

UNIVERSIDADE DO VALE DO RIO DOS SINOS – UNISINOS
UNIDADE ACADÊMICA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS
MESTRADO PROFISSIONAL EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS

ANDRÉIA RUPPENTHAL BARTH

SELEÇÃO DE UMA CULTURA MICROBIANA COMERCIAL PARA
INDÚSTRIA DE LATICÍNIOS COM BAIXA PÓS-ACIDIFICAÇÃO E AUMENTO DE
VISCOSIDADE EM LEITES FERMENTADOS.

SÃO LEOPOLDO

2014

Andréia Ruppenthal Barth

SELEÇÃO DE UMA CULTURA MICROBIANA COMERCIAL PARA
INDÚSTRIA DE LATICÍNIOS COM BAIXA PÓS-ACIDIFICAÇÃO E AUMENTO DE
VISCOSIDADE EM LEITES FERMENTADOS.

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos, pelo programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, da Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS.

Área de concentração: Qualidade e Inovação em Alimentos.

Orientador: Dra. Juliana de Castilhos

Co orientador: Ms. Daiana de Souza

São Leopoldo

2014

Ficha catalográfica

B284s Barth, Andréia Ruppenthal

Seleção de uma cultura microbiana comercial para indústria de laticínios com baixa pós-acidificação e aumento de viscosidade em leites fermentados / por Andréia Ruppenthal Barth. – 2014.

65 f. : il., 30 cm.

Dissertação (mestrado) — Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, 2014.

Orientação: Profª. Drª. Juliana da Castilhos ; Coorientação: Profª Daiana de Souza.

1. Iogurte. 2. Cultura microbiana. 3. Pós-acidificação.
4. Viscosidade. I. Título.

CDU 637.146.3

Catálogo na Fonte:

Bibliotecária Vanessa Borges Nunes - CRB 10/1556

Andréia Ruppenthal Barth

SELEÇÃO DE UMA CULTURA MICROBIANA COMERCIAL PARA
INDÚSTRIA DE LATICÍNIOS COM BAIXA PÓS-ACIDIFICAÇÃO E AUMENTO DE
VISCOSIDADE EM LEITES FERMENTADOS.

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos, pelo programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, da Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS.

Área de concentração: Qualidade e Inovação em Alimentos.

Aprovado em 31/07/2014

BANCA EXAMINADORA

Dra. Juliana de Castilhos – Unisinos

Dr. Juliano Caravaglia – UFCSPA/ Unisinos

Dra. Denize Righetto Ziegler - Unisinos

RESUMO

As culturas tradicionais de bactérias lácticas utilizadas para elaboração dos leites fermentados pós-acidificam mesmo em temperatura de refrigeração. Uma seleção cuidadosa poderia reduzir os impactos causados pelas falhas na cadeia do frio e melhorar a qualidade sensorial dos produtos oferecidos ao mercado consumidor. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi selecionar culturas microbianas adequadas para o laticínio, sendo que a principal característica buscada foi baixa pós-acidificação e aumento de viscosidade do iogurte e da bebida láctea. Foram avaliadas as três culturas atualmente utilizadas pelo laticínio e cinco novas culturas para os produtos bebida láctea e iogurte. Para ambas as culturas foi verificado o tempo de fermentação, a pós-acidificação quando o produto era mantido em temperatura de fermentação, além do pH e viscosidade durante o *shelf life*, quando o produto era resfriado à 10 e 15 °C antes do envase. Os resultados mostraram elevada pós-acidificação e baixa viscosidade para duas culturas atualmente utilizadas pela empresa, as quais foram descontinuadas. Três novas culturas apresentaram resultados satisfatórios para o objetivo proposto. Foi possível concluir que a escolha da cultura microbiana interfere fortemente na pós-acidificação e viscosidade para o produto bebida láctea e que a interferência não é tão significativa para o produto iogurte. Através da realização deste trabalho foi verificado que o *shelf life* da bebida láctea poderia ser aumentado de 45 para 60 dias.

Palavras chave: Iogurte. Cultura microbiana. Pós-acidificação. Viscosidade.

ABSTRACT

The traditional cultures of lactic acid bacteria used in the preparation of fermented milk post-acidify even at refrigeration temperature. A careful selection could reduce the impacts caused by failures in the cold chain and improve the sensory quality of products offered to the consumer market. Therefore, the aim of this study was to select appropriate microbial cultures for the dairy industry, and the main feature was sought low post acidification and viscosity increase of fermented milks. The three cultures currently used in the dairy industry and five new cultures for yogurt and fermented dairy drink products were evaluated. Fermentation time was checked for both cultures, when the after acidification from the product was maintained at a temperature of fermentation, addition of pH and viscosity during the shelf life, when the product was cooled at 10 and 15 ° C before packaging. The results show low viscosity and high post acidification for two currently cultures used by the company, which were discontinued. Three new cultures showed satisfactory results for the proposed objective. It was concluded that the choice of the microbial culture interferes strongly in the post acidification and viscosity for the product fermented dairy drink and that interference is not as significant for the yogurt product. Through this study it was found that the shelf life of fermented milk could be increased from 45 to 60 days.

Key words: Yogurt. Microbial culture. After acidification. Viscosity.

15 °C.....53

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	-	Influência	de	fatores	chaves	da	homogeneização.....	18
TABELA 2	-	Influência	de	fatores	chaves	-	pasteurização.....	21
TABELA 3	-	Influência	de	fatores	chaves	-	temperatura de envase.....	29
TABELA 4	-	Tempo médio de fermentação obtido durante a fermentação da bebida láctea e do iogurte nos testes com as diferentes culturas estudadas.....						36
TABELA 5	-	Variação de pH com as diferentes culturas entre o primeiro dia e o final do <i>shelf life</i> da Bebida Láctea resfriada à 10 °C.....						43
TABELA 6	-	Variação de pH com as diferentes culturas entre o primeiro dia e o final do <i>shelf life</i> da Bebida Láctea resfriada à 15 °C.....						45
TABELA 7	-	Variação de pH com as diferentes culturas entre o primeiro dia e o final do <i>shelf life</i> do Iogurte resfriado à 10 °C.....						46

TABELA 8 - Variação de pH com as diferentes culturas entre o primeiro dia e o final do <i>shelf life</i> do Iogurte resfriado à 15 °C.....	48
TABELA 09 - Contagem de microrganismos viáveis na Bebida Láctea – estudo para aumento do <i>shelf life</i>	54
TABELA 10 - Análise de pH da bebida láctea com <i>shelf life</i> de 60 dias.....	55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1 Origem e conceito dos leites fermentados	12
2.2 Mercado	13
2.3 Processo de fabricação de leites fermentados.....	14
2.3.1 Papel dos constituintes	15
2.3.2 Homogeneização e pasteurização	16
2.3.3 Fermentação Láctica	21

2.3.3.1 <i>Streptococcus termophilus</i> e <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	23
2.3.3.2 Sinergia entre <i>S. termophilus</i> e <i>L. bulgaricus</i>	24
2.3.3.3 Culturas produtoras de EPS.....	26
2.4 Resfriamento do iogurte	28
2.5 Defeitos que podem ser encontrados na fabricação e como podem ser evitados	29
2.6 Pós-acidificação.....	31
2.7 Bacteriófagos	32
3 METODOLOGIA.....	34
3.1 Amostragem	34
3.2 Cinética de fermentação	34
3.3 Pós-acidificação forçada.....	35
3.4 Análise de pós-acidificação e viscosidade durante o <i>shelf life</i>	35
3.5 Análise de verificação de dessoramento.....	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1 Tempo de fermentação	36
4.2 Cinética da fermentação	36
4.3. Pós-acidificação forçada.....	39
4.4 Pós-acidificação durante o <i>shelf life</i> para Bebida Láctea resfriada à 10 e 15 °C	41
4.5 Pós-acidificação durante o <i>shelf life</i> para Iogurte resfriado à 10 e 15 °C.....	45
4.6 Viscosidade durante o <i>shelf life</i> para Bebida Láctea resfriada à 10 e 15 °C	48
4.7 Viscosidade durante o <i>shelf life</i> para Iogurte resfriado à 10 e 15 °C	51
4.8 Dessoramento	53
4.9 Estudos para aumento de <i>shelf life</i> da Bebida Láctea.....	53
5 CONCLUSÃO.....	56
Referências.....	57
APÊNDICE A - Possíveis causas e soluções para defeitos encontrados nos iogurtes.....	61

1 INTRODUÇÃO

As bactérias lácticas têm sido amplamente estudadas devido a sua importância econômica em fermentações de alimentos. (ÖZKAYA *et al.*, 2005). Em derivados lácteos fermentados, elas são responsáveis pela conversão da lactose em ácido láctico, o que leva à formação do gel proteico. (PHADUNGATH, 2005).

O processo de fabricação e a composição do iogurte podem variar de um fabricante para o outro, tal como os tipos de iogurtes e os tipos de culturas iniciadoras utilizadas. A função de qualquer cultura iniciadora deve ser a de produzir ácido láctico suficiente em um tempo tão curto quanto possível para fermentar o leite, causando a diminuição do pH 6,8 - 6,5 ao pH 4,5, e para proporcionar textura aceitável, viscosidade adequada, sabor característico e aroma apropriado no produto final. (STEVENS, 2003).

Normalmente são utilizadas, pela indústria de laticínios, para a produção de iogurte, culturas compostas por *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* que possuem uma interação mutuamente favorável, caracterizada pelo fato de que cada bactéria produz uma ou mais substâncias que estimulam o crescimento do outro. (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Entretanto, o *L. bulgaricus* produz ácido láctico durante o armazenamento sob refrigeração (OLIVEIRA, 2003), levando à produção excessiva do ácido, caracterizada como a pós-acidificação. (STEVENS, 2003).

A pós-acidificação é própria às cepas, mas deve ser a menor possível. Ela orienta a seleção de fermentos compostos por cepas pouco pós-acidificantes que permitem a obtenção de produtos com características sensoriais mais estáveis durante a vida de prateleira do produto. (VIA LÁCTEA, 2009). Culturas tradicionais de iogurte pós-acidificam até aproximadamente 2 °C. (PEDERSEN, 2009). Dessa forma, as oportunidades e os desafios enfrentados pelos fabricantes de leites fermentados são numerosos, pois através da seleção cuidadosa da cultura microbiana utilizada, é possível reduzir o impacto de falhas na cadeia do frio e no sabor do leite fermentado. (JENSEL, 2006).

Atualmente a Cooperativa Piá resfria os produtos fermentados a uma temperatura de 10 °C antes do envase com a finalidade de reduzir os problemas com a pós-acidificação, o que não é adequado para a viscosidade final do produto. Mesmo com tal prática, no final de vida útil e em armazenamento em temperaturas adequadas (sem contar com os problemas da cadeia do frio) e produto pós-acidifica até pH em torno de 4,2.

O mercado global de iogurtes deve superar 67 bilhões de dólares até 2015, e estes representam 80% do mercado de produtos refrigerados. O volume de vendas no Brasil no ano de 2012 foi de 715.500 toneladas (GALLINA, 2013). Os Iogurtes e as Bebidas Lácteas são de grande importância econômica para a Cooperativa Agropecuária Petrópolis Ltda - Piá. Por anos consecutivos a empresa recebe o Prêmio Carrinho AGAS (Associação Gaúcha de Supermercados) de melhor fornecedor de refrigerados.

O presente trabalho tem o objetivo de selecionar uma cultura microbiana comercial composta por *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* adequada para a Cooperativa Piá. A cultura microbiana selecionada deve apresentar baixa pós-acidificação e possibilitar o envase dos produtos fermentados a uma temperatura mais elevada, o que possibilitará ganhos em termos de qualidade de produto e principalmente em termos de viscosidade do produto final.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Origem e conceito dos leites fermentados

A fermentação é um método antigo utilizado para conservação de alimentos. O iogurte é um produto tradicional dos povos do Oriente Médio. Rapidamente difundiu-se, e hoje é produzido em muitos países. (MONTEIRO; PIRES; ARAÚJO, 2012). A origem da fermentação láctica ocorreu em 1857, com Louis Pasteur. Em 1878, Joseph Lister isolou uma cultura pura de bactéria láctica que mostrou ser responsável pela acidificação do leite. A capacidade de isolar culturas puras foi um ponto de viragem para a produção comercial de culturas iniciadoras, que foi generalizada a partir do século XX. (PEIGHAMBARDoust; TAFTI; HESARI, 2011).

As bactérias lácticas têm sido amplamente estudadas devido a sua importância econômica em fermentações de alimentos (ÖZKAYA; ASLIM; OZKAYA, 2007), especialmente os produtos lácteos, podendo desempenhar diversas funções nos alimentos, incluindo desenvolvimento de atributos nutricionais, sensoriais e funcionais. (MARASCA et al., 2012).

Leites fermentados são alimentos lácteos fermentados com microrganismos específicos. O leite fermentado mais amplamente consumido é o iogurte, obtido através da fermentação do leite por uma cultura mista de duas bactérias ácido lácticas termofílicas: *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*. (DUPONT, 2012; TAMINE; ROBINSON, 1999). Esses microrganismos exercem papel importante durante a produção e o armazenamento do produto, como desenvolvimento de acidez, sabor, aroma e textura. (MONTEIRO; PIRES; ARAÚJO, 2012).

De acordo com a Legislação Brasileira (2007), entende-se por Leites Fermentados os produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do pH do leite, ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante a ação de cultivos de microrganismos específicos. Entende-se por Iogurte o produto que atenda a definição de Leites Fermentados e que cuja fermentação seja realizada com cultivos de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus subsp. bulgaricus*, aos quais podem acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final. (BRASIL, 2007).

2.2 Mercado

O mercado brasileiro de iogurtes está em desenvolvimento e vem sendo ampliando de maneira significativa. Segundo levantamento da Mintel, de 2010 para 2011, a categoria teve um crescimento de 4% em volume total. Em pesquisa realizada no ano de 2012, 74% da população afirma consumir a categoria. O percentual é superior aos Estados Unidos, por exemplo, onde apenas 55% afirmam consumir o alimento. (MINTEL, 2012).

Apesar disso, o consumo per capita anual é considerado baixo se comparado ao consumo de países onde a categoria está mais presente. No Brasil o valor total é de 6,3 kg, enquanto que na França é 21,8 kg e no Reino Unido, 11,2 kg. A principal razão disso é a frequência de consumo. O brasileiro costuma consumir iogurte, mas não frequentemente. Consumir iogurte regularmente, no café da manhã ou lanche é um hábito alimentar que está começando a ser construído, principalmente entre a população da nova classe média. (MINTEL, 2012).

Estima-se que o mercado brasileiro de lácteos, em 2013, será da ordem de U\$ 35 bilhões, movimentação guiada pelas já tradicionais classes A e B, mas também por uma emergente e renovada classe média que pratica novos conceitos e percepções de consumo. Com poder de compra maior, o consumidor busca derivados de leite de maior valor agregado. (RODRIGUES; NAHAS, 2013). Há uma previsão de que o mercado continuará a apresentar um desempenho positivo nos próximos cinco anos, com um crescimento de 37,5% em valor e 27% em volume até 2017. Este crescimento significa que o preço por unidade de iogurte deve crescer aproximadamente 14% nos próximos cinco anos, sinalizando a tendência de que a frequência de consumo da categoria será ampliada a um preço médio razoável e de que a relação custo e benefício será cada vez mais valorizada pelo consumidor. (MINTEL, 2012).

Em se tratando de tipos de iogurtes, os líquidos já são mais consumidos que os tradicionais de colher. Eles estão incrementando o volume da categoria e, ainda que sejam opções mais baratas, a quantidade vendida está trazendo lucro superior aos de colher e natural. São os preferidos pelo consumidor da classe média e por isso também são alvo de investimentos dos fabricantes. Há ainda o potencial de vendas das embalagens individuais e portáteis, percebidas como conveniente e prática na ocasião de consumo fora de casa. Isso não quer dizer que os cremosos estão sendo menos apreciados. Avaliando os resultados do mercado em 2011, nota-se que o seu preço médio por quilograma (R\$ 5,50) está aproximadamente R\$ 1,30 mais caro que o do tipo líquido (preço médio de R\$ 4,20/kg). Esse posicionamento de preço alto pode ser um indicativo de que a valorização da categoria está

ocorrendo por meio deles, que de fato apresentam mais variações em qualidade e textura. Dentre as opções do mercado, eles são percebidos como os de maior valor agregado. (MINTEL, 2012).

A busca pelo valor na cadeia do leite exige da indústria também uma nova postura, com novas tecnologias, aperfeiçoamento de processo e aplicação de matérias-primas inovadoras. A consolidação dessas ferramentas contribui para formação de uma linha de produtos mais robusta. (RODRIGUES; NAHAS, 2013). As oportunidades para o setor no país são promissoras à medida que o hábito de consumo da categoria está amadurecendo. Tanto os consumidores “entrantes” quanto aqueles mais fiéis, necessitam de inovação, algo visto como estímulo para a repetição de compra e fator de extrema relevância na atual situação de mercado. (MINTEL, 2012).

A ampliação no consumo está estimulando os produtores de laticínios a investirem na oferta de variações do produto e a reforçarem sua qualidade. Uma vez que os consumidores da classe média estão buscando opções de maior valor agregado, a tendência é que de fato o crescimento em volume continue de maneira moderada, assim como deve ocorrer com a ampliação da frequência de consumo. (MINTEL, 2012).

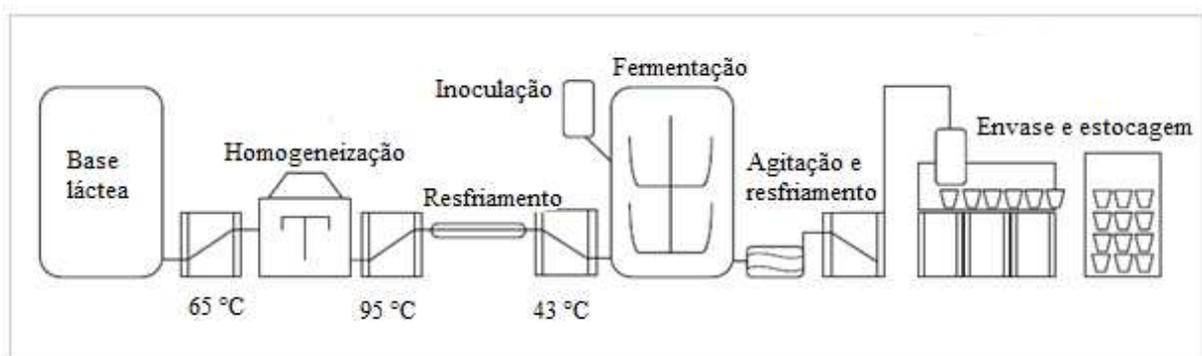
2.3 Processo de fabricação de leites fermentados

Existem dois tipos principais de iogurte no mercado: iogurte natural (ou tradicional) e iogurtes agitados (ou batidos). Iogurte natural é geralmente fermentado na própria embalagem, e tem uma textura de gel firme e sabor original associado com sua imagem mais tradicional. Iogurte batido tem seu gel agitado após a fermentação (Figura 1), o que produz uma consistência cremosa semi-sólida, e estabilizantes e polpa de frutas são normalmente adicionados. (LOVEDAY; SARKAR; SINGH, 2013).

