

CARACTERIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE IOGURTE PROBIÓTICO CAPRINO SUPLEMENTADO COM LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS

Thayanne Sales Fernandes¹, Layse Alves Silva¹, Fernando Morais Rodrigues², Paula Jucá de Sousa², Sérgio Luis Melo Viroli², Mirian Nichida²

¹Estudante do Curso Superior em Tecnologia de Alimentos – IFTO. e-mail: <thayanne.fernandes@estudante.ifto.edu.br>

¹Estudante do Curso Superior em Tecnologia de Alimentos – IFTO. e-mail: <layse.silva@estudante.ifto.edu.br>

²Professor Doutor do Instituto Federal do Tocantins – IFTO. e-mail: <fernandomorais@ifto.edu.br>

²Professora Mestre do Instituto Federal do Tocantins – IFTO. e-mail: paulajuca@ifto.edu.br

²Professor Mestre do Instituto Federal do Tocantins – IFTO. e-mail: <viroli@ifto.edu.br>

²Professora Mestre do Instituto Federal do Tocantins – IFTO. e-mail: miriannichida@ifto.edu.br

Resumo: O interesse do consumidor por produtos alimentícios saudáveis e até capazes de prevenir doenças, como alimentos funcionais probiótico, tem aumentado visivelmente nos últimos anos. A produção de iogurte caprino saborizado com o acréscimo de culturas probióticas agrega valor funcional ao produto, potencializa os efeitos benéficos à saúde e, desta forma, a procura deste produto pelo consumidor. Constata-se ainda que produtos lácteos caprinos apresentam potencial para diversificação e comercialização, mas são pouco encontrados no mercado. Assim, este trabalho objetivou desenvolver um produto funcional que atenda as exigências do consumidor e que apresente à indústria uma alternativa de agregar valor a um produto tradicional. A elaboração do iogurte foi feita pela fermentação do leite utilizando-se a cultura probiótica contendo *Lactobacillus acidophilus* La-5. Os dados obtidos nas análises físico-químicas foram dentro dos valores exigidos pela legislação brasileira. De modo geral, observou-se que a adição da cepa probiótica na elaboração dos iogurtes influenciou nas características físico-químicas das amostras ($p < 0,05$). O estudo mostrou ser possível a elaboração de iogurte de leite de cabra adicionado de *Lactobacillus acidophilus* spp. e de aroma de morango com qualidade assegurada, potencial para uso probiótico.

Palavras-chave: inovação, lácteos, saúde, tecnologia.

1 INTRODUÇÃO

Nota-se nos últimos anos uma maior conscientização da população em relação à ingestão de alimentos que não apenas forneçam a nutrição básica, mas que também produzam efeitos benéficos à saúde. Dentre esses alimentos, ditos funcionais, destacam-se os probióticos, os quais contribuem para o equilíbrio da flora intestinal (SILVA et al., 2019; BALDISSERA, A. et al., 2011).

Com o intuito de melhorar as características nutricionais, tecnológicas e trazer benefícios à saúde, o iogurte pode ser adicionado de probióticos como os *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, bifidobactérias, ou suas combinações. Os probióticos são microrganismos vivos que, quando ingeridos em quantidades adequadas, culminam em um efeito benéfico à saúde do consumidor (FAO/WHO, 2002); podendo ser citados no tratamento de distúrbios gastrintestinais (diarreia, doença inflamatória do intestino, diarreia do viajante), para o alívio de queixas causadas pela intolerância à lactose, redução da concentração de enzimas de promoção de câncer e/ou metabólitos, normalização do trânsito intestinal e constipação; sendo antialérgico e contribuindo no aumento da resposta imune (ADAM et al., 2012; LEE et al., 2014; MATSUMOTO et al., 2012; ZHAO et al., 2015).

