

## EFEITO DO TEOR DE SÓLIDOS NÃO GORDUROSOS E DA CONCENTRAÇÃO DE SACAROSE NA ACIDIFICAÇÃO DE IOGURTE POR BACTÉRIAS LÁTICAS

Effect of solids non fat and sucrose concentration on acidification by lactic acid bacteria in yogurt

Sislene de Matos Reis<sup>1</sup>  
Maximiliano Soares Pinto<sup>2</sup>  
Igor Viana Brand<sup>2</sup>

### SUMÁRIO

As condições da cultura influenciam na cinética de crescimento e de acidificação das bactérias lácticas em iogurtes. A pós-acidificação é uma das principais características de qualidade de um leite fermentado e por esse fato deve ser controlada rigorosamente para que na indústria a produção seja padronizada. Objetivou-se verificar a influência da adição de diferentes concentrações de sacarose e sólidos não gordurosos do leite na produção de ácido láctico e variação do pH em iogurte por bactérias lácticas termofílicas. Preparou-se iogurtes a partir de leite em pó com concentrações de 6, 8, 10 e 12 % de sólidos não gordurosos e 4, 6, 8 e 12 % de sacarose, adicionou-se cultura láctica mista de *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*. Coletou-se amostras de iogurte em tempos pré-determinado para a análise de acidez e pH. Os fatores tempo, sólidos não gordurosos e teor de sacarose foram significativos ( $p < 0,05$ ), exceto a concentração de sacarose em relação à variável pH. Portanto, as variáveis pH e acidez comportaram-se de maneira independente em função dos fatores estudados. Observou-se o decréscimo da acidez titulável em função da concentração de sacarose no leite. Houve interação significativa entre os valores de pH e as concentrações de sacarose utilizadas neste estudo. Logo, ainda que possa haver diferenças na textura e viscosidade do coágulo, não se observou diferenças em relação à produção de ácido e decréscimo do pH.

**Termos para indexação:** cultura starter, leite fermentado, pH.

### 1 INTRODUÇÃO

O iogurte é um produto oriundo da fermentação do leite por bactérias produtoras de ácido láctico, sendo comumente utilizada uma cultura mista de *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* (Ferreira, 2005; Brasil, 2007; Oliveira & Damin, 2008).

No Brasil, a produção de iogurte aumentou significativamente nos últimos anos, cuja fabricação representa 76% do total de produtos lácteos (Bolini & Moraes, 2004; Santana et al., 2006). Este incremento pode estar relacionado à maior procura pelos con-

sumidores de alimentos naturais, saudáveis e com sabor agradável. Dessa forma, a ação das bactérias lácticas promove uma alteração de odor e sabor apreciável, bem como a adição de frutas tem influenciado no aumento do consumo e na popularização do produto, por causa do melhoramento no sabor, aparência e constituição nutricional (Moreira et al., 1999). Entretanto, este aumento no consumo encontra-se consideravelmente menor comparado a países como a França, Uruguai e Argentina, onde o consumo per capita do iogurte é de sete a 19 kg/ano, enquanto no Brasil é de três kg/ano (Bolini & Moraes, 2004).

1. Mestranda em Ciências Agrárias ICA/UFMG e-mail: sislenerreis@yahoo.com.br  
2. Professor Adjunto ICA/UFMG

Os *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* possuem uma relação de simbiose, em que os *Streptococcus thermophilus* iniciam o crescimento reduzindo gradativamente o pH do meio, libera um ácido fórmico ou gás carbônico os quais promovem condição ideal de desenvolvimento dos *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus*. Por sua vez, os *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* produzem aminoácidos e peptídeos oriundos da quebra das proteínas do leite, que estimulam o crescimento dos *Streptococcus thermophilus* (Zourari et al., 1992; Ferreira, 2005).

As condições da cultura influenciam na cinética de crescimento e de acidificação das bactérias lácticas. Diante disto, o estudo desta influência permite o conhecimento da fisiologia de cepas bacterianas utilizadas industrialmente (Oliveira & Damin, 2003). Possibilitando melhor adequação do produto as necessidades da indústria e do consumidor. A temperatura, o pH e as concentrações de substratos e produtos possuem ação relevante sobre o crescimento exponencial das bactérias lácticas (Zourari et al, 1992). Contudo, a osmolaridade, as concentrações de oxigênio e substâncias inibitórias no meio, a atividade de água e as características do inóculo são fatores que também influenciam na cinética de crescimento bacteriano (Oliveira & Damin, 2003). Assim, concentrações elevadas de sacarose adicionadas ao leite antes da fermentação podem inibir as bactérias lácticas, aumentando o tempo de fermentação e produção reduzida de acidez (Shah & Ravula, 2000). Isto é decorrente do efeito osmótico dos solutos no leite e à baixa atividade de água que criam condições inadequadas para o crescimento das bactérias lácticas (Tramer, 1973; Vinderola & Reinheimer, 2000).