A estrutura e as propriedades dos géis de iogurte foram extensivamente avaliados nos últimos anos. No entanto, a produção de um iogurte com ótima firmeza e estabilidade continua a ser um grande desafio. (LOVEDAY; SARKAR; SINGH, 2013). A textura é uma propriedade muito importante em iogurtes. Sabe-se que alguns fatores podem influenciar nessa propriedade, como por exemplo, o tratamento térmico ao qual o leite é submetido, o nível de proteínas e de gordura do leite, o tratamento mecânico do gel, a adição de estabilizantes e a cultura utilizada. O controle desses fatores é extremamente importante para definir a textura do produto final. (BIOTEC, 2008).

Além disso, a aparência é um importante parâmetro de qualidade do iogurte, devendo o mesmo ser viscoso, liso e sem sinais de sinérese (presença de soro de leite na superfície do produto). Iogurte com elevado nível de sinérese na superfície pode ser considerado como um produto de baixa qualidade, mesmo sendo este um fenômeno natural. (AMATAYAKUL *et al.*, 2006). A sinérese também é muitas vezes considerada o parâmetro limite na determinação da vida útil do produto. (LOVEDAY; SARKAR; SINGH, 2013). Convencionalmente, a sinérese pode ser reduzida aumentando-se o teor de sólidos no produto, o que gera aumento nos custos. Devido a isto, existe uma tendência crescente no uso de culturas iniciadoras capazes de produzir exopolissacarídeos (EPS), o que aumenta a capacidade de retenção de água pelo coágulo e minimiza a tendência à sinérese, promovendo consequentemente, o aumento da viscosidade do produto. (AMATAYAKUL *et al.*, 2006). O processo de fabricação do iogurte está ilustrado na Figura 1.

Figura 1 – Processo de fabricação do iogurte.



Fonte: adaptado de MONTEIRO (2012).

2.3.1 Papel dos constituintes

Há um grande interesse no valor nutricional e nos aspectos de saúde associados ao iogurte, mas a sua textura do ainda desempenha um papel decisivo na aceitação do produto pelo consumidor. A investigação e o desenvolvimento de iogurtes estão voltados para o controle da textura do gel, a redução da sinérese, a melhora da firmeza e a redução do tempo de geleificação. (LOVEDAY; SARKAR; SINGH, 2013).

A textura firme é obtida através da agregação das moléculas de caseína do leite, quando o pH é reduzido pela cultura. Vários fatores influenciam a textura do iogurte: a escolha da cultura *starter*, o processamento do leite, teor de gordura e de proteínas no leite, e a adição de estabilizantes, entre outros. Controlar esses fatores é extremamente importante

para a textura final do iogurte. Uma grande parte dos produtos lácteos lançados no mercado hoje têm reduzido teor de gordura. A redução de gordura no iogurte coloca exigências elevadas na cultura, já que a gordura contribui para a textura e para o sabor. Estabilizantes são muitas vezes adicionados, mas estes tendem a dar sabores adicionais e podem causar uma textura de pudim. Estirpes produtoras de exopolissacarídeos podem ser usadas para gerar a textura e espessura desejadas na boca, e ao mesmo tempo dar um sabor limpo e agradável. (CHR HANSEN, 2006).

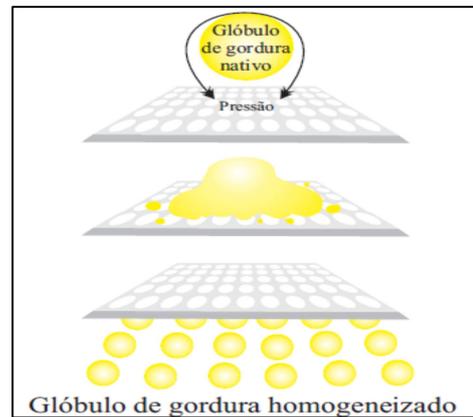
A adição de hidratos de carbono (frutose, sacarose, etc.) no leite antes da fermentação pode ter um efeito sobre os perfis tanto de fermentação quanto de textura. Em relação ao tempo de fermentação, um efeito adverso pode ser observado quando os níveis de sacarose atingem 10 a 15%. A influência do açúcar varia de cultura para cultura. O nível crítico de sacarose adicionado antes da fermentação é tipicamente de cerca de 10%. Abaixo deste nível, o tempo de fermentação não é afetado pela maioria das culturas. Algumas culturas ainda exibem um tempo de fermentação mais rápido em torno de 7 - 8% de açúcar adicionado. (CHR HANSEN, 2006). A adição de sacarose ao leite aumenta os tempos de fermentação em decorrência da diminuição da atividade de água e do aumento da pressão osmótica. O grau de interferência varia de acordo com a sensibilidade da cepa. Em geral, a velocidade de acidificação começa a ser afetada a partir de 4% de sacarose e o *L. bulgaricus* é o mais afetado. (VIA LÁCTEA, 2009).

Estabilizantes podem ser utilizados para aumentar a cremosidade e evitar a separação de soro, principalmente. Os estabilizantes podem também ser aplicados quando se deseja diminuir o teor de proteínas sem perder fortemente as características finais do produto, principalmente textura, cremosidade e sensação aquosa. São normalmente mesclas de gelatina, amidos modificados e pectinas, embora cada um desses componentes possam ser utilizados isoladamente. Eles podem ser também responsáveis por geleificação, textura gomosa e separação do soro, se aplicados de forma incorreta ou em excesso. (SALES, 2010).

2.3.2 Homogeneização e pasteurização

A homogeneização é o processo baseado na quebra mecânica dos glóbulos de gordura, com a finalidade principal de evitar a sua separação com formação da linha de produtos na superfície. O processo ocorre conforme demonstrado na figura a seguir (Fig 2).

Figura 2 – Representação esquemática do processo de homogeneização



Fonte: VIA LÁCTEA (2014).

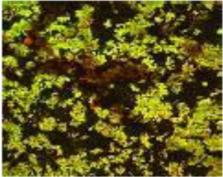
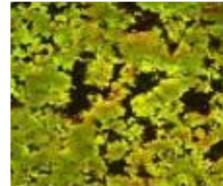
A operação de homogeneização tem a finalidade de promover a dispersão homogênea dos constituintes da mistura-base do iogurte, aumentar a viscosidade e sua estabilidade, além de melhorar as qualidades organolépticas do produto. (FERREIRA, 2008). O leite utilizado na fabricação de iogurtes é normalmente homogeneizado (15 – 20 MPa) e tratado termicamente a temperaturas entre 85 °C e 93 °C para reduzir a carga microbiana e desestabilizar a K-caseína, aumentar a estabilidade do iogurte, a consistência e a textura e também para diminuir a separação de soro durante o armazenamento. (SERRA *et al.*, 2007; FELLOWS, 2006). Durante a homogeneização, os pequenos glóbulos de gordura são incorporados na rede de proteínas e, assim, diminuem a sinérese e provocam incremento da textura. (CHANDAM, 2006). O tratamento térmico causa modificações importantes na caseína e nas proteínas do soro. As proteínas do soro tornam-se mais sensíveis ao cálcio por meio deste tratamento térmico, facilitando a coagulação. A eliminação do oxigênio resultante do tratamento térmico, assim como a presença de radicais sulfídricos, provoca o abaixamento do potencial de oxidação do meio, favorecendo o crescimento das bactérias lácticas. (FERREIRA, 2008).

O tratamento térmico ótimo para conseguir a melhor firmeza, a maior viscosidade e o menor dessoramento é o que consegue praticamente 100% de desnaturação da betalactoglobulina. Desta forma as proteínas do soro interagem e se ligam com a caseína, o que permite o máximo de aprisionamento de proteínas na rede de coagulação. (PEDERSEN,

2009). Como resultado das interações entre proteínas, o tratamento térmico do leite aumenta o módulo de armazenamento do gel de ácido, diminui o tempo de geleificação, reduz a sinérese e aumenta o pH ao qual a geleificação ocorre. (LOVEDAY; SARKAR; SINGH, 2013).

A homogeneização pode ser realizada em um ou dois estágios. A pressão ótima se situa na faixa de 1,5 a 2,0 x 10⁷ Pa e a temperatura entre 65 a 70 °C. (VIA LÁCTEA, 2012). A temperatura mínima para um bom efeito de homogeneização é 65 °C, mas ela é mais eficiente e eficaz quando realizada a 70 – 75 °C. Temperaturas inferiores a 65 °C facilitam a formação de grumos. (VIA LÁCTEA, 2014). Na fabricação de produtos com teor de gordura entre 3,5 e 5,0%, aumentando-se a pressão de 1,0 para 2,0 x 10⁷ Pa e passando de 1 para 2 estágios, obtém-se um efeito equivalente a um extra de 1% de proteína ou 3% de leite em pó adicionados ao leite. (VIA LÁCTEA, 2012). A influência de fatores chaves da homogeneização são demonstrados na tabela 1.

Tabela 1 - Influência de fatores chaves da homogeneização

Homogeneização - pressão	Descrição do iogurte
50 bar	 <ul style="list-style-type: none"> - relativamente baixa textura e cremosidade; - sensação aquosa; - tendência a separação de soro.
100 bar	 <ul style="list-style-type: none"> - ainda baixa textura e cremosidade; - menos tendência à separação de soro.
150 bar	 <ul style="list-style-type: none"> - cremoso; - alta viscosidade; - baixa tendência à separação do soro.
200 bar	 <ul style="list-style-type: none"> - cremosidade alta; - alta viscosidade; - baixíssima tendência à separação de soro; - elevada distribuição de gordura.

Fonte: adaptado de SALES (2010).

A operação de homogeneização quebra os coágulos de gordura em glóbulos menores que se recobrem com uma membrana formada, na sua maior parte, por submicelas de caseína. Com isso, ocorre aumento da densidade desses glóbulos e redução na sua tendência à aglutinação. O aumento da viscosidade causado pela homogeneização está relacionado à mudança na capacidade de retenção de água das proteínas do leite, reduzindo também a sinérese. (FERREIRA, 2008).

O importante é conseguir glóbulos de gordura pequenos, totalmente cobertos por proteínas de diâmetro menor que 2 micrômetros e sem aglomeração de glóbulos graxos, para se obter um efeito idêntico àquele que se obteria caso houvessem proteínas extras na rede. Ao mesmo tempo obtém-se mais firmeza, maior viscosidade e bloqueia-se a saída do soro. (PEDERSEN, 2009).

Os efeitos do impacto da homogeneização em constituintes específicos do leite são os seguintes (VIA LÁCTEA, 2008; FERREIRA, 2008; VIA LÁCTEA 2014):

1. aumento da viscosidade: redução do tamanho do glóbulo de gordura e aumento da adsorção sobre as micelas de caseína, o qual aumenta eficazmente o volume total da matéria suspensa;
2. aumento da digestibilidade;
3. aumento da cor branca: devido ao aumento do número de glóbulos de gordura que afetam a reflexão da luz; gerando sabor mais cremoso e mais leve;
4. aumento da lipólise: devido ao aumento da superfície total de gordura e à destruição da membrana do glóbulo de gordura, as quais facilitam a lipólise pelas bactérias da cultura iniciadora;
5. maior eficiência na mistura: especialmente se o leite é enriquecido com leite em pó ou outros concentrados;
6. aumento no teor de fosfolípidos: a ação física sobre o glóbulo de gordura transfere mais material da membrana para o leite desnatado;
7. diminuição do tamanho dos glóbulos de gordura: previne a formação da chamada linha de creme, especialmente durante a incubação;

8. diminuição da estabilidade proteica: mudanças na interação proteína-proteína resultante de alguma desnaturação e alteração no equilíbrio mineral;

9. transferência da caseína: transferência parcial da caseína para a fase desengordurada para formar uma nova membrana ao redor dos recém formados glóbulos de gordura;

10. diminuição da sinérese: aumento da capacidade de absorção de água devido à interação caseína glóbulo de gordura além de outras interações proteína-proteína; maior estabilidade do coágulo.

Por outro lado, a homogeneização pode apresentar duas desvantagens: aumento da sensibilidade do leite à luz facilitando a oxidação da gordura e a ocorrência de lipólise, sobretudo se não acompanhada de tratamento térmico. (VIA LÁCTEA, 2014).

Diferentes relações de tempo e temperatura podem ser utilizados para o tratamento térmico da base de leite, para a sua pasteurização, como por exemplo, 85 °C durante 30 min, 90-95 °C durante 3-5 minutos ou 115 °C durante 3 segundos. Na produção de iogurte, os efeitos do tratamento pelo calor podem ser resumidos como demonstrado a seguir e na Tabela 2. (CHR HANSEN, 2006; SALES, 2010):

1. destruição e eliminação de bacteriófagos, patógenos e outros microrganismos indesejáveis;

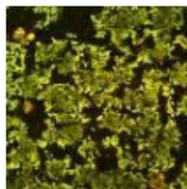
2. mudança das propriedades físico-químicas dos constituintes do leite, principalmente a desnaturação de β -lactoglobulina e interação com κ -caseína dando uma significativa elevação na textura do produto final;

3. produção de componentes que estimulam as culturas iniciadoras.

4. aumenta a capacidade de ligar água das proteínas;

5. reduz o nível de oxigênio da mescla.

Tabela 2 – Influência de fatores chaves - pasteurização.

Pasteurização - temperatura		Descrição do iogurte
85 °C/5 min		- relativa baixa viscosidade; - sensação aquosa.
90 °C/5 min		- alta viscosidade; - alta cremosidade.
95 °C/5min		- alta cremosidade; - alta viscosidade (mesma que 90 °C/5 min); - alta estrutura proteica

Fonte: adaptado de SALES (2010).

2.3.3 Fermentação Láctica

As bactérias lácticas são um grupo grande e heterogêneo de bactérias gram-positivas. (SHILINGER; HOLZAPFEL, 2003). A função principal da cultura no iogurte é a de gerar ácido láctico a partir da fermentação do açúcar principal do leite, a lactose. As características reológicas do gel são regidas pela composição do leite, temperatura e tempo de pasteurização do leite, do tipo e quantidade de cultura de arranque utilizada para inocular o leite, condições de temperatura de fermentação e armazenamento do produto final. (TAMINE, 1999). Elas são perfeitamente adaptadas a ambientes ricos em nutrientes e fontes de energia e seu metabolismo destina-se à produção de ácido para superar outras bactérias que compartilham o mesmo habitat. (SHILINGER; HOLZAPFEL, 2003).

A incubação do leite adicionado à cultura é necessária para a formação do gel, que ocorre em duas etapas. A primeira consiste no desdobramento da cadeia proteica e na exposição dos aminoácidos capazes de formar ligações de hidrogênio. Na segunda fase, ocorrem as ligações hidrogeniônicas com absorção de água, e conseqüentemente, a formação

do gel. A 0,65% de acidez, o sabor, o aroma e a textura característicos do iogurte já estão desenvolvidos e, então, deve-se proceder ao resfriamento, que deve ser realizado gradualmente até atingir 10 °C, com a finalidade de preservar a textura. Após alcançar a temperatura de resfriamento, a massa é quebrada e homogeneizada, para evitar a permanência de pequenos grumos. (MONTEIRO *et al.*, 2012).

Com relação à temperatura, considerando-se a faixa de 38 a 45° C, a velocidade de acidificação aumenta com a elevação da temperatura. (VIA LÁCTEA, 2009). A seleção da temperatura de incubação afeta, de modo geral, a qualidade do iogurte. Existem métodos de alta temperatura (3 horas a 42 °C) e baixa temperatura (7-8 horas a 30-37 °C) de incubação para a fabricação de iogurte. Geralmente a temperatura elevada (curto período de tempo) na incubação é usada na produção de iogurte uma vez que permite uma produção mais rápida, e assim, é mais econômica para as fábricas de laticínios. O tempo de incubação escolhido não deve ser inferior a 3 horas, para permitir a produção de substâncias aromáticas e evitar o excesso de acidificação. (SEYDIM; SEZGIN; SEYDIM, 2005).

Normalmente são utilizadas, pela indústria de laticínios, para a produção de iogurte, culturas compostas por *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* que fermentam a lactose para suas necessidades energéticas. Os principais metabolitos são D (-) e / ou L (+) ácido láctico e também compostos aromáticos, tais como o acetaldeído, acetona, acetoína e / ou diacetil. (CHR HANSEN, 2006). A molécula de lactose entra na célula microbiana, onde é hidrolisada em glicose e galactose e catabolizada através de estágios múltiplos de fosforilação para ácido láctico. *S. thermophilus* dominam a fase inicial da fermentação do iogurte. (STEVENS, 2003). Ele é beneficiado pela atividade proteolítica do *Lactobacillus*, e em troca fornece dióxido de carbono que estimula os lactobacilos. (CHR HANSEN, 2006). À medida que o potencial redox é reduzido e o pH baixa de 6,5 para 5,5, o crescimento de *L. bulgaricus* é reforçado, produzindo ácido láctico e induzindo a coagulação. (STEVENS, 2003). O aumento da acidez reduz o crescimento do *S. thermophilus* e promove o crescimento do *L. bulgaricus*, responsável pela maior parte de ácido láctico e acetaldeído produzidos, que, juntamente com o diacetil, proporcionam o sabor e aroma característicos do iogurte. (FELLOWS, 2006). O entendimento deste fenômeno é crucial devido à sua importância para a produção de iogurte, já que nessa etapa ocorre a síntese de compostos aromáticos responsáveis pelo odor característico do iogurte, além de significantes modificações estruturais que definem a textura final do alimento e, conseqüentemente, sua qualidade. (ORDONÉZ, 2005).

As cepas de *S. thermophilus*, em geral, apresentam atividade proteolítica fraca ou às vezes até mesmo inexistente em razão da ausência de protease na parede. Por outro lado, *L. bulgaricus* é muito mais proteolítico. Ele hidrolisa as caseínas em pequenos peptídeos e aminoácidos assegurando tanto o seu crescimento quanto o do *S. thermophilus*. É importante ressaltar ainda que uma atividade proteolítica importante pode causar alterações sensoriais com formação, sobretudo, de sabor amargo no produto final. (VIA LÁCTEA, 2009).

Durante a incubação o pH cai e quando está abaixo de 5,8 – 5,6, o cálcio coloidal se dissocia das micelas de caseína. Gradativamente isto leva à desintegração micelar (PEDERSEN, 2009), convertendo progressivamente o complexo de cálcio / fosfato coloidal (na micela) à fração solúvel do fosfato de cálcio que se difunde para a fase aquosa do leite (TAMINE; ROBSON, 1999) e já a pH 5,5 – 5,2 a agregação das moléculas de caseína se inicia. (PEDERSEN, 2009). As moléculas de caseína agregam-se para formar estruturas com espaços vazios entre elas. É muito importante que o gel de leite não seja perturbado quando tais interações entre as micelas ocorrem. (CHR HANSEN, 2006). Enquanto mais e mais fosfato de cálcio retido entre as caseínas é dissolvido, estando o leite em repouso, um gel láctico visível é formado pelas ligações eletrostáticas e hidrofóbicas. Ocorre então a contração dos agregados de caseína e este rearranjo leva à formação da matriz proteica que é o iogurte que conhecemos, que consiste de cadeias micelares e aglomerados, em pH ao redor de 4,7. Abaixo de pH 4,6, as ligações de cálcio dentro das submicelas de caseína também começam a se solubilizar. (PEDERSEN, 2009). Como o ácido se acumula durante a fermentação do açúcar, o pH diminui progressivamente até o ponto isoelétrico da caseína, provocando sua precipitação e formação da coalhada. (CHANDAN, 2006).

