

DESENVOLVIMENTO DE LEITE DESNATADO MICROFILTRADO COM BAIXO TEOR DE LACTOSE ADICIONADO DE PROBIÓTICOS

JULIANA CARUSI¹; ADRIANA T. SILVA. E ALVES²; ADRIANE E. C. ANTUNES³;
LEILA M. SPADOTI⁴; IZILDINHA MORENO⁴; FABIANA K. H. S. TRENTTO⁴; PATRÍCIA
B. ZACARCHENCO⁴; ALCINA M. LISERRE⁴

RE 0901010

RESUMO

A busca por uma vida mais saudável pelos consumidores aponta a necessidade do desenvolvimento de produtos funcionais e inovadores para atender a esse público. Paralelo a este nicho, temos os intolerantes à lactose, que correspondem a mais de 50% da população mundial. Neste projeto foi desenvolvido um leite microfiltrado com baixo teor de lactose adicionado de probióticos, produto que tem como proposta atender a estas duas fatias do mercado. A microfiltração (MF) é uma tecnologia que utiliza temperaturas amenas e separação mecânica para reduzir a carga microbiana do leite, sem causar alterações organolépticas no produto o que a torna uma tecnologia interessante para tratamento do leite hidrolisado. Já estes leites, quando submetidos ao tratamento UHT (ultra high temperature), apresentam maior tendência de desenvolvimento da reação de Maillard. O leite foi submetido primeiramente à hidrólise e posteriormente à MF. O leite microfiltrado foi adicionado em condições assépticas, da cultura probiótica de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB12) e estocado a 5°C. A qualidade microbiológica do produto foi determinada antes e logo após a microfiltração bem como durante a estocagem do produto. Além disso, foram avaliadas a cor, composição centesimal e viabilidade da cultura probiótica. O produto apresentou durante todo o período de armazenamento número de bactérias viáveis da cultura láctea probiótica (*Bifidobacterium animalis*) acima do padrão estabelecido pela legislação brasileira.

¹Bolsista PIBIC/CNPq: Graduação em Ciências dos Alimentos, ESALQ/USP

² Orientadora: Pesquisadora, TECNOLAT/ITAL, Campinas-SP

³ Co – Orientadora: Pesquisadora , FCA/UNICAMP

⁴Colaboradora Pesquisadora, TECNOLAT/ITAL, Campinas-SP

julianacarusi@ghotmail.com; atorres@ital.sp.gov.br

ABSTRACT

Consumers are interesting in a healthier way of life. This tendency demands the development of functional and innovative products. Additionally, around 50% of the world population are lactose. In this project, a low-lactose milk, microfiltrated and added of probiotics was developed, a product which attends to these people. The MF is a technology that utilizes low temperature and mechanic separation to reduce microorganisms in the milk without changing the characteristics of the product, an interesting technology to be applied on the hydrolyzed milk. When the milk is submitted on UHT treatment (ultra high temperature), there is the tendency of Maillard reaction development. Firstly, the milk was hydrolyzed and after it was microfiltrated. Then, the milk was added of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (Bb-12), in aseptic conditions, and stored at 5°C. The microbiology characteristics of the product were analyzed before, after the microfiltration and during all the storage period. The color of the milk, centesimal composition, and probiotic viability were also evaluated. The number of probiotics (*Bifidobacterium animalis*) was above the standards established by Brazilian legislation during the storage.

1. INTRODUÇÃO

A busca por alimentos funcionais propiciou a aplicação de culturas probióticas a diversos produtos. A ANVISA (2009) aprovou alegações de propriedade funcional para alimentos contendo bactérias probióticas, podendo-se citar *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum*. Os probióticos podem ser definidos como “adjuntos dietéticos microbianos” que beneficiam a fisiologia do hospedeiro, regulando a imunidade local e sistêmica e melhorando o balanço nutricional e microbiano do intestino (NAIDU et al., 1999).

A intolerância à lactose atinge mais de 50% da população mundial. No Brasil, existem cerca de 58 milhões de acometidos deste mal (BATAVO, 2004). A intolerância resulta na inabilidade para digerir completamente a lactose, o dissacarídeo predominante do leite, cuja absorção requer a hidrólise pela enzima β -galactosidade (ou lactase) no intestino delgado. A lactose não digerida, é fermentada por bactérias colônicas no colon, com produção de ácidos orgânicos de cadeia curta e gases. Isto resulta em cólicas, flatulência, dor e diarreia osmótica (TEO, 2002).

