

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE LEITE ACIDÓFILO SABOR MANGA.

Renata Amaral Ferreira

Marcela Amaral Ferreira

Aurélia Dornelas de Oliveira Martins

Érika Gomes Sarmiento

Wellington Cristina Almeida do Nascimento Benevenuto ✉

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campus Rio Pomba – MG.

✉ wellingtona.benevenuto@ifsudestemg.edu.br

RESUMO

Este estudo teve como objetivo desenvolver e caracterizar leite acidófilo fermentado e não fermentado sabor manga. No preparo do leite acidófilo foi adicionado *L. acidophilus* e polpa de manga. O produto foi armazenado a 6°C, para avaliação das características microbiológicas e físico-químicas nos tempos 0, 15 e 30 dias de produção. Foram feitas análises de coliformes a 30°C e 45°C, contagem de fungos filamentosos e leveduras, e contagem de bactérias lácticas. Os leites acidófilos sabor manga obtiveram uma curta vida de prateleira, entretanto, a contagem de bactérias lácticas foi superior a 10^8 UFC/g durante todo o período de armazenamento de 30 dias a 4°C.

Palavras-chave: Fermentação. Bactérias lácticas. *L. acidophilus*. Inovação.

ABSTRACT

This study aimed to develop and characterize fermented acidophilus milk and unfermented with mango flavor. In the preparation of

acidophilic milk L. acidophilus and mango pulp were added. The product was stored at 6°C for evaluation of the microbiological and physico-chemical characteristics at 0, 15 and 30 days of production. Analyzes were performed coliform at 30°C and 45°C, filamentous fungi and yeasts and lactic acid bacteria counts. The acidophilus mango flavor milk obtained a short shelf life. However, the lactic acid bacteria count was higher than 10^8 CFU/g during storage period of 30 days at 4°C.

Keywords: Fermentation. Lactic acid bacteria. *L. acidophilus*. Innovation.

INTRODUÇÃO

Com o aumento da expectativa de vida da população, aliado ao crescimento exponencial dos custos médico-hospitalares, a sociedade necessita vencer desafios com o desenvolvimento de novos conhecimentos científicos e de novas tecnologias que resultem em modificações importantes no estilo de vida das pessoas, como a inclusão nas dietas, de nutrientes capazes de assegurar a

saúde, reduzir o risco de doenças e apresentar efeito terapêutico frente determinados processos. Os alimentos com tais características são denominados funcionais e dentre eles podem-se destacar os probióticos (KUNIGK, 2009).

Alimentos probióticos possuem micro-organismos que desempenham efeitos benéficos no organismo quando administrados em quantidades adequadas. O mercado global de alimentos probióticos vem crescendo nos últimos anos impulsionado pela preocupação dos consumidores por alimentos saudáveis promotores de bem-estar (ESPITIA et al., 2016).

O leite acidófilo ou acidofilado é um leite fermentado produzido mediante a inoculação, exclusivamente, de cultivos de *Lactobacillus acidophilus* em leite, sendo sua principal função a produção de ácido láctico (BRASIL, 2007). O processo de fabricação do leite acidófilo é semelhante ao do iogurte, sendo que o leite pasteurizado é inoculado de uma cultura starter (no caso só com cultivos de *L. acidophilus*) até atingir acidez máxima de 2%, seguido de resfriamento, quebra do coágulo e

envase. Sua forma de conservação é a 4°C (REIS, 2013).

A polpa de manga tem grande importância como matéria-prima em indústrias de conservas de frutas, que podem produzi-las durante as épocas de safra, armazená-las e reproprocessá-las em períodos mais propícios. Ao mesmo tempo também são comercializadas para outras indústrias que utilizam a polpa de fruta como parte da formulação de iogurtes, doces, biscoitos, bolos, sorvetes, refrescos e alimentos infantis (BENEVIDES et al., 2008).

A combinação de manga com leite não traz malefícios. Confere altas doses de vitaminas, além de muitos sais minerais que fazem bem ao organismo, como fósforo, ferro, cálcio, lipídios e proteína.

