

APLICAÇÃO DA ULTRAFILTRAÇÃO DE LEITE PARA A PRODUÇÃO DE IOGURTE PROBIÓTICO COM ALTO TEOR DE PROTEÍNA

Nathalia Richieri Martin ¹; Eliana Paula Ribeiro ²

¹ Aluno de Iniciação Científica da Escola de Engenharia Mauá (EEM/CEUN-IMT);

² Professor da Escola de Engenharia Mauá (EEM/CEUN-IMT).

Resumo. *Iogurtes com alto teor de proteínas se tornaram uma das novas tendências no mercado consumidor por manterem seu alto valor nutritivo, conservando seus benefícios funcionais. No Brasil, esse consumo é muito pequeno, mas é visto como um país com um alto potencial de mercado para estes produtos. Este trabalho teve como objetivo produzir um iogurte probiótico com elevado teor de proteínas, por meio da fermentação de retentado, obtido por meio da ultrafiltração do leite, com as bactérias probióticas (*Bifidobacterium Bb-12* e *Lactobacillus acidophilus LA-5*) e as bactérias *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, avaliando a sobrevivência destes microrganismos durante o armazenamento. Os retentados foram obtidos por meio da ultrafiltração de leite até um fator volumétrico de 5:1. Foram realizadas determinações da composição centesimal, viscosidade, cor, textura e atividade de água em todas as amostras e análises microbiológicas para determinar a população de cada microrganismo com intervalos de 7 dias durante 28 dias de armazenamento a 7 °C. Os resultados mostraram que foi possível obter um iogurte com alto teor de proteína, 16 %, sem concentrar a lactose e com maior sobrevivência de todos os microrganismos adicionados.*

Introdução

A crescente preocupação da população com a saúde e melhor qualidade de vida, altera os hábitos alimentares e aumenta a busca por prevenção de doenças. Diante disso, foi observado um aumento pela procura de alimentos saudáveis com características funcionais. Alimentos funcionais são aqueles que promovem a saúde, além de fornecer nutrientes básicos. Os produtos lácteos funcionais apresentam proteínas de alto valor biológico, conferindo excelente qualidade nutricional. O mercado destes alimentos apresenta crescimento anual de 15 a 20 %, e as indústrias contribuem com um expressivo volume de sua produção (OLIVEIRA, 2009; SAAD, 2006).

Uma pesquisa realizada pela Mintel (MINTEL, 2016) revelou que a nutrição consiste em um tema importante com relação a todos os segmentos de consumidores norte-americanos. Entre os entrevistados, 37 % disseram ter procurado melhorar a saudabilidade de sua dieta. Sendo assim, destacou-se 22 % em maior consumo de proteínas. Segundo Brasil Food Trends (2020), a busca por uma alimentação mais saudável pode alterar significativamente as atitudes dos consumidores em relação à composição dos alimentos ou quanto à forma pela qual são processados, gerando várias oportunidades para inovações. De acordo com pesquisas recentes, iogurtes com alto teor de proteínas se tornaram uma nova tendência no mercado. Eles propiciaram um impulso inicial para um produto que além de manter um alto valor nutritivo, consiste em preservar seus benefícios funcionais para a saúde.

Além disso, a incorporação de microrganismos probióticos nos produtos lácteos reforçaram as propriedades funcionais dos mesmos e possibilitou um aumento no seu consumo (KRISTO et al., 2003). Em seus derivados, as bactérias probióticas mais utilizadas são *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* (FIORAMONTI et al., 2003), por serem microrganismos seguros, apresentarem capacidade de adesão à mucosa intestinal e permanecerem tolerantes ao meio ácido e a bile (DUNNE et al., 2001).

As proteínas do leite, caseína e as proteínas do soro (α -lactoalbumina e β -lactoglobulina), são conhecidas por seu alto valor biológico e sua funcionalidade, sendo uma

ótima fonte de nutrientes, elas contêm todos os aminoácidos essenciais que o organismo humano não é capaz de sintetizar. Além disso, as proteínas do soro do leite auxiliam no sistema imunológico, protegendo a mucosa gástrica e até mesmo o sistema cardiovascular. Os aminoácidos presentes no soro do leite são fundamentais para a formação da massa muscular, além de reduzirem a degradação do músculo em repouso, preservando os músculos do organismo humano (HARAGUCHI et al., 2006).

O teor de proteínas no leite se encontra entre 3 e 4 %. Para ocorrer um aumento deste teor, dentre os processos utilizados tem-se os de separação por membranas, sendo o de ultrafiltração o mais adequado para a concentração de proteínas e redução do teor de lactose (RIBEIRO, 1996; TADINI et al., 2019).

