

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

FRANCISCO BRISOLLA DE OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DO LEITELHO FERMENTADO ADICIONADO
DE POLPA DE PITAYA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LONDRINA

2021

FRANCISCO BRISOLLA DE OLIVEIRA

DESENVOLVIMENTO DO LEITELHO FERMENTADO ADICIONADO DE POLPA DE PITAYA

Development of fermented Buttermilk added by Pitaya Pulp

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos do Curso Superior em Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR campus Londrina.

Orientadora: Profa. Dra. Marly Sayuri Katsuda

Coorientadora: Profa. Dra. Luciana Furlaneto - Maia

LONDRINA
2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos aos autores. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

TERMO DE APROVAÇÃO

DESENVOLVIMENTO DO LEITELHO FERMENTADO ADICIONADO DE POLPA DE PITAYA

FRANCISCO BRISOLLA DE OLIVEIRA

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 6 de dezembro de 2021 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos e foi avaliado pelos seguintes professores:

Profa. Dra. Luciana Furlaneto-Maia

Profa. Coorientadora

Prof. Dr. Alexandre Rodrigo Coelho

Membro Avaliador da Banca 1

Profa. Ms. Juliany Piazzon Gomes

Membro Avaliador da Banca 2

Esta obra é dedicada à minha família, aos
terapeutas que me ajudaram nesta fase e a
todas as pessoas que me ajudaram durante o
período universitário

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra Marly Sayuri Katsuda pela orientação e apoio ao longo de todo o desenvolvimento do trabalho de conclusão do curso.

Aos professores do curso de Tecnologia em Alimentos por compartilharem seus conhecimentos e experiências em alguns momentos muito suaves.

À UTFPR pela oportunidade de realizar o meu trabalho em suas instalações e promover a oportunidade de desenvolver algumas habilidades.

Ao LabMulti da UTFPR campus Londrina pelo consentimento de equipamentos para o desenvolvimento de algumas análises neste trabalho.

Aos colegas que de forma direta ou indireta contribuíram com o desenvolvimento do meu trabalho de conclusão de curso e me apoiaram nas atividades acadêmicas ao longo do curso.

À minha família, terapeutas e amigos que me apoiaram e colaboraram com o suporte emocional durante o curso neste turbulento período

RESUMO

O leiteiro é um subproduto da produção de manteiga que tem grande valor nutricional e propriedades funcionais de alta qualidade e está ganhando maior reconhecimento tanto na indústria láctea quanto no mercado consumidor. A pitaya é uma fruta cactácea com elevado valor nutricional devido a sua composição rica em betalaínas e vitamina C. Portanto, este trabalho visou a avaliar as características físico-químicas do leiteiro fermentado por *L. delbrueckii* e *S. thermophilus* (YO) e *L. delbrueckii*, *S. thermophilus* e *L. helveticus* (YOLH) adicionado de polpa de pitaya vermelha ao longo de 30 dias de estocagem sob temperatura de 5°C. Neste estudo determinou-se a composição proximal: extrato seco total, proteína, lipídio, cinzas e carboidratos no primeiro dia de estocagem. Nos tempos 1, 7, 15 e 30 dias de estocagem efetuou-se avaliação de pH e acidez titulável. Os resultados da composição proximal do YOLH não apresentaram diferença significativa em todos os componentes comparado ao YO. O pH e acidez titulável não apresentou diferença estatística entre os tratamentos ao longo do tempo de estocagem. Este estudo permitiu concluir que adicionar *L. helveticus* como cultura adjunta na produção de leiteiro fermentado não afetou as características físico-química ao longo da estocagem.

Palavras chave: *L. helveticus*. *L. delbrueckii*. *S. thermophilus*. Leite fermentado. Pitaya vermelha

ABSTRACT

Buttermilk is a by-product of butter production that has great nutritional value and high-quality functional properties and is gaining greater recognition both in the dairy industry and in the consumer market. Pitaya is a cactus fruit with high nutritional value due to its rich composition in betalains and vitamin C. Therefore, this work aimed to evaluate the physicochemical characteristics of buttermilk fermented by *L. delbrueckii* and *S. thermophilus* (YO) and *L. delbrueckii*, *S. thermophilus* and *L. helveticus* (YOLH) added with red pitaya pulp over 30 days of storage at a temperature of 5°C. In this study, the proximal composition was determined: total dry matter, protein, lipid, ash and carbohydrates on the first day of storage. At times 1, 7, 15 and 30 days of storage, pH and titratable acidity were evaluated. The results of the proximal composition of YOLH showed no significant difference in all components compared to YO. The pH and titratable acidity did not show statistical difference between treatments along the storage time. This study allowed us to conclude that adding *L. helveticus* as an adjunct culture in the production of fermented buttermilk did not affect the physicochemical characteristics during storage.

