

Caracterização físico-química do leite fermentado por *Lactobacillus delbrueckii* subs. *bulgaricus* e *Streptococcus salivarius* subs. *thermophilus* imobilizados em alginato

Patrick Gomes de Souza¹; Ricardo Macedo da Silva¹; Grazielle da Costa Pontes¹; Helyde Albuquerque Marinho¹

¹ Laboratório de Alimentos e Nutrição, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brasil

Correspondência: Patrick Gomes de Souza, Laboratório de Alimentos e Nutrição, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brasil. E-mail: patrick.cientista@gmail.com

Recebido: Dezembro 21, 2021

Aceito: Janeiro 20, 2022

Publicado: Março 01, 2022

Resumo

O leite fermentado é um produto bastante consumido pela população brasileira, comumente preparado com bactérias lácteas livres. O presente trabalho teve como objetivo caracterizar a qualidade físico-químicas do leite fermentado por bactérias lácteas imobilizadas em alginato. No presente estudo foi utilizado leite UHT integral, cultura láctea simbiótica comercial da Danisco e alginato. As bactérias foram imobilizadas em alginato de cálcio a 2% e o processo de fermentação do leite foi conduzido a 42 ± 1 °C. Após a primeira batelada de fermentação as bioesferas foram retiradas e armazenadas em geladeira na temperatura de 5 °C, por 24h. O leite UHT e o leite fermentado foram avaliados quando as características físico-químicas e quanto a presença de microrganismos oportunistas. As análises físico-químicas foram umidade, pH, acidez, teor de sólidos solúveis totais, proteínas, lipídios, carboidratos e valor energético. Os leites apresentaram boa qualidade físico-química e excelente qualidade microbiológica. Concluiu-se que houve diferença físico-químicas apenas nos parâmetros relacionados a fermentação como pH e acidez.

Palavras-chave: Leite, bactérias lácteas, bromatologia, fermentação.

Abstract

Fermented milk is a product widely consumed by the Brazilian population, commonly prepared with free milk bacteria. The present work aimed to characterize the physicochemical quality of milk fermented by lactic acid bacteria immobilized in alginate. In the present study, whole UHT milk, commercial symbiotic dairy culture from Danisco and alginate were used. Bacteria were immobilized in 2% calcium alginate and the milk fermentation process was carried out at 42 ± 1 °C. After the first fermentation batch, the biospheres were removed and stored in a refrigerator at a temperature of 5 °C, for 24h. UHT milk and fermented milk were evaluated for physicochemical characteristics and for the presence of opportunistic microorganisms. The physicochemical analyzes were moisture, pH, acidity, total soluble solids, proteins, lipids, carbohydrates and energy value. The milks showed good physicochemical quality and excellent microbiological quality. It was concluded that there were physicochemical differences only in parameters related to fermentation such as pH and acidity.

Keywords: Milk, lactic bacteria, bromatology, fermentation.

Resumen

La leche fermentada es un producto ampliamente consumido por la población brasileña, comúnmente preparado con bacterias lácticas libres. El presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar la calidad fisicoquímica de la leche fermentada por bacterias ácido lácticas inmovilizadas en alginato. En el presente estudio, se utilizaron leche entera UHT, cultivo lácteo simbiótico comercial de Danisco y alginato. Las bacterias se inmovilizaron en alginato de calcio al 2% y el proceso de fermentación de la leche se realizó a 42 ± 1 °C. Después del primer lote de fermentación, las bioesferas se retiraron y se almacenaron en un refrigerador a 5 °C durante 24 horas. Se evaluaron las características fisicoquímicas y la presencia de microorganismos oportunistas en leche UHT y

leche fermentada. Los análisis físico-químicos fueron humedad, pH, acidez, sólidos solubles totales, proteínas, lípidos, carbohidratos y valor energético. Las leches presentaron buena calidad fisicoquímica y excelente calidad microbiológica. Se concluyó que hubo diferencias fisicoquímicas solo en parámetros relacionados con la fermentación, como pH y acidez

Palabras clave: Leche, bacterias lácteas, bromatología, fermentación.