Este estudo teve como objetivo desenvolver e caracterizar leite acidófilo fermentado e não fermentado sabor manga, avaliando suas características microbiológicas quanto à contagem de fungos filamentosos e leveduras, coliformes totais e termotolerantes e bactérias lácticas além de suas características físico-químicas.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, Campus Rio Pomba.

A elaboração dos produtos foi realizada em três repetições e as análises microbiológicas e físico-químicas em duplicata.

A cultura probiótica de *L. acidophilus* foi ativada por três vezes e repicada utilizando-se leite em pó desnatado reconstituído a 12% previamente esterilizado.

Para o preparo do leite acidófilo fermentado e não fermentado, 4 litros de leite fresco desnatado com acidez inferior a 0,18% de ácido

lático foi acrescido de 4% de sacarose e tratado termicamente a 121°C por 15 minutos. Posteriormente, o leite foi resfriado a 38°C e dividido igualmente em dois recipientes.

Para o leite acidófilo fermentado, cerca de 1% de *L. acidophilus* previamente preparado foi adicionado em 2 litros de leite. Após a adição da cultura a mistura foi incubada a 38°C por 18 a 24 horas, de forma a obter acidez de 0,65% de ácido láctico. Logo após o produto foi resfriado a temperatura ambiente, a massa foi quebrada manualmente por aproximadamente 3 minutos, sendo adicionada de 3% de polpa de manga. O produto foi armazenado em recipientes de polipropileno e mantido a 6°C para avaliação das características microbiológicas e físico-químicas nos tempos 0, 15 e 30 dias de produção.

Para o leite acidófilo não fermentado, cerca de 2% de *L. acidophilus* previamente preparado foi adicionado em 2 litros de leite. Após a adição da cultura a mistura foi acrescida de 3% de polpa de manga. O produto foi armazenado em recipientes de polipropileno e mantido a 6°C, para avaliação das características microbiológicas e físico-químicas nos tempos 0, 15 e 30 dias de produção.

Para verificar se os produtos atendem ao estabelecido na Instrução Normativa nº46 (BRASIL, 2007) foi determinado o número mais provável (NMP/g) de coliformes a 30°C e termotolerantes e a contagem de fungos filamentosos e leveduras por grama do produto (BRASIL, 2003). A viabilidade da cultura láctica foi determinada utilizando-se meio de cultura Man Rogosa Sharpe (MRS), sendo as placas incubadas a 38°C por 48 a 72 horas.

Para caracterização físico-química das amostras, foram realizadas análises de pH, acidez, gordura e proteína de acordo com o estabelecido na Instrução Normativa nº68 (BRASIL, 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação das características microbiológicas dos leites acidófilos

Os resultados das análises microbiológicas de coliformes totais, termotolerantes e fungos filamentosos e leveduras das amostras de leite acidófilo fermentado e não fermentado encontram-se na Tabelas 1, onde observa-se que os leites acidófilos, tanto fermentado quanto não fermentado, apresentaram bons resultados em relação às análises microbiológicas, indicando que foram produzidos seguindo-se as boas práticas de fabricação.

Antunes et al. (2007) elaboraram leite fermentado probiótico e constataram que todas as amostras apresentaram valores de coliformes totais e termotolerantes inferiores a 3 NMP/mL e a contagem de fungos filamentosos e leveduras foi inferior a 10 UFC/mL, valores estes próximos aos encontrados neste estudo.

Em estudo realizado por Chaves et al. (2014), em leite fermentado probiótico concentrado sabor maçã, foi observado aumento da contagem de fungos filamentosos e leveduras no produto, sendo o que determinou a sua vida de prateleira. O produto atingiu a contagem de 2×10^2 UFC/g, que é o máximo permitido pela legislação vigente e acima deste valor encontra-se impróprio para o consumo. Esta contaminação por fungos filamentosos e leveduras provavelmente é devido à adição do preparado de maçã sem conservantes químicos ou à etapa de concentração do leite fermentado com auxílio de um desadorador.