Keywords: *L. helveticus*. *L. delbrueckii*. *S. thermophilus*. fermented milk. Pitaya.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição proximal do leite não fermentado e leite desnatado expresso em porcentagem (p/p).....16

Tabela 2 - Composição proximal do leite fermentado por *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* (YO) e *L. helveticus*, *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* (YOLH), adicionado de polpa de pitaya, no primeiro dia de estocagem a 5°C.....21

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Evolução do pH do leite fermentado por *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* (YO) e *L. helveticus*, *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* (YOLH), adicionado de polpa de pitaya, ao longo dos 30 dias de estocagem a 5°C.....24

Figura 2 - Desenvolvimento da acidez titulável (g de ácido láctico/100 g) de leite fermentado por *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* (YO) e *L. helveticus*, *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* (YOLH), adicionado de polpa de pitaya, ao longo dos 30 dias de estocagem a 5°C.....25

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 OBJETIVO.....	12
2.1 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	12
3. LEITELHO FERMENTADO.....	13
3.2. <i>Lactobacillus helveticus</i>	14
3.3. <i>Streptococcus thermophilus e Lactobacillus bulgaricus</i>	14
3.4. Leitelho	15
3.5 PITAYA	16
4. MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1. MATERIAL	18
4.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	18
4.3. PRODUÇÃO DA POLPA DE PITAYA VERMELHA	18
4.4. PRODUÇÃO DO LEITELHO FERMENTADO.....	19
4.3. COMPOSIÇÃO PROXIMAL E ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA	19
4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
6. CONCLUSÃO	26
REFERÊNCIAS	27

1. INTRODUÇÃO

Leite fermentado é um produto lácteo resultante da fermentação de leite ou de seus derivados por bactérias ácido lácticas (BAL). As BALs, que são utilizadas na produção do leite fermentado, são variadas, como por exemplo: *Bifidobacterium*; *Lactobacillus casei*; *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* (BRASIL, 2007).

Lactobacillus helveticus é uma bactéria gram positiva que pertence ao grupo de bactérias ácido-lácticas (BAL) e é comumente utilizada na fabricação de queijos e vem ganhando espaço na fabricação de leites fermentados (AIHARA, et al, 2005).

Segundo Rodrigues (2019), a bactéria *Lactobacillus helveticus* pode ser utilizada para a produção de leite fermentado. Este pode ter efeitos benéficos na saúde do consumidor como por exemplo o combate ao estresse e suas sequelas como, por exemplo, a regulação da pressão sanguínea.

A indústria de laticínios vem utilizando o leiteiro como base para leites fermentados devido aos valores nutricionais e aceitação sensorial em produtos lácteos. O leiteiro contém a mesma composição do leite desnatado e resíduos dos componentes da membrana dos glóbulos de gordura que podem apresentar funções nutricionais que contribuem para a redução do colesterol e pressão sanguínea, além de melhorar as atividades da flora bacteriana do intestino e antitumorais (GILLE, 2010).

De acordo com o regulamento vigente, o leite fermentado (BRASIL, 2007) pode receber saborizante, aromatizante e/ou polpas de frutas industrializadas. No Brasil, o mercado de leite fermentado vem explorando o uso de frutas com propriedades nutricionais que contribuem com a saúde e o bem estar do consumidor (JUNIOR, ALBUQUERQUE, ANDRADE. 2016).

A pitaya é uma fruta que vem sendo explorada pelo mercado devido aos seus valores nutricionais e antioxidantes. É uma fruta cactácea considerada exótica, mas que vem ganhando espaço no mercado consumidor brasileiro. Este fruto vem sendo explorado devido suas propriedades funcionais e nutricionais. Segundo Rocha, Godoy e Rocha (2012), pessoas que consumiram a fruta tiveram melhoras no sistema imune além de rendimento físico e mental melhores. Por ser um fruto ainda considerado exótico no país, o custo da pitaya ainda é considerado alto para o consumidor comum.

Desse modo, este trabalho propôs desenvolver e avaliar as características físico-químicas de leite fermentado por *L. helveticus*, *Streptococcus thermophilus* e *L. bulgaricus* adicionado de polpa de pitaya roxa ao longo de 30 dias de estocagem sob refrigeração.

2. OBJETIVOS GERAIS

Elaborar leiteinho utilizando *L. helveticus* combinado ou não com *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* adicionado de polpa de pitaya e avaliar sua composição e características físico-químicas do produto ao longo do tempo de estocagem.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaborar leiteinho fermentado de *L. helveticus* e *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* e estocar por período de 30 dias a 5°C
- Determinar a composição proximal do leiteinho fermentado;
- Avaliar a evolução da acidez titulável e pH do leiteinho fermentado ao longo do tempo de estocagem.

3. LEITELHO FERMENTADO: COMPOSIÇÃO PROXIMAL E VALOR NUTRICIONAL

Este estudo propôs desenvolver um leite fermentado utilizando leiteiro como o principal ingrediente da base láctea e adicionado de polpa de pitaya visando melhorar o valor nutricional do produto. Adicionalmente neste estudo foi realizado a caracterização físico-química dos tratamentos ao longo do tempo de estocagem.

3.1 LEITE FERMENTADOS

Leites Fermentados são 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 ação de cultivos de microrganismos específicos. O leite fermentado pode ser classificado quanto ao teor de gordura: desnatado (máximo de 0,5 g/100g), semidesnatado (entre 0,6 a 2,9 g/100g), integral (entre 3,0 a 5,9 g/100 g) e com creme (mínimo de 6,0 g/100 g). De acordo com o tipo de bactéria e suas características, podem ser classificados em: iogurte, leite cultivado, leite acidófilo, Kefir, Kumys e coalhada (BRASIL, 2007).

Segundo a Instrução Normativa N°46 (BRASIL, 2007), entre os ingredientes que se enquadram como base láctea que podem compor o leite fermentado encontram-se: leiteiro, leite e creme de leite (nata*) coalhados, iogurte, quefir e outros leites e cremes de leite (natas*), fermentados ou acidificados. Estes poderão ser concentrados ou na forma original. O leite fermentado pode receber ingredientes não lácteos desde que não exceda os 30% da composição em base mássica, as quais podem ser: açúcar ou de outros edulcorantes, espessante, aromatizantes, saborizantes, entre outros.