Os probióticos mais utilizados são dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, sendo os

produtos lácteos os veículos mais comuns para essas bactérias, como iogurtes, queijos, sorvetes, sobremesas e bebidas lácteas (BARROS et al., 2020; SOCCOL et al., 2010). Os produtos lácteos possuem componentes bioativos que podem ser potencializados conforme a necessidade de públicos específicos (BALDISSERA, A. et al., 2011; DONNELLY, W., 2006).

Neste sentido, o leite de cabra é um alimento diferenciado e suas características contribuem para elaboração de derivados, em especial, para fabricação de iogurtes. O leite de cabra apresenta alta digestibilidade e maior conteúdo de proteínas, porém, a proteína associada à alergia ao leite de vaca (α 1-caseína) está presente em estrutura diferenciada e mais digestível, com menor potencial alergênico (HAENLEIN, G., 2004; SCHOLZ, W., 1997).

As propriedades e os benefícios nutricionais do leite de cabra propiciam a exploração de um nicho promissor na indústria de produtos lácteos, já que possuem características sensoriais particulares que permitem a inovação e diversificação do mercado de leite (SOUZA et al., 2019; CHACÓN VILLALOBOS, 2005; VARGAS et al., 2008).

Segundo Alves et al. (2009), há interesse de utilização dos derivados do leite caprino como alimento que apresente propriedades funcionais, o que poderia aumentar o valor agregado e a aceitação destes produtos.

A carência de tecnologia no Brasil associada à falta de pesquisas que evidenciem a qualidade dos produtos de leite caprino têm se constituído como as principais limitações à produção sustentável, à valorização do produto e ao desenvolvimento da agroindústria de produtos lácteos caprinos (SANTOS et al., 2011).

Os alimentos probióticos fazem parte do grupo dos alimentos funcionais, pois, além de suas qualidades nutricionais, afetam benéficamente uma ou mais funções relevantes do organismo do consumidor (BARROS et al., 2020).

Dentre os benefícios à saúde produzidos por bactérias probióticas, podem-se citar: redução da intolerância à lactose; inibição de microrganismos patogênicos; prevenção de diarreia; redução dos níveis de colesterol; aumento da resposta imunológica; e prevenção de câncer de cólon (SAARELA et al., 2002; SANDERS, 2003; SCHMID et al., 2006).

Para o desenvolvimento de um alimento contendo bactérias probióticas, devem ser considerados vários fatores, tais como, atividade de água, temperatura de processamento e armazenamento, tempo de estocagem, conteúdo de oxigênio, pH, teor de sal e os outros ingredientes presentes, de forma que a cultura probiótica permaneça viável e em número elevado durante a vida de prateleira do produto (ANVISA, 2016).

Diante do exposto o objetivo deste trabalho foi desenvolver iogurte caprino com potencial probiótico saborizado e caracterizar os aspectos físico-químicos do mesmo.

2 METODOLOGIA

2.1 Caracterização da Matéria prima e Delineamento experimental

O leite caprino utilizado na elaboração dos iogurtes foi obtido da unidade de produção de animais do Instituto Federal do Tocantins - Campus Paraíso do Tocantins, seguindo todos os protocolos para obtenção higiênica do mesmo. Em seguida foi submetido à determinação dos parâmetros de acidez expresso em ácido láctico, pH, umidade, extrato seco total, proteínas, gordura, lactose e cinzas, conforme metodologias recomendadas pela *Association of Official Analytical Chemist Methods* (AOAC, 2012). A determinação dos parâmetros microbiológicos seguiu as metodologias recomendadas pela *American Public Health Association* (APHA, 2001), em que a matéria prima foi submetida à determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais (NMP/g) e termotolerantes (NMP/g); contagem de bolores e leveduras expressa em UFC/g (APHA, 2001); e contagem total de bactérias aeróbias mesófilas (Unidades Formadoras de Colônias por g - UFC/g).

As amostras dos iogurtes foram denominadas: IC (iogurte caprino - controle), contendo a cultura convencional starter composta por *Streptococcus thermophilus* e o *Lactobacillus delbrückii*, subsp. *bulgaricus* (YF-L903); IP, contendo o microrganismo probiótico *L. acidophilus* (LA-5), além da cultura starter.