1. Introdução

O leite fermentado é um produto bastante consumido pela população brasileira, especialmente pela faixa etária infantil. Este tipo de produto auxilia na produção de anticorpos, hormônios e enzimas, importantes para o metabolismo humano, contribuindo para reforçar o sistema imunológico. O consumo de leite fermentado contribui para o processo de retardamento do envelhecimento humano (Silva, 2007; Souza et al., 2022). O processo de fermentação do leite é causado pela ação das bactérias-lácteas e configura uma forma de preservação do leite (Yildiz, 2010).

As principais bactérias lácteas responsáveis pela fermentação do leite são *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*. Elas desempenham um papel primordial neste processo, sendo sua utilização um dos métodos mais antigos de preservação deste alimento (Gallina et al., 2011). Segundo Tamine & Robinson (1991), a bactéria *S. thermophilus* promove o crescimento dos *Lactobacillus*, retirando o oxigênio e liberando substâncias estimulantes como o ácido fórmico, ácido pirúvico e gás carbônico (CO₂). Por outro lado, os *Lactobacillus* estimulam os *Streptococcus* pela liberação de certos aminoácidos, principalmente glicina e histidina, necessários ao seu crescimento, provenientes da degradação das proteínas do leite.

Isto se deve à sua capacidade de produzir ácido láctico rapidamente, ocasionando o decréscimo do pH do leite e a remoção da fonte fermentescível. Processo que promove um ambiente desfavorável ao desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e/ou patogênicos (Tortelli, 2002). Esses microrganismos agem como prebióticos e beneficiam seu consumidor (Gallina et al., 2011). No entanto, diversas bebidas estão sendo estudadas a partir da produção de microrganismos imobilizados. Essa imobilização remove a cultura microbiológica do meio antes do seu consumo (Silva et al., 2021).

O emprego da técnica de imobilização de microrganismos vem se destacando entre produtos da fermentação alcoólica como para elaboração de vinhos e bebidas alcoólicas fermentadas (Ferraro et al., 2000). Uma das alternativas encontradas para “engenheirar” a estrutura morfológica destes microrganismos é a imobilização celular (IC), de maneira que seja preservada a atividade catalítica desejada. A tecnologia da IC se restringe à produção de metabólitos extracelulares ou a utilização de microrganismos como biocatalizadores (Prasad et al., 2005).

Existem quatro tipos diferentes de técnicas de imobilização: junção ou absorção em matriz porosa, auto-agregação por floculação e retenção por barreiras. A técnica de imobilização utilizada para elaboração de bebidas é do tipo aprisionamento em matriz porosa, ou biosferas de alginato de sódio. A imobilização geralmente é conseguida através do contato de um material como polímero proporcionando a formação de microcápsulas de qualidade. Essa matriz rígida previne o desprendimento celular para o meio (Pantoja, 2006).

A técnica de imobilização celular é considerada uma inovação. A utilização dessa técnica pode ser aplicada para elaboração de leite fermentado não probiótico, dessa forma, o leite pode passar por um processo de pasteurização que assegura a qualidade microbiológica do produto, além de ser viável o processamento até a forma em pó.

O iogurte é um produto fermentado elaborado com leite, usando uma cultura mista de *Lactobacillus* e *Streptococcus*; é um dos produtos lácteos mais apreciados pela população brasileira. As b-galactosidases, popularmente conhecidas como lactases e classificadas como hidrolases, são responsáveis por catalisar o resíduo terminal galactopiranosil da lactose (Galb1 – 4Glc) para formar glicose e galactose. A importância industrial da b-galactosidase está na sua aplicação na indústria de laticínios. Esta enzima hidrolisa a lactose carboidrato característico do leite e conhecido popularmente como "açúcar do leite" em seus monossacarídeos glicose e galactose, obtendo assim, alimentos com baixos teores de lactose, melhorando a solubilidade e digestibilidade do leite e derivados lácteos, ideais para consumidores intolerantes à lactose.

Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade físico-química do leite fermentado por bactérias lácteas imobilizadas em alginato de cálcio.