As BALs listadas na legislação (BRASIL, 2007) para a produção de leite fermentado são: *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. kefir*, *Bifidobacterium*, *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* e espécies dos gêneros: *Lactococcus* e *Leuconostoc*. Leveduras também são aplicadas para produção de leite fermentado Kefir e Kumys, são eles: *Acetobacter* e *Kluyveromyces marxianus*. Há diversos trabalhos envolvendo BALs em leite fermentado com propriedades nutricionais e funcionais, tais como *L. plantarum* e *L. rhamnosus* (COSTA et al, 2013). Os microrganismos utilizados para a fermentação do leite são os de fermentação ácido-láctica (BAL), os quais são utilizados para conferir

uma consistência melhor e também conferem melhor textura para o fermentado (CARNEIRO et al, 2012).

A legislação brasileira exige que as culturas lácticas estejam vivas e viáveis no leite fermentado, as quais podem apresentar 10^6 UFC/g de bactérias vivas em leite cultivado e coalhada e nos demais 10^7 UFC/g (BRASIL, 2007).

3.2. *Lactobacillus helveticus*

L. helveticus é uma bactéria ácido láctica (BAL), gram positiva, homofermentativa e termofílica. Esta espécie é largamente utilizada na produção de queijos (muitas vezes suíço americano e emmental), mas também pode ser utilizada para produzir leites fermentados. Também está ganhando maior reconhecimento devido às suas características probióticas e contém a capacidade de produzir peptídeos bioativos. Pode-se, portanto, considerar o *L. helveticus* como uma BAL multifuncional. (GIRAFFA, 2014)

Burns et al (2010) desenvolveu leitelho fermentado utilizando cepas *L. helveticus* 209, os quais eram capazes de produzir peptídeos bioativos que estimulam a produção de células IgA em ratos demonstrando uma significativa capacidade imunomoduladora. Taverniti e Guglielmetti (2012) também observaram que pacientes que consumiram o leite fermentado por *L. helveticus* tiveram uma considerável alta no sistema imunológico.

3.3. *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*

O *S. thermophilus* é uma bactéria Gram-positiva anaeróbia facultativa considerada ácido-láctica geralmente considerada segura (GRAS) que é comumente encontrada no tecido mamário das vacas e no leite cru. É utilizada na indústria láctea principalmente na produção de iogurtes e queijos e foi analisada em ter propriedades probióticas incluindo o alívio da intolerância à lactose (GOH et al., 2011).

S. thermophilus é utilizada na fermentação devido a sua relativa resistência a altas temperaturas e rápida acidificação, o que garante a viabilidade de sua utilização na fabricação de derivados lácteos (CARVALHO, 2007).

L. bulgaricus é uma bactéria Gram-positiva, anaeróbia que é a mais comum para a produção de iogurte e é considerada segura para trabalhar já que não é

patogênica. Estudos sobre a ingestão de produtos lácteos com a bactéria determinaram que houve uma melhora no sistema imunológico do consumidor. Como é probiótico, tem o potencial de controlar e até reduzir inflamações no corpo além de outros benefícios (WASILEWSKA, 2019).

3.4. Leitelho

O leitelho é considerado um subproduto muito versátil na produção de leite fermentado e bebidas lácteas, devido a sua alta qualidade espessante e emulsificante. É um subproduto da bateção da manteiga resultante da separação da gordura emulsificada por meio do processo de bateção que resulta em um líquido muito similar com o leite desnatado com um perfil distinto, mais denso e grosso. O leitelho pode ser resultante de manteiga não fermentada e, portanto, denominado como leitelho não fermentado ou pode ser proveniente de manteiga fermentada cuja manteiga passou por um processo de maturação por BAL. As características dependem do tipo de manteiga utilizada (GILLES, 2011).

Existem 2 tipos de leitelho: Fermentado e não fermentado. O leitelho não fermentado é resultante da bateção do creme não fermentado, onde é submetido somente ao processo de maturação física (o creme é resfriado por um período a fim de controlar a forma e tamanho do cristal de gordura). Este produto é considerado menos ácido e mais estável, características que propicia o seu aproveitamento para a produção de bebidas lácteas (BYLUND, 1995). O leitelho originalmente se assemelha ao leite desnatado, o qual permite que este seja fermentado para melhorar as suas propriedades nutricionais e probióticas. Por ser um subproduto da manteiga, contém uma quantidade pequena de lipídios e triglicerídeos. (PFRIMER, 2018)

Já o leitelho fermentado é proveniente da manteiga fermentada e é resultante da bateção do leite maturado por BAL o que contribui para o aumento da acidez e aroma típico do produto. Tem um aproveitamento menor já que as proteínas são consideradas instáveis e têm maior teor de resíduos minerais o que promovem complicações na produção de leite fermentado (AMIOT, 1991; BYLUND, 1995).

A membrana de gordura do leite é rompida na bateção e seus conteúdos, triglicerídeos e outros compostos, são liberados na fase líquida do leite devido a baixa temperatura. Esta fase é denominada leitelho (AMIOT, 1991).

O leite não fermentado é um produto com alto teor de gordura e com proporções sólidas semelhantes ao leite desnatado (TABELA 1).