O ácido láctico produzido também dá o sabor característico ao iogurte. Bactérias produtoras de ácido láctico possuem a enzima lactato desidrogenase, para síntese de lactato a partir de piruvato. (TAMINE; ROBSON, 1999).

Além das modificações nas proteínas, lipídios e lactose, ocorrem outros de grande importância pra os produtos lácteos fermentados: são as modificações relativas à produção de antibióticos naturais (bacteriocinas). O *L. bulgaricus* produz *bulgarican*. Estas substâncias têm efeito sobre algumas bactérias gram-positivas, gram-negativas, patogênicas e não-patogênicas. Além de bacteriocinas, há produção de vitaminas, como B6, niacina, ácido fólico e B12, aumentando o valor nutritivo dos produtos fermentados, quando comparados com o leite in natura. (FERREIRA, 2008).

2.3.3.1 *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*

S. thermophilus é uma das mais importantes bactérias ácido lácticas do ponto de vista comercial (QUIBERONI *et al.*, 2010) e é de grande importância para a indústria de alimentos, uma vez que é largamente utilizado na fabricação de produtos lácteos. Um dos principais papéis na fermentação do leite é fornecer rápida acidificação. Além disso, possui várias outras propriedades tecnológicas, tais como o metabolismo do açúcar, utilização de galactose, atividade proteolítica e atividade de urease. (TOMAR; MAHESWARI; SIGH, 2010).

Quase todos os *Streptococos* são patogênicos para o homem ou animal, com exceção do *S. thermophilus*, uma cultura de arranque multifuncional com relação à acidificação, proteólise, formação de sabor e exopolissacarídeos, propriedades que são benéficas para o iogurte e o queijo. (VUYST *et al.*, 2011).

S. thermophilus possui uma capacidade limitada para utilização de carboidratos, sendo que sua função primária na fermentação de leite industrial é a conversão da lactose para lactato em temperaturas elevadas. *S. thermophilus*, ao contrário de muitas outras bactérias gram-positivas, prefere lactose ao invés de glicose como sua primária fonte de energia e carbono. *S. thermophilus* não é capaz de metabolizar a galactose e expele este açúcar para o meio durante a fermentação da lactose. (TOMAR; MAHESWARI; SIGH, 2010).

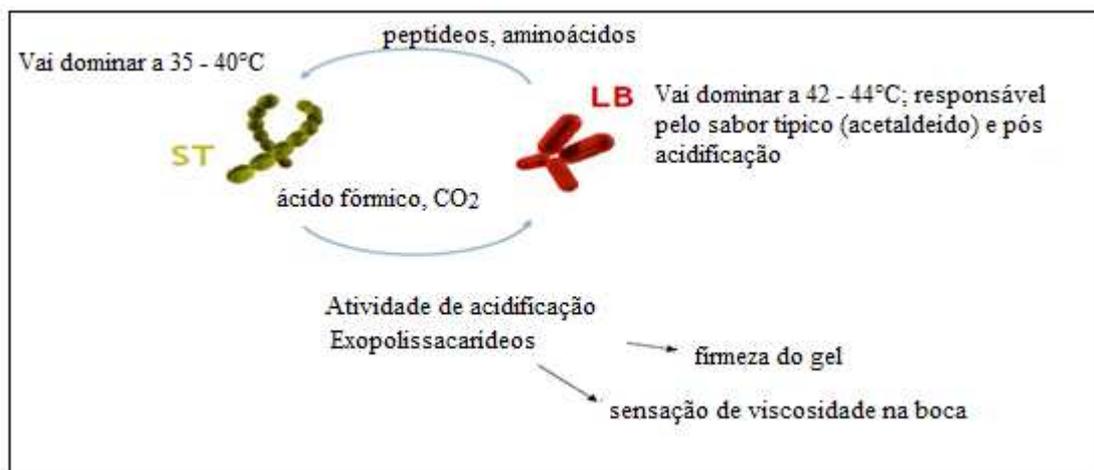
Diferentes níveis de ureia no leite podem levar à taxas imprevisíveis de acidificação durante os processos de fermentação, devido ao efeito tampão causado, reduzindo a taxa de diminuição do pH e conseqüentemente aumentando o tempo de fermentação, o que pode afetar a textura e umidade do produto final. Além disso, um atraso na acidificação pode aumentar os custos do processo de fabricação. *S. thermophilus* é a única bactéria ácido láctica que exibe significativa atividade de urease. (TOMAR; MAHESWARI; SIGH, 2010).

O *L. bulgaricus* é conhecido atualmente como *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*. A espécie é homofermentativa e este organismo fermenta menos açúcares, produz d (+) lactato e acetaldeído de lactose no leite, e algumas cepas produzem exopolissacarídeos. (TAMINE; ROBSON, 1999).

2.3.3.2 Sinergia entre *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*

Uma combinação entre *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*, que crescem de forma sinérgica, são amplamente utilizados em conjunto para a produção de iogurtes. (ÖZKAYA; ASLIM; OZKAYA, 2007). Os *S. thermophilus* se beneficiam da forte proteólise dos *L. bulgaricus* e em troca produzem CO₂ que estimulam os *L. bulgaricus* (Fig. 3). (PEDERSEN, 2009; CHR HANSEN, 2013).

Figura 3 – Interação entre *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*



Fonte: adaptado de CHR HANSEN (2013).

As taxas de produção de ácido e de sabor por arranque em iogurte contendo tanto *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* são consideravelmente mais elevadas do que por um dos dois organismos cultivados separadamente. (CHANDAN, 2006).

O *L. bulgaricus* produz metabólitos necessários (aminoácidos e peptídeos) pelo *S. thermophilus* (que liberta o ácido fórmico e o CO₂ produzido). (BADEL; BERNARDI; MICHAUD, 2011; OLIVEIRA et. al., 2012). Este fenômeno simbiótico foi estudado por vários autores, que observaram um efeito positivo de co-cultura em relação a monoculturas em termos de crescimento, acidificação, produção de sabores e exopolissacarídeos, e de proteólise. (OLIVEIRA et al., 2012).

As cepas de *S. thermophilus*, em geral, apresentam atividade proteolítica fraca ou às vezes até mesmo inexistente em razão da ausência de protease na parede. Atualmente, cepas com este perfil tem sido muito buscadas em decorrência, principalmente, da demanda pela obtenção de produtos cada vez mais suaves. Por outro lado, *L. bulgaricus* é muito mais proteolítico. Ele hidrolisa as caseínas em pequenos peptídeos e aminoácidos assegurando tanto o seu crescimento quanto o do *S. thermophilus*. (VIA LÁCTEA, 2009).

O entendimento deste fenômeno é crucial devido à sua importância para a produção de iogurte, já que nessa etapa ocorre a síntese de compostos aromáticos responsáveis pelo odor característico do iogurte, além de significantes modificações estruturais que definem a textura

final do alimento e, conseqüentemente, sua qualidade. (ORDONÉZ, 2005).

2.3.3.3 Culturas produtoras de EPS

Aparência e características físicas são importantes parâmetros de qualidade do iogurte, devendo ser viscoso, liso e sem sinais de sinérese. Iogurte com elevado nível de sinérese na superfície pode ser considerado como um produto de baixa qualidade, mesmo sendo este um fenômeno natural. Convencionalmente a sinérese pode ser reduzida aumentando-se o teor de sólidos no produto, o que gera aumento nos custos. Devido a isto, tem havido uma tendência crescente no uso de culturas iniciadoras que são capazes de produzir exopolissacarídeos (EPS), o que aumenta a capacidade de retenção de água e conseqüente o aumento de viscosidade. (AMATAYAKUL *et al.*, 2006). Os exopolissacarídeos (EPS) são biopolímeros ou gomas hidrossolúveis que estão ligados à parede celular ou são excretados para o meio, durante o processo de fermentação, como uma substância viscosa. (BIOTEC, 2008). Os EPS produzidos pelas bactérias ácido lácticas são conhecidos por atuarem como texturizadores, aumentando a viscosidade do produto final, passando a hidratar a água através da interação com outros constituintes do leite, tais como as micelas de caseína, para reforçar a rigidez da rede de caseína. (SAIJA; WELAMN; BENNET, 2010).

Muitas bactérias ácido lácticas são capazes de produzir polissacarídeos extracelulares (EPS). (MENDE *et al.*, 2012). O emprego de culturas com alta produção de EPS possibilita a diminuição de 1 a 2 % no conteúdo de leite em pó adicionado à formulação e permite a obtenção de produtos de alta viscosidade e cremosidade, mesmo com baixo conteúdo de gordura (PEDERSEN, 2009), sendo frequentemente utilizadas para substituir espessantes e estabilizantes, como gelatina, pectina e gomas à formulação do iogurte. (MENDE *et al.*, 2012).

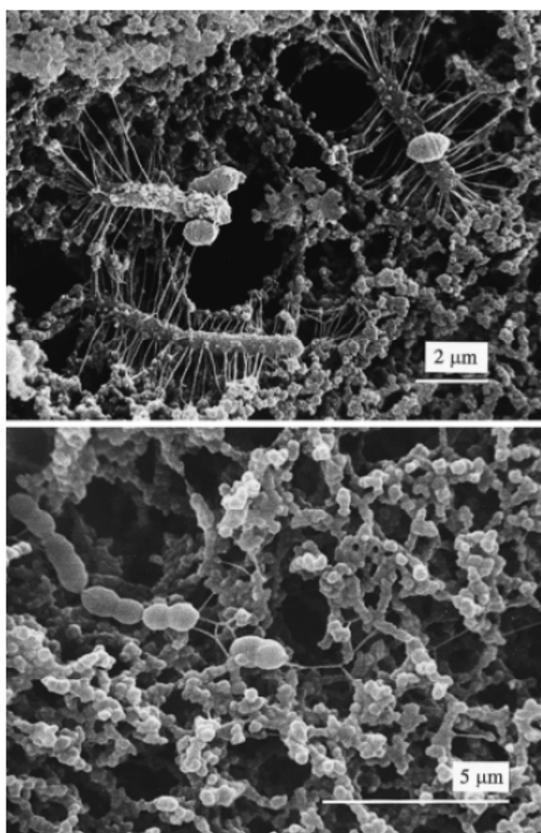
Dentro da sólida matriz de caseína, o soro de leite e outros componentes solúveis do leite e de gordura estão aprisionados, a menos que a coalhada seja indevidamente interrompida por manuseio inadequado ou bombeamento excessivo. A geração excessiva de ácido por uma fermentação não controlada (controle inadequado de temperatura, resfriamento rápido) irá resultar na redução da coalhada e a expulsão de componentes do soro. (CHANDAN, 2006).

O uso de EPS produzido através das bactérias ácido lácticas resulta em um produto final seguro, natural e saudável, com estabilidade melhorada, que pode ter um impacto importante sobre o desenvolvimento de novos produtos. (LIN; CHIEN, 2007).

A produção desta substância polissacarídica é afetada pela seleção da temperatura de incubação. A aplicação de baixas temperaturas de incubação provoca aumento na produção do polissacarídeo, que são compostos principalmente de glicose, galactose e ramnose. (SEYDIM; SEZGIN; SEYDIM, 2005).

Os EPS são sintetizados pelas bactérias e logo liberados, ficando retidos na parede celular ou em estado livre no meio líquido. Dessa forma, conferem viscosidade ao meio. Em leites fermentados, os EPS estabilizam a estrutura do gel por ligações no complexo de caseína. (BIOTEC, 2008). Este fenômeno é ilustrado na Figura 4.

Figura 4 – Formação de exopolissacarídeos



Fonte: TAMINE; ROBINSON (1999).

Os EPS exercem influência sobre a textura (consistência) e o “mouthfeel” (preenchimento na boca), no entanto, no que se refere à firmeza do gel, pode-se não observar uma melhoria, principalmente quando o gel é submetido a tratamentos mecânicos intensos após a fermentação. Nesses casos, esses compostos podem contribuir na melhoria da cremosidade, brilho e diminuição à tendência à sinérese. (BIOTEC, 2008).

Os EPS produzidos pelo *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* têm uma importante função

na textura e estabilidade do iogurte, além de prevenir a sinérese. A quantidade e a composição de EPS produzidas pelas bactérias lácticas dependem de alguns fatores, como a temperatura, pH inicial, fonte de carbono, disponibilidade de minerais, vitaminas e, principalmente, do microrganismo produtor. (BIOTEC 2008).

2.4 Resfriamento do iogurte

Uma vez que os microrganismos do iogurte mostram atividade de crescimento limitado em torno de 10 °C, o objetivo primordial do resfriamento é o de baixar a temperatura do coágulo de 30 – 45 °C a menos de 10 °C (no máximo cerca de 5 °C) tão rapidamente quanto possível, de modo a controlar a acidez do produto final. (TAMINE, 1999). Na acidez necessária, o gel é quebrado ou durante o resfriamento no tanque ou antes de ser bombeado para um resfriador (placa ou tipo tubular). O tempo permitido para esvaziar o tanque de fermentação depende do nível desejado de acidez e a cultura utilizada. (CHR HANSEN, 2006).

Na fabricação de iogurtes, o gel é quebrado no final da fermentação, resfriado e envasado. Em todas essas fases de mistura e bombeamento ocorrem danos na rede proteica. Na indústria, a quebra da coalhada e o envase não são processos contínuos, sendo por este motivo realizado muitas vezes, o resfriamento em duas fases. (RENAN *et al.*, 2009).

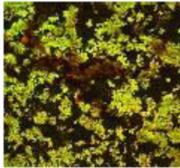
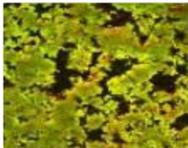
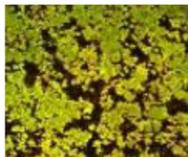
O resfriamento do iogurte pode ser realizado em uma ou duas fases. No resfriamento de uma fase, o coágulo é resfriado diretamente da temperatura de incubação para menos de 10 °C para posterior envase. (TAMINE, 1999). Existe um equilíbrio entre o controle de pós-acidificação e textura do produto final, como um resfriamento muito rápido pode evitar que o produto recupere a sua textura. (CHR HANSEN, 2006). Já o resfriamento em duas fases reduz a temperatura do coágulo de 45 a 30 °C a cerca de 20 °C para o envase, e a segunda etapa de resfriamento é realizado dentro da embalagem no armazenamento refrigerado. (TAMINE, 1999). O envase nesta temperatura alta pode evitar o colapso estrutural excessivo. (RENAN *et al.*, 2009). O resfriamento do iogurte até 20 a 25 °C num trocador de placas tubular, o qual está concebida para velocidade baixa do produto, resulta em baixa força de cisalhamento sobre o iogurte e baixa queda de pressão na linha de processamento. Estes efeitos minimizam os danos mecânicos provocados por bombeamento do produto. (CHR HANSEN, 2006). A viscosidade do produto diminui durante a mistura e bombeamento, mas aumenta novamente durante o armazenamento refrigerado. O produto pode ser considerado, inicialmente, como uma dispersão concentrada de partículas de proteína que estabelecem vínculos uns com os

outros durante o armazenamento. Este fenômeno é chamado de recuperação da estrutura, que ocorrem devido a produção de ácido láctico pelas bactérias após a quebra da coalhada, diminuição da temperatura durante a estocagem e a produção de exopolissacarídeos pelas bactérias durante a estocagem. (RENAN *et al.*, 2009).

O resfriamento deve ser cuidadosamente controlado, uma vez que, sendo excessivamente rápido, conduz à sinérese. (STEVENS, 2003). O iogurte pré resfriado deve ser embalado dentro de um máximo de 1 hora, a fim de manter a qualidade desejada do produto. (CHR HANSEN, 2006).

Vale a pena notar que, se o iogurte não é tratado cuidadosamente (por exemplo, o resfriamento do produto a temperaturas da ordem de 15 °C combinado com a utilização de bombas de alta velocidade), o dano estrutural para o coágulo é grande e a capacidade de recuperação da textura no armazenamento a frio é reduzida, sendo que um resfriamento demasiadamente rápido também pode impedir que o produto recupere a sua textura. O iogurte embalado deve ser resfriado lentamente, por exemplo, entre 20 °C e 6 °C dentro de 8 a 10 horas. (CHR HANSEN, 2006). A influência da temperatura de envase na viscosidade do iogurte é demonstrada na Tabela 3.

Tabela 3 – Influência de fatores chaves – temperatura de envase.

Temperatura de envase		Descrição do iogurte
10 °C		<ul style="list-style-type: none"> - baixa cremosidade - consistência aquosa; - tendência à separação de soro; - baixa estrutura proteica
15 °C		<ul style="list-style-type: none"> - relativa baixa cremosidade; - menor tendência à separação de soro; - consistência aquosa.
20 °C		<ul style="list-style-type: none"> - alta cremosidade; - alta viscosidade; - baixa tendência à separação de soro
25 °C		<ul style="list-style-type: none"> - altíssima cremosidade; - alta viscosidade; - baixíssima tendência à separação de soro.

Fonte: adaptado de SALES (2010).

2.5 Defeitos que podem ser encontrados na fabricação e como podem ser evitados

A qualidade do iogurte pode ser definida com uma ampla gama de critérios, tais como as características nutricionais químicas, físicas, microbiológicas e sensoriais. Assim, para alcançar uma produção de sucesso do produto, a aplicação de uma avaliação de risco e análise dos pontos críticos de controle (HACCP) ou esquema de aplicação do conceito de boas práticas de fabricação (BPF) é normalmente utilizado. Um outro controle, o que não deve ser esquecido, é a condição de higiene do equipamento de processamento. Apesar de todas estas medidas, defeitos no iogurte podem ocorrer. Recomendações e aspectos gerais relacionados a defeitos: controlar a manutenção dos equipamentos - bombas, homogeneizador, placas do trocador de calor, sistema de agitação, a calibração de pH metros e termômetros, bem como o perfil de temperatura da produção, principalmente tratamento térmico e perfis de resfriamento. (CHR HANSEN, 2006).

Os atributos físicos de géis de iogurte (por exemplo, textura, reologia e sinérese) são aspectos importantes para a qualidade e aceitação global do produto por parte dos consumidores. (LEE; LUCEY, 2010). A separação de soro é um grande defeito quando ocorre na superfície do iogurte. Por outro lado, a textura é um aspecto essencial de qualidade. Nos processos atuais, para evitar a sinérese e manter a textura, estabilizantes são adicionados ao leite como agentes espessantes. (SERRA *et al.*, 2007).

A seguir são listados possíveis pontos de padronização inadequada na base e suas prováveis consequências (VIA LÁCTEA, 2011):

1. excesso de proteína: forte viscosidade, consistência ou textura gomosa e textura áspera ao palato;
2. excesso de gordura: textura untuosa, pastosa;
3. excesso de açúcar: cristalização e baixa velocidade de fermentação;
4. excesso de estabilizante: excesso de firmeza, textura gelatinosa;
5. insuficiência de proteínas: sinérese, fraca textura e sabor aguado;
6. insuficiência de gordura: sabor e viscosidade fracos;
7. insuficiência de estabilizantes: fraca estabilidade do gel que se quebra facilmente;
8. temperatura inadequada na adição do estabilizante: má solubilização, grumos, gel desuniforme, gel frágil, sinérese;
9. tempo insuficiente de mistura da base: base desuniforme ou hidratação insuficiente das

proteínas e textura inadequada.

