

## NSLAB e os impactos na qualidade do iogurte

O processo comercial para a fabricação de iogurtes utiliza globalmente uma mistura definida de bactérias lácticas composta por *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, podendo conter outras bactérias, inoculadas ao leite a partir do cultivo matriz de fermentação. Em um mercado competitivo e influenciado diretamente por oscilações no cenário econômico, um dos principais desafios da indústria de leites fermentados é a redução dos impactos das perdas por desvios de qualidade e reclamação de consumidores.

Atualmente, diversos laticínios que processam Leites Fermentados têm enfrentado problemas de contaminação por populações de bactérias lácticas não provenientes do cultivo (NSLAB). Esta microbiota está contida no leite cru, e é proveniente de contaminações durante o processo de ordenha; sua composição depende de fatores geográficos e climáticos.

As bactérias do grupo das NSLAB se desenvolvem espontaneamente nos processos produtivos de produ-

tos lácteos e seu crescimento pode impactar diretamente na qualidade dos produtos durante o tempo de vida útil para consumo. Pois, além do nível de contaminação proveniente do leite cru, algumas cepas podem sobreviver ao processo de pasteurização (termodúricas) e/ou aos tratamentos de limpeza, por meio da formação de biofilmes, podendo recontaminar o leite já pasteurizado a partir da contaminação do ambiente fabril.

Os desvios na qualidade do iogurte provenientes da contaminação pela microbiota NSLAB podem gerar impactos financeiros para as empresas, não apenas em relação ao descarte e devolução de produtos, mas, também, em relação à desvalorização da marca pela insatisfação do consumidor ao comprar produtos com qualidade alterada. Para iogurtes, a contaminação por este grupo de bactérias particularmente heterogêneo pode resultar em problemas, como: excesso de acidez, sabores e odores estranhos e variados, perda ou alteração da coloração principal-

mente em produtos que contenham corantes artificiais, perda da viscosidade, desestabilização da base, sinérese e formação de gás.

### Caracterização da microbiota NSLAB

Os principais grupos de bactérias que caracterizam as NSLAB são *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* e *Enterococcus*. Esta microbiota é essencialmente descontrolada, podendo se desenvolver em amplas faixas de pH e temperatura, e a predominância de algumas espécies em detrimento de outras é determinada pela capacidade de utilização dos substratos disponíveis, sendo eles: metabolização da lactose e/ou citrato de cálcio; além da racemização da molécula de lactato.

As atividades proteolíticas do grupo de *Lactobacillus* podem contribuir para o acúmulo de peptídeos amargos



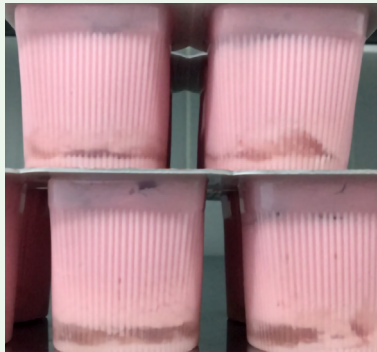
que resultam em “off flavour”, além de defeitos de textura como a formação de gás. Estas bactérias também são capazes de formar biofilmes nos equipamentos, sobrevivendo aos efeitos de sanitizantes e sistemas de CIP (“cleaning in place”). Algumas cepas podem impactar na descoloração do produto sob condições anaeróbias convencionais, anaeróbias facultativas e aeróbias; contudo, o grau de descoloração depende de vários fatores, como a natureza do corante e estabilidade em relação às variações de temperatura e concentrações de oxigênio.

Do grupo das NSLAB, o *Leuconostoc* é uma das mais importantes bactérias produtoras de gás. Algumas cepas de *Leuconostoc* produzem gás, diacetil, acetato e acetoína por meio da metabolização do citrato. Entretanto, os *Pediococcus* também são capazes de produzir acetato e  $\text{CO}_2$  a partir do lactato na presença de  $\text{O}_2$  e, também, podem impactar na alteração de sabor dos iogurtes.