A membrana funciona como uma barreira seletiva, que permite a passagem de alguns componentes e a retenção de outros, de acordo com o tamanho das partículas e de sua massa molecular (SRIKANTH, 1999; BRANS et al, 2004). A grande vantagem dessa tecnologia em relação aos métodos tradicionais de filtração é que ela permite a separação de solutos sem o uso do calor excessivo (evaporação e condensação), e isso é importante para o tratamento de substâncias que são sensíveis à temperatura elevada, como é o caso das proteínas (MAUBOIS, 2009).

Os produtos lácteos com níveis elevados de proteínas, disponíveis nos mercados europeu e americano, são fabricados por meio da concentração de leite pelo processo citado anteriormente até o retentado obtido atingir o nível desejado de proteínas, podendo ser isento ou com baixo teor de gordura e/ou lactose (RIBEIRO, 1996).

Este trabalho teve como objetivo realizar a produção de um iogurte probiótico com alto teor de proteínas por meio da aplicação do processo de ultrafiltração do leite, analisar a sobrevivência das bactérias probióticas (*Bifidobacterium* e *Lactobacillus acidophilus*) e do *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbruecki* subsp. *bulgaricus* durante o seu armazenamento, a coloração, a textura e a viscosidade dos iogurtes, além de caracterizar os leites, permeados e retentados em relação a sua composição centesimal.

Material e Métodos

Ultrafiltração do leite e fabricação do iogurte

Os leites (desnatado e integral pasteurizados, marca *Fazenda Bela Vista*), foram aquecidos até 55 °C no tanque de aquecimento com capacidade para 100 L e pressão de trabalho de 1 kgf.cm⁻², marca *Brasnox*, modelo *TC*. Após o aquecimento, os leites foram concentrados em uma unidade *Tetra Alcross MF 1*, dotada de uma membrana mineral tubular de óxido de zircônio com suporte de carbono grafite, área de 0,2 m² e poros com 0,1 µm de diâmetro, até o fator de concentração volumétrico de 5:1. A temperatura do leite foi mantida a 55 °C durante todo o processo. Foram realizados 3 processos de concentração por ultrafiltração, sendo dois com leite desnatado e um com leite integral para obter-se um comparativo em relação ao maior teor de sólidos presentes no mesmo, influenciando na consistência do produto.

O retentado foi aquecido em um pasteurizador da marca *Frigomat*, modelo *925 25 A*, com capacidade para 25 L, até 65 °C, sendo resfriado, posteriormente, até 45 °C. Em seguida, foi adicionado fermento láctico (ABY-3, marca *Chr. Hansen*) contendo as bactérias probióticas (*Bifidobacterium* e *Lactobacillus acidophilus*) e o *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbruecki* subsp. *bulgaricus* no retentado, a mistura foi homogeneizada em um misturador Ultra-Turrax *T50* e foi distribuída em tubos com rosca e em copos com volume de 170 g, sendo submetidos ao processo de fermentação a 45 °C, até a obtenção do pH 4,8. Os iogurtes finalizados foram armazenados sob refrigeração a 7 °C.

Análises físico-químicas

As amostras de leite desnatado, retentado e permeado foram caracterizadas em relação ao teor de proteína, gordura, lactose, umidade, cinzas, pH e acidez, em triplicata, conforme

descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008). O teor de proteína foi determinado pelo método de micro Kjeldahl (Ref. 435/IV), gordura pelo método de Mojonnier, lactose pelo método de Fehling (Ref. 432/IV), umidade pela secagem em estufa a 105 °C por 3 h (Ref. 012/IV), cinzas pela incineração da amostra (Ref. 437/IV), pH pelo pHmetro digital *THECNAL*, modelo *METER TEC-2* e acidez por titulação com NaOH 0,11 M (Ref. 426/IV).

Análises reológicas

Foi utilizado o viscosímetro de cilindros concêntricos (marca *Brookfield*, modelo *DV3T*), acoplado a um banho termostático para controle da temperatura a 8 °C. As amostras fermentadas foram homogeneizadas, dispostas ao adaptador de amostra e utilizou-se o *spindle* SC4-25, efetuando-se a variação da taxa de cisalhamento de 11 a 55 s⁻¹ (crescente e decrescente). Foram determinados a viscosidade aparente das amostras e seu comportamento reológico, em triplicata, para as amostras de iogurtes produzidos por meio do leite desnatado.

O modelo matemático ajustado foi a lei de potência, conforme mostrado na Equação 1 (TADINI et al., 2018). Este modelo apresentou coeficiente de determinação (R²) mais próximo de 1, indicando que a correlação dos pontos experimentais se encontraram adequados.

$$\tau = K \times \gamma^n \quad (1)$$

Em que,

τ : Tensão de cisalhamento, em Pa;

γ : Taxa de cisalhamento, em s⁻¹;

n: Índice de comportamento; e

K: Índice de consistência do fluido.