2.2 Processamento do iogurte caprino probiótico

Inicialmente, o leite de cabra foi pasteurizado (72 ± 1 °C/20s), resfriado a 5 ± 1 °C e em seguida foi adicionado de 5% de sacarose, sendo, posteriormente, submetido a tratamento térmico (90 ± 1 °C/10 min). Posteriormente, o leite foi resfriado a 45 ± 1 °C e as culturas inoculadas, numa concentração de 0,4 g/L para a cultura *starter* composta por *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus acidophilus*.

A fermentação foi realizada em estufa (BOD) a uma temperatura de 45 ± 1 °C, durante 4 horas. O ponto final da fermentação do iogurte foi dado com base na verificação da firmeza do coágulo e determinação do pH, que atingiu o valor máximo de 4,5.

O produto, posteriormente, foi resfriado a 4 ± 1 °C. Em seguida, foi realizada a quebra do coágulo por agitação com bastão de vidro, até textura homogênea. Por fim, foi realizado o envase em garrafas de polietileno de alta densidade, com capacidade de 250 mL, seguido do armazenamento sob refrigeração (4 ± 1 °C) até a realização das análises.

2.3 Avaliação da qualidade do iogurte caprino durante o armazenamento refrigerado

Após o processamento, as amostras foram submetidas, em triplicata, às análises físico-químicas e microbiológicas, sendo que estas análises foram feitas durante a vida de prateleira, correspondendo aos tempos 1, 14 e 28 dias de armazenamento refrigerado (4 ± 1 °C). As análises de intenção de compra serão realizadas após o desenvolvimento do produto.

2.4 Análises físico-química dos iogurtes

Os iogurtes foram submetidos às análises de composição físico-química de acordo com as metodologias descritas pela Association of Official Analytical Chemist Methods (AOAC, 2012). Para tanto, foram realizados os seguintes ensaios: a determinação da atividade de água foi realizada em temperatura de 25 °C em higrômetro Aqualab®; o pH foi mensurado em potenciômetro digital, modelo Q400, Quimis®, Diadema, São Paulo, Brasil; a acidez em ácido láctico por titulação; umidade e extrato seco total (EST), por secagem em estufa estabilizada a 105 °C até obtenção de massa constante; determinação de resíduo mineral fixo (RMF) por carbonização seguida de incineração em forno mufla a 550 °C; determinação de gordura pela utilização do lactobutirômetro de Gerber e os açúcares totais pela redução de Fehling.

2.5 Avaliação da qualidade microbiológica

As análises microbiológicas constaram na avaliação da qualidade higiênico sanitária, avaliação da viabilidade das bactérias lácticas e nos testes de viabilidade do probiótico. No controle de qualidade foram realizados os seguintes ensaios: contagem de coliformes totais e termotolerantes expressa em NMP/g, contagem de bolores e leveduras expressa em UFC/g (APHA 2001). No que se refere à avaliação da viabilidade das bactérias lácticas, a contagem de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* foi feita de acordo com a APHA (2001) e a contagem de *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus* subsp. *bulgaricus* seguiram metodologia de Lima et al. (2009).

2.6 Análise dos dados

Os dados de todas as análises realizadas com o leite caprino foram avaliados através da média e desvio padrão, ao passo que, os resultados das análises físico-químicas e microbiológicas dos iogurtes elaborados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, utilizando o nível de significância de 5%. Para o cálculo destes dados, utilizou-se o programa – XLSTAT.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Caracterização da matéria prima (leite caprino)

As análises da qualidade microbiológica do leite caprino atestaram a ausência de *Salmonella* sp. e *Listeria monocitogenes*, contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes < 3 NMP/g e valores < 1 x 10¹ UFC/g para contagem de bolores e leveduras. Estes dados caracterizaram a matéria-prima utilizada na produção dos iogurtes como adequada para o consumo humano e para a elaboração dos iogurtes.