A produção de iogurte inclui a verificação das características do leite, o teor de gordura, tratamento térmico, inoculação, incubação e embalagem do produto final. Sendo, uma elevada quantidade de sólidos não gordurosos desejável, pois proporciona um produto de boa qualidade e textura firme (Cunha Neto et al., 2005). Segundo (Brasil, 1996) o iogurte deve apresentar 0,6 a 1,5 %

de ácido láctico.

No processo de fermentação, as bactérias lácticas convertem parte da lactose em ácido láctico, resultando em um produto final com menor teor de lactose, o qual proporciona uma alternativa alimentar para os indivíduos com intolerância a lactose. (Ferreira, 2005; Melvin, 2006; Mattar & Mazo, 2010). Diante do exposto, objetivou-se verificar a influência da adição de diferentes concentrações de sacarose e sólidos não gordurosos do leite na acidificação de iogurte por cultura láctica termofílica através da medida do pH e acidez.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, em Montes Claros, no período de outubro de 2010.

Para o preparo do iogurte utilizou-se leite em pó diluído em água destilada nas concentrações de 6, 8, 10 e 12 % (m/v) de sólidos não gordurosos. Posteriormente o leite foi aquecido a uma temperatura de aproximadamente 40°C, dividiu-se o conteúdo em 16 potes com 200 mL e adicionou-se sacarose nas proporções de zero, quatro, oito e 12 % (m/v). Obtiveram-se as amostras contendo as combinações de sólidos não gordurosos e sacarose conforme a Tabela 1.

Utilizou-se uma cultura láctica termofílica contendo *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* previamente repicada, em separados, a 1% (v/v) em leite em pó desnatado diluído a 10% (m/v) e esterilizado. Inoculou-se a cultura na proporção de 1:2 de *Lactobacillus* e *Streptococcus*, respectivamente, constituindo 1% do volume total das porções. Após a inoculação o material foi incubado a 45°C em estufa de cultura bacteriológica ECB Linea, sendo coletadas em intervalos de 60 minutos amostras destinadas a verificação do pH e acidez titulável até o momento da coagulação, em que o iogurte era resfriado.

O pH foi determinado pela medida direta com um pHmetro Waterproof Pen pH Tester, marca INSTRUTERM.

**Tabela 1** - Concentrações de sólidos não gordurosos e sacarose

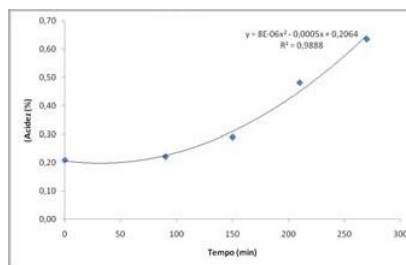
amostras	sólidos não gordurosos (%)	lactose (%)
1	6	0
2	6	4
3	6	8
4	6	12
5	8	0
6	8	4
7	8	8
8	8	12
9	10	0
10	10	4
11	10	8
12	10	12
13	12	0
14	12	4
15	12	8
16	12	12

A acidificação foi avaliada por titulação de neutralização, cujas amostras foram tituladas com solução de NaOH 0,1 N, nos tempos pré-determinados; sendo definido o teor de ácido láctico em percentagem.

Os procedimentos foram realizados em dias consecutivos e conduzidos em três repetições, em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial. Sendo os fatores estudados a concentração de sólidos não gordurosos, tempo e sacarose. Os resultados obtidos de acidez e pH foram analisados por meio de ANOVA e submetidos à análise de Regressão linear com nível de significância de 5%.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação significativa  $p < 0,05$  entre os fatores tempo, teor de sólidos e concentração de sacarose. Entretanto, os fatores tempo, sólidos não gordurosos e teor de sacarose foram significativos ( $p < 0,05$ ) exceto a concentração de sacarose em relação a variável pH. Portanto, as variáveis pH e acidez comportaram-se de maneira independente em função dos fatores estudados. Foram ajustados modelos de regressão linear para os comportamentos das variáveis em função de tempo, sólidos não gordurosos e sacarose (Figuras 1 a 4), sendo testada a falta de ajuste para os modelos ( $p > 0,05$ ).