No Apêndice A, são listados os defeitos que podem ser encontrados, as possíveis causas e possíveis soluções.

2.6 Pós-acidificação

A atividade acidificante é uma das principais funções das bactérias lácticas e pode ser caracterizada pelos parâmetros: pH ou acidez final, cinética de acidificação e pós-acidificação. Na fabricação de iogurtes, a escolha das cepas e os valores dos parâmetros tecnológicos devem ser determinados de forma a propiciar uma velocidade de acidificação compatível com as exigências da produção e uma baixa pós-acidificação durante a conservação. (VIA LÁCTEA, 2009).

O *L. bulgaricus* produz ácido láctico durante o armazenamento sob refrigeração (OLIVEIRA, 2003), levando à produção excessiva do ácido, caracterizada como a pós-acidificação. (STEVENS, 2003). A pós-acidificação, atividade acidificante dos fermentos que ocorre durante a conservação, em geral de 20 a 30 dias entre 4 e 12 °C, é própria às cepas, mas deve ser a menor possível. Ela orienta a seleção na direção de fermentos compostos por cepas pouco pós-acidificantes que permitem a obtenção de produtos com características sensoriais mais estáveis durante a vida de prateleira. (VIA LÁCTEA, 2009). É por esta razão que alguns fabricantes de iogurte utilizam culturas contendo *Lactobacillus acidophilus*. No entanto, isto aumenta o tempo de fermentação significativamente, o que é indesejável no ponto de vista produtivo. (STEVENS, 2003). É importante ressaltar também que um fermento não pode ser ao mesmo tempo muito veloz e apresentar uma excelente performance de baixa pós-acidificação. (VIA LÁCTEA, 2009). Em verdade, considerando-se a atual preferência dos consumidores por produtos mais suaves, a opção mais recomendada é a escolha de fermentos cujas cepas apresentem poderes de acidificação e pós-acidificação mais moderados. (VIA, LÁCTEA, 2009).

Alguns dos modos de controlar o desenvolvimento de ácido pelos organismos de iogurte após produção podem incluir um ou mais dos seguintes aspectos (CHR HANSEN, 2006):

1. manter o produto em 5-10 ° C;
2. iniciar o resfriamento do iogurte com um pH ligeiramente mais alto;
3. melhorar a velocidade de resfriamento e embalagem do produto;
4. reduzir a proporção de lactobacilos para os estreptococos na mistura de cultura iniciadora;
5. usar cepas de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e/ou *lactis* que produzem pouco ou nenhum ácido de pH entre 4,4 e 4,6.

2.7 Bacteriófagos

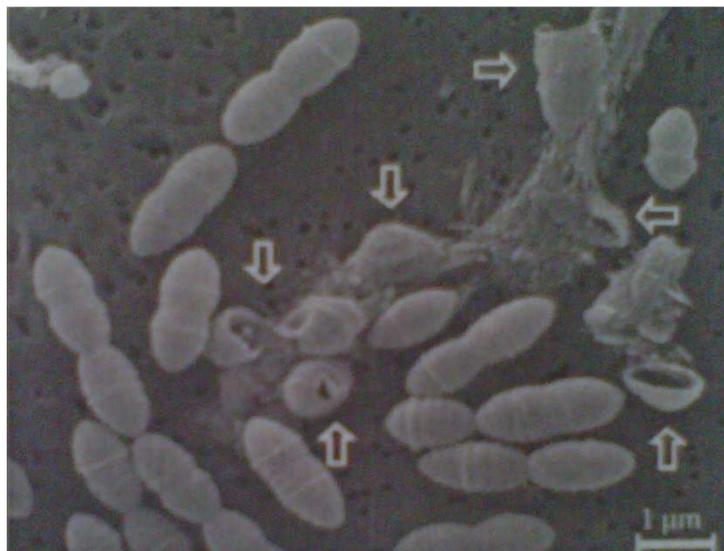
Os bacteriófagos (fagos) são a principal causa de falha na fermentação em muitos alimentos que possuem fermentação realizada por bactérias lácticas. Na área de fermentações de produtos alimentares, a ameaça permanente de contaminação do fago se manifesta particularmente em matéria de laticínios. (LAHTINEN *et al.*, 2012). Conhecidos como “vírus das bactérias”, os fagos de fato podem proliferar nas fábricas de lácteos interferindo no processo de fermentação em decorrência de um ataque às bactérias do fermento. (VIA LÁCTEA, 2012).

Devido à grandes perdas financeiras para a indústria de fermentação de leite, o controle de fagos é uma área de preocupação no manuseio de culturas lácteas. É digno de menção que os fagos também têm sido isolados em outras fermentações alimentares (como o chucrute, o café e o vinho), mas o seu papel naquelas situações não é tão destruidor como no ambiente de laticínios, devido à sua natureza líquida, a sua escala de tempo relativamente curta de fermentação, e os grandes volumes de leite utilizados, geralmente com várias utilizações sucessivas diárias das cubas de fermentação. (LAHTINEN *et al.*, 2012).

As infecções de fagos de bactérias do ácido láctico durante o processo de fermentação resultam em uma inaceitável baixa taxa de produção de compostos de ácido láctico e sabor. Assim, a atividade de fermentação ou é gravemente afetada, ou, em casos extremos, um completo fracasso de crescimento inicial pode ocorrer. (LAHTINEN *et al.*, 2012). Um ataque fágico pode, portanto, acabar permitindo o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis e determinar a redução da qualidade do produto ou até mesmo impedir a sua produção. (VIA LÁCTEA, 2012). As infecções de fagos começam com a absorção do fago pelas moléculas

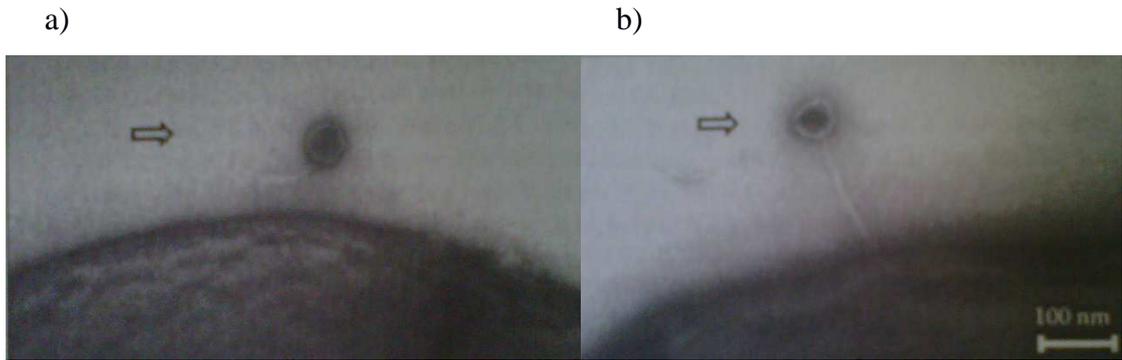
receptoras na superfície das células bacterianas, seguido por injeção e replicação do genoma do fago, e finalmente lise celular com a liberação de fagos (Figs. 5 e 6) (LAHTINEN *et al.*, 2012).

Figura 5 - Imagem de microscópio eletrônico de varredura que demonstra o efeito deletério de infecção por bacteriófago numa cultura de *S. thermophilus*. As setas indicam as células que já sofreram lise e lançaram seu conteúdo celular com proliferação de fagos.



Fonte: LAHTINEN *et al.* (2012).

Figura 6- ilustração do início do ciclo de infecção do fago. Partícula de fago na figura (a) ainda contém DNA na cabeça, enquanto que na figura (b) o DNA já foi ejetado na célula hospedeira. Note-se também a alteração morfológica da superfície da célula infectada na figura (b). É esperada a ocorrência da lise celular induzida pelo fago cerca de meia hora depois da absorção



Fonte: LAHTINEN *et al.* (2012).

Baseado nesses estudos, o presente trabalho propõe selecionar uma cultura microbiana comercial adequada para a Cooperativa Agropecuária Petrópolis Ltda - Piá. A cultura microbiana selecionada deve apresentar baixa pós-acidificação e alta viscosidade nos produtos Bebida Láctea e Iogurte.

3 METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado em uma indústria de laticínios – Cooperativa Agropecuária Petrópolis Ltda - localizada na região sul do país e dividido em duas etapas. Na primeira etapa, as culturas microbianas utilizadas atualmente pelo laticínio foram avaliadas; e, na segunda etapa novas culturas microbianas comerciais foram testadas para os produtos bebida láctea e iogurte em duas temperaturas de resfriamento diferentes antes do envase. Todas as análises foram efetuadas nos laboratórios do laticínio.

3.1 Amostragem

Todas as culturas microbianas foram avaliadas através de testes industriais com volume de 5.000 kg de produto (40 testes no total) e foram realizados para os dois tipos de leites fermentados atualmente produzidos pela empresa: Bebidas Lácteas e Iogurtes. Cada cultura microbiana foi testada em duas diferentes temperaturas de envase: 10 e 15 °C.

Inicialmente foram realizados testes com as três culturas microbianas atualmente utilizadas pelo laticínio. Com o objetivo de conhecer bem esta performance, os testes foram realizados em duplicata e para a expressão dos resultados foi utilizada a média dos valores encontrados. Nesta etapa foram realizados 24 testes industriais.

Na segunda etapa foram testadas cinco culturas microbianas comerciais diferentes também para os produtos Bebida Láctea e três culturas para o produto Iogurte e nas temperaturas de resfriamento de 10 °C e 15 °C. Nesta etapa foram realizados 16 testes industriais de 5.000 kg cada. Como todos os testes realizados foram em escala industrial nesta etapa não foram realizadas em duplicata, em função do tempo hábil e para não prejudicar as atividades do laticínio.

As novas culturas microbianas foram selecionadas através de reuniões com diferentes fornecedores, onde foi discutido o objetivo principal do trabalho, que seria uma cultura microbiana com alta viscosidade e baixa pós-acidificação. Todas as culturas testadas possuem a mesma composição bacteriana: *L. bulgaricus* e *S. termophilus*. As culturas atuais foram chamadas de A, B e C e as novas culturas testadas de D, E, F, G e H. As culturas A, B, D, E e F eram congeladas e as culturas D, G e H liofilizadas.

3.2 Cinética de fermentação

O tempo de fermentação foi iniciado com a adição da cultura microbiana ao tanque de fermentação. O final da fermentação foi determinado quando o produto atingiu o ponto

isoelétrico das caseínas, ou seja, pH de 4,60.

Alíquotas do produto foram coletadas assepticamente de cada teste, diretamente da cuba de fermentação, para análise de pH a cada hora de fermentação a fim de delinear a cinética de fermentação de cada cultura microbiana testada. A análise de pH foi realizada com o auxílio de pHmetro (modelo DM 22, marca Digimed) previamente calibrado com soluções tampão pH 4,00 e pH 7,00 de acordo com as recomendações do fabricante.

3.3 Pós-acidificação forçada

Tão logo o produto atingiu o ponto de quebra da coalhada (pH 4,60) foi coletada amostra de cada teste e mantido em temperatura de fermentação – em banho-maria no laboratório à 42 °C – a fim de verificar a pós-acidificação forçada de cada cultura microbiana após 6, 12 e 24 horas.

3.4 Análise de pós-acidificação e viscosidade durante o *shelf life*

Nos testes industriais para cada cultura microbiana, os produtos foram resfriados à temperatura de 10 °C e 15 °C antes do envase. Um palete do iogurte (920 unidades) foi armazenado durante 5 dias em câmara fria à temperatura de 5 à 10 °C a fim retirar as amostras do meio do palete, com o intuito de verificar a situação mais crítica de resfriamento. Após 5 dias, quando todo o palete já atingiu a temperatura da câmara fria, amostras foram retiradas e armazenadas para as análises posteriores e o restante do palete liberado para comercialização.

Após o envase do produto foi realizado o acompanhamento da pós-acidificação e viscosidade através da análise de pH e viscosidade durante o *shelf life*. Essas análises foram realizadas 24 horas e 48 horas após o envase e também após 5 dias, 10 dias, 15 dias, 30 dias e 45 dias de vida útil.

A análise de pH foi realizada com o auxílio de pHmetro (modelo DM 22, marca Digimed) previamente calibrado com soluções tampão pH 4,00 e pH 7,00 de acordo com as recomendações do fabricante. A análise de viscosidade foi realizada em viscosímetro Brookfield utilizando a agulha 2, na velocidade de 0,3 rpm e por 20 segundos.

3.5 Análise de verificação de dessoramento

Foi verificado também o dessoramento de cada teste realizado, após 15 dias de armazenamento. Neste ensaio, foram adicionados 500 mL de produto, logo após o envase, em frascos transparentes de vidro iguais. Após 15 dias em temperatura de refrigeração entre 5 à 10 °C o dessoramento foi medido em milímetros com o auxílio de uma escala.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Tempo de fermentação

As culturas atualmente utilizadas pelo laticínio serão chamadas de culturas A, B e C e as novas culturas testadas serão denominadas culturas D, E, F, G e H. O tempo médio de fermentação obtido com os testes realizados com as culturas atuais estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Tempo médio de fermentação obtido durante a fermentação da bebida láctea e do iogurte nos testes com as diferentes culturas estudadas.

	Bebida Láctea	Iogurte
Cultura A	04 h 05 min	04 h 16 min
Cultura B	04 h 05 min	04 h 28 min
Cultura C	04 h 18 min	04 h 01 min
Cultura D	03 h 57 min	04 h 22 mi
Cultura E	03 h 32 min	04 h 05 min
Cultura F	03 h 37 min	04 h 27 min
Cultura G	04 h 48 min	----
Cultura H	04 h 40 min	----

De acordo com os resultados encontrados, é possível observar que as culturas E e F possuem tempo de fermentação reduzido para o produto Bebida Láctea, o que é interessante do ponto de vista produtivo. Já as culturas G e H possuem performance mais lenta, levando à redução da produtividade do laticínio. Devido a este fato o estudo com estas duas culturas não foi conduzido para os iogurtes, sendo descartado.

4.2 Cinética da fermentação

A cinética da fermentação média para o produto Bebida Láctea está ilustrada na Figura 7. Ao observar os resultados, verifica-se que as culturas C (atualmente utilizada), G e H (novas culturas) possuem uma capacidade de arranque muito baixa, praticamente mantendo o mesmo pH após duas horas de incubação, sendo a fermentação acelerada apenas nas duas horas finais de fermentação. Isto pode ser causado pela baixa quantidade de *S. thermophilus* presente na cultura microbiana comercial, já que *S. thermophilus* dominam a fase inicial da fermentação do iogurte. À medida que o potencial redox é reduzido e o pH baixou

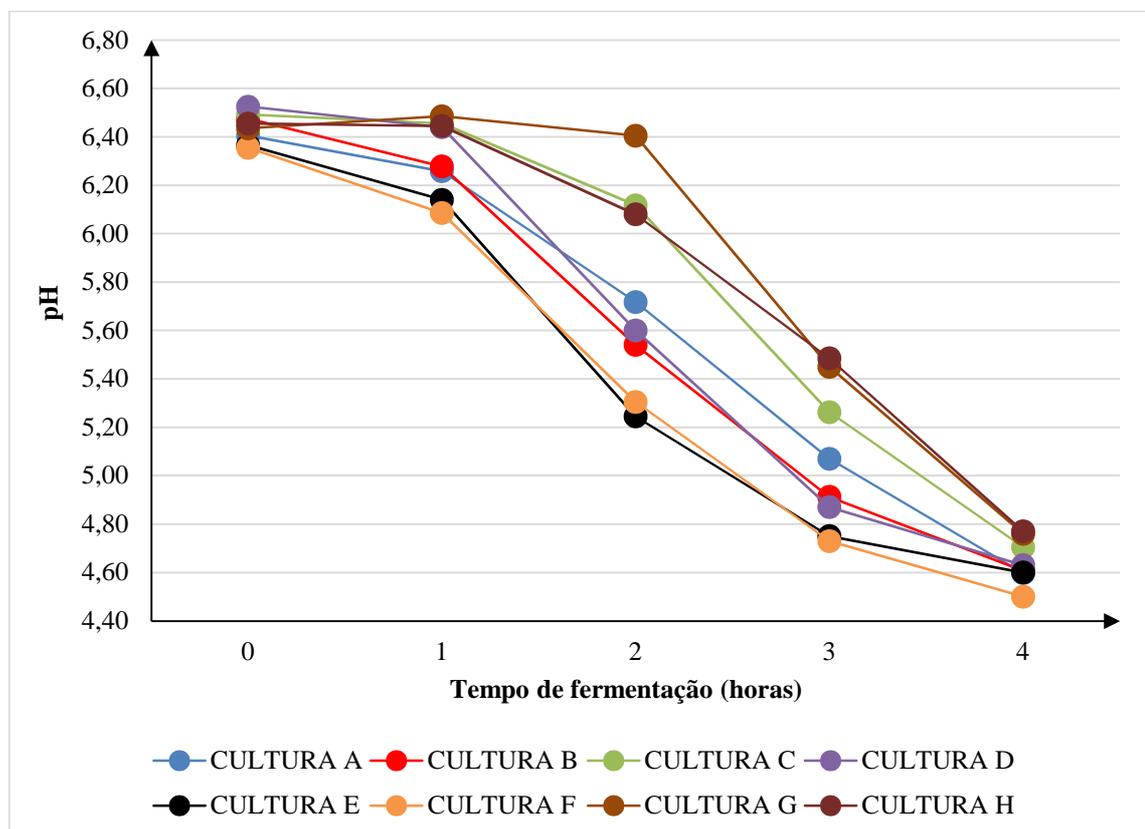
de 6,5 para 5,5, o crescimento de *L. bulgaricus* é reforçado. Abaixo de pH 5,0, os lactobacilos dominam a fermentação do iogurte, produzindo ácido láctico e induzindo a coagulação. (STEVENS, 2003). Isto pode ser prejudicial no *shelf life* do produto, no que diz respeito à pós-acidificação, já que o *L. bulgaricus* continua produzindo ácido mesmo a temperatura de 2 °C.

O *L. bulgaricus* produz ácido láctico durante o armazenamento sob refrigeração (OLIVEIRA; DAMIN, 2003), possui ligeiro crescimento à temperatura menores que 10 °C (TAMINE; ROBSON, 1999), é uma cultura resistente e continua a fermentar durante o resfriamento levando a produção excessiva de ácido láctico. (STEVENS, 2003).

Ao contrário, as culturas E e F possuem capacidade de arranque elevada, baixando o pH para 5,3 nas duas primeiras horas de fermentação, indicando alta quantidade de *S. thermophilus* presente na cultura microbiana.

O aumento da acidez reduz o crescimento do *S. thermophilus* e promove o crescimento do *L. bulgaricus*, responsável pela maior parte de ácido láctico e acetaldeído produzidos, que juntos ao diacetil, proporcionam o sabor e aroma característicos do iogurte. (FELLOWS, 2006).