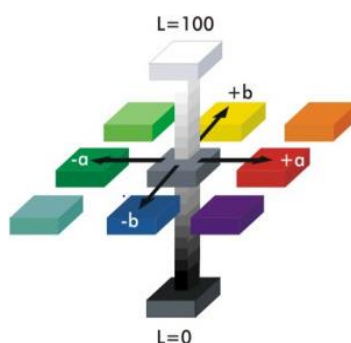
Análise de textura

Para realização desta análise, foi utilizado o texturômetro *TA.XT2i* da marca *Stable Microsystem Ltd.*, operado juntamente com o programa *Texture Expert VI.22*. Colocou-se o probe *Back Extrusion Rig 35 mm*, com curso de penetração de 75 mm, em triplicata, nas amostras de iogurtes produzidos por meio do leite desnatado e integral.

Análise de cor

Esta análise foi realizada, em triplicata, com o uso do colorímetro da marca *ColorQuest XE (Hunter Lab)*. Foram obtidos os parâmetros L*, a* e b* responsáveis, respectivamente, pela luminosidade e cromaticidade, para as amostras de iogurtes produzidos por meio do leite desnatado. E foi utilizado a leitura fornecida pelo sistema referente as cores (CIELAB), como mostra a Figura 1, juntamente com o iluminante (D65), ângulo de observação de 10° e reflectância especular incluída (RSIN).

Figura 1 - Parâmetros fornecidos para análise da cor.



Análise de atividade de água

Para esta análise, foi utilizado o medidor de atividade de água *Decagon Aqualab 3TE (Pullman)*, em triplicata, para as amostras de iogurtes produzidos por meio do leite desnatado.

Análises microbiológicas

Foram realizadas determinações das populações dos seguintes microrganismos: *Bifidobacterium Bb-12*, *Lactobacillus acidophilus LA-5*, *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbruecki* subsp. *Bulgaricus*, nas amostras de iogurtes produzidas por meio do leite desnatado durante 28 dias, com um intervalo de 7 dias, durante o armazenamento a 7 °C.

Foram coletadas 10 gramas da amostra de cada iogurte, por meio de uma espátula esterilizada ao redor da chama do bico de Bunsen, e adicionados 90 mL de solução salina 0,85 % (diluição 10⁻¹), em um saco Stomacher. A seguir, as amostras foram homogeneizadas no Stomacher 400 por 1 min., a 260 rpm. Na sequência, foram realizadas outras diluições a partir da primeira, para dar uma contagem de, no mínimo, 30 microrganismos para contabilizar a unidade formadora de colônia por grama do iogurte. Após cada diluição, o tubo de diluição foi homogeneizado por 10 segundos, por meio do agitador marca *Fanem*, modelo 251.

Para enumerar as 4 bactérias, foi utilizado o critério de duplicata para a diluição mais adequada. A contagem de *Lactobacillus acidophilus LA-5* foi determinada por meio de um plaqueamento superficial, em que foi colocado 0,1 mL da diluição nas placas de Petri, com MRS (De Man, Rogosa e Sharpe) Ágar já seco, e foi utilizado uma alça de Drigalski para o espalhamento da amostra. As placas foram, por fim, incubadas em jarras de anaerobiose juntamente com o gerador de anaerobiose Anaerogen (Oxid) a 43 °C por 72 horas em estufa da marca *Fanem 502A*, como descrito por JURKIEWICZ (1999).

A contagem de *Bifidobacterium Bb-12* foi determinada por meio de um plaqueamento em profundidade, no qual foram colocadas 1 mL das diluições adequadas nas placas de Petri, sendo adicionado o meio de cultura MRS Ágar juntamente com a solução ABC: solução A, o antibiótico Dicolixina 5 %; solução B, o Cloreto de Lítio 10 % e solução C, a L-Cisteína 10 %, todas esterilizadas por filtração. Assim como o *L. acidophilus*, as placas foram incubadas em jarra de anaerobiose com o Anaerogen, a 37 °C por 72 h, de acordo com a metodologia descrita por FRANCO et al. (1996).

A determinação da população de *Lactobacillus delbruecki* subsp. *Bulgaricus* foi realizada por meio de um plaqueamento em profundidade, sendo utilizado o meio de cultura MRS Ágar com a solução de Ácido Clorídrico 0,1 mol/L, previamente filtrada, sendo incubados em jarras de anaerobiose, a 37 °C por 48 h. Para a contagem de *Streptococcus thermophilus* foi realizada igualmente pelo método de profundidade, em que foi colocada 1 mL da amostra, sendo adicionado o meio M17 Ágar já contendo solução de Lactose 10 %. Após a secagem em fluxo, foi feito a sobrecamada com o mesmo meio, sendo incubados a 37 °C por 48 h conforme a metodologia descrita por JAY (2005).