Já os *Enterococcus*, ocorrem amplamente nos ambientes, mas são associados principalmente ao trato intestinal e sua presença em leites fermentados é frequentemente associada a má higienização. Estas cepas têm elevada probabilidade de sobreviver ao processo de pasteurização e podem metabolizar o citrato formando acetaldeído, acetoína, diacetil e  $\text{CO}_2$ . Podem apresentar atividades lipolíticas e proteolíticas que irão impactar na estrutura da coalhada formada durante a fermentação, causando desestabilização da base láctea, perda

## Desvios na qualidade

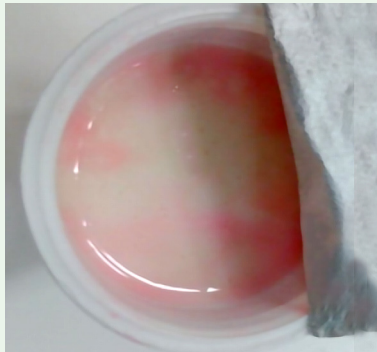
Exemplos de contaminação por NSLAB



### 1 Desestabilização da base láctea



### 2 Iogurte com formação de gás



### 3 Perda de coloração no iogurte

de textura e aumento da sinérese.

## Importância da higienização do processo produtivo

Além do leite e demais matérias-primas, a manutenção da qualidade do iogurte é regida por uma multiplicidade de fatores inter-relacionados, como a limpeza das superfícies que entram em contato com o produto, equipamentos do processo, máquinas de envase e materiais de embalagem.

Após o processamento do leite e derivados, os equipamentos passam a apresentar resíduos de alto valor nutritivo, como carboidratos, gorduras, proteínas e minerais. Esse aumento na carga de matéria orgânica durante o ciclo de processamento é passível de multiplicação microbiana, pois fornece os nutrientes necessários para o crescimento dos microrganismos remanescentes nos equipamentos.

Quanto maior o ciclo de produção, maior será a carga de resíduos, podendo levar à formação de biofilmes que dificultam a limpeza devido à adesão dos constituintes do leite. O biofilme tem potencial para agir como fonte de contaminação microbiana crônica, que pode comprometer a qualidade dos produtos. Eles são representados por populações de bactérias aderentes umas às outras e/ou à superfícies, sendo capazes de formar micro ou macro colônias nos equipamentos.

Com isso, é importante que o CIP seja realizado de forma eficiente, garantindo a remoção de sujidades para







melhor controle da proliferação de contaminantes.

### Métodos de detecção

O controle da contaminação por NSLAB é de grande relevância, considerando os elevados impactos na qualidade dos iogurtes, nos custos de operação da indústria, bem como na segurança e confiança do consumidor.

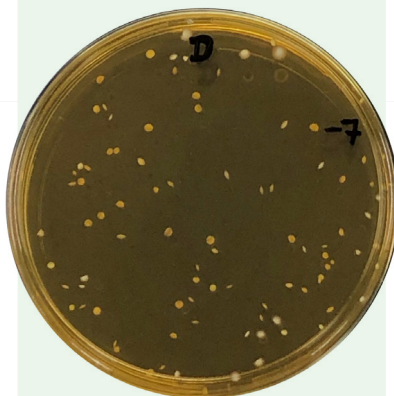
Para detecção microbiológica são conhecidas as dificuldades na determinação de micro colônias e a incapacidade da identificação de linhagens selvagens de NSLAB pelos métodos fenotípicos. Porém, é possível identificar a presença da microbiota por meio da análise de contagem total de NSLAB e da contagem de bactérias fermentadoras de citrato.

Para a determinação de NSLAB total utiliza-se o meio de cultura MRS e/ou M17 + Vancomicina, resultando no crescimento de colônias, em sua maior parte, compostas por grande variedade de bactérias do grupo bacilos, no qual não é possível distingui-las e identificá-las devido à elevada diversidade de cepas. Portanto, para produtos que utilizam cultivos mesofílicos em sua composição não é indicada a aplicação desta metodologia, pois o resultado encontrado pode ser falso-positivo.