Figura 7 – Cinética da Fermentação da Bebida Láctea

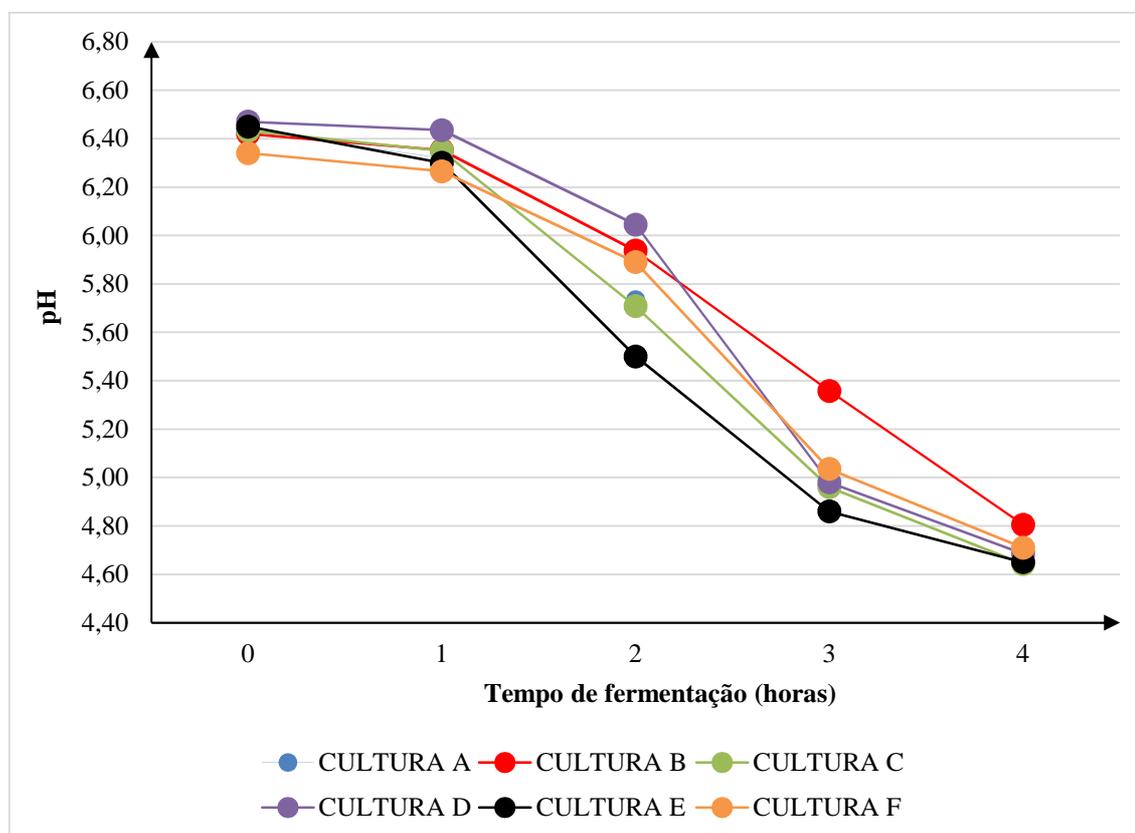


A cinética da fermentação para as culturas testadas no produto Iogurte estão ilustradas na Figura 8. A cultura D teve a performance mais lenta de arranque, baixando o pH inicial de 6,47 para apenas 6,05 após 2 horas de fermentação. Já a cultura E foi a que apresentou maior velocidade de transformação inicial de açúcar em ácido láctico, baixando o pH inicial de 6,45 para 5,05 após apenas 2 horas de fermentação.

Comparando os gráficos de cinética de fermentação para os produtos Bebida Láctea e Iogurte é possível observar que as culturas se comportam de maneira diferente para os dois produtos, indicando que a composição do meio interfere fortemente na cinética de fermentação, já que no produto Iogurte o teor de sólidos é superior em relação ao produto Bebida Láctea.

As culturas B e D, para o produto Bebida Láctea baixaram o pH em 0,93 nas duas primeiras horas e no produto Iogurte baixou apenas 0,48 e 0,43 respectivamente, ou seja, possui performance de arranque mais lenta para Iogurte. Já a cultura C apresenta característica contrária, baixou o pH em apenas 0,38 nas duas primeiras horas de fermentação para o produto Bebida Láctea e 0,73 para o produto Iogurte. As culturas A e E possuem performance semelhante para os dois tipos de produto. As diferenças mais expressivas foram encontradas nas culturas C e F. A cultura C teve uma queda de 0,38 em pH nas duas primeiras horas de fermentação para Bebida Láctea e 0,73 para o produto Iogurte. Já a cultura F apresentou característica contrária, baixando o pH em 1,05 nas duas primeiras horas de fermentação para o produto Bebida Láctea e apenas 0,45 para o produto Iogurte.

Figura 8 – Cinética da Fermentação do Iogurte



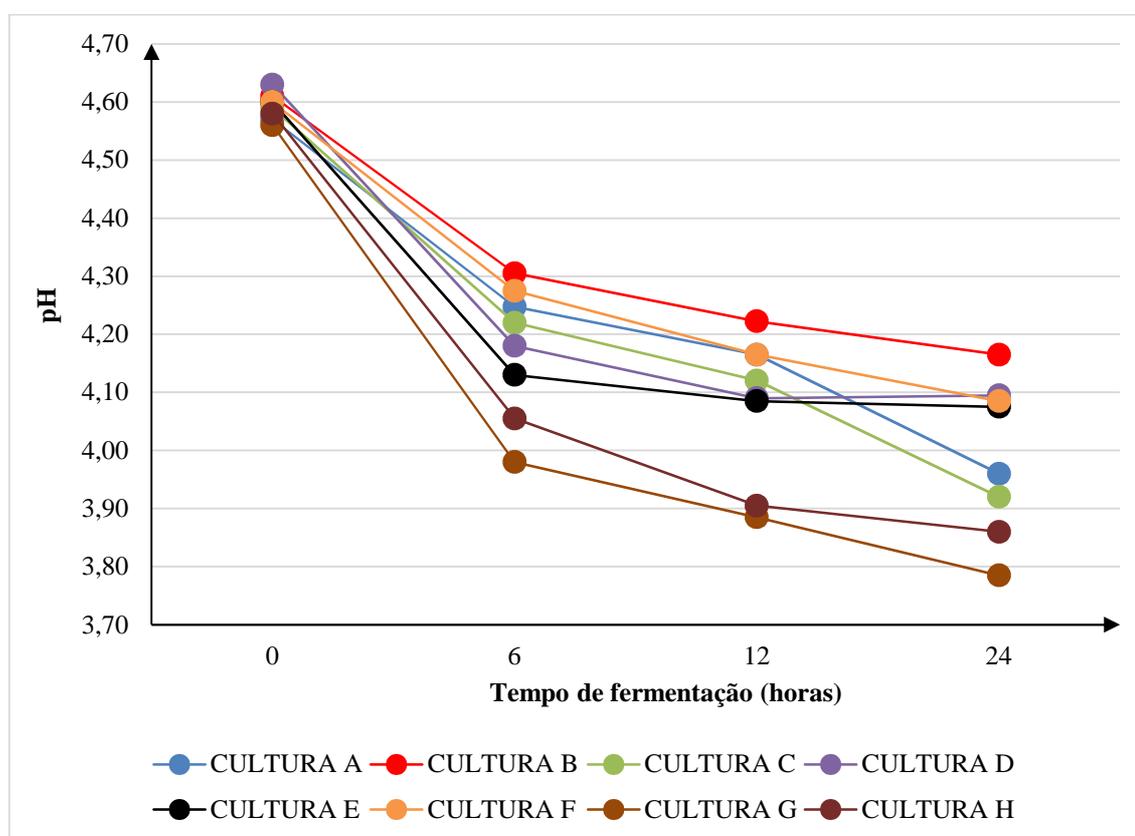
O estudo da influência das condições de cultura sobre as cinéticas de crescimento e de acidificação e sobre os rendimentos da produção permitem a obtenção de informações interessantes sobre a fisiologia de cepas bacterianas utilizadas industrialmente. Dentre essas condições, a temperatura, o valor do pH e as concentrações em substrato agem mais sobre a fase de crescimento exponencial de bactérias lácticas. (OLIVEIRA; DAMIN, 2003).

4.3. Pós-acidificação forçada

A Figura 09 ilustra os resultados de pós-acidificação forçada para o produto Bebida Láctea. O melhor resultado foi encontrado para a cultura B (umas das atualmente utilizadas pelo laticínio), a qual, mesmo após 24 horas mantida em temperatura de fermentação (42 °C) atingiu pH de apenas 4,16, o que é um indicativo muito bom para o comportamento da pós-acidificação durante o *shelf life* em temperatura de refrigeração. As outras duas culturas atualmente utilizadas pelo laticínio não apresentaram um desempenho muito bom nesta

análise, visto que a cultura A atingiu pH de 3,96 e a cultura C atingiu pH de 3,92. Já as novas culturas microbianas comerciais testadas D, E e F apresentaram excelente resultado neste teste, apresentando pH de 4,10, 4,08 e 4,07, respectivamente. As novas culturas G e H testadas apresentaram resultado não satisfatório, atingindo pH de 3,78 e 3,86 respectivamente, o que indica provável queda de pH durante o *shelf life* do produto, não sendo adequadas ao objetivo proposto.

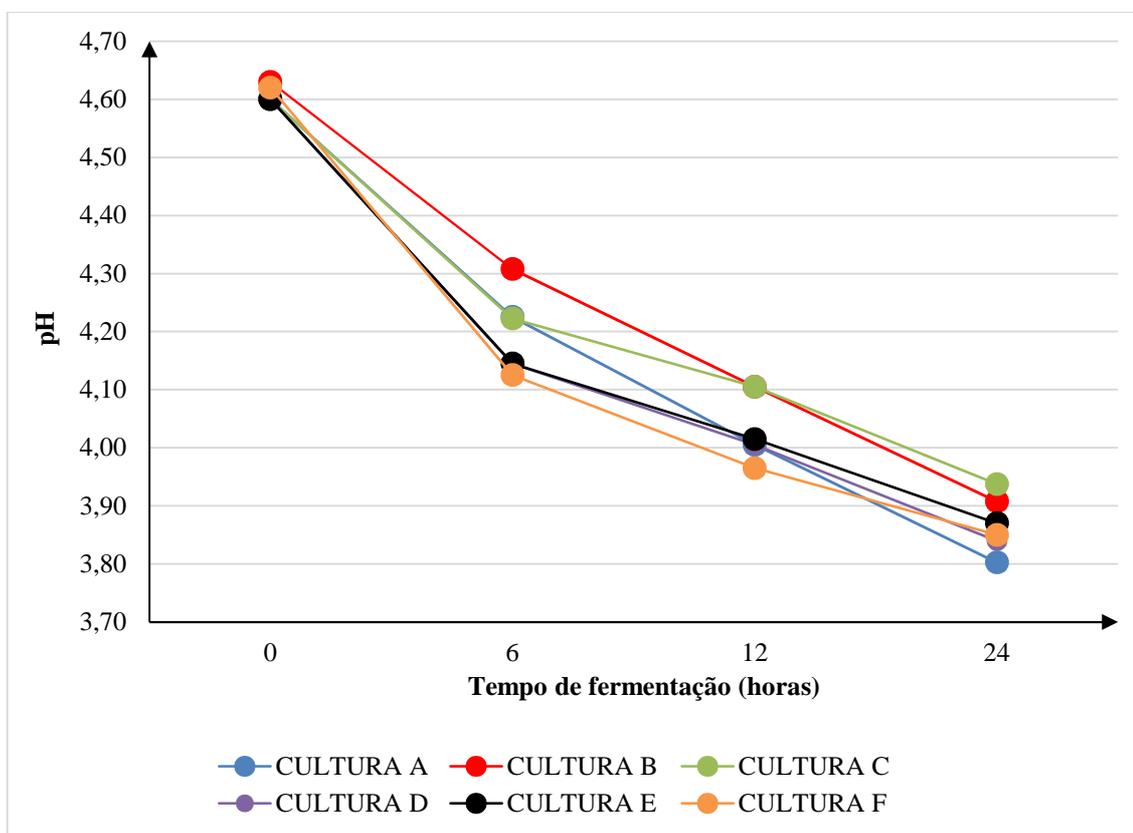
Figura 9 – Pós-acidificação forçada – Bebida Láctea



A Figura 10 ilustra os resultados obtidos para pós-acidificação forçada no iogurte. As culturas com melhor performance foram as culturas B e C (atualmente utilizadas pelo laticínio), tendo queda de pH para apenas 3,91 e 3,93 respectivamente. Interessante comentar que a cultura C teve a melhor performance para o produto Iogurte em termos de pós-acidificação forçada e uma performance ruim para o produto Bebida Láctea. A pior performance foi da cultura A (também atualmente utilizada pelo laticínio), que atingiu pH de 3,8 após 24 horas em temperatura de fermentação. Já as culturas D, E e F apresentaram performance semelhante, atingindo valores de 3,84, 3,87 e 3,85 de pH, respectivamente. As culturas G e H, por apresentarem performance ruim na Bebida Láctea, a fim de não

comprometer a qualidade do produto final (já que os testes realizados foram em escala industrial) não foram testadas no Iogurte.

Figura 10 – Pós-acidificação forçada – Iogurte



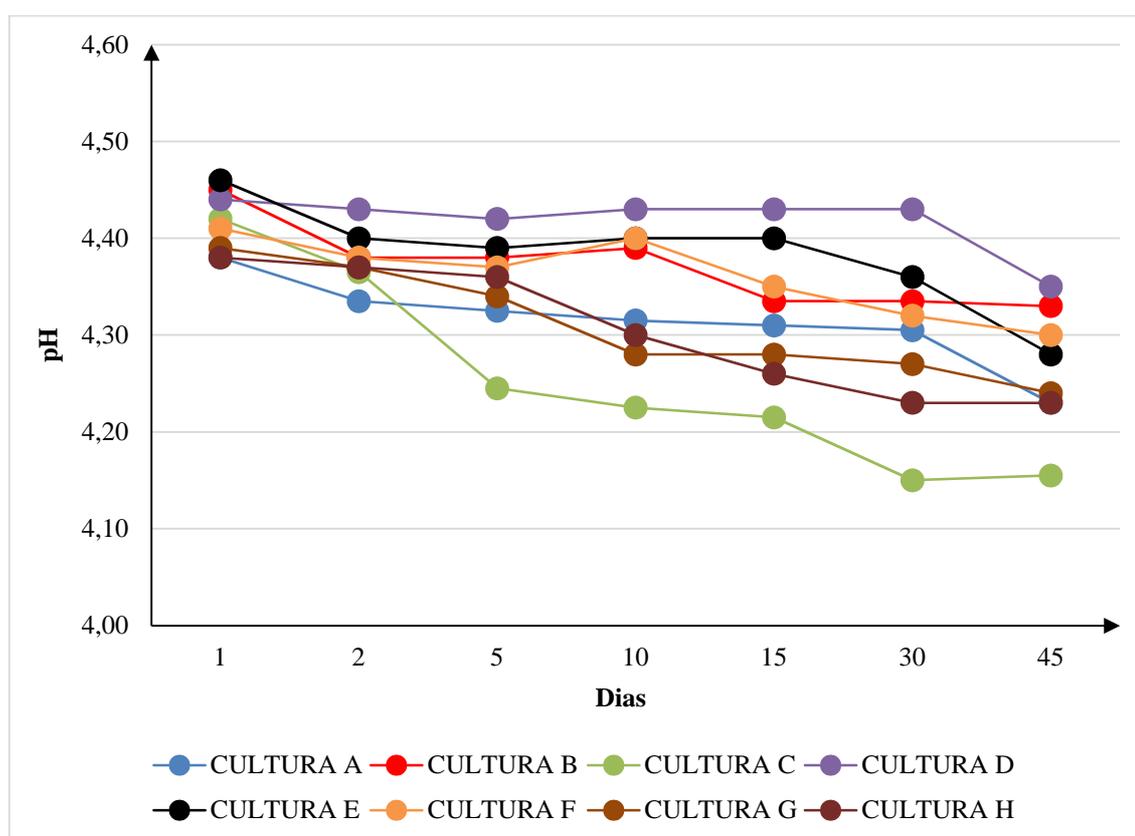
4.4 Pós-acidificação durante o *shelf life* para Bebida Láctea resfriada à 10 e 15 °C

A Figura 11 ilustra os resultados da pós-acidificação durante o *shelf life* da Bebida Láctea resfriada à 10 °C. Avaliando os resultados encontrados é possível verificar que as 4 culturas com a pior performance foram as culturas A, C, G e H. As culturas A e C (atualmente utilizadas pelo laticínio) apresentaram, respectivamente, pH de 4,23 e 4,16 no dia do vencimento, após 45 dias em temperatura de refrigeração máxima de 10 °C. A pior performance nesta análise foi da cultura C, uma das atualmente utilizadas pelo laticínio, que teve variação de pH no valor de 0,43 (conforme demonstrado na Tabela 5) entre o primeiro dia e o final do *shelf life*, o que pode levar a uma desaprovação sensorial ao produto por parte do consumidor.

Já as novas culturas G e H apresentaram pH de 4,24 e 4,23 no final da vida útil do produto. Estes resultados confirmam a performance obtida para as 4 culturas na análise de

pós-acidificação forçada, onde o produto foi mantido em temperatura de fermentação (42 °C) por 24 horas. Nesta análise, foram as mesmas quatro culturas que apresentaram o pior desempenho, o que significa que a análise de pós-acidificação forçada pode ser utilizada como um indicativo de qualidade no que diz respeito à pós-acidificação na seleção de culturas microbianas.

