiológico e físico-químico após 7, 15 e 30 dias.

O pH foi determinado utilizando um pHmetro da marca GEAKHA calibrado com soluções tampões de pH 4,0 e 7,0.

A acidez total titulável, através da titulação da amostra com NaOH e o resultado foi dado em g ácido láctico/mL de leite, e utilizando fenolftaleína como indicador de viragem.

Para o controle de células viáveis foram retiradas alíquotas de 10 mL da amostra do iogurte colhidas em 90 mL de água peptonada a 0,1% (diluição 10⁻¹), homogeneizadas e diluições sucessivas (10⁻² a 10⁻⁹) foram efetuadas em 9 mL de água peptonada.

Para verificação da atividade das bactérias lácticas foram semeados 1 mL de cada uma das diluições 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸, 10⁻⁹ em placas pelo método pour plate em meio de cultura Agar MRS (pH 6,9); para *Lactobacillus bulgaricus*, M17 (pH 6,9); para *S. thermophilus*; e Agar PCA para contagem de microrganismos psicrófilos nos períodos de sete, quinze e trinta dias. Incubou-se a 42°C/48h para contagem de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* e 5°C/7 dias para contagem de psicrófilos.

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, 1995), seguindo a metodologia do fabricante.

4. Resultados

Notou-se que nas bebidas lácteas em que se empregou cultura tradicional obteve-se pH menor entre 4,0 e 4,7 aproximadamente e, portanto maior acidez. As bebidas lácteas contendo culturas probióticas obteve-se pH mais elevado, variando entre 4,5 e 5,0; conseqüentemente menor acidez variando. Thamer e Penna (2005), apontaram que as culturas probióticas caracterizam-se pela baixa capacidade de acidificação durante a estocagem e possuem a vantagem de produzir acidificação reduzida durante armazenagem pós-processamento podendo melhorar o sabor do produto final, dados esses observados quando do emprego da cultura B.

A concentração de soro não influenciou significativamente durante o período de armazenamento nos valores de pH das amostras, tal fenômeno pode ser comprovado nas figuras 1 e 2. No caso das formulações empregando cultura tradicional, a maior queda de pH e portanto aumento de acidez titulável ocorreu no período entre 0 e 7 dias, porém no caso dos iogurtes em que empregou-se cultura probiótica esse fenômeno manteve-se mais estável.

Nos iogurtes com cultura tradicional, pôde-se observar que o ápice do crescimento microbiano ocorreu no intervalo de 0 a 15 dias. Para os iogurtes com cultura probiótica, as bactérias lácteas presentes nas formulações contendo 10 e 40% soro (Tratamentos 2 e 5), diminuíram seu ritmo de crescimento no período entre 7 e 15 dias, já nas formulações empregando 20 e 30% soro esse ritmo aumentou nos mesmo período.

O crescimento de *S. thermophilus* foi maior no período inicial de armazenamento, isso deve-se ao fato que o pH inicial das amostras favorece seu desenvolvimento, porém com o aumento da acidificação, a produção de ácido láctico a partir da lactose, favorece o desenvolvimento do *L. bulgaricus*. (RODAS, 2001)

Os coliformes totais em todas as fermentações realizadas não se desenvolveram no período de 0 a 30 dias, assim como os microrganismos psicrófilos. O fato de não haver contagem de microrganismos psicrófilos e células viáveis de coliformes é um indicativo de práticas sanitárias satisfatórias.

5. Considerações Finais

Durante o período e armazenamento houve aumento da acidez com a diminuição do pH. Porém esse fenômeno manteve-se mais estável na formulação de iogurte empregando cultura probiótica.

A quantidade de *Streptococcus thermophilus* e *L. bulgaricus* manteve-se próxima em todas formulações de iogurte. O crescimento de *S. thermophilus* foi mais acentuado no período de 0 a 5 dias e de *L. bulgaricus* no período de 15 dias, mantendo-se estável após esse tempo.

Não houve contagem de coliformes em nenhuma das formulações, indicando práticas sanitárias satisfatórias.

Não houve contagem de microrganismos psicrotófilos, pois além das práticas sanitárias satisfatórias, o iogurte é um produto ácido, o qual passa por pasteurização inicial, processo em que as bactérias não resistem.

O soro de leite proporciona aumento da acidez titulável, portanto menor tempo de fermentação e maior vida de prateleira.

Referências Bibliográficas

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC, Official Methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Ed. Washington, D.C., 1995.

· AKALIN, A. S.; FENDERYA, S.; AKBULUT, N. Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. International Journal of Food Science and Technology, v. 39, p. 613-621, 2004.