Tabela 1 - Composição proximal do leite não fermentado e leite desnatado expresso em porcentagem (p/p)

Composição	Leitelho (%)	Leite desnatado (%)
Água	90,4	90,7
Proteína	3,43	3,45
Gordura	0,51	0,07
Colesterol	0,4	0,3
Carboidratos	4,01	4,80
Minerais	0,75	0,75
Vitamina B12	$2 \cdot 10^{-7}$	$30 \cdot 10^{-9}$
a-tocoferol	$2 \cdot 10^{-8}$	Traços
Ácido fólico	$5 \cdot 10^{-9}$	$5 \cdot 10^9$

Fonte: Gille, 2011.

O perfil proteico do leite não fermentado é composto pelas mesmas frações de proteínas presentes no leite desnatado somando às proteínas do leite da membrana do glóbulo de gordura que são compostos por enzimas, imunoglobulinas e proteínas emulsificantes (GILLE,2011).

Os carboidratos presentes no leite não fermentado são compostos de oligossacarídeos, lactose, glicose, galactose, entre outros compostos (AMIOT 1991).

O perfil lipídico do leite não fermentado apresenta uma maior concentração de fração fosfolipídica, o que contribui para a redução do colesterol LDL no sangue (SPITSBERG, 2005).

Comparado com outros produtos lácteos, o leite não fermentado tem o maior índice de carga de membrana do glóbulo de gordura do leite residual (MGG). Essa membrana tem a função de emulsionar o leite a gordura do leite garantindo a solubilidade parcial na fase líquida além de manter a consistência. Com a bateção de manteiga, essa membrana é rompida levando a separação lipídica apolar, constituindo a manteiga, da fração polar assim liberando a fração solúvel. A membrana é solubilizada a solução aquosa a qual os fosfolipídeos são compostos. Alguns desses compostos são considerados benéficos para a saúde humana (GILLE, 2011).

Com estudos mais frequentes sobre a MFGM nas últimas décadas, mais compostos desta membrana estão sendo descobertos e mais sobre o benefício à saúde humana estão sendo testados. Um destes compostos foi visto como redutor da colesterolemia, o que causa a baixa de colesterol no sangue além de vitamina E, carotenoides, antioxidantes que inibem os efeitos de radicais livres oxidantes e protegem as células sadias do corpo (GILLE, 2011; SPITSBERG, 2005).

3.5 PITAYA

A pitaya é uma fruta cactácea comumente nativa do México e regiões caribenhas. É escamosa, o que levou a ser chamada de “fruta do dragão” em certas regiões e vem em uma variedade de cores. A polpa também é de diferentes cores dependendo da espécie da fruta. O seu sabor é doce e levemente ácido. Como é um produto ainda considerado exótico no Brasil, o preço do produto ainda é elevado e a principal variedade consumida no país é a de polpa branca (ROCHA et al, 2012).

A fruta pode ser classificada de acordo com a sua coloração e morfologia

- Pitaya branca (*Hylocereus undatus*). Variedade mais comum da fruta. Polpa branca e casca levemente rosada
- Pitaya vermelha (*Hylocereus cacti*). Nativa da Costa Rica. Comumente utilizada como trepadeira ornamental. Contém a maior quantidade de betalaínas na polpa
- Pitaya amarela (*Hylocereus megalanthus*). Nativa da América do Sul nas zonas ripárias. Fruto espinhoso e auto fértil (ROCHA et al, 2012)

Foi observado que a fruta contém betalaínas na sua polpa. Betalaína contém propriedades antioxidantes que neutralizam os radicais livres, combatendo o envelhecimento das células e também podem ser utilizadas como corantes naturais devido às suas propriedades corantes. (ROCHA et al, 2012)

4. MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo de caráter experimental, com dados quantitativos, realizado na UTFPR campus Londrina em 2021. Estas análises foram realizadas nos meses de agosto e setembro de 2021 seguindo as instruções delimitadas pela orientadora do experimento. Todas as análises foram realizadas no laboratório de Tecnologia de Laticínios e LabMulti no Campus Londrina.

4.1. MATERIAL

O leite em pó foi gentilmente cedido pela usina leiteira CATIVA® localizado em Londrina-PR. As cepas de bactérias lácticas utilizadas na produção de leite fermentado foram *L. delbrueckii* e *S. thermophilus* (Yoflex), o qual doados pela empresa CHR-Hansen (Valinhos-SP) e *L. helveticus* (LH 091 Lyofast) que foi adquirido da empresa Sacco Brasil. Para a produção da polpa de pitaya vermelha (*Hylocereus cacti*), os frutos foram adquiridos na forma de consumidor. Todos os reagentes utilizados para análise composicionais e físico-químicas foram de grau de pureza analítica.

4.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O desenvolvimento do leite fermentado, a elaboração da polpa de pitaya roxa e parte das análises físico-químicas foram realizados no Laboratórios de Laticínios e Laboratório de Análise de Alimentos. A análise de atividade de água foi realizada no laboratório multiusuário. Todos esses laboratórios estão localizados na Universidade Tecnológica Federal do Paraná campus Londrina.

4.3. PRODUÇÃO DA POLPA DE PITAYA VERMELHA

A polpa da pitaya foi elaborada com pitaya vermelha adquirida no mercado local em Londrina-PR. O preparo da polpa de pitaya foi baseado nos procedimentos descritos por Krolow (2013). Os frutos foram lavados e sanitizados em solução clorada a 50 ppm, os quais foram mantidos por 15 minutos e depois escoados. Os frutos foram cortados ao meio e a polpa retirada com o auxílio de uma colher. A polpa foi triturada

por um processador de alimentos visando obter uma massa homogênea sem pedaços visíveis. A polpa do fruto foi transferida para uma panela em aço inox e adicionou-se 20% (p/p) de açúcar refinado. A polpa foi concentrada por aquecimento em fogão até obter a concentração de sólidos solúveis de 60° Brix, conferida com o auxílio de um refratômetro digital (Akso). A polpa foi acondicionada em recipiente de vidro com tampa, previamente higienizada com solução clorada a 100 ppm, e estocada sob refrigeração a 8°C até o momento do uso em leite fermentado.