Alguns probióticos melhoraram a digestão da lactose, alterando o pH intestinal e a atividade da β -galactosidade, beneficiando a microbiota intestinal e melhorando a atividade intestinal (HE et al. 2007). Ademais a lactase bacteriana pode resistir aos efeitos do lúmen intestinal, evitando desnaturação e pode ser detectada no duodeno e

no íleo terminal depois do consumo de produtos contendo as bactérias vivas. A presença dessa enzima pode levar à hidrólise da lactose e melhorar a tolerância à lactose. (VASILJEVIC; SHAH, 2008).

Estão disponíveis no mercado leites hidrolisados UHT (ultra high temperature), que podem apresentar coloração mais escura devido à reação de Maillard sob os monossacarídeos redutores gerados pela hidrólise, a glicose e galactose. Na reação de Maillard grupamentos amina de alguns aminoácidos (como a lisina) unem-se a açúcares redutores, diminuindo a biodisponibilidade das proteínas do leite. As perdas de lisina chegam a 4% por tratamento UHT direto e a 5,5% pelo tratamento UHT indireto (HEWEDY et al., 1994). A microfiltração (MF) é uma alternativa para o processamento desses leites. A MF reduz a carga microbiana, esporos e células somáticas do leite por meio de membranas. Esta redução se dá por uma separação mecânica, feita em temperaturas amenas. Assim, não há impacto negativo nas propriedades organolépticas, funcionais e nutricionais do leite (FERREIRA, 2001). Além disso a MF possibilita uma maior vida útil ao leite pasteurizado tornando-o viável para adição de probióticos.

Assim o objetivo deste trabalho foi desenvolver um leite microfiltrado, com baixo teor de lactose, adicionado de probióticos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL

Foram utilizados os seguintes materiais: cultura probiótica *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (Bb-12), da Chr. Hansen®, enzima β -galactosidase (EC 3.2.1.23) da Prozyn® e leite tipo A desnatado.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Ensaios realizados do leite MF com baixo teor de lactose com probióticos

Foram realizados 2 processamentos, empregando-se 100 litros de leite em cada. O leite, previamente pasteurizado, foi tratado com a enzima β -galactosidase na concentração de 40g/100L (concentração estabelecida após testes preliminares) e mantido por 21 horas a 10°C. Após este tratamento o mesmo foi submetido à MF. Para MF aqueceu-se o leite a 50°C no equipamento de MFS-1 piloto GP 7 (Tetra-Laval, Aahus, Dinamarca) com 0,24 m² de membranas GP Membralox® GP (Société des Céramiques Techniques, Bazet, França) com poros de 1,4µm. Após a MF, o leite

foi envasado em garrafas de vidro estéreis, adicionado em ambiente asséptico da cultura probiótica Bb-12 e refrigerado a 5° C para análise a cada 5 dias.

2.2.2. Determinações Analíticas

Foram feitas análises no leite, para verificação da qualidade microbiológica do mesmo, antes e após a MF e durante a estocagem segundo a APHA (2004). As análises realizadas foram coliformes a 30°C e termotolerantes a 45°, contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos, *Salmonella sp*, estafilococos coagulase positivo, bolores e leveduras e bactérias esporogênicas aeróbias mesófilas e psicotróficas. Além disso, para o produto final, foram avaliadas a cor e a composição centesimal (sólidos totais, proteína bruta, gordura, lactose e cinzas), segundo a A.O.A.C (1996) e a viabilidade da cultura probiótica durante o armazenamento segundo Favaro-Trindade; Grosso, (2004).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observadas baixas contagens de microrganismos na matéria-prima inicial, o que indicou boa qualidade da mesma. Além disso, a análise do leite após a MF indicou que este processo foi eficiente na remoção da baixa contagem de microrganismos aeróbios mesófilos presentes na matéria-prima.