Análise estatística

Foi realizado uma análise de variância (ANOVA) para comparação dos processos ao nível de 5 % de significância. A análise das diferenças foi realizada por meio do teste de Tukey.

Cálculos

O coeficiente de rejeição indica a quantidade de soluto que não atravessaram a membrana, ou seja, permaneceram no retentado e não foram permeados. Este coeficiente foi calculado conforme mostrado na Equação 2 (TADINI et al., 2019):

$$CR (\%) = \left(1 - \frac{C_p}{C_f}\right) \times 100 \quad (2)$$

Em que,

CR: Coeficiente de rejeição, em %;

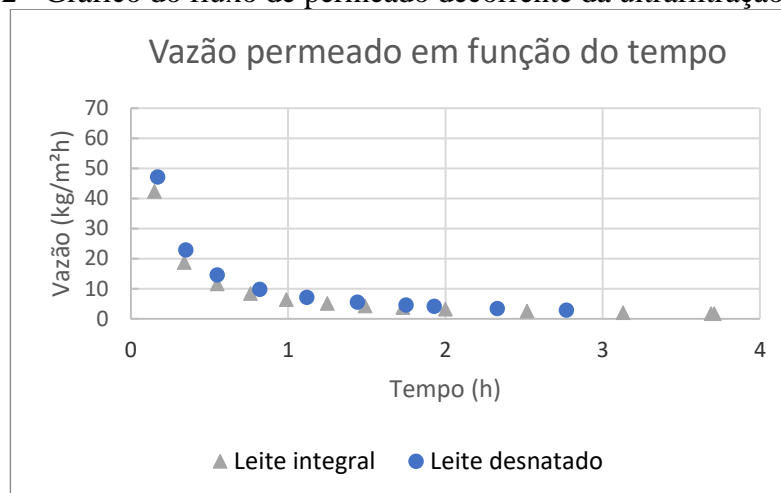
C_p: Concentração de soluto no permeado, em %; e

C_f: Concentração de soluto na alimentação, em %.

Resultados e Discussão

Na Figura 2 são apresentadas as curvas de vazão do permeado em função do tempo de processo.

Figura 2 - Gráfico do fluxo de permeado decorrente da ultrafiltração do leite.



Pode-se observar que o fluxo de permeado foi diminuindo significativamente. Isso se deve ao aumento da concentração de sólidos e, conseqüentemente, elevação da viscosidade e resultando em um aumento na deposição de sólidos na superfície da membrana e redução no fluxo de permeado conforme descrito por RIBEIRO (1996) e TADINI et al. (2019).

Os coeficientes de rejeição calculados são apresentados na Tabela 1, para a ultrafiltração realizada com o leite desnatado.

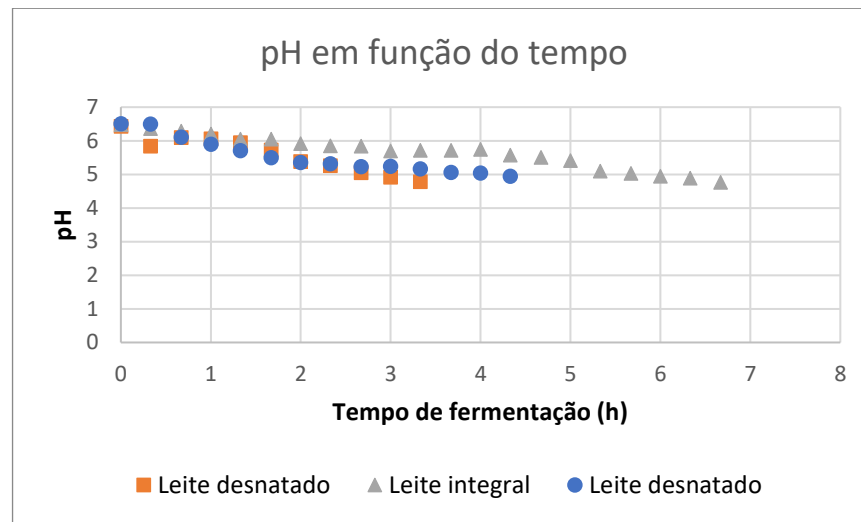
Tabela 1 – Coeficiente de rejeição para gordura, proteína, cinzas, lactose e sólidos totais.

Componentes	Coeficiente de rejeição (%)
Gordura (%)	82,1
Proteína (%)	83,0
Cinzas (%)	33,8
Lactose (%)	2,0
Sólidos totais (%)	34,7

Os resultados mostrados na Tabela 1 são típicos de um processo de ultrafiltração e demonstram a integridade da membrana utilizada no processo. A gordura e a proteína tiveram um alto coeficiente, ou seja, estes componentes foram rejeitados pela membrana não atravessando para o permeado, como era de se esperar e estão de acordo com os resultados apresentados por RIBEIRO (1996) e BRIÃO, V. B. & TAVARES, C. R. (2012).