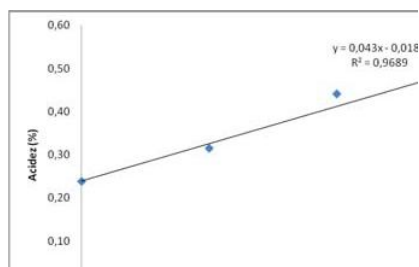


**Figura 1** - Produção média de ácido pela cultura termofílica em função do tempo de fermentação.

Observa-se na Figura 1 que sob as diferentes concentrações de açúcar e sólidos não gordurosos a produção média inicial de ácido pela cultura termofílica, foi de 0,20% de ácido láctico, o que representa um valor acima da acidez inicial do leite fresco. Esse valor pode ser explicado em decorrência dos altos níveis de sólidos não gordurosos dos tratamentos com 10 e 12%. O valor médio final da acidez encontrado (aproximadamente 0,65%) corresponde ao momento de coagulação do leite de todos os tratamentos uma vez que não houve interação significativa ( $p < 0,05$ ). Embora o modelo represente bem o comportamento do aumento da acidez, é importante ressaltar que após o pH limite de crescimento das bactérias presentes na cultura termofílica (aproximada-

mente 3,6) as mesmas são inibidas devido ao ambiente inadequado de crescimento.

O *Streptococcus thermophilus* se desenvolve mais rapidamente em pH mais básico comparado ao *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus*, reduzindo gradativamente o pH do meio e criando condições para o desenvolvimento deste último. Os *Lactobacillus* acidificam mais rapidamente o meio. Em pH 4-4,2 o crescimento de *Streptococcus thermophilus* é inibido, entretanto os *Lactobacillus* continuam sua fermentação, pois estes toleram pH em torno de 3,5 a 3,8 (Moreira et al., 1999; Ferreira, 2005). Segundo Vinderola & Reinheimer (2000), o *Streptococcus thermophilus* predomina sob todas as condições de culturas usadas. Durante a fermentação, este microrganismo produz enzimas extracelulares que possui ação proteolítica capaz de hidrolisar a caseína e proteínas do soro (Iyer et al., 2010). Apenas cerca de 1 a 2 % das proteínas do leite são hidrolisadas, mas isto confere diversos benefícios ao produto final. Esses valores baixos de pH favorecem o crescimento de fungos filamentosos e leveduras que por sua vez lançam compostos nitrogenados no meio durante a sua multiplicação que consequentemente irá provocar um novo crescimento do pH (Ferreira, 2005).



**Figura 2** - Valores médios de acidez referente a todos os tratamentos em função da concentração de sólidos não gordurosos do leite reconstituído.

O aumento médio da acidez em função da adição de sólidos não gordurosos, apresentado na Figura 2, pode ser explicado pelo fato de quanto maior a concentração do mesmo, maior o teor de caseína que por sua

vez possui caráter ácido aumentando assim a quantidade de NaOH a ser gasto na titulação e, consequentemente, provocando o aumento da acidez titulável. Tal informação é de suma importância para a fabricação de bebidas lácteas fermentadas, pois quanto maior a adição de soro ou menor a quantidade de leite em pó reconstituído, menor será a acidez inicial. Sendo assim, no momento da coagulação a acidez titulável de uma bebida láctea fermentada apresentará valores menores porém com mesmos valores de pH. Além disso, maiores concentrações de sólidos não gordurosos permitem a coagulação mais rápida do leite em função da maior disponibilidade de caseína.

Cerca de 20-30% da lactose do leite é utilizada pelos microrganismos componentes da cultura termofílica para produção de ácido láctico, com uma pequena parte de compostos voláteis como ácido acético, acetaldeído, diacetil e acetona; os quais conferem flavor desejável ao iogurte (Tari et al., 2009). Somente esses ácidos orgânicos são responsáveis pela acidez no iogurte perceptível sensorialmente pelo consumidor, pois ainda que leites com maiores concentrações de sólidos não gordurosos tenham maior acidez titulável a um mesmo valor de pH, essa não será percebida sensorialmente.