Em relação à determinação de bactérias lácticas, Tabela 2, observa-se que os leites acidófilos apresentaram contagem superior a 10^8 UFC/g, podendo ser considerados probióticos, de acordo com o preconizado pela Agência Nacional de Vigilância

Tabela 1 - Avaliação de coliformes totais, termotolerantes e fungos filamentosos e leveduras das amostras de leite acidófilo fermentado e não fermentado sabor manga nos diferentes tempos de armazenamento a 6°C. Resultados médios de três repetições.

Micro-organismos	Tempo (dias)					
	0		15		30	
	Fermentado	Não fermentado	Fermentado	Não fermentado	Fermentado	Não fermentado
Coliformes totais (NMP/mL)	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0
Coliformes termotolerantes (NMP/mL)	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0	< 3,0
Fungos filamentosos e leveduras (UFC/mL)	$2,9 \times 10^0$	$3,7 \times 10^0$	$3,9 \times 10^0$	$4,9 \times 10^0$	$8,0 \times 10^0$	$7,8 \times 10^0$

Tabela 2 - Viabilidade de *L. acidophilus* no leite acidófilo fermentado e não fermentado (UFC/mL). Resultados médios de três repetições.

Produto	Tempo (dias)		
	0	15	30
Leite acidófilo fermentado	$8,95 \times 10^8$	$7,99 \times 10^8$	$5,50 \times 10^8$
Leite acidófilo não fermentado	$2,67 \times 10^8$	$2,49 \times 10^8$	$2,33 \times 10^8$

Sanitária (ANVISA, 2002).

Santos (2012), estudando leite fermentado probiótico desnatado adicionado de jenipapo, adicionado de cultura mista de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium*, encontrou valores de $3,2 \times 10^8$ UFC/mL de bactéria láctica no período de 21 dias de armazenamento e próximo aos 30 dias esse valor caiu para 10^7 UFC/mL. Já Cunha (2008) avaliou leite fermentado contendo *L. acidophilus* e encontrou valores maiores que 10^6 UFC/mL de bactéria láctica.

Segundo um estudo realizado por Brandão (2011) em bebida fermentada saborizada com polpa e salada de fruta, a partir de soro lácteo e inulina utilizando *L. acidophilus* foi encontrado contagens maiores que 7 log UFC/mL em todos os tratamentos, valor este mantido até o final de 28 dias de estocagem a 6°C, atendendo assim a legislação vigente para bebidas lácticas.

Análises físico-químicas das diferentes amostras de leite acidófilo

Os resultados das análises físico-químicas de acidez, pH, gordura e proteína das amostras de leite

acidófilo fermentado e não fermentado encontram-se na Tabela 3.

As amostras nos tempos 0 e 15 dias de fabricação apresentaram acidez titulável abaixo do estabelecido pelo Padrão de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados que estabelece valores entre 0,6 a 2,0g de ácido láctico/100g. Somente após 30 dias de fabricação que foi atendido esse padrão. Nos diferentes tempos foi observado diferença ($p < 0,05$) entre as amostras.

Em um estudo realizado por Chaves et al. (2014), com leite fermentado concentrado probiótico sabor maçã, foi verificado que a acidez das formulações variaram de 1,3% a 1,5%, atendendo ao estabelecido pela legislação, que prevê que a acidez fique na faixa de 0,6% a 2,0%.

A partir dos resultados encontrados na Tabela 3, verifica-se uma redução do pH ao longo dos dias de armazenamento dos leites acidófilos, provavelmente devido à ação do micro-organismo no leite.

De acordo com o estudo realizado por Kempka et al. (2008), durante o período de estocagem da bebida láctea fermentada sabor pêssego, os valores pH apresentaram diminuição

consideráveis, 4,93 a 4,32 no 19º dia de armazenamento. A elevada acidez e o baixo pH, possivelmente estão relacionados à ação do *L. acidophilus*, micro-organismo conhecido pela grande capacidade de produção de ácido por fermentação. Devido à sua característica de alta acidez, os produtos acidófilos são apreciados por um grupo restrito de consumidores.