Figura 11 – Pós-acidificação durante o *shelf life* da Bebida Láctea resfriada à 10 °C



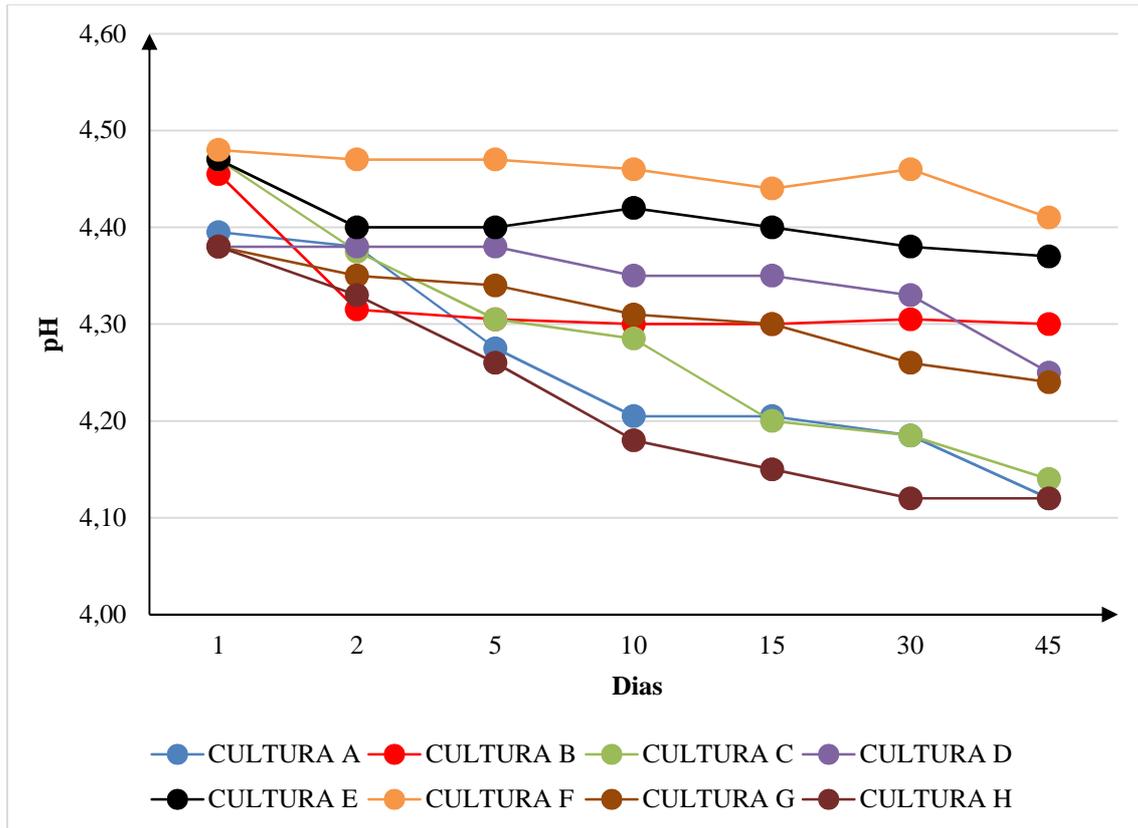
As quatro culturas com a melhor performance nesta análise foram as culturas B (atualmente utilizada), D, E F (novas culturas testadas). Estas culturas apresentaram, respectivamente, pH de 4,33, 4,35, 4,28 e 4,30 no final do *shelf life*, tendo uma variação de pH entre o primeiro dia e o final da vida útil apenas de 0,27, 0,28, 0,32 e 0,30 respectivamente.

Tabela 5 – Variação de pH com as diferentes culturas entre o primeiro dia e o final do *shelf life* da Bebida Láctea resfriada à 10 °C.

	pH no resfriamento	pH no final do <i>shelf life</i>	Variação de pH
Cultura A	4,59	4,23	0,36
Cultura B	4,60	4,33	0,27
Cultura C	4,59	4,16	0,43
Cultura D	4,63	4,35	0,28
Cultura E	4,60	4,28	0,32
Cultura F	4,60	4,30	0,30
Cultura G	4,63	4,24	0,39
Cultura H	4,61	4,23	0,38

A Figura 12 ilustra os resultados da pós-acidificação durante o *shelf life* da Bebida Láctea resfriada à 15 °C. A pior performance nesta análise foi observada para as culturas A e C (atualmente utilizadas pelo laticínio) e para a cultura H (nova cultura testada). Elas atingiram pH bastante baixo no final da vida útil, chegando à 4,12, 4,14 e 4,12, respectivamente. Na tabela 6 é possível verificar que ambas tiveram uma variação de pH de 0,47, 0,46 e 0,48 entre o início e o final da vida útil. Esta análise demonstra que resfriar a bebida láctea numa temperatura maior (15 °C ao invés de 10 °C) é prejudicial à qualidade do produto final utilizando estas 3 culturas, já que quando resfriadas à 10 °C esta variação de pH entre o primeiro e o final da vida útil foi de 0,36, 0,43 e 0,38, respectivamente.

Figura 12 – Pós-acidificação durante o *shelf life* da Bebida Láctea resfriada à 15 °C



Novamente a melhor performance encontrada foi a das culturas B, E e F, as quais apresentaram pH, respectivamente de 4,30, 4,37 e 4,41 no final do *shelf life*. Avaliando os resultados encontrados é possível verificar semelhança neste quesito em relação à Bebida Láctea resfriada à 10 °C, mostrando ser possível aumentar a temperatura de resfriamento de 10 para 15°C, visando ganhos de viscosidade, das culturas B, E e F sem perdas em termos de pós-acidificação durante o *shelf life*.

Tabela 6 – Variação de pH com as diferentes culturas entre o primeiro dia e o final do *shelf life* da Bebida Láctea resfriada à 15 °C.

	pH no resfriamento	pH no final do <i>shelf life</i>	Variação de pH
Cultura A	4,59	4,12	0,47
Cultura B	4,61	4,30	0,31
Cultura C	4,60	4,14	0,46
Cultura D	4,58	4,25	0,33
Cultura E	4,60	4,37	0,23
Cultura F	4,60	4,41	0,19
Cultura G	4,60	4,24	0,36
Cultura H	4,62	4,12	0,48

Seydim *et al* (2005) tiveram resultados semelhantes, onde observaram significantes diferenças entre pH em amostras de iogurte preparadas com diferentes culturas. Eve *et al* (2008) confirmaram pós-acidificação com a diminuição do pH de 4,3 para 4,1 durante a estocagem. Mesmo tendo sido confirmada uma diminuição no pH, os iogurte não foram discriminados pelas características ácidas. Ao nível sensorial, a diminuição do pH não resultou diretamente em percepção de acidez, e sim em percepção de diminuição do dulçor (25% entre o 2° e 28° dia de estocagem). Observaram também diminuição das notas frutadas em iogurtes entre o 14° e 28° dia de armazenamento.

4.5 Pós-acidificação durante o *shelf life* para Iogurte resfriado à 10 e 15 °C

A Figura 13 ilustra os resultados da pós-acidificação durante o *shelf life* do Iogurte resfriado à 10 °C. Avaliando os resultados encontrados, é possível verificar que a pior cultura neste quesito foi a cultura A (atualmente utilizada pelo laticínio) que atingiu pH de 4,23 no final da vida útil. Também é possível observar e confirmar esta mesma performance na Tabela 07, onde verifica-se variação de pH de 0,39 entre o primeiro dia e final da vida útil. As culturas E e F (novas culturas testadas) foram as que apresentaram melhores resultados para o

produto Iogurte resfriado à 10 °C, atingindo respectivamente pH de 4,33 e 4,36 no final do *shelf life*, o que é confirmado na variação de pH durante o *shelf life*, que foi apenas de 0,27 para ambas as culturas. Já as culturas B (atualmente utilizada pelo laticínio), C e D (novas culturas testadas) apresentaram performance semelhante, atingindo pH de 4,30, 4,32 e 4,31 no final da vida útil, pH este ainda considerado bom do ponto de vista sensorial, ou seja, com baixa pós-acidificação para o iogurte.

Figura 13 – Pós-acidificação durante o *shelf life* do Iogurte resfriado à 10 °C

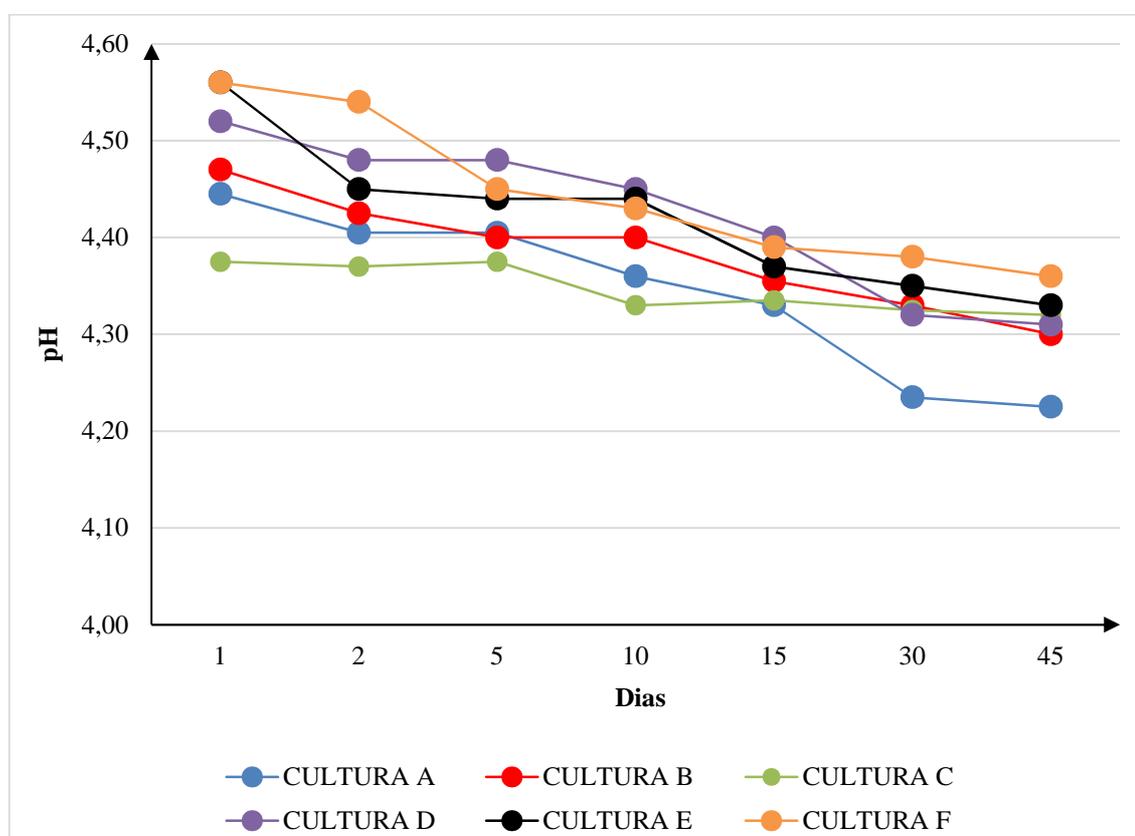


Tabela 7 – Variação de pH com as diferentes culturas entre o primeiro dia e o final do *shelf life* do Iogurte resfriado à 10 °C.

	pH no resfriamento	pH no final do <i>shelf life</i>	Variação de pH
Cultura A	4,62	4,23	0,39
Cultura B	4,61	4,30	0,31
Cultura C	4,60	4,32	0,28
Cultura D	4,60	4,31	0,29

Cultura E	4,60	4,33	0,27
Cultura F	4,63	4,36	0,27

A Figura 14 ilustra os resultados de pós-acidificação durante o *shelf life* para o produto Iogurte resfriado à 15 °C. De acordo com os resultados obtidos é possível observar que as culturas que apresentaram a pior performance foram as culturas A e C (atualmente utilizadas pelo laticínio), alcançando pH de 4,26 e 4,24 no final da vida útil. Ambas as culturas tiveram uma variação expressiva de pH entre o primeiro e o final da vida útil, que foi de 0,35 e 0,36, respectivamente. As culturas com melhor resultado neste quesito foram as cultura D, E e F (novas culturas testadas) que chegaram ao final do *shelf life* com pH excelente no ponto de vista sensorial, atingindo, respectivamente, pH de 4,40, 4,37 e 4,35. Ambas tiveram baixa variação de pH entre o início e o final da vida útil: 0,20, 0,23 e 0,25 respectivamente.

Figura 14 – Pós-acidificação durante o *shelf life* do Iogurte resfriado à 15 °C

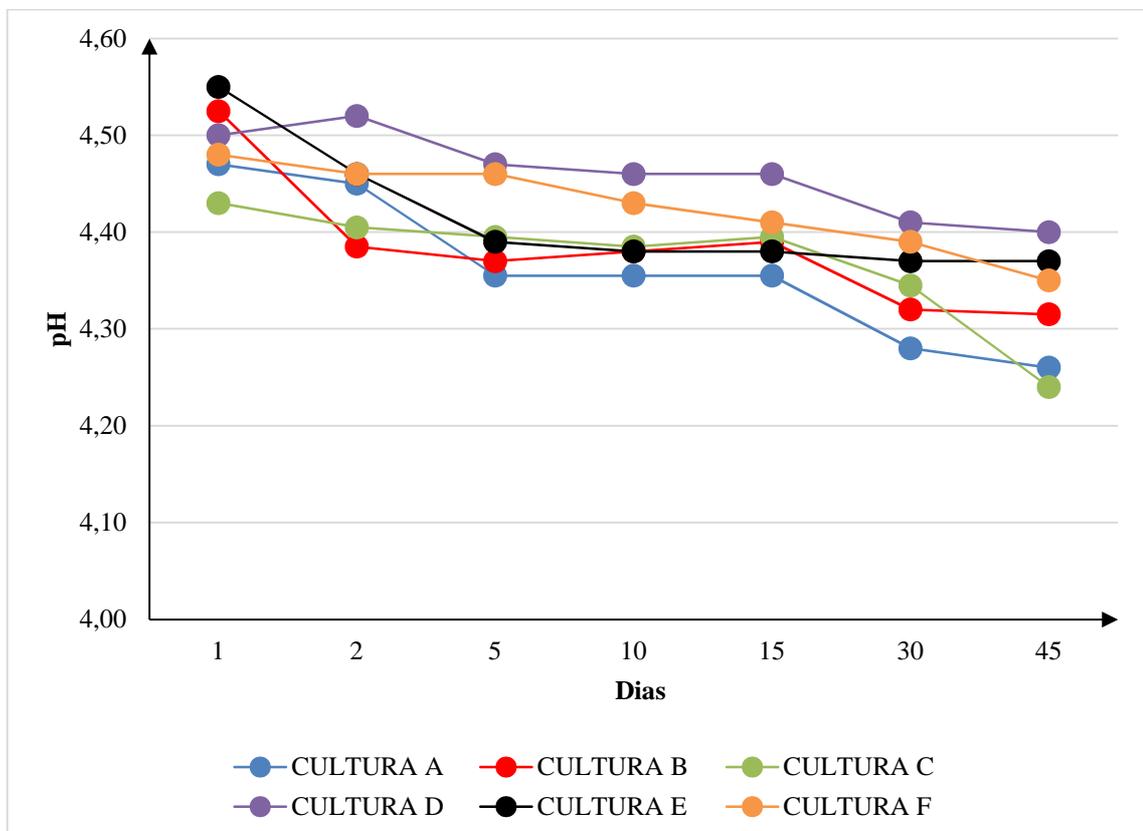


Tabela 08 – Variação de pH com as diferentes culturas entre o primeiro dia e o final do *shelf life* do Iogurte resfriado à 15 °C.

	pH no resfriamento	pH no final do <i>shelf life</i>	Variação de pH
Cultura A	4,61	4,26	0,35
Cultura B	4,65	4,32	0,33
Cultura C	4,60	4,24	0,36
Cultura D	4,60	4,40	0,20
Cultura E	4,60	4,37	0,23
Cultura F	4,60	4,35	0,25

Comparando com os resultados encontrados para resfriamento do Iogurte à 10 e 15 °C antes do envase, é possível observar que para ambas as temperaturas de resfriamento a cultura A (atualmente utilizada pelo laticínio) foi a que apresentou o pH mais baixo no final da vida útil, mas muito semelhante se resfriado à 10 ou 15 °C, ou seja, para esta cultura não há perdas de qualidade no quesito pós-acidificação se resfriada 5 °C mais quente antes do envase. As culturas B, D, E e F também apresentaram resultados semelhantes com aumento de 5 °C na temperatura de resfriamento antes do envase, sendo que ambas as culturas nas diferentes temperaturas de resfriamento apresentaram pH no final do *shelf life* superior à 4,30. Já a cultura C (atualmente utilizada pelo laticínio) teve queda no pH no final do *shelf life* com o aumento na temperatura de resfriamento antes do envase. Quando resfriado à 10°C atingiu pH de 4,32 e quando resfriado à 15°C atingiu pH de 4,24, o que significa que não é adequado aumentar a temperatura de resfriamento visando ganhos em termos de viscosidade para a cultura C.

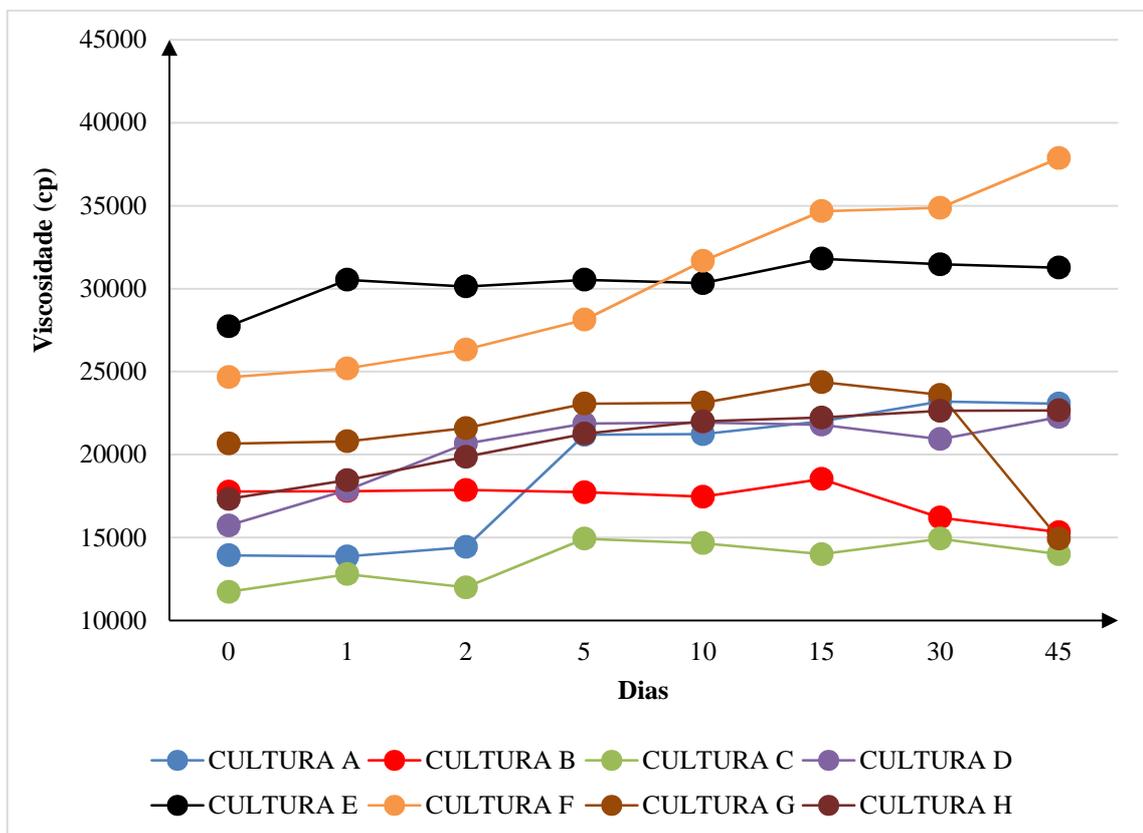
4.6 Viscosidade durante o *shelf life* para Bebida Láctea resfriada à 10 e 15 °C

Na Figura 15 constam os resultados de viscosidade com as diferentes culturas para a Bebida Láctea resfriada à 10 °C. Avaliando os resultados, é possível observar que as culturas

microbianas realmente interferem na viscosidade do produto, explicado devido à produção de exopolissacarídeos, já que a formulação e o processo foram os mesmos para todos os testes, variando apenas a cultura microbiana utilizada.