A Figura 3 ilustra as curvas obtidas durante a fermentação do iogurte a 45 °C.

Figura 3 – Curva durante a fabricação do iogurte.



Conforme analisado, foi apresentada uma significativa fermentação após determinado tempo desde o início do processo de fermentação. Houve uma diminuição do pH revelando que o iogurte se encontrou finalizado atingindo o pH 4,8, aproximadamente, sendo este o ponto isoelétrico da caseína (principal proteína do leite) na temperatura de 45 °C, onde ocorre sua precipitação. Esse comportamento dos valores de pH para amostras de iogurtes probióticos também foi observada por Oliveira et al. (2002) e Pereira (2002). Os primeiros autores estudaram a viabilidade de bactérias lácticas do iogurte e de bactérias probióticas do leite fermentado.

A acidez de iogurtes probióticos tende a aumentar, conforme o tempo aumenta, devido à presença de lactobacilos produzindo ácidos e continuando a crescer em pH entre 4,0 e 4,4 (SILVA, 2007; TRONCO, 2008). Hussain et al. (2009) também observaram um aumento da acidez e, conseqüentemente, uma redução do pH nas amostras de iogurtes probióticos.

Os resultados das análises de composição centesimal presentes no leite desnatado, no retentado e no permeado são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Valores obtidos para as análises físico-químicas.

Componentes	Leite	Retentado	Permeado
Umidade (%)	91,4 ± 0,0	77 ± 3	90 ± 5
Cinzas (%)	0,7 ± 0,0	2,0 ± 0,3	0,5 ± 0,0
Lactose (%)	5,1 ± 0,0	4,8 ± 0,3	5,0 ± 0,7
Proteína (%)	3,2 ± 0,0	16 ± 3	0,5 ± 0,0
pH	6,7 ± 0,0	6,7 ± 0,0	6,6 ± 0,0
Acidez (%)	0,4 ± 0,0	1,0 ± 0,1	0,3 ± 0,0
Gordura (%)	0,3 ± 0,0	0,6 ± 0,4	0,1 ± 0,2

Os resultados observados na Tabela 2 mostraram que os valores das concentrações de lactose e cinzas atenderam ao esperado para o processo de ultrafiltração de leite. Devido à lactose ser hidrossolúvel, sua concentração na fase aquosa é similar no permeado e no retentado. No caso das cinzas, elas apresentam uma parte solúvel presente na fase aquosa e uma parte ligada à caseína, a qual é concentrada com a proteína, aumentando seu teor no retentado, conforme resultados obtidos por Ribeiro (1996).

Comparando-se o retentado com o leite, observou-se diferenças nos parâmetros de gordura, proteína e umidade, devido ao processo alterar notadamente a composição da matéria-prima para a fabricação dos iogurtes desejados. Os retentados obtidos por ultrafiltração apresentaram conteúdos de proteína e gordura mais altos e concentração de minerais semelhantes ao leite. A maior concentração de gordura no retentado está de acordo com dados reportados por Green (1985) e Zidney (1998), salientando-se que os equipamentos da planta de

ultrafiltração podem influenciar as propriedades dos concentrados, podendo conferir efeito de homogeneização dos glóbulos gordurosos e um aumento das interações caseína-gordura.

Além disso, conclui-se que foi possível obter um retentado com alto teor de proteína, cerca de 16 %, para a fabricação de iogurte, e sem um aumento no teor de lactose. No permeado obteve-se 0,5 % no teor de proteína devido ao nitrogênio não proteico, o qual sendo uma molécula muito pequena, foi permeada.

Reologia

Os valores dos parâmetros n e K são apresentados na Tabela 3, conforme obtido por meio das curvas da tensão de cisalhamento em função da taxa, e a média das viscosidades aparentes das amostras. Ambos tratando-se do iogurte produzido por meio do leite desnatado.

Tabela 3 – Índice de comportamento (n), consistência (K) e viscosidade aparente do iogurte.

Parâmetros analisados	Curva crescente	Curva decrescente
K	27 ± 7^a	14 ± 2^a
n	$0,3 \pm 0,1^b$	$0,7 \pm 0,1^b$
Viscosidade aparente (Pa.s)	6 ± 2^c	$4,0 \pm 0,9^c$

Médias com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ($p > 0,05$).