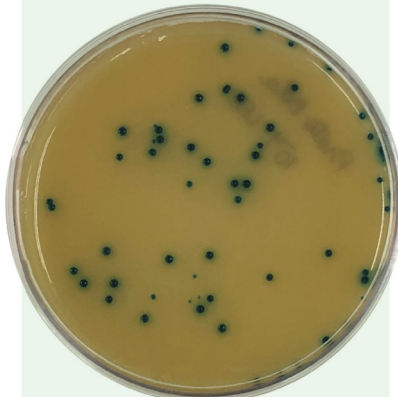
O método de contagem total baseia-se na premissa de que o iogurte é composto, obrigatoriamente, pelas bactérias termofílicas *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*, que não se multiplicam a 22 °C. Portanto, se o produto não apresenta em sua composição a adição de bactérias mesofílicas adjuntas, o crescimento resultante pode

### Detecção microbiológica

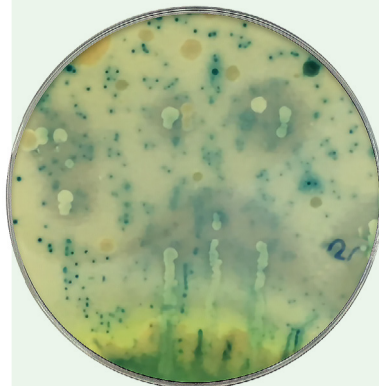
Contagem total e bactérias fermentadoras



1 Resultado microbiológico para análise de determinação de NSLAB total.



2 Resultado microbiológico para análise de bactérias fermentadoras de citrato.



3 Bactérias fermentadoras de citrato da microbiota NSLAB (*Leuconostoc*)

ser relacionado com o crescimento da microbiota contaminante NSLAB.

Já para a determinação de bactérias fermentadoras de citrato, deve-se considerar o uso do meio de cultura ágar Leesment, enriquecido com componentes como citrato de cálcio e carboximetilcelulose utilizados como substratos, favorecendo assim o crescimento deste grupo de bactérias. Na leitura desta análise pode-se encontrar bactérias da família das enterobactérias, *Pediococcus*, *Leuconotoc* e, também, bactérias do grupo dos bacilos produtoras de gás, como, por exemplo, *Lactobacillus plantarum*.

Outra forma de detectar a contaminação por NSLAB no processo produtivo de iogurtes é por meio da avaliação de eficiência de limpeza CIP nas etapas do processo que compreendem a pasteurização, linhas de transferência e tanques de fermentação. Este método identifica pontos críticos de contaminação onde ocorre o aumento da carga celular contaminante, favorecendo a recontaminação do leite. Considerando que todas as bactérias pertencentes a microbiota NSLAB são bactérias ácido lácticas, ou seja, produtoras de ácido láctico, o método baseia-se na leitura comparativa de deslocamento de pH das amostras coletadas durante o processo e incubadas à temperatura de fermentação. Fixando-se o mesmo delta de deslocamento de pH, pode-se concluir que quanto maior for a carga celular contaminante, menor será o tempo de acidificação e, consequentemente, menor deverá ser o intervalo entre CIP.

Ambas vias analíticas são eficientes e complementares para detecção e controle da microbiota NSLAB, sendo possível correlacionar o nível de contaminação com os desvios de qualidade nos iogurtes citados inicialmente.

Para a detecção de biofilmes, a análise de superfície (SWAB) após a sanitização das linhas em diferentes pontos de coleta, principalmente em locais de difícil acesso, também é uma eficiente forma de identificar os pontos críticos de contaminação.

### Controle da microbiota NSLAB

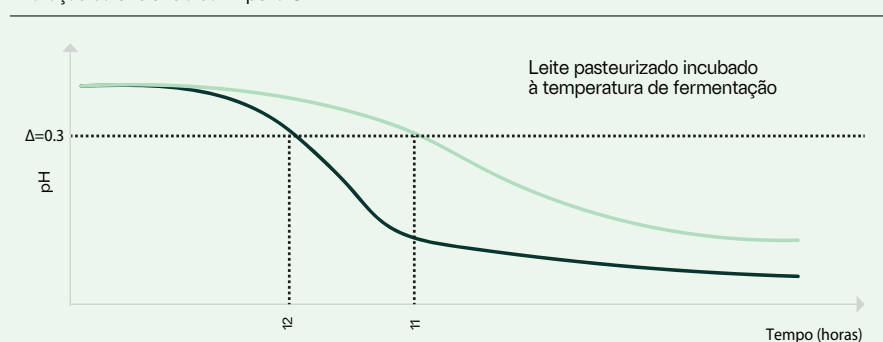
Associadas ao controle de qualidade do leite e eficiência de limpeza nas linhas de processamento de iogurte, algumas práticas adotadas no processo podem contribuir para manter baixos os níveis de contaminação por NSLAB.