O leite MF probiótico apresentou pH (6,67) e porcentagens de: < 0,2 de lactose, 0,69 de cinzas, 0,0 de gordura, 3,01 de proteína total e 8,33 de extrato seco total. As porcentagens apresentam-se dentro dos padrões estabelecidos em legislação para leite tipo A desnatado (BRASIL, 2002). Os leites analisados foram caracterizados pela cor branca, embora pode-se notar, visualmente, que o leite submetido à microfiltração apresentava-se mais branco que os demais de marca comercial.

Para o produto final foram feitas análises para determinar a contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos, coliformes a 30 e 45°C, bolores e leveduras, *B. animalis* e pH. Esses resultados encontram-se na Tabela 1 e a viabilidade da cultura probiótica, também está representada para melhor visualização na Figura 1.

De acordo com a Tabela 1 observa-se qualidade microbiológica adequada para o produto. Além disso a cultura probiótica, *B. animalis*, adicionada ao leite, apresentou boa viabilidade durante o armazenamento do produto, com contagens acima de 8 log UFC.mL⁻¹. Após 25 dias de estocagem do produto foi observada uma elevação na contagem de bolores e leveduras.

TABELA 1: Resultados do pH e das análises microbiológicas do leite microfiltrado com baixo teor de lactose adicionado de probiótico.

Dias	Meio de cultura	Microrganismos	Armazenamento 5°C	pH
5	LST/CLVB	Coliformes a 30-35°C	<0,3 NMP.mL ⁻¹	6,42
	LST com mug	Coliformes a 45°C	<0,3 NMP.mL ⁻¹	
	DRBC	Bolores e leveduras	<1 log UFC.mL ⁻¹	
	MRS c/ dicloxacilina	<i>Bifidobacterium animalis</i>	8,17 log UFC.mL ⁻¹	
10	LST/CLVB	Coliformes a 30-35°C	<0,3 NMP.mL ⁻¹	6,38
	LST com mug	Coliformes a 45°C	<0,3 NMP.mL ⁻¹	
	DRBC	Bolores e leveduras	<1 log UFC.mL ⁻¹	
	MRS c/ dicloxacilina	<i>Bifidobacterium animalis</i>	8,12 log UFC.mL ⁻¹	
15	LST/CLVB	Coliformes a 30-35°C	<0,3 NMP.mL ⁻¹	6,40
	LST com mug	Coliformes a 45°C	<0,3 NMP.mL ⁻¹	
	DRBC	Bolores e leveduras	2,75 log UFC.mL ⁻¹	
	MRS c/ dicloxacilina	<i>Bifidobacterium animalis</i>	8,12 log UFC.mL ⁻¹	
20	LST/CLVB	Coliformes a 30-35°C	<0,3 NMP.mL ⁻¹	6,25
	LST com mug	Coliformes a 45°C	<0,3 NMP.mL ⁻¹	
	DRBC	Bolores e leveduras	2,95 log UFC.mL ⁻¹	
	MRS c/ dicloxacilina	<i>Bifidobacterium animalis</i>	8,16 log UFC.mL ⁻¹	
25	LST/CLVB	Coliformes a 30-35°C	<0,3 NMP.mL ⁻¹	6,31
	LST com mug	Coliformes a 45°C	<0,3 NMP.mL ⁻¹	
	DRBC	Bolores e leveduras	<1 log UFC.mL ⁻¹	
	MRS c/ dicloxacilina	<i>Bifidobacterium animalis</i>	7,87 log UFC.mL ⁻¹	
30	LST/CLVB	Coliformes a 30-35°C	<0,3 NMP.mL ⁻¹	6,30
	LST com mug	Coliformes a 45°C	<0,3 NMP.mL ⁻¹	
	DRBC	Bolores e leveduras	4,5 log UFC.mL ⁻¹	
	MRS c/ dicloxacilina	<i>Bifidobacterium animalis</i>	7,95 log UFC.mL ⁻¹	
35	LST/CLVB	Coliformes a 30-35°C	<0,3 NMP.mL ⁻¹	6,36
	LST com mug	Coliformes a 45°C	<0,3 NMP.mL ⁻¹	
	DRBC	Bolores e leveduras	3,47 log UFC.mL ⁻¹	
	MRS c/ dicloxacilina	<i>Bifidobacterium animalis</i>	8,0 log UFC.mL ⁻¹	
40	LST/CLVB	Coliformes a 30-35°C	<0,3 NMP.mL ⁻¹	5,33
	LST com mug	Coliformes a 45°C	<0,3 NMP.mL ⁻¹	
	DRBC	Bolores e leveduras	5,31 log UFC.mL ⁻¹	
	MRS c/ dicloxacilina	<i>Bifidobacterium animalis</i>	8,601 log UFC.mL ⁻¹	