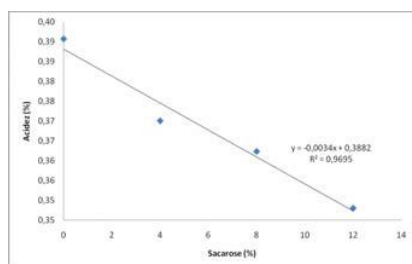
Dessa forma, o iogurte é um produto derivado do leite que pode ser consumido como fonte de proteínas de elevado valor nutricional e cálcio, por indivíduos com intolerância à lactose. Pois, dependendo da gravidade da deficiência de lactase, possibilita ao mesmo a ingestão deste alimento por possuir um menor teor de lactose, devido à ação das enzimas bacterianas para a produção de ácido láctico (Melvim, 2006; Mattar & Mazo, 2010).

A caseína é o constituinte de principal importância tecnológica para a fabricação de iogurte e bebidas lácteas fermentadas, pois iogurtes com maior teor de sólidos não gordurosos, 10 e 12 %, apresentam um coágulo mais firme e uma menor sinérese (Oliveira & Damin, 2003). Estas características são decorrentes da maior quantidade de sólidos não gordurosos, especialmente a caseína, que ao alcançar pH entre 5,1 a 5,2 atingem o seu ponto isoelétrico, havendo o início da preci-

pitação e, conseqüentemente, formação do coágulo pela desestabilização das proteínas (Ferreira, 2005; Iyer et al., 2010). Ressalta-se que o maior teor de proteína melhora a retenção de água, minimizando a sinérese.

Na hidrólise da caseína e o catabolismo de aminoácidos geram produtos que são precursores para biossíntese de nucleotídeos, vitaminas e outros aminoácidos; além de vários compostos voláteis que conferem aroma desejável ao iogurte (Chaves et al., 2002).

A cultura láctica fermentou parte da lactose e produziu ácido lático. Este ácido é responsável pelas alterações benéficas no meio: acidificação, modificação desejável no aroma, flavor e textura, além de evitar o desenvolvimento de bactérias patogênicas decorrente da redução do pH (Brussow, 2001; Durlu-Ozkaya et al., 2007).

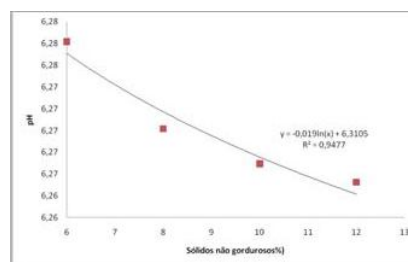


**Figura 3** - Acidez titulável média dos tratamentos em função da concentração de sacarose.

Observa-se o decréscimo da acidez titulável em função da concentração de sacarose no leite, conforme Figura 3. Este comportamento pode ser explicado pelo fato de ao se adicionar sacarose, aumenta-se o volume da solução final o que conseqüentemente ocasiona em diminuição da acidez titulável uma vez que a mesma é inversamente proporcional a massa da solução como pode ser observado na sua fórmula de cálculo. Embora a sacarose exerça uma pressão osmótica sobre a cultura inibindo o seu crescimento, não se observou inibição significativa ( $p < 0,05$ ) nos tratamentos e nas condições estudadas.

Ao se avaliar a Figura 4, verifica-se que houve interação significativa entre os valores de pH e as concentrações de sacarose

utilizadas neste estudo. Observou-se que os tratamentos com menores teores de sólidos não gordurosos (6 e 8 %) apresentaram pH inicial mais elevado.



**Figura 4** - Valores médios de pH em função da concentração de sólidos não gordurosos do leite reconstituído.

Isto pode ter ocorrido, uma vez que com menores teores de sólidos não gordurosos o pH seria maior por estar mais próximo do pH da água. Enquanto, os tratamentos com 10 e 12 % de sólidos não gordurosos teriam uma maior influência dos constituintes do leite na redução do pH. Contudo, os iogurtes com 6 e 8% de sólidos não gordurosos alcançaram menores valores de pH por possuírem quantidades reduzidas de nutriente, especialmente caseína a qual precipita mais rapidamente por ter um menor teor, para que ocorra a desestabilização das micelas de caseína e sua coagulação. O pH ideal para promover a completa coagulação das proteínas é em torno de 4,6 (Ferreira, 2005). Oliveira & Damin (2003), evidenciaram valores sensivelmente menores de pH quando da utilização de sacarose.

#### 4 CONCLUSÃO

O presente trabalho permite inferir que a escolha das concentrações de sólidos não gordurosos e sacarose para a fabricação de iogurte e bebida láctea fermentada, ainda que possa haver diferenças na textura e viscosidade do coágulo, pode perfeitamente estar dentro do intervalo escolhido neste estudo de forma a garantir um teor de ácido lático e pH dentro dos limites aceitáveis. Não se observou dife-

rença estatística ao nível de 5% em relação à produção de ácido e decréscimo do pH.