2. Material e Métodos

O material utilizado foi leite UHT integral, alginato de sódio da marca VETEC, cloreto de cálcio e cultura láctea simbiótica comercial liofilizada composta por *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacilos delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, da Danisco France SAS, série MYE. Para gotejamento das bioesferas foi utilizado frasco de Mariotte, garrote, pinça e balão de fundo chato.

Estufa com circulação mecânica (Mod 320E, FANEM), balança analítica (SA210, Scientech), mufla com controlador de temperatura (Hotspt, Gallenkamp), fogão (Realce), aparelho extrator Soxhlet (TE044, Tecnal), banho Maria (215 M2, Quimis), Capela, bomba a vácuo (Prismalab), bloco digestor (Mod 040125wifi, Tecnal), aparelho Kjeldahl (TE036/1, Tecnal), pHmetro (Mod 0400AS, Quimis), refratômetro (RHB32, Askto), centrífuga (HN-SII, DAMON), agitador de tubo (Mod 251, FANEM), máquina de gelo (Fiocchetti Frigorifi, Scientifici), geladeira (RFE39, Eletrolux) e liquidificador industrial (Real Equipamentos).

a) Reagentes: hexano (Synth), ácido sulfúrico PA (Sigma), sulfato de potássio (Synth), sulfato de cobre (Synth), hidróxido de sódio micro pérola PA (NEON), ácido bórico (Synth), vermelho de metila (Reagen), verde de bromocresol (Synth), ácido clorídrico (Nuclear), fenolftaleína (Synth), etanol (Sigma), ácido perclórico (Anidrol), antrona (Êxodo), sacarose (MERCK), metanol (MERCK), *Folin-Ciocalteu* (Dinâmica), ácido gálico (Dinâmica), nitrito de sódio (Dinâmica), cloreto de alumínio (Synth) e pirocatequina (Dinâmica).

b) Vidrarias: cadinho de alumínio (Red Thermo), dessecador complaca de porcelana (240 mm, Perfecta), tela de amianto (Prolab), cadinho de porcelana (Chiarootti M34), papel filtro com porosidade de 14 μm (Qualy), balão de fundo chato com junta esmerilada (Romerlab), cadinho de Gooch (7A-40, Chiarotti), kitassato (Deltex), tubos de ensaio (Precision), *Erlenmeyer* (Global), bureta (Global), tubos cônicos tipo Falcon (Kasvi), frasco de Mariotte, garra de metal, mangueiras de silicone e balão volumétrico (Global).

Após a imobilização celular foi conduzido o processo de fermentação do leite. Após a primeira batelada de fermentação as bioesferas foram retiradas e armazenadas em geladeira na temperatura de 5 °C. O leite fermentado oriundo da primeira fermentação foi avaliado quando as características físico-químicas e quando a presença de microrganismos oportunistas.

Para produção das bioesferas de bactérias lácteas imobilizadas, foi preparada uma suspensão de cultura láctea de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacilos dalbrueckii* subsp. *bulgaricus*, na concentração de 250 mg de bactérias por litro de leite, conforme orientações do fornecedor, foi adicionada de alginato de sódio a 2% (m v). A solução foi colocada em um frasco de Mariotte e gotejada em cloreto de cálcio 0,1 Mol L⁻¹, em temperatura ambiente, na qual, instantaneamente foram formadas as bioesferas, por gelificação, contendo inúmeras células em seu interior.

Foram preparadas duas bateladas de fermentação e ambas foram inoculadas com a mesma quantidade de bactérias. No primeiro sistema, as bactérias foram inoculadas de forma livre, onde foram pesadas e inoculadas diretamente no leite. No segundo tratamento, as bactérias foram imobilizadas em alginato e inoculadas no leite. Os sistemas foram mantidos em estufa com circulação de ar-forçado a 42 ± 1 °C até que o pH de ambos os sistemas atingisse valor próximo de 4,6. Este é considerado o pH determinante para final de fermentação do leite.

Após o processo de fermentação as bioesferas foram retiradas do meio por peneiração e o leite fermentado foi embalado em garrafas plásticas previamente esterilizadas em Luz UV. O leite e o leite fermentado sem bioesferas foram avaliados quando suas características físico-químicas de umidade, pH, acidez, teor de sólidos solúveis totais, proteínas, lipídios, carboidratos e valor energético.