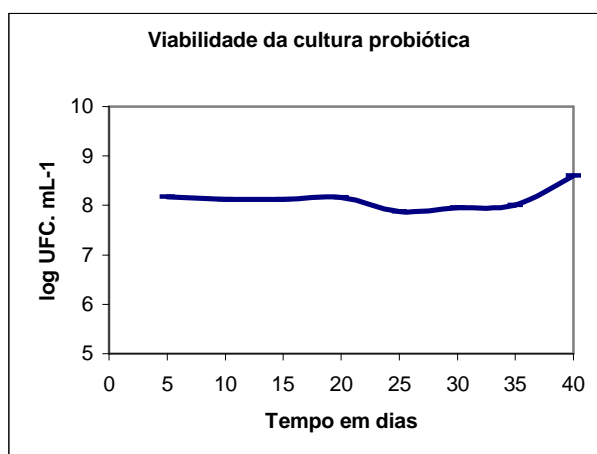


FIGURA 1: Viabilidade da cultura Bb-12 em leite hidrolisado MF.

4. CONCLUSÕES

A hidrólise enzimática mostrou-se um processo de fácil aplicação para se obter um leite com baixo teor de lactose e a microfiltração um processo eficiente para se estender a vida útil do leite pasteurizado.

No leite microfiltrado com baixo teor de lactose e adicionado de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB12), estocado a 5°C, o número de bactérias viáveis da cultura probiótica mostrou-se dentro do padrão estabelecido pela legislação brasileira, proporcionando efeitos benéficos ao consumidor.

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa PIBIC e à FAPESP pelo apoio financeiro ao projeto.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA. Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos, 2005. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm. Acesso em: 15/01/2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura - Instrução Normativa nº51, de 18 de setembro de 2002.

A.P.H.A 2004. *Standard methods for the microbiological examination of dairy products*. 17th ed. American Public Health Association. Washington, D.C.

BATAVO. Leite Batavo Sensy baixa lactose. 2004. 2p. Publicidade da Indústria Batavo.

A.O.A.C 1996 *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists, Washington D. C.

FÁVARO; TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Stability of Free and Immobilized *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in Acidified Milk and of Immobilized *B. Lactis* in Yoghurt. *Brazilian Journal of Microbiology*. São Paulo, v. 35, p. 151-156, 2004.

FERREIRA, C.V. *Influência da velocidade tangencial e da pressão transmembrana na obtenção de caseína por microfiltração*. 2001. [s.n]. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós – Graduação em Engenharia de Alimentos – FEA, UNICAMP, 2001.

HE, T., PRIEBE, M. G., ZHONG, C., HUANG, C., HARMSSEN, H.J.M., RAANGS, G.C., ANTOINE, J.M., WELLING, G.W., VONK, R.J. Effects of yogurt and bifidobacteria supplementation on the colonic microbiota in lactose-intolerant subjects. *Journal of Applied Microbiology*, v. 104, p. 595 – 604, 2007.

HEWEDY, M. M., KIESNER, C., MEISSNER, K., HARTKOPF, J., ERBERSDOBLER, H. F. Effect of UHT heating of milk in an experimental plant in several indicators of heat treatment. *Journal of Dairy Research*, v. 61, p. 305-309, 1994.

NAIDU, A.S; BIDLAK, W.R; CLEMENS, R.A. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 38, n. 1, p. 13-126, 1999.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N.P. Review Probiotics – From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, v. 18, p. 714-728, 2008.

TEO, C.R.P.A. Intolerância à lactose: uma breve revisão para o cuidado nutricional. *Arq. Ciências Saúde*. UNIPAR, v. 6, n. 3, p. 135 – 140, 2002.