Estes resultados observados encontraram-se de acordo com estudos realizados em bebidas lácteas comerciais, iogurte batido e iogurte adicionado de soro concentrado por ultrafiltração, realizados por Penna, Sivieri e Oliveira (2001) e O'Donnell e Butler (2002), respectivamente. Pode-se perceber que todos os valores referentes ao índice de comportamento (n) foram menores que um assim, conclui-se que as amostras apresentaram comportamento de um fluido não newtoniano pseudoplástico, conforme dados da literatura (GONÇALVES et al., 2005; TELES e FLÔRES, 2007). Já o valor de K está relacionado com a sua viscosidade, ou seja, quanto maior o índice de consistência do iogurte, maior sua viscosidade, conforme observado na Tabela 3.

A diferença entre as curvas ascendentes e descendentes da relação cisalhamento/deformação, é a medida da extensão da quebra estrutural causada pelo cisalhamento. Este comportamento é típico de um fluido tixotrópico; quanto maior a área entre as curvas, maior o efeito tixotrópico (HOLDSWORTH, 1993). Realizando uma análise estatística, observou-se que não houve uma diferença significativa ao nível de 5 % de significância entre as duas curvas.

Textura

Os resultados apresentados na Tabela 4 expressam a relação de firmeza pela consistência dos iogurtes produzidos por meio do leite integral e desnatado.

Tabela 4 – Relação da firmeza pela consistência das amostras de iogurte.

Amostras	Firmeza em relação à consistência
Leite integral	$0,041 \pm 0,002^a$
Leite desnatado	$0,103 \pm 0,005^b$

Médias com letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Conforme estudos realizados por Antunes, Motta e Antunes (2003), o qual foi determinado o perfil de textura e capacidade de retenção de água de géis ácidos de um concentrado proteico de soro de leite, o resultado permaneceu de acordo já que foi relatado que os maiores valores de firmeza, coesividade, elasticidade e capacidade de retenção de água aconteceram nos géis com maior concentração proteica.

Além disso, foi possível observar que a relação, como mostrada na Tabela 4, foi menor com o iogurte produzido por meio do leite integral. Isso ocorreu devido ao maior teor de sólidos presente neste leite, obtendo uma maior consistência e, assim, uma menor relação. Realizando

a análise estatística, observou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as produções realizadas com leite integral e desnatado.

Cor

A Tabela 5 apresenta os resultados dos parâmetros de coloração do iogurte produzido por meio do leite desnatado armazenado sob refrigeração à 7 °C.

Tabela 5 - Variação dos parâmetros de cor do iogurte.

Parâmetros	Iogurte
L*	84 ± 4
a*	-1,0 ± 0,2
b*	10 ± 1

Há três parâmetros para medição da cor: o L* referente à luminosidade que se encontra entre o preto (L = 0) e branco (L = 100), o a* e o b* referentes à cromaticidade em que o a* transita entre o verde (negativo) e o vermelho (positivo) e o b* entre o azul (negativo) e o amarelo (positivo). Com os resultados obtidos, foi perceptível que o iogurte apresentou uma tonalidade clara já que o parâmetro L* se encontrou mais próximo de 100, ou seja, mais perto da coloração branca, e um baixo tom amarelado, já que o parâmetro b* foi positivo. Aportela-Palacios et al. (2005) obtiveram valores de L* na faixa de 75 a 87,2, a* na faixa de -3,12 a 1,31 e b* na faixa de 9,27 a 11,4, dependendo do tipo e da quantidade de fibra adicionada aos iogurtes. Estes valores foram semelhantes aos encontrados no presente trabalho.

Ambos os resultados eram esperados, uma vez que foi utilizado somente o retentado obtido na ultrafiltração do leite desnatado para a fabricação desse iogurte e devido à ausência do pigmento lipossolúvel responsável pela coloração amarela, os carotenóides, os iogurtes apresentaram um tom fraco de amarelo, conforme descrito por García-Pérez et al. (2005).

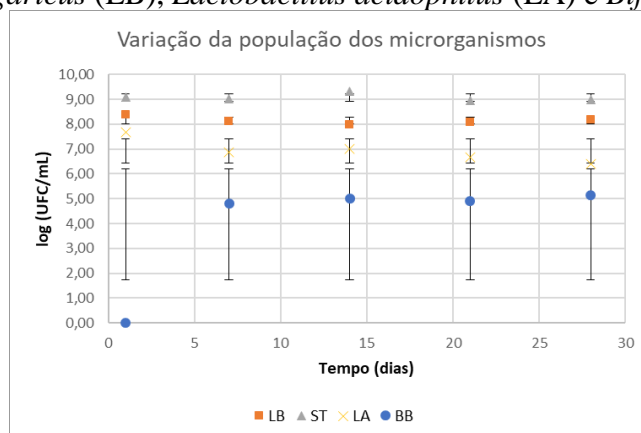
Atividade de água

O resultado obtido para a atividade de água do iogurte produzido por meio do leite desnatado foi de $0,991 \pm 0,003$. O principal componente presente no leite e, conseqüentemente, no iogurte é a água. Segundo um estudo realizado por Messa et. al (2018) sobre a viabilidade de uma formulação artesanal de um alimento probiótico à base de coco, foram obtidos um valor de $0,998 \pm 0,001$ para a atividade de água, sendo similar em relação ao presente estudo.