4.4. PRODUÇÃO DO LEITELHO FERMENTADO

O procedimento de elaboração de leite fermentado foi baseado na produção de iogurte conforme descrito por Ferreira (1996). O leite em pó foi reconstituído na proporção de 14% de sólidos em água potável e armazenado sob refrigeração a 8°C por um período de 4 horas visando hidratar os componentes lácteos. Para o preparo da calda, foram acondicionados 1 L de leite reconstituído e 7% de açúcar refinado (p/v) em uma panela de aço inox. Essa calda foi tratada termicamente a 90°C por 10 minutos, seguido de resfriamento até 42°C. As caldas foram fracionadas e acondicionadas em frascos vítreos de 500 mL e receberam o fermento na proporção recomendada pelo fabricante resultando em 2 tratamentos: *L. delbrueckii* e *S. thermophilus* (YO) e *L. helveticus*, *L. delbrueckii* e *S. thermophilus* (YOLH). As caldas com os respectivos fermentos lácteos foram fermentadas em estufa com circulação de ar a temperatura de 42°C até obter acidez de 0,60 g de ácido láctico/100 g. Em seguida, as caldas de leite fermentado foram resfriados até a temperatura de 10°C e quebradas para receberem a polpa de pitaya na proporção de 4% (p/v), as quais foram homogeneizadas e fracionadas em potes vítreos de 100 mL para as análises composicionais e físico-químicas, mantidas sob refrigeração a 5°C ao longo de 30 dias. Esse ensaio foi realizado em três repetições.

4.3. COMPOSIÇÃO PROXIMAL E ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA

A composição proximal do leite fermentado foi determinada no tempo inicial, ou seja, após 1 dia de estocagem. Os parâmetros composicionais analisados foram: umidade gravimétrica por secagem em estufa, lipídios pelo método de Gerber, cinzas pelo método de calcinação por mufla e proteína pelo método de Kjeldahl. Os

procedimentos analíticos foram realizados de acordo com a Instrução Normativa n. 68 (BRASIL, 2006). O teor de carboidratos foi determinado pela diferença dos componentes pelo extrato seco do leite fermentado.

A medida do pH e acidez titulável foi realizada nos tempos 1, 7, 15 e 30 dias de estocagem sob refrigeração. Os procedimentos analíticos foram realizados conforme IN n. 68 (BRASIL, 2006). Todas as análises foram realizadas em triplicata por tempo e repetição.

4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O método utilizado para esta análise foi o método de variância (ANOVA) e as médias comparadas utilizando o teste de Tukey com a significância de 5%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para melhor visualização dos resultados, separou-se em composição proximal e análise físico-química, descritos a seguir.

5.1. COMPOSIÇÃO PROXIMAL

Ao comparar a composição proximal entre os leitelhos fermentados, YO e YOLH, não apresentaram diferenças significativas no tempo inicial de estocagem (Tabela 2).

O teor de lipídeos de ambos os leites fermentados produzidos apresentou 0% de gordura. O leite fresco, recém obtido da produção de manteiga geralmente apresenta teor de 0,5% de gordura quando o processamento de manteiga ocorre com controle da matéria-prima e parâmetros tecnológicos ao longo da produção (PFRIMER, 2018). Deste modo, ao reconstituir o leite em pó na concentração de 12% (p/v) espera-se que o teor de gordura médio seja inferior a 0,5% (GILLE, 2011).

Tabela 2 - Composição proximal do leite fermentado por *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* (YO) e *L. helveticus*, *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* (YOLH), adicionado de polpa de pitaya, no primeiro dia de estocagem a 5°C

COMPONENTE	YO	YOLH
Extrato Seco Total (%)	18,65 ± 1,25 ^a	19,77 ± 0,70 ^a
Umidade (%)	82,25 ± 3,32 ^a	80,23 ± 0,70 ^a
Proteína (%)	4,60 ± 0,45 ^a	4,90 ± 0,71 ^a
Cinzas (%)	1,12 ± 0,34 ^a	1,08 ± 0,47 ^a
Carboidratos (%)	12,94 ± 1,78 ^a	13,78 ± 0,95 ^a

*a - Letras minúsculas iguais indicam que não houve diferença estatística no nível de 5% de significância.

Fonte: Autoria própria (2021).

Neste trabalho foi efetuado a reconstituição do leite na proporção de 14% (p/v) de sólidos totais, o que parece não ter contribuído significativamente no teor de

gordura do produto final. De acordo com a Instrução Normativa n. 46 (BRASIL, 2007), ambos os tratamentos podem ser classificados como leite fermentado desnatado, por apresentar teor de gordura inferior a 0,5 g/100g.

Não houve diferença estatística no teor de extrato seco total entre os leitelhos fermentados por *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* (YO) e *L. helveticus*, *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* (YOLH), os quais apresentaram superior a 18%. O teor de sólido de ambos os tratamentos apresentou resultados próximos aos obtidos do leite reconstituído a 14% (p/v) e fermentado por *S. thermophilus*, *L. delbrueckii* e *L. paracasei* desenvolvido por Freixo (2011).