O teor de umidade foi realizado por gravimetria conforme descrito por IAL (2008). A análise foi realizada pesando-se um grama de amostra em cápsula de alumínio previamente seca e com massa conhecida. Em seguida, a cápsula contendo amostra foi transferida para estufa com circulação de ar forçada a 105 ± 1 °C até massa constante. O resultado obtido foi expresso em g 100 g⁻¹ de matéria integral e em seguida, por diferença entre 100% e o percentual de matéria seca foi calculada o teor de umidade em g 100 g⁻¹.

O teor de lipídeos foi determinado por gravimetria de acordo com o método proposto por IAL (2008) e descrito por Menezes Filho et al. (2019, 2020). Três gramas de amostra foram transferidos para cartucho de papel filtro Qualy com porosidade de 14 μm , com massa previamente conhecida. Em seguida, o cartucho foi posicionado no aparelho extrator tipo Soxhlet para extração da fração lipídica utilizando éter de petróleo como solvente. O processo foi realizado por 24 h, sob sucessivas lavagens da amostra para arraste dos ácidos graxos. Por fim, a amostra drenada para um balão de fundo chato previamente seco e de massa conhecida foi levado ao banho ultratermostático para evaporação do solvente, e em seguida, transferido para estufa a 105 °C até massa constante.

O balão de fundo chato contendo a fração lipídica foi resfriado em dessecador e novamente teve sua massa determinada. O resultado foi expresso em $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ de lipídios.

O teor de fibra total foi obtido por gravimetria conforme descrição do IAL (2008). Uma alíquota com massa de 1 g seca e desengordurada, foi tratada com solução ácida e alcalina, onde em seguida, foi filtrada em cadinho de Gooch com auxílio de bomba a vácuo. A amostra passou por sucessivas lavagens com água destilada a temperatura de $80 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ até obter uma amostra com pH neutro. Após esta etapa, a amostra seguiu para a estufa com circulação de ar forçada à temperatura de $105 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, até massa constante. O resultado foi expresso em $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ de fibra.

O teor de proteínas foi determinado a partir da matéria seca, pelo método Micro-Kjeldahl, segundo metodologia descrita por IAL (2008). Uma massa contendo 0,5 g da amostra sobre papel vegetal foi obtida em balança analítica, e em seguida, depositada em tubo de ensaio próprio para elevadas temperaturas. Neste, adicionou-se 5 mL de ácido sulfúrico concentrado, 300 mg de sulfato de potássio e 300 mg de sulfato de cobre. Os tubos foram posicionados em um bloco digestor até total digestão, observada pela coloração esverdeada translúcida da amostra. Neste processo a temperatura inicial foi de $50 \text{ }^\circ\text{C}$ sendo elevada até $350 \text{ }^\circ\text{C}$. Em seguida, foi realizada a destilação em aparelho Kjeldahl com o uso de 15 mL de NaOH 50% (m v). O material destilado foi coletado (cerca de 75 mL) em um Erlenmeyer contendo 15 mL de ácido bórico e 3 gotas da solução indicadora (indicador de solução alcoólica composto por vermelho de metila e verde de bromocresol 1:5) e em seguida submetido a titulação com HCl 0,02 mol/L. Os resultados foram expressos em $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ de proteína total.

O teor de carboidratos foi realizado conforme descrito por IAL (2008). O resultado foi calculado pela diferença a partir da soma dos resultados de cinzas, fibras, lipídios, proteínas e umidade, subtraídos de 100. O resultado foi expresso em $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$.

A metodologia seguida para determinação do valor energético foi descrita por De Angelis (1977). O valor calórico foi calculado utilizando-se os seguintes fatores de conversão de Atwater: 9 kcal por um g de lipídios, 4 kcal por g de proteínas e 4 kcal por g de carboidratos. Os resultados foram expressos em kcal 100 g^{-1} de matéria integral.

A obtenção do pH foi realizada por leitura direta em pHmêtro digital conforme metodologia descrita por IAL (2008), através de leitura direta. O resultado foi expresso em número inteiro seguido da sigla pH.

