

Microbiological evaluation of buffalo milk yoghurt produced from ultrasound-assisted fermentation

Avaliação microbiológica de iogurte de leite de búfala produzido a partir da fermentação assistida por ultrassom

Article Info:

Article history: Received 2022-11-20 / Accepted 2022-12-01 / Available online 2022-12-01

doi: 10.18540/jcecv18iss10pp14824-01a



Flaviana Coelho Pacheco

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1302-8059>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: flaviana.pacheco@ufv.br

Eliane de Fátima Teixeira

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: eliane.fatima@ufv.br

Ana Flávia Coelho Pacheco

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7220-1432>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: ana.f.pacheco@ufv.br

Heloisa de Fátima Mendes Justino

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9575-9460>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: heloisa.justino@ufv.br

Jeferson Silva Cunha

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6722-9051>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: jeferson.cunha@ufv.br

Fabio Ribeiro dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8822-9421>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: fabio.r.santos@ufv.br

Paulo Henrique Costa Paiva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5455-7790>

EPAMIG – Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Brasil

E-mail: paulohcp@epamig.br

Bruno Ricardo de Castro Leite Júnior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9030-2819>

Universidade Federal de Viçosa, Brasil

E-mail: bruno.leitejr@ufv.br

Resumo

O iogurte é um alimento lácteo de grande importância para a alimentação humana em virtude de suas propriedades funcionais, além de ser muito popular em todo o mundo. Tradicionalmente, no Brasil esse produto é elaborado a partir do leite bovino. Entretanto, nos últimos anos tem crescido a produção de iogurte fabricado a partir do leite de outros mamíferos, assim como tem intensificado os estudos acerca da aplicação de tecnologias não convencionais na tecnologia de alimentos, como o ultrassom. Neste estudo, foram produzidos diferentes amostras de iogurte de leite de búfala por

meio da aplicação de ultrassom, visando reduzir o tempo de fermentação, assim como melhorar as características desejáveis do produto final. Desta forma, pensando nas propriedades higiênico sanitárias do iogurte e consequente segurança do alimento, este trabalho objetivou avaliar a qualidade microbiológica do produto. Todas as amostras apresentaram dentro da legislação para bolores e leveduras, mesófilos e picrotróficos. Assim, ressalta-se a importância da aplicação das boas práticas de fabricação de modo a garantir a qualidade e segurança dos alimentos.

Palavras-chaves: Alimentos lácteos. Tecnologias não convencionais. Qualidade microbiológica. Segurança dos alimentos.

Abstract

Yogurt is a dairy food of great importance for human consumption due to its functional properties, in addition to being very popular all over the world. Traditionally, in Brazil this product is made from bovine milk. However, in recent years, the production of yogurt made from the milk of other mammals has grown, as well as studies on the application of unconventional technologies in food technology, such as ultrasound, have intensified. In this study, different samples of buffalo milk yogurt were produced through the application of ultrasound, in order to reduce the fermentation time, as well as improve the desirable characteristics of the final product. Thus, considering the hygienic and sanitary properties of yogurt and consequent food safety, this study aimed to evaluate the microbiological quality of the product. All samples presented within the legislation for molds and yeasts, mesophiles and picrotrophs. Thus, the importance of applying good manufacturing practices is emphasized in order to guarantee the quality and safety of food.

Keywords: Dairy foods. Unconventional technologies. Microbiological quality. Food safety.

1. Introdução

O leite de búfala é muito utilizado para a elaboração de diversos derivados lácteos, tendo o iogurte entre os principais. Devido às propriedades funcionais do iogurte, seu consumo tem sido cada vez mais aceito como um produto lácteo fermentado no planejamento alimentar de diversos indivíduos no mundo (Kamal-Eldin, et al. 2020).

Para elaboração de iogurtes e outros derivados lácteos, o leite de búfala pode ser usado individualmente ou em combinação com outros demais leites de diferentes espécies. No entanto, quando sozinho, apresenta maior teor de gordura e sólidos totais quando comparado ao leite de vaca (Abd El-Salam e El-Shibiny, 2011). Essa maior presença de sólidos é um importante fator de impacto na qualidade, visto que está relacionado com aroma, sabor e textura do iogurte (Atallah, Morsy e Gemiel, 2020).

Atualmente existem diferentes tipos de iogurte, sendo estes classificados de acordo com o processo de elaboração, adição de ingredientes, composição, consistência e textura. Ao mesmo tempo, tem-se cada vez mais um avanço no desenvolvimento de novos produtos, bem como aumento do nível de exigência dos consumidores, seja em termos de qualidade sensorial e/ou garantia de segurança à saúde quando consumido (Emiliano et al., 2017).