A calda de iogurte pode conter variados teores de extrato seco desengordurado (ESD) de acordo com a categoria comercial. Iogurtes de baixo custo geralmente contém 12% de ESD, enquanto os padrões apresentam entre 13 a 14% de ESD. Os teores de açúcar recomendados para este tipo de leite fermentado variam entre 7 a 10% (ROBINSON; LUCEY; TAMIME, 2006). Kumar et al (2016) cita que o leite em pó é largamente utilizado como substituto de leite em pó desnatado em derivados lácteos não influenciando nas características físico-químicas, embora interfira nas propriedades reológicas.

Com base na análise da composição de EST, o teor de umidade entre os tratamentos também não apresentou diferença estatística ($p > 0,05$). Embora esta variável apresente dependência ao valor de EST, a umidade contribui com a viscosidade do produto final, onde neste estudo foi possível observar que o leite fermentado não apresentou um gel firme como ocorre em iogurte, portanto com a substituição do leite como constituinte de sólidos no leite fermentado não contribuiu para a estabilidade no gel, possivelmente pela reduzida proporção de caseína presente na fração de ESD. Freixo (2011), não observou uma sinérese e atividade de água do leite fermentado por *S. thermophilus*, *L. delbrueckii* e *L. paracasei* comparado ao elaborado somente com leite em pó desnatado com a mesma proporção de EST e BALs.

O teor de proteína de ambos os tratamentos (YO e YOLH) não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$), e estes demonstraram valores superiores aos requeridos para leite fermentado de acordo com o regulamento técnico desta categoria. A legislação vigente para leite fermentado (BRASIL, 2007) requer o limite mínimo de proteína de 2,9%.

O teor de cinzas dos dois tratamentos do leite fermentado não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$). Estas frações indicam os níveis de resíduos minerais presentes no produto. Segundo Freixo (2011), o teor de cinzas do leite em pó foi de 7,62% em base seca. Ao reconstituir o leite na proporção de 14% em base úmida, a calda deveria conter 0,53%. Valor inferior ao observado neste estudo, que foi superior a 1%. De acordo com Kumar et al (2016), o teor de cinzas do leite fresco com 9,75% de sólidos contém 0,73% do resíduo mineral. Neste estudo, nós elaboramos leite fermentado reconstituindo 14% na proporção mássica em volume da matéria-prima desidratado, levando a estimar com base na composição do mesmo relatado por Kumar et al (2016) que o teor de minerais seria de 1,04%, próximo ao determinado no leite fermentado neste estudo.

Os teores de carboidratos dos leites não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos. Segundo Freixo (2011), o teor de lactose no leite desidratado corresponde em média 53,39% na base seca, o que corresponde a 55,6% de carboidrato na matéria-prima. Neste estudo, houve a adição de 7% de sacarose no leite fermentado em estudo, lembrando que o cálculo de açúcar adicionado ao produto neste estudo considerou o valor de açúcar presente na polpa de pitaya. Deste modo, podemos considerar que o adicional de carboidratos presente no leite fermentado neste estudo pode ser proveniente do leite em pó e da pitaya. Esses valores foram inferiores aos obtidos por Macchione (2007) em iogurte adicionado de 12% de açúcar, as quais apresentaram em torno de 15,50%.

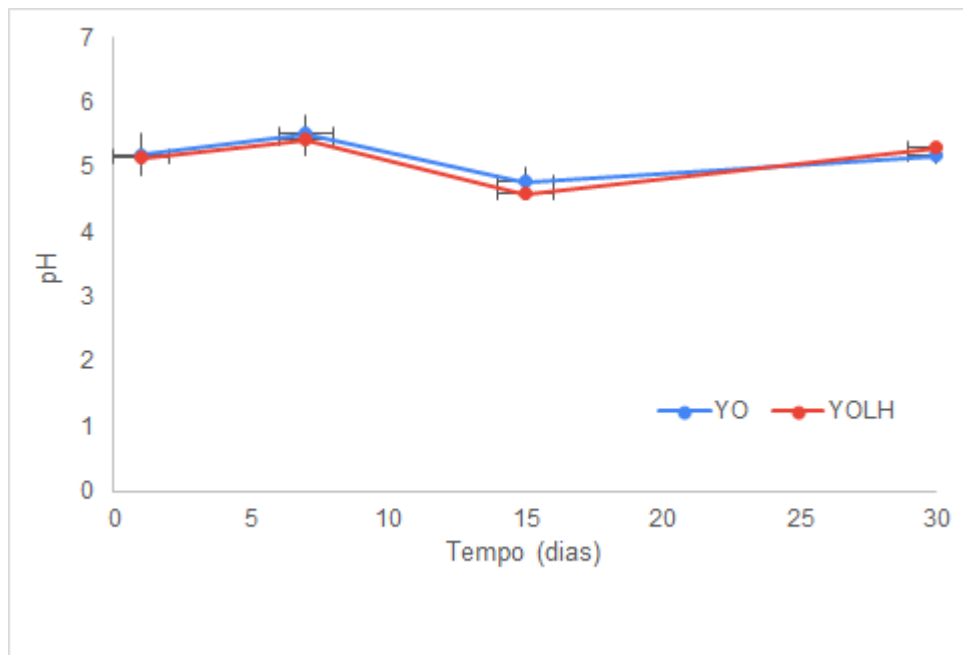
5.2 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA

5.2.1 pH

No primeiro dia de estocagem o pH de ambos os tratamentos (YO e YOLH) não apresentaram diferenças significativas (Figura 1).