A análise de acidez foi realizada por titulometria conforme metodologia do IAL (2008). Um grama de amostra foi transferida para *Erlenmeyer* de 125 mL, o qual foi adicionado com 50 mL de água destilada e 3 gotas de fenolftaleína 1 % (m v). Após homogeneização, a amostra foi titulada com solução de NaOH 0,1 Mol L^{-1} (m/v). Ao atingir o ponto de “viragem”, o volume gasto de solução foi registrado para cada amostra. O resultado foi expresso em $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ de acidez.

A análise microbiológica foi realizada a partir de alíquotas de amostra do leite fermentado da primeira batelada. Para contagem de bactérias Gram-negativas: A análise foi realizada conforme metodologia descrita por Silva et al. (1997). Para determinação da contaminação por bactérias gram-negativas (BGN) uma amostra contendo 1 mL de leite foi inoculado em meio de cultura WLN. O meio foi preparado conforme descrição do fornecedor do meio de cultura, utilizando uma massa contendo 7,5 g de meio de cultura que foi em seguida, dissolvido com 100 mL de água destilada. O pH foi corrigido com solução de NaOH 1 Mol L^{-1} (m/v) até pH ótimo = 5,5 e em seguida autoclavada. A mistura após esterilização, foi então distribuída em placas de *Petri* previamente esterilizadas em autoclave a $121 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ por 15 minutos. O meio contendo amostra foi transferido para incubadora a $30 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ por 7 dias para verificação do desenvolvimento de bactérias gram-negativas. A leitura foi realizada através da contagem de colônias desenvolvidas e o resultado expresso em UFC mL^{-1} .

Para contagem de leveduras, a análise foi realizada conforme metodologia descrita por Silva et al. (1997). Para determinação da contaminação por leveduras selvagens, ou seja, qualquer levedura diferente da utilizada no processamento do leite fermentado, uma amostra contendo 1 mL de cerveja foi inoculada em meio de cultura YM enriquecido com CuSO_4 . O meio foi preparado conforme descrição do fornecedor do meio de cultura. Foi utilizado uma alíquota contendo 4,1 g do meio de cultura que em seguida foi dissolvido com 100 mL de água destilada, e uma solução de sulfato de cobre conc. 50 mL L^{-1} . A mistura foi homogeneizada até ebulição, e em seguida, distribuída em placas de *Petri* e esterilizadas em autoclave a $121 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ por 15 minutos. Após adição da amostra ao meio, as placas foram transferidas e incubadas a $10 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ por 7 dias para verificação do desenvolvimento de leveduras selvagens. A leitura foi realizada através da contagem de colônias desenvolvidas e o resultado expresso em UFC mL^{-1} .

A análise estatística dos resultados físico-químicos foi realizada por meio da ANOVA e Teste de Tukey com 5% de

significância. Foi utilizado o modelo Inteiramente Casualizado, com dois tratamentos, três repetições (triplicata) de 7 variáveis, sendo descartada a análise de fibra por não ter apresentado valor significativo. O programa estava disponível no link <https://www.cca.ufscar.br/pt-br/servicos/teste-de-tukey>.

3. Resultados e Discussão

As variações físico-químicas da primeira batelada acompanhadas durante o processo fermentativo do leite estão descritas nas (Figuras 1 e 2). A Figura 1 contém a curva de pH e acidez do leite fermentado em processo comum, com bactérias livres. O pH de 6,81 desceu para 4,69, enquanto a acidez subiu de 0,21 para 0,74 % de ácido lácteo, processo que ocorreu ao longo de 5 h de fermentação em temperatura controlada de 41 °C. Na Figura 2 foi observado o mesmo comportamento com decréscimo de pH de 6,88 para 4,65 e elevação na acidez de 0,22 para 0,63 % de ácido lácteo, no entanto o processo foi mais lento e durou 7,5 horas. Em comparação com o processo que utilizou bactérias livres o experimento com bactérias imobilizadas aumentou tempo de fermentação em 2,5 horas, isso pode ser uma desvantagem industrial quando se considera a necessidade de produtos com alta produtividade no ambiente industrial.