Apesar dessa evolução, a fermentação do leite de búfala enfrenta alguns problemas, como o longo tempo de fermentação e a baixa estabilidade do gel que favorece uma maior sinérese do produto durante a estocagem e comercialização. Em virtude disso, a aplicação de tecnologias emergentes vem sendo estudada para melhorar a qualidade deste produto. Dentre essas tecnologias, a tecnologia de ultrassom se destaca visando a redução do tempo de fabricação e diminuição do uso de aditivos, implicando na formação de géis mais resistentes, corpo liso e textura com pouca ou nenhuma sinérese, sem a utilização de estabilizadores.

Dentre as análises laboratoriais realizadas, uma de grande importância, que vem sendo cada vez mais rigorosa em termos de legislação, é referente à qualidade microbiológica do produto final. Diante desse contexto, o presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de verificar a qualidade microbiológica dos iogurtes produzidos, seja pelo processamento convencional ou por meio da aplicação do ultrassom.

2. Metodologia

A realização dos experimentos procedeu-se no Laboratório de Inovação no Processamento de Alimentos (LIPA), do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), da UFV. O leite de búfala foi adquirido na cidade de Juiz de Fora – MG e seu transporte até Viçosa-MG deu-se por meio do acondicionamento em caixas térmicas com presença de gelo a uma temperatura de aproximadamente 1 °C. A cultura láctea contendo os microrganismos *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* foi adquirida da Empresa Sacco (Campinas, Brasil). O equipamento utilizado no experimento foi um banho ultrassônico (Unique, modelo USC 2800 A, Brasil) a uma frequência de 25 kHz e potência nominal de 450 W e potência volumétrica de 38 W/L.

Inicialmente o leite de búfala cru foi filtrado e a sacarose foi adicionada nas concentrações de 0 e 5% (m/v). Fez-se a pasteurização em binômio de tempo e temperatura previamente definidos (90° C/5 min). Após a pasteurização, os produtos foram resfriados a 42 °C e a cultura mista de iogurte (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) foi adicionada para iniciar a fermentação em uma concentração de 106 UFC/mL de leite.

Posteriormente, a fermentação ocorreu em banho termostático (tratamento controle) e em banho ultrassônico. A fermentação assistida por US foi realizada em diferentes tempos: (i) 1 h sob US, (ii) 2 h sob US, (iii) 3 h sob US e (iv) tempo integral sob US. Após atingir o tempo determinado de fermentação no US, a fermentação foi concluída em banho termostático até atingir o valor de pH de 4,6. O acompanhamento do pH foi realizado com medições a cada 30 min até o final da fermentação. O esquema pode ser observado na Figura 1.