Os resultados obtidos na caracterização físico-química do leite de cabra utilizado como matéria-prima estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 1 – Valores Médios das variáveis físico-químicas do leite caprino.

Parâmetros Físico-Químicos	Leite Caprino
pH	6,65±0,01
Acidez em ácido láctico (g/100 g)	0,12±0,01
EST (g/100 g)	12,66±0,01
ESD (g/100 g)	9,96±0,05
Proteína (g/100 g)	3,78±0,02
Gordura (g/100 g)	3,34±0,01
Lactose (g/100 g)	3,90±0,01

pH: Potencial Hidrogeniônico

EST – Extrato Seco Total; ESD – Extrato Seco Desengordurado.

Os dados encontrados para análise físico-química do leite caprino foram similares aos encontrados por Shi et al. (2015) e Toral et al. (2015), que também analisaram leite caprino na elaboração de bebidas fermentadas.

3.2 Características físico-químicas do iogurte

Na Tabela 2 são apresentados os valores médios das variáveis físico-químicas dos iogurtes caprinos com potencial probiótico durante armazenamento refrigerado.

Tabela 2 – Valores médios das variáveis físico-químicas dos iogurtes caprinos com potencial probiótico durante 28 dias armazenamento refrigerado.

Parâmetros físico-químicos	Dias	IOGURTES CAPRINOS	
		IC	IP
Atividade de água	1	0,982±0,01	0,981±0,01
	14	0,981±0,01	0,980±0,01
	28	0,982±0,01	0,980±0,01
Umidade (g/100 g)	1	81,42±0,01	82,68±0,01
	14	82,17±0,01	83,29±0,01
	28	80,14±0,01	80,48±0,01
EST (g/100 g)	1	17,49±0,01	16,32±0,01
	14	16,12±0,01	15,42±0,01
	28	18,05±0,01	18,40±0,01
RMF (g/100 g)	1	0,80±0,01	0,76±0,01
	14	0,89±0,01	0,73±0,01
	28	0,86±0,01	0,90±0,01
Proteína (g/100 g)	1	3,81±0,01	3,84±0,01
	14	3,85±0,01	3,86±0,01
	28	3,86±0,01	3,83±0,01
Gordura (g/100 g)	1	2,87±0,01	2,64±0,01
	14	2,91±0,01	2,84±0,01
	28	2,90±0,01	2,82±0,01

Aa – Atividade de Água; EST – Extrato Seco Total; RMF – Resíduo Mineral Fixo. IC – Iogurte caprino controle, adicionado da cultura starter *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*; IP – Iogurte caprino adicionado da cultura starter e de 0,1% de *L. acidophilus*

a-c Média ±desvio-padrão com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre os tratamentos

A-C Média ±desvio-padrão com letras maiúscula diferentes na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) ao longo do tempo.

A atividade de água permaneceu constante entre os tratamentos durante todo o período de armazenamento refrigerado ($p>0,05$).

Já os valores de umidade diferiram estatisticamente entre as formulações ($p<0,05$) do 1º a 28º dia. Assim como neste estudo, Gerhardt et al. (2013) trabalhando com iogurtes encontrou valores altos para umidade, o que caracteriza o produto como de alta precibilidade em razão do risco de contaminação por microrganismos. No entanto cabe destacar o efeito protetor contra o ataque microbiano desempenhado por bactérias ácido lácticas, adicionadas no iogurte estudado, ao produzirem substâncias antimicrobianas (ZAMFIR et al., 2000; AHMADOVA et al., 2013), que ajudam na manutenção da qualidade do produto lácteo processado, suprimindo o crescimento tanto de microrganismos deteriorantes, quanto de bactérias potencialmente patogênicas (PAN et al., 2009).

No que diz respeito aos valores dos resíduos minerais fixos (RMF), observou-se diferença significativa ($p<0,05$) entre as formulações no 1º e 14 diaº.