Segundo Albuquerque e Couto (2005) o pH ideal para elaboração de leites fermentados é próximo de 4,6. A redução do pH e aumento da acidez se deve à capacidade de produzir ácido láctico pelas bactérias lácteas rapidamente. Ao longo do processo de fermentação láctea há o decréscimo do pH e a remoção da fonte fermentável, promovendo um ambiente desfavorável ao desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e/ou patogênicos (Moreno et al., 2001). De acordo com a Instrução Normativa 46/07, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (Brasil, 2007) a acidez do leite fermentado deve ser entre 0,6 e 2,0 % de ácido láctico, se mostrando satisfatórios os resultados encontrados.

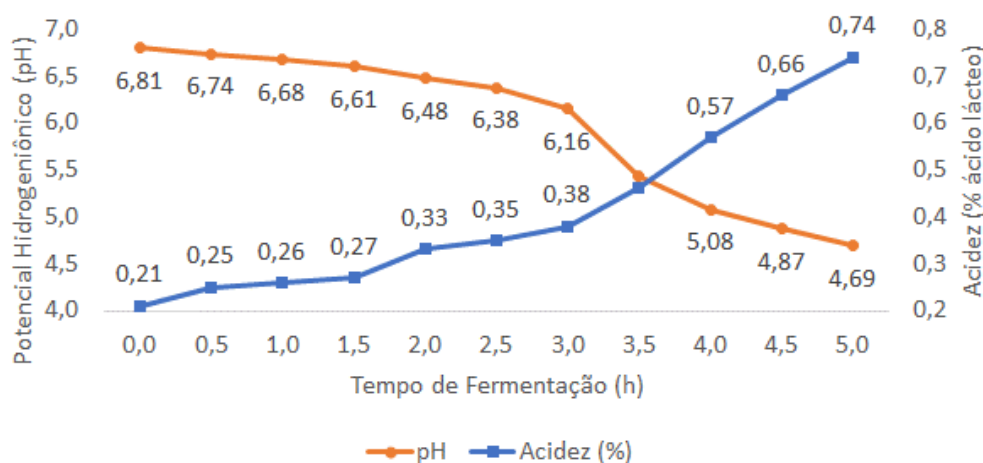


Figura 1. Curva de pH e acidez (%) do leite UHT durante a fermentação por cultura láctea simbiótica livre.

Fonte: Autores, 2021.

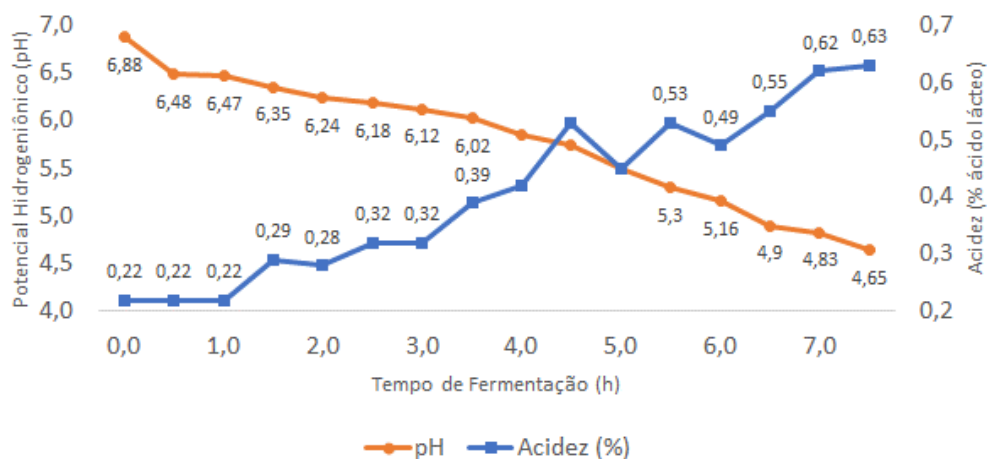


Figura 2. Curva de pH e acidez (%) do leite UHT durante a fermentação por cultura láctea simbiótica imobilizada em alginato de sódio. Fonte: Autores, 2021.