Gallina et al (2011) avaliou o desenvolvimento do pH de leite fermentado por *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* ao longo de 28 dias de estocagem sob temperatura entre 4 a 6°C, onde este variou entre 4,42 no primeiro dia a 4,19 no 28º dia.

Figura 1 - Evolução do pH do leite fermentado por *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* (YO) e *L. helveticus*, *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* (YOLH), adicionado de polpa de pitaya, ao longo dos 30 dias de estocagem a 5°C



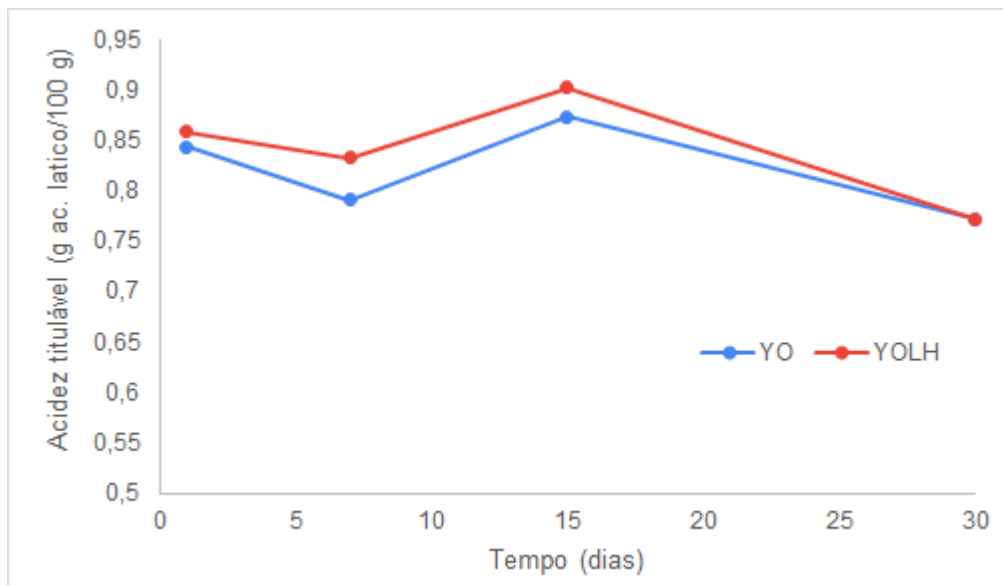
Fonte: Autoria própria (2021).

Este valor foi inferior aos limites de variação dos leitelhos fermentados neste estudo. O pH de ambos os tratamentos do leite fermentado neste estudo mesmo associando o *L. helveticus* não afetou a estabilidade deste parâmetro ao longo do tempo de estocagem, contribuindo com a viabilidade do uso das BALs aplicados neste estudo para a produção de leite fermentado. Embora, Burns et al (2010) determinou pH médio 3,64 em leite fermentado apenas por *L. helveticus* 209 com a calda composto por 12% de EST após 24 h de fermentação. Neste estudo, ambos os tratamentos tiveram a fermentação em um período inferior a 5 horas, otimizando sua produção industrial.

5.2.2 Acidez titulável

A acidez titulável entre os tratamentos YO e YOLH não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) no tempo inicial (Figura 2). Embora nos primeiros 7 dias tenha ocorrido uma redução significativa ($p < 0,05$), aos 15 dias houve aumento significativo na acidez titulável durante a estocagem.

Figura 2 - Desenvolvimento da acidez titulável (g de ácido láctico/100 g) de leite fermentado por *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* (YO) e *L. helveticus*, *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* (YOLH), adicionado de polpa de pitaya, ao longo dos 30 dias de estocagem a 5°C



Fonte: Autoria própria (2021).

O leite fermentado ou cultivado, segundo a Instrução Normativa n.46 (BRASIL, 2007), o teor de acidez deve encontrar entre 0,6 a 2,0% em g. de ácido láctico/100 g. Freixo (2011) observou que o leite fermentado por *S. thermophilus*, *L. delbrueckii* e *L. paracasei* apresentou desenvolvimento de acidez após 7 dias de estocagem e estabilizou entre 21 e 28 dias de estocagem na temperatura de 5°C. A pesquisadora conferiu que este aumento de acidez titulável não difere significativamente comparado ao leite fermentado com leite em pó desnatado no mesmo período e condições de estocagem. Estudos preliminares da evolução da acidez titulável de leite fermentado ao longo do tempo de estocagem realizado por Freixo (2011), determinou uma variação entre 0,78 a 0,91% de ácido láctico/100 g de leite fermentado por *S. thermophilus* e *L. delbrueckii*.

Embora o tratamento YOLH tenha recebido *L. helveticus* junto às culturas de *S. thermophilus*, *L. delbrueckii* não houve efeito significativo ($p > 0,05$) ao comparar os parâmetro físico-químico (pH e acidez titulável) em cada tempo analisado ao longo da estocagem.

6. CONCLUSÃO

Este estudo permitiu observar que o leite fermentado por *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* adicionado de polpa de pitaya não teve sua composição afetada comparado ao associado com cultura adjunta (*L. helveticus*).

Relativo à característica físico-química do leite fermentado por *S. thermophilus* e *L. delbrueckii*, apresentou bom desempenho e estabilidade no pH e acidez titulável no produto ao longo do tempo de estocagem. A associação de cultura adjunta, não afeta os parâmetros tecnológicos do leite fermentado e tão pouco ao longo do tempo de estocagem do produto.