Análises microbiológicas

A Figura 4 representa os resultados obtidos referentes a população dos microrganismos após a fabricação do iogurte utilizando leite desnatado.

Figura 4 - Variação da população dos microrganismos *Streptococcus thermophilus* (ST), *Lactobacillus bulgaricus* (LB), *Lactobacillus acidophilus* (LA) e *Bifidobacterium* (BB).



Os resultados apresentados na Figura 4 demonstram a alta sobrevivência das bactérias probióticas, *Bifidobacterium Bb-12* e *Lactobacillus acidophilus LA-5*, durante 28 dias de armazenamento à 7 °C. É possível notar que a população inicial do microrganismo *Streptococcus thermophilus* se encontrou em maior proporção, ou seja, sua população foi predominante em relação ao número de bactérias probióticas e, assim, manteve-se com uma maior taxa de sobrevivência ao longo do armazenamento. Pode-se atribuir esse fato ao tipo de inóculo utilizado, o qual possui uma maior concentração de *S. thermophilus* que dos outros microrganismos. Além disso, de acordo com estudos de VINDEROLA & REINHEIMBER (2000), para culturas mistas de *S. thermophilus* e *L. acidophilus*, o primeiro predomina sob todas as condições de culturas utilizadas para a fabricação.

Os resultados obtidos na análise estatística, mostraram que não existe diferença significativa ao nível de 5 % de significância, quanto a variação das populações iniciais e após 28 dias de armazenagem ($p > 0,05$). Esses resultados mostraram, ainda, que devido ao maior efeito tamponante desse iogurte, devido ao alto teor de proteína (em torno de 16 %), ocorreu uma maior sobrevivência dos microrganismos utilizados durante este período de armazenamento.

Conclusões

Foi possível produzir um iogurte com alto teor de proteína (16 %) por meio da utilização de retentados obtidos por ultrafiltração de leite. As populações dos microrganismos *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus LA-5* e *Bifidobacterium Bb-12* sobreviveram durante o armazenamento a 7 °C por 28 dias.

Referências Bibliográficas

- ANTUNES, A. E. C.; MOTTA, E. M. P.; ANTUNES, A. J. Perfil de textura e capacidade de retenção de água de géis ácidos de concentrado protéico de soro de leite. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 23 (Supl), p. 183-189, 2003.
- APORTELA-PALACIOS, A.; SOSA-MORALES, M.E.; VÉLEZ-RUIZ, J.F. Rheological and physicochemical behavior of fortified yogurt, with fiber and calcium. *Journal of Texture Studies*, v. 36, n. 3, p.333-349, 2005.
- BRASIL FOOD TRENDS, 2020. As tendências da alimentação, p. 39. São Paulo: FIESP/ITAL, 2010.
- BRANS, G.; SCHROEN, C.G.P.H.; VANDER SMAN, R.G.M; EBOOM, R.M. Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. *Journal of Membrane Science*. v. 243, n. 1, 263-272 p. 2004.
- BRIÃO, V. B.; TAVARES, C. R. Ultrafiltração de efluente da indústria de laticínios para recuperação de nutrientes: efeito da pressão e da velocidade tangencial. Universidade de Passo Fundo, Campinas, 2012.
- DUNNE, C.; O'MAHONY, L.; MURPHY, L.; THORNTON, G.; MORRISEY, D.; O'HALLORAN, S.; FEENEY, M.; FLYNN, S.; FITZGERALD, G.; DALY, C.; KIELY, B.; O'SULLIVAN, G. C.; SHANAHAN, F.; COLLINS, J. K. In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. *American Journal of Clinical Nutrition*, New York, v. 73, n. 2, p. 386-392, 2001.