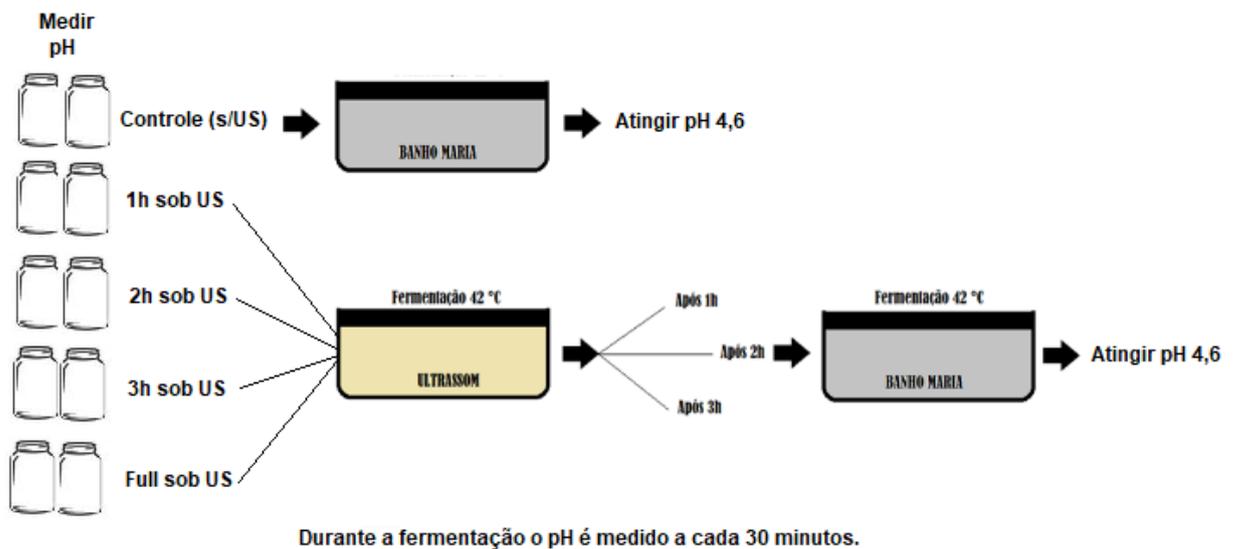


Figura 1. Esquema da etapa de fermentação no US.

As análises microbiológicas foram realizadas no dia seguinte (tempo 1), após finalizada a fermentação. Para isso, as amostras foram diluídas em série em solução salina (0,85% NaCl) e plaqueadas em ágar BDA para contagem de bolores e leveduras com incubação a 25 °C por 5 dias; PCA para mesófilos com incubação a 37°C por 48 horas e psicrotróficos com incubação a 7°C por 48 horas de acordo com os procedimentos descritos por Silva et al. (2001).

3. Resultado e discussão

A Tabela 1 apresenta os valores das análises microbiológicas de amostras de iogurte a partir da fermentação assistida por ultrassom, para os diferentes iogurtes produzidos com leite de búfala no tempo 1 de armazenamento à 7 °C. Entre os iogurtes analisados, foram encontradas variações nas populações de bolores e leveduras de $1,60 \times 10^3$ a $3,20 \times 10^3$. Estes resultados são considerados baixos quando comparados a um estudo feito por Hoffmann et al. (1997) em São José do Rio Preto com 26 amostras de iogurte. Parte destas (cerca de 16,7%) apresentaram valores para bolores e

leveduras muito elevados (chegando a $2,4 \times 10^6$ UFC/mL), se tornando impróprias para o consumo, visto que poderiam acarretar danos à saúde do consumidor.

Em relação à presença de mesófilos, foram observadas contagens de $1,15 \times 10^4$ a $1,54 \times 10^4$ UFC/g para as amostras de iogurtes. Reis et al (2014), ao avaliar a qualidade microbiológica de derivados lácteos no Distrito Federal do Brasil, obtiveram valores de $2,2 \times 10^4$ UFC/g em amostras de iogurtes. De acordo com Franco (2008), a presença das bactérias mesófilas, quando presentes em altas contagens (superior a 10⁶ UFC/mL), podem ocasionar processos de deterioração e diminuição da vida de prateleira dos alimentos.

Conforme a Tabela 1, as contagens de psicrotróficos nas amostras de iogurte foram significativamente baixas, todas <10 UFC/g, sendo que não existem parâmetros estabelecidos para estes microrganismos. Porém, a presença destes são importantes indicadores da qualidade dos produtos lácteos, uma vez que produzem enzimas proteolíticas e lipolíticas termoestáveis, responsáveis por processos de deterioração e comprometimento da vida de prateleira dos produtos (Forsythe, 2002).

Todos os resultados microbiológicos se encontram dentro dos parâmetros de qualidade estabelecidos pela Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA. No entanto, com base na análise microbiológica houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os diferentes processos para a elaboração de iogurte de leite de búfala para bolores e leveduras, seja com ou sem açúcar. Já para mesófilos, não foi observado diferença significativa ($p < 0,05$) entre os diferentes tratamentos, com exceção da amostra de 1h US 5% açúcar, no qual apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os demais tratamentos.

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas de amostras de iogurte a partir da fermentação assistida por ultrassom.

