



## 5º Congresso de Pesquisa

# PREPARAÇÃO DE BEBIDAS LÁCTEAS EMPREGANDO FERMENTAÇÃO CONTINUA E DESCONTINUA, UTILIZANDO COMO SUBSTRATO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SORO E QUEIJO E OTIMIZAÇÃO DOS DADOS DE FERMENTAÇÃO

### Autor(es)

---

TAIS HELENA MARTINS LACERDA

### Co-Autor(es)

---

MARINA SATIE KOBAYASI  
VALMIR EDUARDO ALCARDE

### Apoio Financeiro

---

FAP/UNIMEP

## 1. Introdução

---

A preocupação com relação à alimentação vem mudando nas últimas décadas. A nutrição continua desempenhando seu papel de fornecimento de nutrientes, mas o conceito de alimentos funcionais faz com que essa ciência se associe à medicina e ganhe dimensão extra no século XXI (SALGADO, 2001).

Um aumento do número de alimentos a base de leite e que carregam uma variedade de apelos voltados à saúde aparecem no mundo, tendo alguns deles propriedades terapêuticas, isto é, atividade antimicrobiana sobre a flora intestinal, atividade hipocolesterêmica e anticarcinogênica, aumento da digestibilidade e manutenção do balanço gastrointestinal (MADUREIRA, et al., 2005).

Para Ostlie, et al (2004) a tendência mundial observada nos últimos vinte anos, é o crescimento da utilização de culturas lácticas (produtoras de ácido láctico) na área alimentícia e produtos farmacêuticos e que segundo Dave e Shah (1997) vários benefícios à saúde tem sido associado ao consumo de produtos fermentados a base de leite, seja pelo uso da microflora tradicional do iogurte (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*) ou pela adição de organismos probióticos (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobactérias*).

Durante a fermentação, as bactérias do iogurte, *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*, crescem simbioticamente, produzindo ácido láctico e compostos aromáticos, além de formar coágulo, sendo a temperatura ideal para o desenvolvimento da cultura láctica 42°C (NEIROTTI et al., 1988). A proporção entre cocos e bastonetes na cultura mista a ser empregada tem sido motivo de inúmeras pesquisas havendo uma certa tendência para se aceitar, como a melhor, a relação 1:1. Uma vez adicionada à cultura no leite, o pH ao redor de 6,5 favorece o crescimento inicial do *Streptococcus* (AQUARONE, et al. 1983).

Os iogurtes e leites fermentados têm sido usados como um popular veículo para incorporação de organismos probióticos. A indicação mínima do número de bactérias probióticas até o tempo de consumo dos produtos é de  $10^5$  a  $10^6$ /g (OSTLIE, et al, 2005).

Pode-se observar ainda que os produtos probióticos tornaram-se popular e o consumo destes cresceu muito nos países Europeus, Estados Unidos e Ásia. Probióticos são definidos como microrganismos viáveis, que quando aplicados a humanos ou animais, afetam benéficamente a saúde do hospedeiro por promover balanço da microbiota intestinal, sendo *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* as espécies mais utilizadas em probióticos (Fuchs, et al., 2005), embora teoricamente, podem ser responsáveis por alguns efeitos colaterais como estimulação imunológica excessiva e infecções sistêmicas.

## 2. Objetivos

---

- Verificar a influencia da concentração de soro de queijo utilizado nas formulações das bebidas lácteas fermentadas,
- Avaliar o comportamento das culturas nestas concentrações,
- Definir as condições de operações para sua produzir bebidas lácticas, e
- Avaliar a vida útil das bebidas lácteas.

## 3. Desenvolvimento

---

Foram empregados os substratos: soro de queijo doce em pó e leite desnatado em pó reconstituídos e leite pasteurizado. Dois tipos de inóculos foram utilizados partindo-se de culturas comerciais liofilizadas de misturas de microrganismos: *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* (cultura tradicional), e *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterias*. A fermentação foi realizada em um fermentador com capacidade de 2L.

Houve a necessidade de alguns substratos lácteos serem reconstituídos com água potável, posteriormente passaram por processo de aquecimento em banho-maria (90°C/ 15 min) e resfriamento. Os substratos e o inóculo foram adicionados no fermentador e a temperatura mantida à 42°C. A partir deste tempo (t = 0) deu início a fermentação e retirado amostras de 30 em 30 minutos, para que fosse monitorado o pH, a formação de ácido e o crescimento microbiológico (meio MRS) (AOAC, 1995; VANDERZANT, T.; SPLITTSTOESSER, 1992).