Portanto, conclui-se que é viável produzir leite fermentado composto pelas BALs em estudo relativo às características físico-químicas, necessitando avaliar a contagem das culturas lácticas, bem como sua aceitação sensorial.

REFERÊNCIAS

AIHARA, K et al Effect of powdered fermented milk with *Lactobacillus helveticus* on subjects with high-normal blood pressure or mild hypertension. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 24, n. 4, p.257–265, 2005.

AMIOT, J. **Ciencia y tecnología de la leche**. Zaragoza: Acribia, 1991.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de Dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios. Publicado no **Diário Oficial da União** de 14/12/2006, Seção 1, Página 8.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 46, de 23 de Outubro de 2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **Diário Oficial da União** de 24/10/2007, Seção 1, página 4.

BURNS, P.; et al Suitability of buttermilk for fermentation with *Lactobacillus helveticus* and production of a functional peptide-enriched powder by spray-drying. **Journal of Applied Microbiology**, v. 109, p. 1370-1378, 2010.

BYLUND, G. Butter and dairy spreads. In: BYLUND, G. **Dairy Processing Handbook**. Lund: Tetrapak, Chapter 12, p.263-278, 1995.

CARVALHO, J. D. G. **Caracterização da microbiota láctica isolada de queijo de coalho artesanal produzido no Ceará e suas propriedades tecnológicas**. 2007. p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP.

CARNEIRO, C. S et al Leites fermentados: histórico, composição, características físico químicas, tecnologia de processamento e defeitos. **PUBVET**, Londrina, v. 6, n. 27, 2012.

COSTA, H.H.S et al Potencial probiótico in vitro de bactérias ácido-láticas isoladas de queijo-de-minas artesanal da Serra da Canastra, MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 6, p. 1858-1866, 2013.

FERREIRA, C.L.L.F. **Produtos Lácteos Fermentados**: Aspectos bioquímicos e tecnológicos. Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais: Imprensa Universitária, 1996.

GALLINA, D.A. et al. Caracterização de leites fermentados com e sem adição de probióticos e prebióticos e avaliação da viabilidade de bactérias lácticas e probióticas durante a vida-de-prateleira. **UNOPAR Cient. Ciências Biológicas e Saúde**, v.13, n.4, p. 239-244, 2011.

GILLE, DOREEN. **The Health Aspects of Buttermilk Components: A Review**. Agroscope Liebefeld-Posieux Research Station ALP, Bern: ALP Science, v. 540, 22 p., 2011.

GOH, Y.J. et al. Specialized adaptation of a lactic acid bacterium to the milk environment: the comparative genomics of *Streptococcus thermophilus* LMD-9. **Microbial Cells Factories**, v. 10, Supplem 1, p. 1 - 17, 2011.

JUNIOR, J.R.S.; ALBUQUERQUE, S.S.M.C.; ANDRADE, S.A.C. **Análise sensorial de bebida fermentada, tipo Yakult, adicionada de frutas originalmente Brasileiras**. 2016. Anais do CBQ, Belém, Pará. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2016/trabalhos/10/9522-23078.html>. Acesso em: 10 de novembro de 2021.

KROLOW, A.C.R. **Preparo Artesanal de Geléias e Geleadas**. 2.ed. Pelotas: EMBRAPA Clima Temperado, 2013.

KUMAR, R. et al Natural and cultured buttermilk. In: PUNIYA, A. K. **Fermented and Dairy Products**. Boca Ranton: CRC, p.203-225, 2016.

MACCHIONE, M. M. **Qualidade e estabilidade de “Leite fermentado tratado termicamente”:** **Propriedades físico-químicas, microbiologia e aceitação sensorial**. 2008. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2008.

PFRIMER, R. T. **Desenvolvimento e avaliação de bebida láctea fermentada acrescida de leiteiro e saborizada com polpa de cagaita (Eugenia dysenterica)**. 2018. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018.

PUNIYA, K. A. et al Fermented Milk and Dairy Products: An Overview. In: PUNIYA., K. A. **Fermented Milk and Dairy Products**, New York: CRC Press, p. 17-18, 2016.

ROBINSON, R. K.; LUCEY, J. A.; TAMIME, A. Y. Manufacture of Yogurt. In: TAMIME, A. **Fermented milk**. Oxford: Blackwell Science, 1ed. p. 53 - 75, 2006.

ROCHA, Luzimary de Jesus Ferreira Godinho; GODOY, Ronoel Luiz de Oliveira; CUNHA, Carolina Passo. Estudo de alguns compostos bioativos das pitayas de polpas branca e vermelha (*Cereus undatus*, *Sinonímia:Hylocereus guatemalensis*, *H.undatus*). **Brazilian Journal of Development**. Curitiba, v.6, n.9, p.66217-66223, 2020.

RODRIGUES, V.C.C , de Moraes, A.E.A Leite fermentado probiótico para combater o estresse. **Milkpoint**, 2019. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/colunas/adriane-elisabete/leite-fermentado-probiotico-para-combater-estresse-216510/>. Acesso em: 13/10/2021

WASILEWSKA, E.; ZŁOTKOWSKA, D.; WRÓBLEWSKA, B. Yogurt starter cultures of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* ameliorate symptoms and modulate the immune response in a mouse model of dextran sulfate sodium-induced colitis. **Journal of Dairy Science**. v. 102, n. 1, p. 37-53, 2019.