Amostras de iogurte	Análises Microbiológicas (UFC/g)		
	Bolores e leveduras	Mesófilos	Psicrotróficos
Controle s/açúcar	$1,75 \times 10^3 \pm 0,014^{cd}$	$1,15 \times 10^4 \pm 0,18^b$	<10
1h US s/açúcar	$2,43 \times 10^3 \pm 0,021^b$	$1,25 \times 10^4 \pm 0,22^b$	<10
2h US s/açúcar	$2,08 \times 10^3 \pm 0,035^{bc}$	$1,23 \times 10^4 \pm 0,32^b$	<10
3h US s/açúcar	$2,25 \times 10^3 \pm 0,024^{bc}$	$1,20 \times 10^4 \pm 0,38^b$	<10
US direto s/açúcar	$3,20 \times 10^3 \pm 0,018^a$	$1,37 \times 10^4 \pm 0,41^b$	<10
Controle 5% açúcar	$1,60 \times 10^3 \pm 0,032^d$	$1,33 \times 10^4 \pm 0,29^b$	<10
1h US 5% açúcar	$3,20 \times 10^3 \pm 0,046^a$	$1,41 \times 10^4 \pm 0,57^a$	<10
2h US 5% açúcar	$3,13 \times 10^3 \pm 0,042^a$	$1,35 \times 10^4 \pm 0,62^b$	<10
3h US 5% açúcar	$3,25 \times 10^3 \pm 0,039^a$	$1,32 \times 10^4 \pm 0,22^b$	<10
US direto 5% açúcar	$1,75 \times 10^3 \pm 0,070^{cd}$	$1,54 \times 10^4 \pm 0,19^b$	<10

Legenda: a-d indicam diferenças significativas avaliadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre os diferentes processos para a elaboração de iogurte de leite de búfala.

As culturas dominantes do iogurte *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* atuam como bioprotetores. Entretanto, é importante ressaltar que a manutenção do iogurte em temperatura inadequada contribui para a proliferação desses microrganismos, que por sua vez podem acarretar em produtos com qualidade fora dos padrões microbiológicos propostos pela Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA.

Além disso, com base na concentração de açúcar, podemos observar que a presença do açúcar não apresentou influência na qualidade, ou seja, não houve diferença na contagem microbiana para as amostras com ou sem açúcar. Tem-se também que o uso do ultrassom não mostrou efeito inibitório na microbiota deteriorante do iogurte, uma vez que existe uma cultura de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* dominante no iogurte.

4. Conclusão

Todas as amostras apresentaram baixos valores atendendo a Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA para bolores e leveduras, mesófilos e psicrotróficos. No entanto, mesmo que em baixas contagens, foi constatada a presença de bolores, leveduras e mesófilos, o que não elimina a necessidade da aplicação de melhorias no processo produtivo, em relação à aplicação de metodologias de higienização dos equipamentos, utensílios e manipuladores, visando a garantia da qualidade e segurança do produto final.

5. Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES - Código Financiamento 001; à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo financiamento do projeto APQ-00388-21; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto (429033/2018-4) e pela bolsa de produtividade à B.R.C. Leite Júnior (306514/2020-6); e à Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais / Instituto de Laticínios Cândido Tostes (EPAMIG / ILCT).

Referências

- Abd El-Salam, M. H.; El-Shibiny, S. (2011). A comprehensive review on the composition and properties of buffalo milk. *Dairy Sci. Technol.* v. 91, p. 663.
- Atallah, A. A.; Morsy, O. M.; Gemiel, D. G. (2020). Characterization of functional low-fat yogurt enriched with whey protein concentrate, Ca-caseinate and spirulina. *Int. J. Food Prop.* v. 23, p. 1678–1691.
- Brandão, S. C. C. (1995). Tecnologia da produção industrial do iogurte. *Revista Leite e Derivados*, v. 5(25), p. 24-38.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (2001). Resolução RDC nº 12, de 02/01/2001. Aprova o Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União, Brasília*.
- Emiliano, J. V. S. et al. (2017). Avaliação físico-química e microbiológica de iogurtes comercializados em Rio Pomba-MG e comparação com os parâmetros da legislação. *Vértices (Campos dos Goitacazes)*, v. 19(1).
- Franco, B. D. G. M. (2008). *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, p. 181.
- Forsythe, S. J. (2002). *Microbiologia da segurança alimentar*. Porto Alegre: Ed. Artmed, p. 423.
- Hoffmann, F. L.; Pagnocca, F. C.; Fazio, M. L. S.; Vinturim, T. M. (1997). Estudo higiênico sanitário de diferentes tipos de iogurte. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos, Curitiba*, v. 15(2), p. 187-196;
- Kamal-Eldin, A.; Alhammadi, A.; Gharsallaoui, A.; Hamed, F.; Ghnimi, S. (2020). Physicochemical, rheological, and microstructural properties of yogurts produced from mixtures of camel and bovine milks. *NFS J.* v. 19, p. 26–33.
- Silva, N.; Junqueira, V. C. A.; Silveira, N. F. A. (2001). *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. São Paulo: Varela, e. 2, p.25.

Reis, D. L. et al. (2014). Qualidade e segurança microbiológica de derivados lácteos fermentados de origem bovina produzidos no Distrito Federal, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 35(6), p. 3161-3172.