De acordo com Tamime (1999), a habilidade de hidratação e estabilização das micelas de caseína podem causar melhor textura em amostras de iogurte durante a estocagem. Seydim *et al* (2005) concluíram que o uso de diferentes cepas de culturas e diferentes temperaturas de incubação resulta em mudanças em aroma e textura em amostras de iogurte. Amostras de iogurte produzidas a 45°C tiveram maiores valores de viscosidade provavelmente devido ao aumento da habilidade de hidratação das proteínas com temperaturas mais altas.

Figura 15 – Viscosidade durante o *shelf life* da Bebida Láctea resfriada à 10 °C

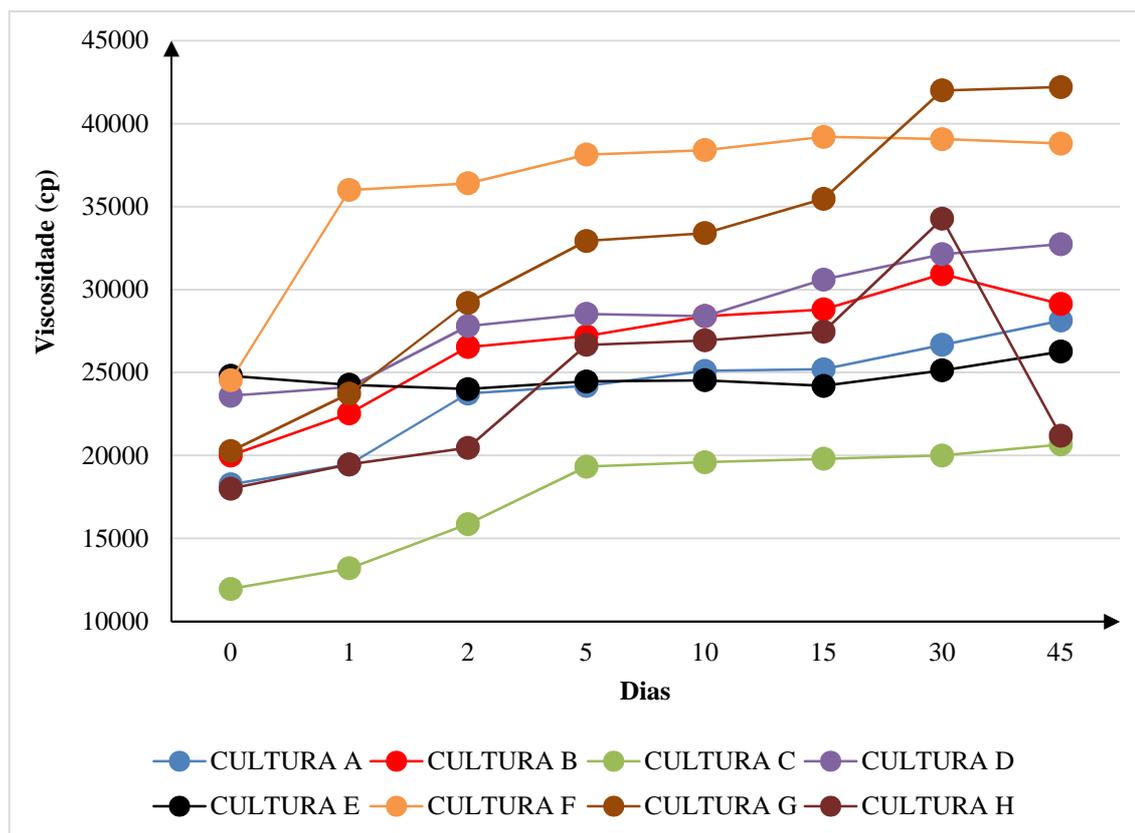


Analisando o gráfico é possível observar que as culturas com a melhor performance em termos de viscosidade foram as culturas E e F (novas culturas testadas). A bebida láctea produzida com estas culturas teve um valor de viscosidade mais elevado já após o resfriamento, 27.733 cp e 24.667 cp respectivamente, sendo que durante o *shelf life* houve ainda um incremento expressivo de viscosidade para a cultura F, que atingiu viscosidade de 37.867 cp. A cultura com a pior performance em termos de viscosidade foi a cultura C

(atualmente utilizada pelo laticínio), que após o resfriamento apresentou viscosidade de 11.733 cp e assim se manteve até o final da vida útil, quando atingiu 14.933 cp. As culturas com resultado intermediário em termos de viscosidade para o produto Bebida Láctea resfriada à 10 °C foram as culturas A, G e H, que iniciaram com viscosidade na faixa de 15.000 à 20.000 cp, chegando à faixa de 22.000 cp no final do *shelf life*. Já a cultura A iniciou com viscosidade de apenas 13.933 cp após o resfriamento e teve um incremento de viscosidade após 5 dias do envase, quando atingiu viscosidade de 21.200 cp e nessa faixa se manteve até o final da vida útil do produto. Este fato é confirmado por Eve *et al* (2008), que concluiu em seu estudo que o maior ganho em textura ocorre na primeira semana de estocagem. A cultura G iniciou com uma viscosidade boa, de 20.667 após o resfriamento e assim se manteve por 30 dias, mas apresentou queda de viscosidade nos últimos 15 dias do *shelf life*, atingindo 14.933 cp após 45 dias.

A Figura 16 ilustra os resultados de viscosidade obtidos com a resfriamento da Bebida Láctea à 15 °C antes do envase. Avaliando os dados é possível concluir que o aumento da temperatura de envase de 10 para 15 °C contribui, de forma geral, para um aumento de viscosidade no produto. A viscosidade após o resfriamento é semelhante quando comparada à bebida láctea resfriada à 10 °C, mas ocorre um incremento de viscosidade na maioria das culturas testadas durante as primeiras 48 horas de *shelf life*. Seydim *et al* (2005) também observaram melhora na consistência em amostras de iogurte durante a estocagem, sendo que 14 dias após o envase, todas as amostras tinham melhor consistência quando comparadas ao primeiro dia, sendo que não foram observadas diferenças significativas de viscosidade entre as culturas no primeiro dia.

Figura 16 – Viscosidade durante o *shelf life* da Bebida Láctea resfriada à 15 °C



A cultura com maior incremento de viscosidade, após 24 horas do envase, foi a cultura F, que passou de 24.533 cp para 36.000 cp e nessa faixa se manteve até o final *do shelf life*, quando atingiu 38.800 cp. Quando resfriada à 10 °C a mesma cultura atingiu esta viscosidade somente no final da vida útil. Renan et al (2009) também observaram que a viscosidade aumentou após a agitação, o que indicou a recuperação da estrutura do gel. Este aumento de viscosidade foi encontrado em processo de resfriamento em dois estágios. A viscosidade aumentou rapidamente nas duas primeiras horas e depois mais lentamente nas 22 horas seguintes.

A cultura G (nova cultura testada) foi a que obteve maior ganho de viscosidade com o aumento da temperatura de resfriamento de 10 para 15 °C, atingindo no final da vida útil 42.200 cp de viscosidade. Porém, quando avaliado o quesito pós-acidificação durante o *shelf life* esta mesma cultura não teve bom desempenho, fugindo do propósito estabelecido para este trabalho, que era encontrar culturas microbianas com baixa pós-acidificação e com alta viscosidade. O mesmo ocorreu com a cultura C (atualmente utilizada pelo laticínio), que obteve ganho de viscosidade com o aumento da temperatura de envase, mas por outro lado, possui elevada pós-acidificação. Renan *et al* (2009) também observaram que quando a pós-acidificação era inibida, o ganho de viscosidade após 28 dias de estocagem era mais baixo do

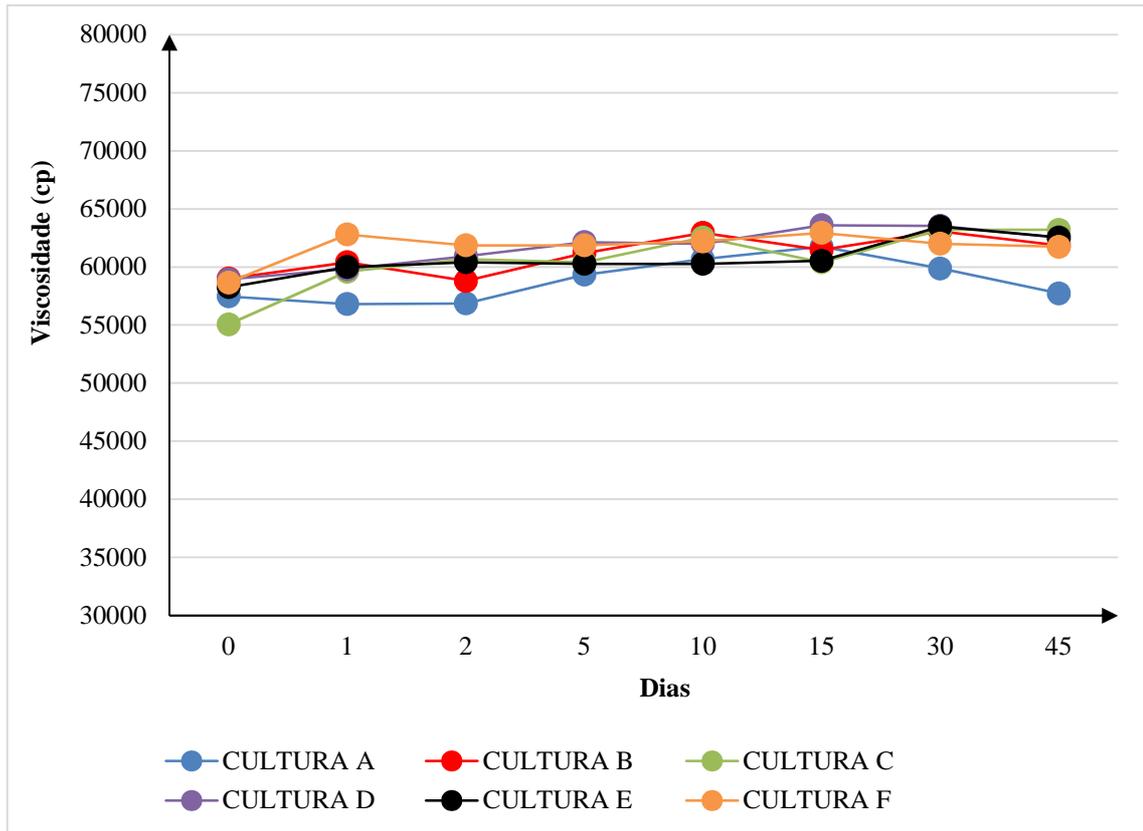
que quando havia pós-acidificação.

Eve *et al* (2008) também observaram as propriedades reológicas do iogurte durante o tempo de estocagem. Foi observado um aumento de 71% na viscosidade e 63% de aumento na percepção de textura entre os dias 2 e 28 de estocagem, sendo que o aumento de viscosidade pode explicar o aumento de percepção de textura. O aumento da viscosidade pode ser explicado pela pós-acidificação que ocorre durante a estocagem. A atividade dos microrganismos residuais no produto conduzem a um reforço na resistência da rede proteica, pela acidificação do produto devido ao aumento de ácido láctico ou também pela eventual capacidade das estirpes em produzir exopolissacarídeos.

4.7 Viscosidade durante o *shelf life* para Iogurte resfriado à 10 e 15 °C

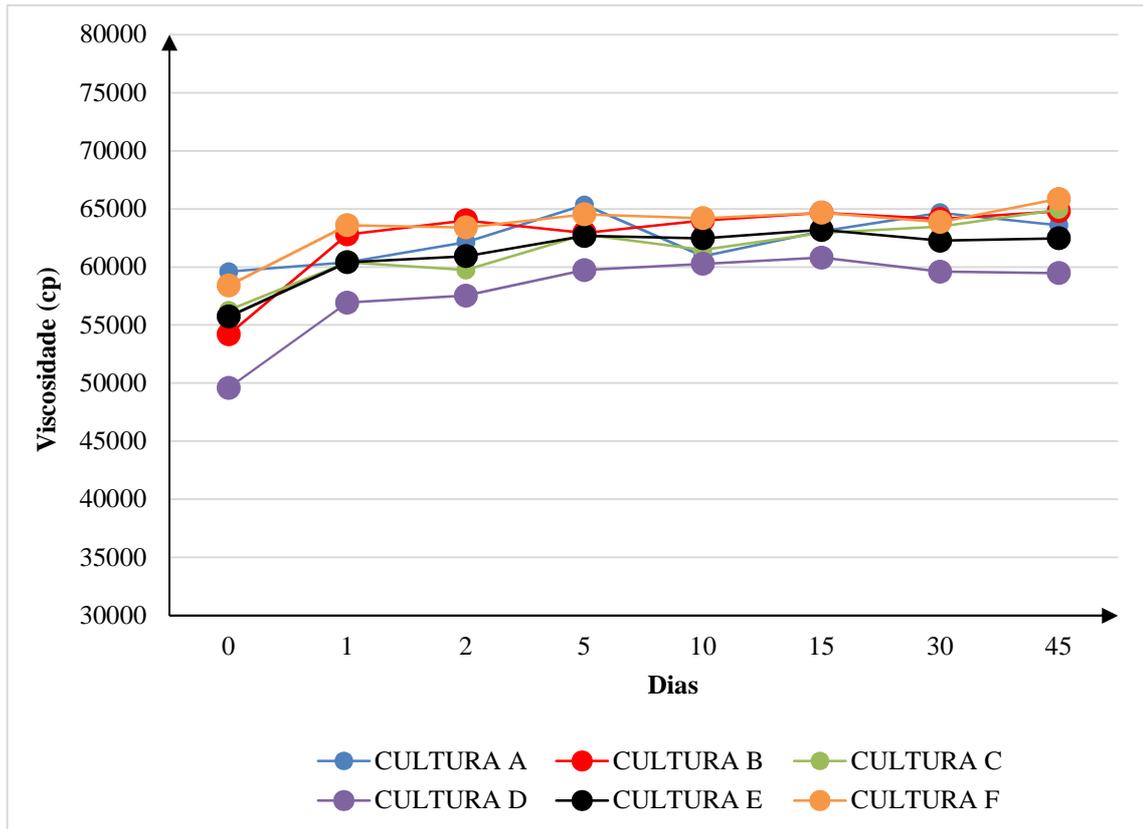
A Figura 17 ilustra os resultados para o produto Iogurte produzido com as diferentes culturas microbianas e resfriado à 10 °C antes do envase. Avaliando os resultados obtidos é possível verificar que os resultados foram semelhantes para ambas as culturas e constantes durante todo o *shelf life*. Apenas a Cultura A apresentou viscosidade um pouco menor em relação às demais culturas.

Figura 17 – Viscosidade durante o *shelf life* do Iogurte resfriado à 10 °C



A Figura 18 apresenta os resultados para o produto Iogurte resfriado à 15 °C antes do envase. Avaliando o gráfico é possível observar que, de modo geral, não houve incremento de viscosidade com o aumento da temperatura de envase e também que a viscosidade se manteve constante durante todo o *shelf life*. Isto pode ter ocorrido devido à presença de elevado extrato seco neste produto, sendo a linha considerada com maior valor agregado da empresa, sendo que o produto por si só já é muito viscoso, não sendo necessária uma cultura microbiana para aumentar a viscosidade do produto. Neste caso, é interessante uma nova análise em outras linhas de iogurtes da empresa, que possuem teor de sólidos menor.

Figura 18 – Viscosidade durante o *shelf life* do Iogurte resfriado à 15 °C



4.8 Dessoramento

Nenhuma cultura microbiana comercial testada apresentou presença de soro na superfície nos testes realizados, demonstrando, desta forma, que o soro presente está bem apreendido à rede proteica, tanto para os produtos Bebida Láctea quanto para Iogurte nas duas temperaturas de resfriamento antes do envase: 10 °C e 15 °C.

4.9 Estudos para aumento de *shelf life* da Bebida Láctea

A empresa lançou no mercado, no início do ano de 2014 a linha de Bebidas Lácteas em nova embalagem cartonada, Tetra Top, com linha de produção exclusiva e envase asséptico. O produto foi lançado no mercado com *shelf life* de 45 dias. Diante dos resultados encontrados no decorrer deste trabalho, as culturas B, D e E foram testadas neste produto a fim de aumentar o *shelf life* para 60 dias.

Foram realizadas análise de contagem de microrganismos viáveis em laboratório externo - Labor 3 - no decorrer do *shelf life*, com 50, 55 e 60 dias e os resultados estão demonstrados na Tabela 9.

Tabela 9- Contagem de microrganismos viáveis na Bebida Láctea – estudo para aumento do *shelf life*

Sabor	Fabricação	Análise	<i>Shelf life</i>	Contagem	Laudo n°
Morango	19/02/14	10/04/14	50 dias	$1,4 \times 10^8$	11070.1/2014
Coco	18/02/14	10/04/14	51 dias	$4,6 \times 10^7$	11.064.1/2014
Morango	21/02/14	14/04/14	52 dias	$4,8 \times 10^7$	11067.1/2014
Coco	18/02/14	14/04/14	55 dias	$1,7 \times 10^7$	11065.1/2014
Coco	19/02/14	15/04/14	55 dias	$3,3 \times 10^7$	11071.1/2014
Morango	21/02/14	17/04/14	55 dias	$1,3 \times 10^8$	11068.1/2014
Morango	21/02/14	22/04/14	60 dias	$1,0 \times 10^8$	11069.1/2014
Salada de frutas	19/02/14	22/04/14	62 dias	$6,7 \times 10^7$	11072.1/2014
Salada de frutas	18/02/14	22/04/14	62 dias	$9,1 \times 10^7$	11066.1/2014
Salada de frutas	25/03/14	23/05/14	59 dias	$8,3 \times 10^7$	15306.1/2014
Uva	26/03/14	26/05/14	61 dias	$5,1 \times 10^7$	15307.1/2014
Salada de frutas	27/03/14	26/05/14	60 dias	$4,7 \times 10^7$	15308.1/2014
Morango	28/03/14	28/05/14	61 dias	$4,2 \times 10^7$	15309.1/2014

A contagem mínima de microrganismos viáveis no final da vida útil estabelecida na legislação vigente é de 1×10^7 unidades formadoras de colônias. De acordo com os resultados encontrados, é possível aumentar o *shelf life* do produto para 60 dias considerando este quesito.

Na Tabela 10 constam os resultados de pH para o produto analisado com 60 dias de *shelf life*. De acordo com os resultados apresentados, é possível verificar que a pós-acidificação foi baixa após o produto ser mantido em refrigeração de até 10 °C por 60 dias, sendo possível aumentar o *shelf life* do produto.

Tabela 10- Análise de pH da bebida láctea com *shelf life* de 60 dias

Fabricação	Análise	<i>Shelf life</i>	pH
25/03/14	23/05/14	60 dias	4,37
25/05/14	23/05/14	60 dias	4,32
25/03/14	23/05/14	60 dias	4,49
25/03/14	23/05/14	60 dias	4,32
25/03/14	23/05/14	60 dias	4,27
27/03/14	26/05/14	61 dias	4,50
26/03/14	26/05/14	62 dias	4,35
28/03/14	27/05/14	60 dias	4,38
29/03/14	28/05/14	60 dias	4,40
02/04/14	30/05/14	60 dias	4,32
03/04/14	02/06/14	60 dias	4,26
03/04/14	02/06/14	60 dias	4,30

5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, foi possível concluir que as diferentes culturas microbianas exercem forte influência na pós-acidificação para os produtos bebida láctea e iogurte e também forte influência na viscosidade do produto bebida láctea. Aumentar a temperatura de resfriamento da bebida láctea antes do envase de 10 para 15 °C contribui para o aumento da viscosidade do produto.