Quando o pH das bebidas aproximou-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, com base nos estudos de Sinclair e Cantero sobre Modelagem em Fermentação, verificando-se o desenvolvimento da acidez (g/L), velocidades instantâneas de produção de ácido láctico (g/L.h), e velocidade específica de crescimento celular (h<sup>-1</sup>).

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).

A velocidade instantânea de produção de ácido láctico (Eq.1) e de crescimento microbiano (Eq.2) foram efetuados com base no estudo de SINCLAIR e CANTERO sobre Modelagem em Fermentação (BROWN, 2001).

$$dP/dt = [(\ln P3 - \ln P1) / (t3 - t1)] \times P2 \text{ (Eq. 1)}$$

Onde:

P = concentração de ácido láctico (g/L); P1 = concentração de ácido láctico no tempo t1; P2 = concentração de ácido láctico no tempo t2; P3 = concentração de ácido láctico no tempo t3; e t = tempo de fermentação

$$dX/dt = [(\ln X3 - \ln X1) / (t3 - t1)] \times X2 \text{ (Eq. 2)}$$

Onde:

X2 = concentração de microrganismos no tempo t2; X3 = concentração de microrganismos no tempo t3; e t = tempo de fermentação

## 4. Resultados

---

Nos tratamentos que se utilizou a cultura láctica tradicional, pode-se verificar pelos resultados do acompanhamento do pH que o tratamento 1 foi o que mais tempo necessitou para atingir o valor próximo de 4,6, tratamento onde não adicionou nenhum tipo de sólidos não gordurosos para a reconstituição do leite (5 h). Resultados similares foram observados quando do emprego de cultura láctica contendo organismos probióticos (tratamento 6). Os demais tratamentos atingiram o pH em cerca de 4 h.

Independente da cultura empregada, observou-se no final das fermentações, que os tratamentos 1, 2, 6 e 7 foram os que obtiveram maior acidez nos tratamentos, valores estes superiores aos estabelecidos pelo Regulamento de Identidade do Produto (80° a 90°D). Os demais tratamentos não ultrapassaram o valor estabelecido pela legislação.

Através das velocidades instantâneas de produção de ácido láctico expressa em g/L/h (dP/dt) nos tratamentos que utilizaram a cultura tradicional, verificou-se que a produção máxima no tratamento 1 ocorreu após 4h de fermentação e observando valor de 5,84 g/L/h; para o tratamento 2 observou-se valor de 4,41 g/L/h depois de 3h e nos demais tratamentos a máxima produção ocorreu mais rapidamente sendo no tempo de 2h30, observando valores de 3,87; 3,86; e 3,91 g/L/h para os tratamentos 3, 4 e 5 respectivamente.

Utilizando-se cultura contendo organismos probióticos, a produção máxima no tratamento 6 ocorreu no tempo de 1h30 e observando-se o valor de 3,48 g/L/h; para o tratamento 7 observou-se o valor de 3,69 g/L/h depois de 1h30; e para os tratamento 8, 9 e 10 valores de 2,85; 2,72; e 2,71 respectivamente, após 2h (Figura 1).

A contagem de bactérias lácticas empregando cultura tradicional atingiu sua máxima formação após 5 horas de fermentação no tratamento 1 e nos demais tratamentos o tempo foi de 4 horas, os mesmos tempos foram observados com o crescimento de *Streptococcus*.

Empregando cultura contendo organismos probióticos, a contagem de bactérias lácticas atingiu sua máxima produção após 4h nos tratamentos 6, 7, 9 e 10; no tratamento 8 a máxima produção foi atingida em 3h . Observou-se que o tempo para obter a contagem máxima de *Streptococcus* foi de 4 horas para todos os tratamentos.

Em todos os tratamentos, verificou-se a queda do pH durante o armazenamento refrigerado e um aumento na acidez, fenômeno conhecido com pós acidificação (Tab. 1 e 2). Porém pode-se verificar que os tratamentos utilizando cultura com organismos probióticos houve menor produção de ácido em relação aos tratamentos utilizando cultura tradicional, em função dessas culturas serem caracterizadas pela baixa capacidade de acidificação durante a estocagem.