## SUMMARY

The culture conditions influence the kinetics of growth and acidification of lactic acid bacteria. This study assessed the effect of adding different concentrations of sucrose and non fat milk solids in the production of lactic acid and pH variation in yogurt by thermophilic lactic acid bacteria. Yogurts were prepared from milk powder with concentrations of 6, 8, 10 and 12% solids non fat, 4, 6, 8 and 12% sucrose, was added to mixed lactic acid culture of *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. Samples were collected from yogurt in pre-determined for analysis of acidity and pH. The factors time, solids non fat and sucrose content were significant ( $p < 0.05$ ), except the concentration of sucrose in relation to variable pH. Therefore, pH and acidity behaved independently as a function of the factors studied. We observed a decrease in acidity as a function of sucrose concentration in milk. A significant interaction between pH and concentrations of sucrose used in this study. So, although there may be differences in texture and viscosity of the clot, no differences were observed in relation to acid production and pH decrease.

**Index terms:** growth kinetics, starter culture, fermented milk pH.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOLINI, H.M.A.; MORAES, P. Tese mostra que análise sensorial incrementaria produção de iogurte. *Jornal da Unicamp*, ed. 253, p. 11, 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria Nº 146 de março de 1996. **Regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos**. Diário Oficial, 1996.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados**. Diário Oficial da União, 2007.
- BRUSSOW, H. Phages of dairy bacteria. *Annual Review Microbiology*, v. 55, p. 283–303, 2001.
- CHAVES, A. C.; FERNANDEZ, M.; LERAYER, A. L.; MIERAU, I.; KLEEREBEZEM, M.; HUGENHOLTZ, J. Metabolic engineering of acetaldehyde production by *Streptococcus thermophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, p. 5656–5662, 2002.
- CUNHA NETO, O.C.; OLIVEIRA, C.A.F.; HOTA, R.M.; SOBRAL, P.J.A. Avaliação físico-química e sensorial do iogurte natural produzido com leite de búfala contendo diferentes níveis de gordura. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n. 3, 2005.
- DURLU-OZKAYA, F.; ASLIM, B.; OZKAYA, M.T. Effect of exopolysaccharides (EPSs) produced by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria. *LWT*, v. 40, p. 564–568, 2007.
- FERREIRA, C.L.L.F. **Produtos lácteos fermentados – aspectos bioquímicos e tecnológicos**. 3. ed. Viosa: UFV, 2005.
- IYER, R.; TOMAR, S.K.; MAHESWARI, T.U.; SINGH, R. *Streptococcus thermophilus* strains: multifunctional lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, v.20, p. 133–141, 2010.
- MATTAR, R.; MAZO, D.F.C. Intolerância a lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. *Associação Médica Brasileira*, v. 56, n. 2, 2010.
- MELVIN, B.H. Lactose intolerance in infants, children and adolescents. *Pediatrics*, v. 118, p. 1279–1286, 2006.
- MOREIRA, S.R.; SCHWAN, R.F.; CARVALHO, E.P.; FERREIRA, C. Análise microbiológica e química de iogurtes comercializados em lavras-MG. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 19, n. 1, 1999.
- OLIVEIRA, M.N.; DAMIN, M.R. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 23, supl. 0, 2003.
- SANTANA, R.R. et al. Perfil sensorial de iogurte light, sabor pêssego. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, n. 3, 2006.
- SHAH, N.P.; RAVULA, R.R. Influence of water activity on fermentation, organic acids production and viability of yogurt and probiotic bacteria. *The Australian Journal Dairy Technology*, v. 55, n. 3, p. 127–131, 2000.
- TARI, C.; USTOK F. I.; HARSA S. Optimization of the associative growth of novel yoghurt cultures in the production of biomass,  $\beta$ -galactosidase and lactic acid using response surface methodology. *International Dairy Journal*, v.19, p. 236–243, 2009.
- TRAMER, J. Yogurt cultures. *Journal Sociality Dairy Technology*, v. 26, p. 16–21, 1973.
- VINDEROLA, C.G.; REINHEIMER, J.A. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *Lactobacillus acidophilus* and lactic starter in fermented dairy products. *International Dairy Journal*, v. 10, p. 271–275, 2000.
- ZOURARI, A.; ACCOLAS, J. P.; DESMAZEAUD, M.J. Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. *Le Lait*, v. 72, p. 1–34, 1992.