Já os teores de extrato seco totais não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) durante o período de armazenamento. Valores próximos aos encontrados no presente estudo para extrato seco total foram observados por Garcia (2014), ao avaliar o leite de cabra fermentado adicionado de cepas probióticas, inulina, amido e gelatina, encontrando teores de sólidos totais na faixa de 22,93 a 26,47%.

De modo geral, não houve diferença significativa ($p>0,05$) para o teor de gorduras e proteínas entre os tratamentos, não se observando influência dos microrganismos adicionados, nem tampouco do tempo de armazenamento. Reforça-se que os valores proteicos atingiram a recomendação da legislação vigente (Brasil, 2007), que estabelece para leites fermentados o mínimo de 2,9 g/100 mL. Em contrapartida, o teor de gorduras foi inferior ao mínimo estabelecido pela legislação supracitada, que preconiza que o teor de gordura deve variar de 3,0 a 5,9 g/100 g de produto. Esta característica pode ser explicada pela lipólise parcial da gordura que normalmente acontece neste tipo de produto, como sugerido no estudo realizado por Xanthopoulos, Ipsilandis e Tzanetakis (2012).

3.3 Caracterização microbiológica do iogurte

Os resultados das análises microbiológicas de controle higiênico-sanitário revelaram que todas as formulações de iogurtes caprinos estavam adequadas para o consumo humano durante o período de armazenamento refrigerado, visto que as contagens de coliformes totais, coliformes termotolerantes, bolores e leveduras estiveram de acordo com os critérios recomendados pela atual legislação brasileira para este tipo de produto alimentício (Brasil, 2007), indicando boas práticas de fabricação do produto bem como a sua aptidão para consumo humano.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo mostrou ser possível a elaboração de iogurte de leite de cabra adicionado de *Lactobacillus acidophilus*, permitindo desenvolver um produto probiótico ao longo de 28 dias de estocagem, sem interferir na identidade definida por características microbiológicas e físico-químicas.

Sugere-se para estudos profundos a quantificação do número de microrganismos probióticos em condições simuladas do trato intestinal bem como a caracterização sensorial da bebida.

REFERÊNCIAS

- ADAM, J. K.; ODHAV, B.; BABU NAIDU, K. S. Probiotics: recent understandings and biomedical applications. **Current Trends in Biotechnology and Pharmacy**, v. 6, n. 1, p. 1–14, 2012.
- AHMADOVA, A., TODOROV, S. D., HADJI-SFAXI, I., CHOISET, Y., RABESONA, H., MESSA- OUDI, S., HAERTLÉ, T. **Antimicrobial and antifungal activities of *Lactobacillus curvatus* strain isolated from homemade Azerbaijani cheese**. *Anaerobe*, 20(3), 42-49. 2013.
- ALVES, L. L., et al. Aceitação sensorial e caracterização de frozenyogurt de leite de cabra com adição de cultura probiótica e prebiótico. **Revista Ciência Rural**, v.39, n.9, p. 2595 – 2600, 2009.
- AOAC. **Association of official analytical chemists. Official Methods of Analyses of AOAC International**. 18 ed. Gaithersburg, 2016.
- APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard methods for the examination of dairy products**. 17ª ed. Washington, 2004.
- BALDISSERA, A. C.; BETTA, F. D.; PENNA, A. L. B.; LINDNER, J. de D. **Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas proteicas a base de soro de leite**. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, out./dez. 2011.
- BARROS, C. P. et al. Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products. **Current Opinion in Food Science**, v. 32, p. 1-8, 2020.
- BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (2007). Departamento de inspeção de produtos de origem animal. In Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados. Instrução Normativa Nº 46. (<http://www.agricultura.gov.br>).
- CHACÓN VILLALOBOS, A. **Aspectos nutricionales de la leche de cabra (*Capra hircus*) y sus variaciones em el proceso agroindustrial**. *Agronomía Mesoamericana*, Alajuela, v. 16, n. 2, p. 239-252, 2005.
- DONNELLY, W. J. New functions of dairy products for human health. In: CONGRESSO PAN-AMERICANO DO LEITE, 9. **Tendências e avanços do Agronegócio de leite nas Américas: mais leite = mais saúde**. Ed. Carlos Eugênio Martins et al., Porto Alegre, RS, p. 63-68, 2006.
- GARCÍA, V., ROVIRA, S., BOUTOIAL, K., LÓPEZ, M. B. **Improvements in goat milk quality: A review**. *Small Ruminant Research*, 121(1), 51-57. 2014.
- GERHARDT, Â., MONTEIRO, B. W., GENNARI, A., LEHN, D. N., SOUZA, C. F. V. Características físico-químicas e sensoriais de bebidas lácteas fermentadas utilizando soro de ricota e colágeno hidrolisado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, 68(390), 41- 50. 2013.