## 5. Considerações Finais

---

Pode-se verificar que houve necessidade de um maior tempo de fermentação para que os tratamentos 1 e 6 atingisse o pH de 4,6 (tratamentos que não ocorreram a correção dos sólidos não gordurosos).

As bebidas 1, 2, 6 e 7 ultrapassaram os valores de acidez estabelecidos pelo Regulamento técnico e Identidade atingindo valores superiores a 90°D.

Nos tratamentos empregando cultura tradicional, a máxima velocidade de produção de ácido láctico (g/L/h) para o Trat. 1 ocorreu após 4h (5,83 g/L/h), enquanto que para o Trat. 2 o valor foi de 4,41 g/L/h em 3h, e para os demais tratamento a máxima velocidade de formação de ácido foi atingida em 2h30 horas e com valores de 3,86; 3,86; e 3,9 (trat. 3, 4, e 5 respectivamente).

Com o emprego de cultura contendo organismos probióticos, a máxima velocidade de produção de ácido (g/L/h) para os Trat. 6 e 7 ocorreu após 1h30h e observando valor de 3,48; e 3,69 g/L/h , para os demais tratamentos, 8, 9, e 10 a máxima velocidade ocorreu após 2 h e obtendo os valores de 2,85; 2,72; e 2,71 g/L/h respectivamente.

Os resultados encontrados apontaram para a influência positiva do aumento da concentração de soro no crescimento de células de cultura probiótica, enquanto que isto não aconteceu com a cultura mista tradicional.

## Referências Bibliográficas

---

AQUARONE, E. *et al.* **Alimentos e bebidas produzidas por fermentação**. Editora Edgard Blücher, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1983, 243 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official Methods of Analysis*. 15<sup>a</sup> ed. Washington, D.C.: AOAC, 1995.

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.

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.

DAVE, R.I. e SHAH, N.P. Viability of yogurt and probiotic bacteria in yogurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, **7**: 31-41, 1997.

MADUREIRA, A.R.; PERIERA, C.I.; TRUSZKOWAKA, K.; GOMES, A.M.; PINTADO, M.E., MALCATA, A.M. Survival of probiotic bacteria in a whey cheese vector submitted to environmental conditions prevailing in the gastrointestinal tract. *International Dairy Journal*, **15**: 921-27, 2005.

NEIROTTI, E. OLIVEIRA, M.N.; BARUFFALDI, R. Produção de iogurte pelo emprego de culturas lácticas mistas. *Boletim da Sociedade de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. **(22) 1/2**: 1-16, 1988.

OSTLIE, H.M.; TREIMO, J.; NARVHUS, J.A. Effect of temperature on growth and metabolism of probiotic bacteria in milk. *International Dairy Journal*: **15**: 988 –97, 2005.

VANDERZANT, T. & SPLITTSTOESSER, E.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3<sup>a</sup> ed., Washington American Public Health Association (APHA), 1992. 1919 p.

## Anexos

**Tabela 1.** Valores de pH e acidez (g ácido láctico/ L), nos tratamentos utilizando cultura tradicional (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*)

Tratamento	pH	pH	pH	pH	Acidez	Acidez	Acidez	Acidez
	0 dia	7 dias	15 dias	30 dias	0 dia	7 dias	15 dias	30 dias
1	4,67	4,17	4,03	4,01	12,0	15,1	16,1	17,1
2	4,57	4,15	4,15	4,12	11,0	19,1	19,7	22,1
3	4,53	3,93	3,90	3,90	10,0	20,6	21,3	21,1
4	4,73	3,96	3,96	3,92	9,8	16,0	17,1	18,1
5	4,78	3,99	3,95	3,91	10,2	15,0	17,3	21,1

**Tabela 2.** Valores de pH e acidez empregando cultura contendo organismos probióticos (*S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterias*)

Tratamento	pH 0 dia	pH 7 dias	pH 15 dias	pH 30 dias	Acidez 0 dia	Acidez 7 dias	Acidez 15 dias	Acidez 30 dias
6	4,80	4,66	4,66	4,53	10,0	10,7	10,82	10,9
7	4,76	4,61	4,55	4,52	10,5	10,8	11,0	11,1
8	4,75	4,59	4,54	4,42	8,8	9,9	10,4	12,0
9	4,78	4,62	4,50	4,43	8,9	9,9	10,8	10,9
10	4,78	4,67	4,56	4,47	7,4	7,9	8,3	8,4