- FIORAMONTI, J.; THEODOROU, V.; BUENO, L. Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology? Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, Baillière Tindall, v. 17, n. 5, p. 711-724, 2003.
- FRANCO. B,D,G de Melo; DESTRO. M, T; LANDGRAF. M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo, SP: Atheneu, 1996. 182 p.
- GARCÍA-PÉREZ, F. J.; LARIO, Y.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; SAYAS, E.; PÉREZALVAREZ, J. A.; SENDRA, E. Effect of orange fiber addition on yogurt color during fermentation and cold storage. Industrial Applications, v. 30, n. 6, p. 457-463, 2005.
- GONÇALVES, D.; PÉREZ, C.; REOLON, G.; SEGURA, N.; LEMA, P.; GÁMBARO, A.; ARES, G.; VARELA, P. Effect of thickeners on the texture of stirred yogurt. Alimentos e Nutrição, Araraquara, v. 16, n. 3, p. 207-211, 2005.
- GREEN, M. L. Effect of milk pretreatment and making conditions on the properties of Cheddar cheese from milk concentrated by ultrafiltration. J. Dairy Res., v. 52, n. 2, p. 555-564, 1985.
- HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana, 2006.
- HOLDSWORTH, S. D. Rheological models used for the prediction of the flow properties of food products: a literature review. Transaction of Institute of Chemical Engineering, London, v. 71, part C, p. 139-179, 1993.
- HUSSAIN, I.; RAHMAN, A.; ATKINSON, N. Quality Comparison of Probiotic and Natural Yogurt. Pakistan Journal of Nutrition, v. 8, n. 1, p. 9 - 12, 2009.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. (2008). Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz - Métodos Químicos e Físicos para a Análise de Alimentos. Distrito Federal: ANVISA.
- JAY, J. M. (2005). Microbiologia de Alimentos. Porto Alegre: Artmed.
- JURKIEWICZ, C.H. Avaliação das características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de queijo Minas frescal elaborado com culturas probióticas de *Lactobacillus acidophilus*. São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade Estadual de São Paulo, 134 p. 1999. Tese de doutorado.
- KRISTO, E.; BILIADERIS, C. G.; TZANETAKIS, N. Modelling of rheological, microbiological and acidification properties of a fermented milk product containing a probiotic strain of *Lactobacillus paracasei*. International Dairy Journal, Barking, v. 13, n. 7, p. 517-528, 2003.
- MAUBOIS, J. L.; CARVALHO, F.A. Application of membrane Technologies in the dairy industry. CAP.3, p. 33-56, 2009.
- MESSA, S. P.; FERREIRA, M. B.; PINHEIRO, F. C.; SEHN, C. P.; LISBOA, G. S.; NESPOLO, C. R. Viabilidade de uma formulação artesanal de alimento probiótico à base de leite de coco. Universidade Federal do Pampa, Campus Itaqui e São Gabriel, 2018.
- MINTEL. Alimentação saudável – tendências. Brasil, dezembro de 2016. Disponível em: <<https://reports.mintel.com/display/807483>>. Acesso em: 30/11/2020.

- O'DONNELL, H. J.; BUTLER, F. Time-dependent viscosity of stirred yogurt. Part II: tube flow. *Journal of Food Engineering*, Essex, v. 51, n. 3, p. 255-261, 2002.
- OLIVEIRA, L. B.; JURKIEWICZ, C. H. Influência de inulina e goma acácia na viabilidade de bactérias probióticas em leite fermentado simbiótico. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 12, n. 2, p. 138-144, 2009.
- OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, A. J. H.; SAAD, I. S. M. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 38, n. 1, p. 1-21, 2002.
- PENNA, A. L. B.; SIVIERI, K.; OLIVEIRA, M. N. Relation between quality and rheological properties of lactic beverages. *Journal of Food Engineering*, Essex, v. 49, n. 1, p. 7-13, 2001.
- PEREIRA, M. A. G. Efeito do teor de lactose e do tipo de cultura na acidificação e pós-acidificação de iogurtes. Campinas, 2002. 86f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas.
- RIBEIRO, E. P. Aplicação de ultrafiltração de leite no processo de fabricação de queijo prato. Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas, 144 p. 1996. Tese de doutorado.
- SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.
- SILVA, S. V. Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico. Santa Maria, 2007. 106f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Centro de Ciências Rurais – Universidade Federal de Santa Maria.
- SRIKANTH, G. Membrane separation processes: technology and business opportunities. *Chemical Engineering World*, v. 34, n. 5, p. 55-66, 1999.
- TADINI et al. (2018). Operações unitárias na indústria de alimentos. 1 ed., v. 1. Rio de Janeiro: LTC, 2018.
- TADINI et al. (2019). Operações unitárias na indústria de alimentos. 1 ed., v. 2. Rio de Janeiro: LTC, 2019.
- TELES, C. D.; FLÔRES, S. H. Influência da adição de espessantes e leite em pó nas características reológicas do iogurte desnatado. *Boletim do CEPPA*, Curitiba, v. 25, n. 2, p. 247-256, 2007.
- TRONCO, V. M. Manual para inspeção da qualidade do leite. 3. ed. Santa Maria: Ed. UFSM, 2008. 203p.
- VINDEROLA, C.G.; REINHEIMER, J.A. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *Lactobacillus acidophilus* and lactic starter in fermented dairy products. *Int. Dairy J.*, v. 10, p. 271-275, 2000.
- ZYDNEY, A. Protein separations using membrane filtration: new opportunities for whey fractionation. *Int. Dairy J.*, v. 8, n. 3, p. 243-250, 1998.