Em estudo realizado por Santos (2012) em leite fermentado probiótico desnatado adicionado de jenipapo, foram encontrados valores de pH de 4,41, adequados para este tipo de derivado lácteo. Valores baixos de pH e alta acidez promove sinerese no produto e rejeição dos consumidores devido ao forte sabor ácido, além de prejudicar a manutenção da microbiota natural do produto.

Em relação ao teor de gordura, de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, os leites fermentados são classificados em: com creme, integral, semidesnatado e desnatado, onde os teores de gordura deverão ser de no mínimo 6%, entre 5,9 e 3,0%, entre 2,9 e 0,6% e no máximo 0,5%, respectivamente (BRASIL, 2007). Portanto, os leites acidófilos, tanto o fermentado

Tabela 3 – Resultados médios das análises físico-químicas das amostras de leite acidófilo fermentado e não fermentado sabor manga nos diferentes tempos. Média de três repetições.

Leite acidófilo fermentado			
Análises	Tempo (dias)		
	0	15	30
Acidez (% de ác. láctico)*	0,34± 0,005 ^a	0,45±0,005 ^b	1,04±0,01 ^c
pH	5,52±0,01 ^c	4,91±0,02 ^b	4,22±0,02 ^a
Gordura (%)**	0,27±0,005 ^a	0,27±0,005 ^a	0,27±0,005 ^a
Proteína (%)	3,05±0,03 ^a	3,14±0,02 ^a	3,10±0,05 ^a
Leite acidófilo não fermentado			
Análises	Tempo (dias)		
	0	15	30
Acidez (% de ác. láctico)*	0,25±0,005 ^a	0,28±0,005 ^b	1,01±0,001 ^c
pH	6,32±0,001 ^c	5,83±0,003 ^b	4,29±0,001 ^a
Gordura (%)**	0,27±0,005 ^a	0,27±0,00 ^a	0,27±0,005 ^a
Proteína (%)***	3,16±0,01 ^a	3,23±0,03 ^b	3,17±0,02 ^a

Letras iguais na mesma linha indica que não há diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Legenda: * 0,6 a 2,0g de ácido láctico/100g, ** máx.: 0,5%, *** mín 2,9 %.

quanto o não fermentado, sabor manga, podem ser considerados como desnatados por terem obtido valores de no máximo 0,3% de gordura. Não houve diferença significativa nos valores de gordura das amostras com o passar do tempo, indicando que o *L. acidophilus* não é lipolítico.

Um estudo realizado por Chaves et al. (2014), em leite fermentado concentrado probiótico sabor maçã, apresentou teor de gordura das diferentes formulações entre 0,16% e 0,33%, podendo assim serem classificadas como desnatados.

De acordo com a Tabela 3 verifica-se que os leites acidófilos elaborados apresentaram porcentagem de proteína maior que 3%, estando assim dentro dos limites preconizados pela legislação vigente, considerando que a resolução nº5 de 2000 - MAPA (BRASIL, 2000), estabelece mínimo de 2,9g/100g.

Em estudo realizado por Santos (2012) em leite fermentado probiótico desnatado adicionado de jenipapo, foi encontrado valores protéicos de 4,11±0,23, semelhantes aos reportados por Cunha et al. (2005) que avaliaram

iogurte natural com leite de búfala e encontraram valores de 4,17 a 4,74% de proteínas. Chaves et al. (2014), ao avaliarem leite fermentado concentrado probiótico sabor maçã, verificaram que o teor de proteína das diferentes formulações variou de 5,4% a 6,2%.

CONCLUSÃO

Os leites acidófilos não obtiveram vida de prateleira longa, pois *L. acidophilus* produziram muito ácido a partir do 30º dia de produção, indicando que estes produtos devem ser consumidos rapidamente. Pode-se observar também que os leites acidófilos apresentaram contagem de bactérias lácticas superiores a 10⁸ UFC/g, sendo considerados probióticos e viabilizando a combinação manga com leite.