HAENLEIN, G.F.W. **Goat milk in human nutrition.** *Small Ruminant Research*, v.51, n.1, p.155-163, 2004.

LIMA, K. G. C., et al. Evaluation of culture media for enumeration of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* in the presence of *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. **LWT - Food Science and Technology**, 42(2), 491–495. 2009.

MATSUMOTO, S. et al. **Probiotic *Lactobacillus* induced improvement in murine chronic inflammatory bowel disease is associated with the down-regulation of pro-inflammatory cytokines in lamina propria monoclear cell.** *Clinical and Experimental Immunology*, v. 140, n. 3, p. 417-429, 2005.

PAN, X., CHEN, F., WUA, T., TANG, H., ZHAO, Z. The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. **Food Control**, 20(6), pp. 598–602. doi:10.1016/j.foodcont.2008.08.019. 2009.

SAARELA, M. et al. Gut bacteria and health foods – the European perspective. **International Journal of Food Microbiology**, v. 78, n. 1-2, p. 99-117, 2002.

SANDERS, M. E.; O’SULLIVAN, D. J. **Probiotics: Considerations for Human Health.** *Nutrition Reviews*, v. 61. n. 3, 2003.

SCHMID, K. ET AL. **Development of probiotic food ingredients. In: Probiotics in food safety and human health.** Boca Raton: Taylor & Francis, 2006.

SCHOLZ, W. **Elaboración de quesos de oveja y de cabra.** Trad. Jaime Esaín Escobar. Zaragoza: Acribia S.A, p. 145, 1997.

SHI, H., LUO, J., ZHANG, W., SHENG, H. Using safflower supplementation to improve the fatty acid profile in milk of dairy goat. *Small Ruminant Research*, 127(2), 68-73. 2015.

SILVA, J. G. et al. Avaliação in vitro do potencial probiótico de lactobacilos isolados de queijo Minas artesanal produzido na região de Araxá, Minas Gerais, Brasil. **Arq. Bras. Med. Veterinario. Zootec.** , Belo Horizonte, v. 71, n. 2, 2019.

TORAL, P. G., CHILLIARD, Y., ROUEL, J., LESKINEN, H., SHINGFIELD, K. J., BERNARD, L. Comparison of the nutritional regulation of milk fat secretion and composition in cows and goats. **Journal of Dairy Science**, 98(10), 7277-7297. 2015.

VARGAS, M.; CHÁFER, M.; ALBORS, A.; CHIRALT, A.; MARTÍNEZ, C. G. Physicochemical and sensory characteristics of yoghurt produced from mixtures of cows’ and goats’ milk. **International Dairy Journal**, Oxford, v. 18, p. 1146-1152, 2008.

XANTHOPOULOS, V., IPSILANDIS, C. G., TZANETAKIS, N. **Use of a selected multi-strain potential probiotic culture for the manufacture of set-type yogurt from caprine milk.** *Small Ruminant Research*, 106(2), 145-153. 2012.

ZHAO, Y., et al. Construction and immunogenicity of the recombinant *Lactobacillus acidophilus* pMG36e-E0-LA-5 of bovine viral diarrhea virus. **Journal of Virological Methods**. v. 225, n.2, p. 70–75, 2015.