Os resultados da composição físico-química do leite UHT e do leite fermentado estão apresentados na (Tabela 1). Os produtos apresentaram diferença estatística significativa para umidade, pH e acidez. As variações de pH e acidez podem ter a causa originada no tempo de fermentação das bebidas, conforme citado a cima. Essa lentidão no processo fermentativo provocou o aumento do tempo e influenciou nos resultados dessas variáveis.

O teor de proteínas das bebidas foram de 5,88 e 5,92 g por 100 g⁻¹, respectivamente na bebida com bactérias livres e imobilizadas. Oliveira et al (2020) encontraram proteínas entre 3,06 a 3,32 por 100 g⁻¹, em um estudo avaliando leite cru e gordura variando entre 3,34 e 3,74 g 100⁻¹. O teor de lipídios encontrado foi superior ao trabalho citado, ambos os produtos apresentou valores mínimos de 6 g por 100 g⁻¹. Estes produtos foram classificados como leite fermentado com creme, com base no critério de concentração de gordura de acordo com a classificação da IN 46/07 do MAPA (Brasil, 2007).

A concentração de carboidratos no leite fermentado com bactérias livres foi de 6,62 g 100⁻¹ e no leite fermentado com bactérias imobilizadas foi de 6,44 g 100⁻¹. O valor energético das mesmas bebidas foram de 104,72 e 103,53 kcal 100 g⁻¹. Os resultados dessas análises não apresentaram diferença estatística.

Tabela 1. Composição físico-química do leite UHT e do leite fermentado obtido por bactérias imobilizadas em alginato de cálcio (média ± desvio padrão).

Componentes	Leite fermentado	Leite fermentado
	bactérias livres	bactérias imobilizadas
Umidade (%)	81,42 ± 0,05b	81,63 ± 0,07a
pH	4,88 ± 0,01a	4,54 ± 0,01b
Acidez (% ácido láctico)	0,22 ± 0,37b	0,76 ± 0,32a
Proteínas (g 100 g ⁻¹)	5,88 ± 0,03a	5,92 ± 0,16a
Carboidratos (g 100 g ⁻¹)	6,62 ± 0,2a	6,44 ± 0,51a
Lipídios (g 100 g ⁻¹)	6,08 ± 0,12a	6,01 ± 0,28a
Valor Energético (kcal 100 g ⁻¹)	104,72 ± 0,4a	103,53 ± 1,12a
Fibras (g 100 g ⁻¹)	0 ± 0,00a	0 ± 0,00a

Nota: Letras na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com 5% de significância. Fonte: Autores, 2021.

O leite fermentado apresentou-se isento de microrganismos patogênicos, não aparecendo nenhuma unidade formadora de colônia (UFC) na avaliação realizada, isso mostra a eficiência do processo de pasteurização do

leite fermentado. Em um trabalho com ordenha de leite Reche et al (2015) encontraram resultados de 91,6 UFC mL⁻¹ na contagem total de bactérias, eles afirmam que essa elevada contagem se deu em função da técnica de coleta. Guerreiro et al. (2005) afirmam comprovaram a importância de práticas de higiene e limpeza sobre a qualidade microbiológica do leite fermentado.

4. Conclusões

O leite fermentado por bactérias lácteas imobilizadas em alginato de cálcio apresentou qualidade físico-química semelhante ao leite fermentado por bactérias de forma livre. Em comparação com o processo que utilizou bactérias livres o experimento com bactérias imobilizadas aumentou tempo de fermentação o que pode ser uma desvantagem industrial. Houve diferença estatística apenas para os resultados de umidade, acidez e pH. As bebidas foram classificadas como leite fermentado com creme, de acordo com a concentração de gordura e apresentaram resultado de acidez em ácido láctico dentro do estabelecido pelo MAPA.

5. Agradecimentos

Agradecemos ao laboratório de Análises e Nutrição, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), pela oportunidade de desenvolvimento do estudo.