REFERÊNCIAS

ANTUNES, AEC; MARASCA, ETG; MORENO, I; DOURADO, FM; RODRIGUES, LG; LERAYER, ALS. Desenvolvimento

de buttermilk probiótico. **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas, v.27, n.1, p.83-90, 2007.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 2, de 07 de setembro de 2002. Aprova regulamento técnico de substâncias bioativas e Probióticos Isolados com alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, constante do anexo desta resolução. **DO** da República Federativa do Brasil, Brasília, 17 de janeiro. 2002. Seção 1, p 191.

BENEVIDES, SD; RAMOS, AM; STRINGHETA, PC; CASTRO, VC. Qualidade da manga e polpa da manga Ubá. **Ciênc Tecnol Aliment**, v.28, n.3, p.571-578, 2008.

BRANDÃO, WAPLNTM; MENDONSA, SNTG; BENEDET, HD; Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* em bebida fermentada saborizada a partir de soro láctico e inulina. **Rev Hig Alimentar**, v.25, n.194/195, março/abril de 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 36, de 31 de outubro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebidas lácteas.

- DO** da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2000.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº62 de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **DO** da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 18 setembro; 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinado que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **DOU**, Brasília, DF, 14 dezembro; 2006. Seção 1.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº46, de 23 de outubro de 2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **DOU**, 24 outubro; 2007. Seção 1.
- CHAVES, ACS; MAESTRI, B; HERERRA, L; SILVA, NK; RIBEIRO, DHB. Avaliação do impacto da adição de inulina e de maçã em leite fermentado probiótico concentrado. **Food Technology**, Campinas, v.17, n.1, p.58-66, jan/mar 2014.
- CUNHA, OCN; OLIVEIRA, CAF; HOTTA, RM; SOBRAL, PJA. Avaliação físico-química e sensorial do iogurte natural produzido com leite de búfala contendo diferentes níveis de gordura. **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas, v.25, n.3, p.448-453, 2005.
- CUNHA, TM; CASTRO, FP; BARRETO, PLM; BENEDET, HD; PRUDÊNCIO, ES; Avaliação físico-química, microbiológica e reológica de bebida láctea e leite fermentado adicionados de probióticos. **Ciências Agrárias**, Londrina, v.29, n.1, p.103-116, jan/mar 2008
- ESPITIA, JP; BATISTA, RA; AZEREDO, HMC; OTON, CG. Probiotics and their potential applications in active edible films and coatings. **Food Research international**, n.90, p.42-52, 2016.
- KEMPKA, AP; KRUNGER, RL; VALDUGA, E; DI LUCCIO, M; TREICHEL, H; CANSIAN, R; OLIVEIRA, D. Formulação de bebida láctea fermentada sabor pêsego utilizando substratos alternativos e cultura probiótica. **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas, v.28, p.170-177, 2008.
- KUNIGK, CJ. Probióticos e Prebióticos. **Rev Funcionais Nutracêuticos**, 2009.
- REIS, DL. **Qualidade e inocuidade microbiológica de derivados lácteos fermentados produzidos no Distrito Federal, Brasil**. 2013. xi, 65 f., il. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.
- SANTOS, G; COSTA, JAM; CUNHA, VCM; BARROS, MO; CASTRO, AA. Avaliação sensorial, físico-química e microbiológica do leite fermentado probiótico desnatado adicionado de jenipapo desidratado osmoticamente. **Rev Inst Laticínios "Cândido Tostes"**, v.67, n.388, p.61-67, 2012.

www.periodicos.capes.gov.br

Este site permite acessar o conteúdo gratuito do portal da CAPES (Coordenadoria de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior, do Ministério da Educação). O conteúdo assinado está disponível para os acessos com IP identificado das instituições participantes.

O Portal de Periódicos, da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), é uma biblioteca virtual que reúne e disponibiliza a instituições de ensino e pesquisa no Brasil o melhor da produção científica internacional. Ele conta com um acervo de mais de 37 mil títulos com texto completo, 126 bases referenciais, 11 bases dedicadas exclusivamente a patentes, além de livros, enciclopédias e obras de referência, normas técnicas, estatísticas e conteúdo audiovisual.