- ANTUNES, A.E.C. Influência do concentrado protéico do soro de leite e de culturas probióticas nas propriedades de iogurtes naturais desnatados. 2004. 219 f. Tese (doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Departamento de Alimentos e Nutrição, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.
- BALDI, N. Laticínios deverão investir mais de R\$ 200 milhões na ampliação e construção de novas unidades. Disponível em: . Acesso em: 30/08/2005.
- BARON, M.; ROY, D., VUILLEMARD, J. Biochemical characteristics of fermented milk produced by mixed-cultures of lactic starters and bifidobacteria. *Lait*. v. 80, p. 465–478, 2000.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. Planejamento e otimização de experimentos. Editora da Unicamp, Campinas, São Paulo, 1995, 299 p.
- BEAL, C.; SKOKANOVA, J.; LATRILLE, E.; MARTIN, N.; CORRIEU, G. Combined effects of culture conditions and storage time on acidification and viscosity of stirred yogurt. *Journal of Dairy Science*. v. 82, n. 4, p. 673-681, 1999.
- BEHMER, M. L. A. Tecnologia do leite. Editora Nobel, 13ª edição revisada e atualizada, São Paulo, 2ª edição, 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico de Identidade E Qualidade de Bebidas Lácteas. Instrução Normativa nº16, de 23 de agosto de 2005. Publicada em 24 de agosto de 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Padrões de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Resolução nº5, de 13 de novembro de 2000. Publicada no Diário Oficial da União de 27 de novembro de 2000, Anexo, 2000b.
- CACHON, R.; JEANSON, S.; ALDARF, M.; DIVIES, C. Characterisation of lactic starters based on acidification and reduction activities. *Lait*. v. 82, p. 281-288, 2002.
- CAIS-SOKOLICKA, D.; MICHALSKI, M. M.; PIKUL, J. Role Of The Proportion Of Yoghurt Bacterial Strains In Milk Souring And The Formation Of Curd Qualitative Characteristics. *Bull Vet Inst Pulawy*. v. 48, p. 437-441, 2004.
- CASTRO, I. A.; TIRAPEGUI, J.; SILVA, R. S. S. F.; CUTRIM, A. J. S. Sensory evaluation of a milk formulation supplemented with n3 polyunsaturated fatty acids and soluble fibres. *Food Chemistry*. v. 85, n. 4, p. 503-512, 2004.
- CHANTARAT, N. Modern design of experiments methods for screening and experimentations with mixture and qualitative variables. Tese (Doutorado em Filosofia). The Ohio State University, Ohio – Estados Unidos. 133 f., 2003.
- CHANTARAT, N.; ZHENG, N.; ALLEN, T. T.; HUANG, D. Optimal experimental design for systems involving both quantitative and qualitative factors. In: *Proceedings of the 2003 Winter Simulation Conference*. Editores: S. Chick, P. J. Sanches, D. Ferrin e D. J. Morrice, 2003.
- FOODPRODUCTIONDAILY.com, adaptado por Equipe MilkPoint. Produtos lácteos continuam direcionando mercado de alimentos funcionais. Disponível em: . Acesso em: 30/08/2005.
- FRÖHLICH-WYDER, M.; BACHMANN, H., CASEY, M. G. Interaction between propionibacteria and starter/non-starter lactic acid bacteria in Swiss-type cheeses. *Lait*. v. 82, p. 1-15, 2002.

- GAZETA MERCANTIL. Balanço Anual 1999. nº 23, São Paulo/SP, 1999.
- GONZÁLEZ, H. G., FRASSINO, T. P., ARIAS, R. T., MARTINEZ, O. R. Lactobacilos probióticos en leche fermentada. *Alimentaria*. v. 359, p. 49-51, Dez. 2004.
- LACROIX, C.; LACHANCE, O. Effect of various humectants and Aw on proteolysis, yeast and mold growth and shelf-life during cold storage of yogurt. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*. v. 23, n. 2/3, p. 101-108, 1990.
- LIMA, S. C. G. de. Efeito da adição de concentrado protéico de soro e leite em pó desnatado na fabricação de iogurte firme. 2001. 74f. Tese (mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.
- LUCEY, J. A.; LEE, W. J. Structure and physical properties of yogurt gels: effect of inoculation rate and incubation temperature. *Journal of Dairy Science*. v. 87, n. 10, p. 3153-3164, 2004.
- LUCEY, J. A.; TAMEHANA, M.; SINGH, H.; MUNRO, P. A. Stability of model acid milk beverage: effect of pectin concentration, storage temperature and milk heat treatment. *Journal of Texture Studies*. v. 30, n. 3, p. 305-318, 1999.
- MASUD, T.; SULTANA, K. Optimum growth patterns of wild strains of *S. thermophilus* and *L. bulgaricus* for suitable selection for yoghurt. *OnLine Journal of Biological Sciences*. v. 2, n. 6, p. 374-377, 2002.
- PENNA, A. L. B.; BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. Optimization of yogurt production using demineralized whey. *Journal of Food Science*. v. 62, n. 4, p. 846-850, 1997.
- PEREIRA, M. A. G. Efeito do teor de lactose e do tipo de cultura na acidificação e pós-acidificação de iogurtes. 2002. 86f. Tese (mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.
- PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. Optimization of protein precipitation in acid whey obtained from small ruminant's milk. *Journal of Food Process Engineering*. v. 19, n. 4, p. 457-467, 1996.
- RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos: Uma estratégia seqüencial de planejamentos. 2005. Campinas, SP: editora Casa do Pão. 326p. 1ª edição.
- SEJONG, O.; SUNGSUE, R.; JAEHUN, S.; SANGKYO, K.; YOUNGJIN, B. Optimizing conditions for the growth of *Lactobacillus casei* YIT 9018 in tryptone-yeast extract-glucose medium by using response surface methodology. *Applied and Environmental Microbiology*. v. 61, n. 11, p. 3089-3814, Nov., 1995.
- TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. *Logur Ciencia y Tecnologia*. Editorial Acribia S.A., Zaragoza (Espanha), 368 p., 1991.
- VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. *Milk and milk products: technology, chemistry and microbiology*. Ed. Chapman & Hall, Londres (Inglaterra), 451 p., 1994.
- VEISSEYRE, R. *lactologia técnica: composición, recogida, tratamiento y transformación de la leche*. Ed. Acribia S.A., Zaragoza (Espanha), 629 p., 1988.

Anexos

Tratamento

1

2

3

4

5

6

Tratamento

0

1

4,67

2

4,57

3

4,53

4

4,73

5

4,78

6

4,80

7

4,76

8

4,75



24

23

22

21

20

19

18

17

16