6. References

- Brasil. (2007). *Instrução Normativa Nº 46, de 23 de outubro de 2007, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento / Secretaria de Defesa Agropecuária*, que estabelece o regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/44304988/do1-2018-10-08-inst-rucao-normativa-n-37>. Acesso em 25 de novembro de 2021.
- Brasil. (2018). *Instrução Normativa Nº 37, de 08 de outubro de 2018, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento / Secretaria de Defesa Agropecuária*, que estabelece parâmetros analíticos e quesitos complementares aos padrões de identidade e qualidade de polpa de fruta. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/44304988/do1-2018-10-08-inst-rucao-normativa-n-37>. Acesso em 25 de novembro de 2021.
- Brasil. (2019). *Instrução Normativa nº 65/19, de 10 de dezembro de 2019, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)*. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-65-de-10-de-dezembro-de-2019-232666262>>. Acesso em 25 de novembro de 2021.
- Canuto, G. A. B., Xavier, A. A. O., Neves, L. C., Benassi, M. D. T. (2010). Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32 (4).
- De Angelis, R. C. (1977). *Fisiologia da nutrição: fundamentos para nutrição e desnutrição*. 1. ed. São Paulo: EDART.
- EBC. (1987). *European Brewery Convention*. Disponível em <<https://brewup.eu/ebcanalytica>>. Acesso em: 26 de novembro de 2021.
- Gonçalves, M. V. V. A., Silva, J. P. L., Mathias, S. P., Rosenthal, A., Calado, V. M. A. (2013). Caracterização físico-química e reológicas da polpa de cupuaçu congelada (*Theobroma grandiflorum* Schum). *Perspectivas Online: exatas & engenharia*, 3(7): 46-53.
- Hübner, D. (2019). Produção de cerveja estilo catharina Sour com polpa de pitaia (*Hylocereus polyrhizus*) e gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe). Trabalho de Conclusão de Curso (Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil.
- IAL. (2008). *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos Físico-químicos para análise de alimentos*. 4. ed. São Paulo: IAL.
- López, P. (2015). Avaliação da cadeia produtiva do cupuaçu (*Theobroma Grandiflorum* (Willd. Ex Spreng.) Schum.) nos municípios de Itacoatiara, Presidente Figueiredo e Manaus. Dissertação de Mestrado (Agronomia de Trópicos Úmidos). Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, Manaus, Brasil.

- MAPA (2020). *Anuário da Cerveja 2020*. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/com-crescimento-de-14-4-em-2020-numero-de-cervejarias-registradas-no-brasil-passa-de-1-3-mil/anuariocerveja2.pdf>>. Acesso em: 20 de junho de 2021.
- Melo, F. S., Okaneku, B. M., Cardoso, D. N. P., Rodrigues, E. C., Santos, W. G. (2021). Avaliação das características físico-químicas de polpa e concentrado de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) da região Amazônica. *Brazilian Journal of Development*, 7(1): 10462-10472.
- Menezes Filho, A. C. P., Cordeiro, D. A., Oliveira Filho, J. G., Castro, C. F. S. (2020). Biometria do fruto e avaliações físico-química e antioxidante da farinha de calabura. *Revista Agrarian*, 13(49), 437-447.
- Menezes Filho, A. C. P., Souza, J. C. P., Castro, C. F. S. (2019). Avaliação dos Parâmetros físico-químicos e tecnológicos da farinha produzida a partir dos resíduos da agroindústria de laranja e melancia. *Revista Agrarian*, 12(45), 399-410.
- Souza, P. G., Castro, M. S., Pantoja, L., Maeda, R. N., Marinho, H. A. (2022). Avaliação da qualidade físico-química de bebidas lácteas sabor de araçá-boi (*Eugenia stipitata*). *Brazilian Journal of Science*, 1(2), 59-64.
- Souza, P. G. (2010). *Elaboração de Cervejas Tipo Lager a partir de Farinha de Pupunha (Bactris Gasipaes Kunth) como Adjunto, em Bioprocessos Conduzidos Com Leveduras Livres e Imobilizadas*. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia). Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brasil.
- Souza, P. G. (2015). *Estudo do Potencial Biotecnológico do Rizoma de Zingiber Zerumbet L. Smith como Adjunto na Produção de Cerveja Artesanal*. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brasil.

Copyrights

Copyright for this article is retained by the author(s), with first publication rights granted to the journal.

This is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).