Com o subsídio dos dados encontrados, o uso das culturas A e C que eram utilizadas pelo laticínio foi descontinuado, devido à elevada pós-acidificação no final do *shelf life* e devido à baixa viscosidade. As novas culturas D e E foram introduzidas, pois demonstraram excelente desempenho no quesito pós-acidificação e viscosidade para o produto bebida láctea. A cultura F também apresentou excelente desempenho, porem seu custo é bastante elevado. Esta cultura foi aprovada mas será destinada a um futuro produto *premium* a ser desenvolvido pela empresa.

Com o auxílio deste trabalho foi possível viabilizar o aumento do *shelf life* da bebida láctea de 45 para 60 dias, o que contribui para as questões de logística e de mercado do produto, diminuindo desta forma o número de devoluções. Além disto, a grande maioria dos pontos de venda não aceitam produtos que estejam com mais de um terço da validade do produto. Com as novas culturas microbianas testadas neste trabalho esta alteração pode ser efetuada sem prejuízos à qualidade do produto oferecido ao consumidor, mas pelo contrário, com pós-acidificação mais baixa em relação aos produtos que estavam no mercado quando as culturas A e C eram utilizadas pela empresa.

Referências

AMATAYAKUL, T.; HALMOS, A.; SHERKAT, F.; SHAH N. Physical characteristics of yoghurts made with exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. **International Dairy Journal**, n.16, p. 40 – 51, 2006.

BADEL, S.; BERNARDI, T.; MICHAUD, P. New perspectives for Lactobacilli exopolysaccharides. **Biotechnology Advances**, n.29, p. 54 – 56, 2011.

BIOTEC. **Informativo trimestral para a indústria láctea**, São Paulo, ano XVIII, nº 102, março de 2008.

BRASIL. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados**. Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007.

CHANDAN, R. **Manufacturing yogurt and fermented milks**. Austrália: Blackwell Publishing, 2006.

CHR, HANSEN. **Yo- Flex**. Technical brochure, 2006

CHR HANSEN. **Basic Dairy Training**. 2013

DUPONT DANISCO. **Yogurt Flavor**. Technical Memorandum, 2012.

EVE, A.; LÉVY, C.; MOINGNE, M.; DUCRUET, V.; SOUCHON, I. Quality changes in yogurt during storage in different packaging materials. **Food Chemistry**, n. 110, p. 285 – 293, 2008.

FELLOWS, P. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e práticas**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

FERREIRA, C. **Produtos lácteos fermentados: aspectos bioquímicos e tecnológicos**. Universidade Federal de Viçosa, 2008.

GALLINA, D. **Inovações na área de leites fermentados**. In: Simpósio sobre inovação na indústria de lácteos. São Paulo: Ital, 2013.

LAHTINE, S.; OUWEHAND, A.; SALMINEM, S.; WRIGT, A. **Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects**. Nova Iorque: CRC Press, 4^o edição, 779 p., 2012.

LEE, J.; LUCEY, A. Formation and physical properties of yogurt. **Journal of Animal Science**, n. 23, p. 1127-1136, 2010.

LIN, T.; Chien, M. Exopolysaccharides production as affected by lactic acid bacteria and fermentation time. **Food Chemistry**, n. 100, p. 1419 – 1423, 2007.

LOVEDAY, S.; SARKAR, A.; SINGH, H. Innovative yoghurts: novel processing technologies for improving acid milk gel texture. **Food Science & Technology**, n. 33, p. 5-20, 2013.

MARASCA, E.; BOZA, Y.; ZACARCHENCO, P.; MORENO, I. Bactérias lácticas: aspectos da aplicação de técnicas clássicas e moleculares para caracterização e prospecção de BALs e seus impactos na produção e desenvolvimento de produtos lácteos. **Leite e Derivados**, n. 132, 2012.

MENDE, S.; KRZYZANOWSKI, L.; WEBER, J.; JAROS, D.; ROHM, H. Growth and exopolysaccharide yield of *Lactobacillus delbrueckii* spp. *Bulgaricus* DSM 20081 in batch and continuous bioreactor experiments at constant pH. **Journal of bioscience and bioengineering**, vol. 113, n. 2, p. 185 – 191, 2012.

MINTEL GROUP. **Iogurte – Brasil**, dezembro de 2012.

MONTEIRO, A.; PIRES, A.; ARAÚJO, E. **Tecnologia de Produção de Derivados do Leite**. Universidade Federal de Viçosa, 2012.

OLIVEIRA, R.; TORRES, B.; PEREGO, P.; OLIVEIRA, M.; CONVERTI, A. Co-metabolic models of streptococcus thermophilus in co-culture with lactobacillus bulgaricus or lactobacillus acidophilus. **Biochemical Engineering Journal**, n. 62, p. 62 – 69, 2012.

OLIVEIRA, M.; DAMIN, M. 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**, n.23, p 172 – 176, 2003.

ORDONEZ, J. **Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal**. V. 2. Porto alegre: Artmed, 2005.

ÖZKAYA, F.; ASLIM, B.; OSKAYA, M. Efect of exopolysaccharides produced by Lactobacillus bulgaricus strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria, n. p. 564 -568, 2007.

PHADUNGATH, C. The mechanism and properties of acid-coagulated milk gels. **Songklanakarin Journal Science Technology**. v. 27, n. 2, p. 433 -448, 2005.

PEDERSEN, P. **I via lactea Brasil: leites fermentados**. Sacco: Itatiba, 2009.

PEIGHAMBARDOUST, S.; TAFTI, A.; HESARI, J. Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures: a review. **Food Science & Technology**, n.22, p. 215-224, 2011.

QUIBERONI, A.; MOINEAU, S.; ROUSSEAU, G.; REINHEIMER, J.; ACKERMAN, H. Streptococcus thermophilus bacteriophages. **International Dairy Journal**, n. 20, p. 657 – 664, 2010

RENAN, M.; GUYOMARCH, F., DELEST, D.; PÂQUET, D.; BRULÉ, G.; FAMELART, M. Rheological properties of stirred yoghurt as affect by gel pH on stirring, storage temperature and pH changes after stirring. **International Dairy Journal**. v.19, p. 142 – 148, 2009.

RODRIGUES, F.; NAHAS, T. Celuloses microcristalinas. **Leite e Derivados**, nº 141, ano XXII, julho. 2013.

SALES, A. Iogurte: parâmetros chaves de processo. In: Cooperativa Piá – Nova Petrópolis, 2010.

SAYJA, N.; WELAMN, A.; BENNET, R. Development of dairy-based exopolysaccharide bioingredient. **International Dairy Journal**, n.20, p. 603-608, 2010.

SEYDIM, Z.; SEZGIN, E.; SEYDIM, A. Influences of exopolysaccharide producing cultures on the quality of plain set type yogurt. **Food Control**, n. 16, p. 205-209, 2005.

SERRA, M.; TRUJILLO, A.; QUEVEDO, J.; GUAMIS, B.; FERRAGUT, V. Acid coagulation properties and suitability for yogurt production of cows' milk treated by high-pressure homogenisation. **International Dairy Journal**, n. 17, p. 782-790, 2007.

SHILLINGER, U.; HOLZAPFEL, W. Culture media for acid bacteria. **Hygiene and Toxicology**, p. 127 – 140, 2003.

STEVENS, A. **The influence of bacteriocin-producing probiotic starter cultures on fermentation time and post-acidification in yoghurt**. Victoria University, Austrália, 2003.

TAMINE, A.; ROBINSON, R. **Yoghurt Science and technology**. Cambridge, Inglaterra, 1999.

TOMAR, R.; MAHESWARI, U.; SINGH, R. Streptococcus thermophilus strains: multifunctional lactic acid bacteria. **International Dairy Journal**, n.20, p. 133 – 141, 2010.

VIA LÁCTEA. **Boletim de tecnologia de laticínios**, São Paulo, ano VI, edição 24, dez. 2009.

VIA LÁCTEA. **Boletim de tecnologia de laticínios**, São Paulo, ano IX, edição 35, março. 2012.

VIA LÁCTEA. **Boletim de tecnologia de laticínios**, São Paulo, ano XI, edição 44, abril.

2014.

VUYST, L.; WECKX, S.; RAVYTS, F.; HERMAN, L.; LEROY, F. New insights into the exopolysaccharide production of *Streptococcus thermophilus*. **International Dairy Journal**, n. 21, p. 586-591, 2011.

APÊNDICE A- POSSÍVEIS CAUSAS E SOLUÇÕES PARA DEFEITOS ENCONTRADOS NOS IOGURTES

(continua)

Defeito	Possíveis causas	Possíveis soluções
Baixa viscosidade e sensação gustativa	Baixo conteúdo de proteínas e de gordura, água no leite, falta de estabilizantes, etc. Tratamento térmico incorreto. Homogeneização incorreta. Cultura inadequada, de baixa produção de EPS. Antibióticos atacando os produtores de EPS. Refrigeração e ou agitação em pH alto demais. Agitação forte ou por longo tempo. Temperatura de refrigeração muito baixa antes do envase. Agitação forte demais após a refrigeração e ao adicionar frutas. Refrigeração rápida demais no pote.	Ajustar a formulação / aumentar o conteúdo de proteínas. Ajustar o tratamento térmico. Ajustar a homogeneização. Certificar-se de que a cultura é de fato, a mais adequada. Checar a presença de antibióticos no leite. Checar o pH de agitação, normalmente abaixo de 4,50. Checar e ajustar a velocidade e o tempo de agitação. Checar e ajustar a temperatura de envase, que deve ser maior do que 20 °C para iogurte batido; Checar tratamento mecânico. Checar refrigeração e ajustar a sua velocidade.
Baixa firmeza em iogurte firme	Cultura inadequada. Temperatura de incubação baixa demais. Rompimento do coágulo no transporte antes e depois da refrigeração.	Certifica-se se a cultura é de fato, a mais adequada. Checar e ajustar a temperatura de incubação. Checar se o iogurte não está sendo manipulado com vibrações intensas demais.
Creme na superfície e mole no fundo	Homogeneização insuficiente	Checar a homogeneização
Sinérese. Soro	Bolhas de ar ou gás no coágulo	Checar equipamento, instalar

(continua)

Defeito	Possíveis causas	Possíveis soluções
na superfície ou no fundo ou sedimentação	<p>oriundos de tubos, bombas, válvulas vazando, falta de desaeração, agitação excessiva ou contaminantes produtores de gás.</p> <p>Ou conteúdo alto de ureia no leite.</p> <p>Baixo teor de proteínas ou gordura, falta de estabilizante ou água no leite.</p> <p>Homogeneização insuficiente.</p> <p>Tratamento térmico insuficiente.</p> <p>Cultura inadequada com baixa produção de EPS.</p> <p>Inóculo baixo, acidez elevada.</p> <p>Antibióticos inibindo cepas produtoras de EPS.</p> <p>Fagos atacando cepas produtoras de EPS.</p> <p>Temperatura de incubação alta.</p> <p>Rompimento do coágulo no período de geleificação e agitação.</p> <p>pH alto / baixo demais na refrigeração e agitação.</p> <p>Refrigeração lenta demais.</p> <p>Tratamento mecânico forte demais durante e após a refrigeração.</p> <p>Pós-acidificação forte demais.</p> <p>Preparado de frutas com pH baixo demais.</p>	<p>desaerador.</p> <p>Checar a qualidade do leite.</p> <p>Checar e ajustar a formulação.</p> <p>Usar cultura com maior produção de EPS e pH baixo.</p> <p>Checar e ajustar a dose de inoculação.</p> <p>Checar a presença de antibióticos no leite.</p> <p>Checar presença de bacteriófagos e se for o caso, mudar a cultura além de otimizar a higiene.</p> <p>Checar e ajustar a temperatura de envase e incubação.</p> <p>Assegurar o repouso durante a coagulação bem como a menor vibração possível após a geleificação.</p> <p>Checar e ajustar o pH de refrigeração e agitação.</p> <p>Checar velocidade de refrigeração.</p> <p>Checar e ajustar temperatura de envase.</p> <p>Melhorar o tratamento mecânico ou a tecnologia.</p> <p>Mudar para uma cultura com menos pós-acidificação.</p> <p>Refrigerar mais rapidamente ou para temperatura mais baixa.</p> <p>Checar pH da preparação das frutas.</p>
Grumos ou coágulo arenoso	<p>Leite de animais doentes, recentemente vacinados ou de animais em início ou fim de lactação.</p> <p>Base inadequada ou reidratação do leite em pó ou proteínas antes do tratamento térmico.</p> <p>Teor de cálcio elevado demais na base ou massa.</p> <p>Uso de estabilizante inadequado.</p> <p>Tratamento térmico a temperatura alta ou baixa.</p> <p>Homogeneização insuficiente.</p> <p>Uso de cultura com baixa produção</p>	<p>Checar a composição do leite.</p> <p>Checar e ajustar as condições do processo – prolongar o tempo de reidratação.</p> <p>Checar se o soro em pó é desmineralizado.</p> <p>Checar a composição da base.</p> <p>Checar e ajustar as condições do processo para evitar a precipitação, a aglutinação ou a formação de aglomerados de cálcio e proteínas do soro.</p> <p>Checar, e se for o caso, mudar</p>

(continua)

Defeito	Possíveis causas	Possíveis soluções
	<p>de EPS. Dose de inoculação baixa demais. Temperatura de envase e incubação mais elevada. pH de envase baixo demais. Ataque de bacteriófagos ou inibição das cepas produtoras de EPS por antibióticos. Vibração durante a geleificação. pH alto ou baixo demais na agitação e refrigeração. Quebra insuficiente do coágulo. Pós-acidificação forte demais em pontos distintos.</p>	<p>para cultura produtora de mais EPS. Checar e ajustar a dose do inoculo. Checar e ajustar a temperatura de incubação. Checar o pH de envase. Checar e mudar a cultura, otimizar a higiene e usar leite sem antibióticos. Checar se a coagulação está sendo realizada em repouso. Checar e mudar o pH da refrigeração e agitação. Trocar o filtro ou agitar mais fortemente o coágulo. Trocar a cultura, aumentar a dose de inoculação e refrigerar mais rápido ou a temperatura mais baixa.</p>
Textura longa ou viscosa ou filante	<p>Cultura inadequada ou filante demais. Temperatura de incubação baixa demais. Conteúdo baixo demais de sólidos ou proteínas. Tipo de estabilizante ou sua dose de uso. Conteúdo de açúcar inadequado. Falta de agitação, filtração e homogeneização.</p>	<p>Mudar para cultura mais adequada. Checar e ajustar a temperatura de incubação. Checar e ajustar o teor de sólidos e de proteínas. Checar e ajustar o tipo de estabilizante e sua dosagem. Checar e ajustar o conteúdo de açúcar. Checar e corrigir o processo.</p>
Produção lenta ou ausente de ácido	<p>Ataque de bacteriófagos. Inibição por antibióticos. Inibição por desinfetantes. Leite de animais doentes. Inibição por oxigênio. Cultura inadequada ou baixa dose de inoculo. Cultura com problema de atividade. Baixa temperatura de incubação.</p>	<p>Checar e mudar a cultura ou otimizar a higiene. Checar a qualidade do leite e ingredientes. Certifica-se de que o leite não contém resíduos de desinfetantes. Não usar leite de animais doentes. Checar a eficiência da desaeração.</p>

(continua)

Defeito	Possíveis causas	Possíveis soluções
		<p>Certificar-se de que a cultura é adequada e também se a dose de inóculo está correta.</p> <p>Checar atividade e condições de armazenagem da cultura.</p> <p>Checar e ajustar a temperatura de incubação.</p>
<p>Variações no tempo de fermentação e qualidade do produto</p>	<p>Variações na qualidade do leite.</p> <p>Variações na composição do leite.</p> <p>Variações no processo.</p> <p>Variações no teor de oxigênio.</p> <p>Variações no processamento do leite.</p> <p>Variações na temperatura de incubação.</p> <p>Variações de qualidade da cultura.</p> <p>Medições erradas e instáveis de pH.</p> <p>Variações em ataques de bacteriófagos.</p>	<p>Monitorar e melhorar a qualidade do leite.</p> <p>Assegurar desaeração uniforme.</p> <p>Monitorar e assegurar processamento uniforme.</p> <p>Verificar as condições de armazenagem da cultura.</p> <p>Checar e calibrar pH metro ou trocar eletrodos.</p> <p>Testar e eliminar problemas com fagos através de melhoramento higiênicos.</p>
<p>Problemas com sabores indesejados (<i>off flavor</i>)</p>	<p>Sabor de cozido. Tratamento térmico muito acentuado do leite ou dos aditivos.</p> <p>Amargo – a queijo. Alta atividade proteolítica da cultura</p> <p>Amargo – não limpo. Crescimento acentuado de bactérias esporuladas, não lácticas.</p> <p>Amargo – sabor de forragem.</p> <p>Contaminação do leite e/ou atividade lipolítica.</p> <p>Ranço – sabor de sabão.</p> <p>Metálico / oxidado / peixe. Aeração excessiva do leite ou alteração dos glóbulos de gordura por tratamento ou bombeamento incorretos.</p> <p>Maltado ou de leveduras.</p> <p>Doce. Teor elevado de açúcar.</p> <p>Impuro – desagradável e de mofo</p>	<p>Checar tratamento térmico.</p> <p>Mudar para culturas menos amargas e mais suaves.</p> <p>Melhorar a higiene e usar uma temperatura mais baixa de incubação.</p> <p>Checar leite cru ou processamento.</p> <p>Verificar o tratamento térmico.</p> <p>Checar a formulação.</p> <p>Eliminar a contaminação melhorando a higiene na fábrica ou qualidade do leite.</p>
<p>Falta de sabor (insípido) ou sabor ácido</p>	<p>Temperatura de incubação baixa demais ou dose de inóculo incorreta.</p> <p>Composição inadequada da cultura.</p>	<p>Checar e ajustar a temperatura de incubação. Variações para cima ou para baixo, dão origem a</p>

(continua)

Defeito	Possíveis causas	Possíveis soluções
demais.	Refrigeração tarde demais a pH muito baixo. Refrigeração lenta demais. Temperatura de armazenagem alta demais. Cultura rápida demais ou dose de inoculo alta demais. Pós-acidificação forte.	tempos de incubação longos ou curtos demais. Checar a cultura. A cepa aromática pode estar sendo atacada por fagos. Checar se há presença suficiente de lactobacilos. Checar e encurtar o tempo de incubação para refrigerar em pH correto ou baixar a temperatura de incubação e se não for possível, baixar a dose de inoculação. Checar e ajustar a temperatura de armazenagem, mas se não for possível, mudar para uma cultura mais lenta nestas condições. Checar e mudar para cultura mais lenta, dose de inoculo mais baixo ou temperatura de incubação mais baixa. Mudar para uma cultura com menos pós-acidificação.

Fonte: modificado de PEDERSEN (2009).