Elevados intervalos de estocagem da base láctea no tanque de mistura podem impactar na proliferação bacteriana, considerando que a pasteurização do leite cru no recebimento não é eficiente para eliminar grande parte das bactérias que compõem este grupo. Sabemos que a pasteurização reduz de forma logarítmica a carga bacteriana contida no leite. Desta forma, quanto maior for a carga contaminante da mistura a ser processada, maior a probabilidade do produto carrear altos níveis de contaminação.

A concentração de inóculo do cultivo adicionado contribui significativamente para proteger o produto contra a proliferação de microrganismos indesejáveis, pois quando se utiliza a dosagem nominal (indicada) do cultivo, maior será a carga celular de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e, com isso, menor será a fase LAG, prevenindo o crescimento de contaminantes. Na cinética de acidificação, a fase LAG representa a

### Método para detecção de microbiota NSLAB

Avaliação da eficiência da limpeza CIP



fase de latência do cultivo, ou seja, o cultivo ainda não iniciou seu processo de multiplicação. Neste intervalo, as condições são ideais para a proliferação de contaminantes, pois além de não haver competição devido à fase de adaptação do cultivo, oferece condições ótimas tanto em relação à temperatura quanto à oferta de substratos. Em outras palavras, quando "esticamos" a dosagem do cultivo adicionado para fermentação, menor será a carga celular e maior será o intervalo da fase LAG e maior será a probabilidade de desenvolvimento de contaminantes.

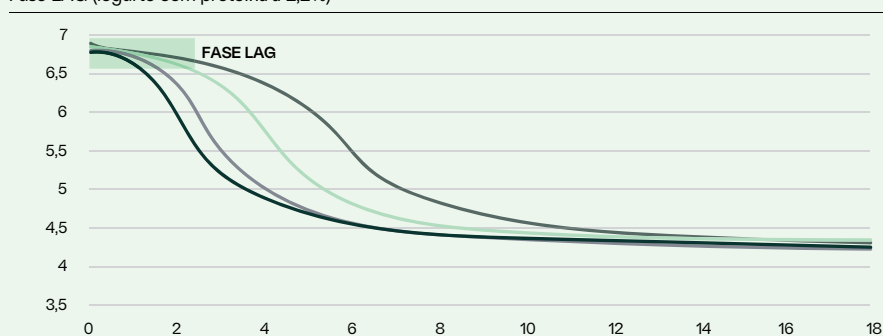
Outra prática que pode ser adotada é resfriar o produto logo após ele atingir

o pH de corte na etapa de fermentação, uma vez que, o resfriamento rápido contribui para frear o crescimento de bactérias contaminantes. Além disso, de forma alternativa, porém de maior impacto em investimento, tecnologias de microfiltração e bactofugação podem ser empregadas no processo a fim de remover microrganismos indesejáveis.

O controle da microbiota contaminante NSLAB em iogurtes contribui para a redução do desperdício de alimentos e geração de resíduos decorrentes do descarte de produtos, além de reduzir os impactos financeiros gerados por problemas de desvios de qualidade e, conseqüentemente, gerar maior satisfação e fidelização do consumidor.

### Inóculo do cultivo x cinética de acidificação

Fase LAG (iogurte com proteína a 2,2%)



### HA-LA BIOTEC

Produção trimestral da Novonesis

**Coordenação:** Ana Luísa Costa

**Edição:** Raquel Chiliz

**Consultoria e redação técnica:**

Natália Helena Goes e Lúcio A. F. Antunes

**Editoração:** Cia da Concepção

### DISTRIBUIDORES AUTORIZADOS

**Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul:** LC Bolonha Ingredientes Alimentícios Ltda. Tel. (41) 3139-4455 (bolonha@lcbolonha.com.br).

**Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro:** Produtos Macalé.

Tel. (32) 3224-3035 (macale@macale.com).

**Goiás, Tocantins, Distrito Federal, Mato Grosso, Rondônia e Pará:** Clamalu

Comércio e Representações Ltda. Tel. (62) 3605-6565 (romulo

@clamalu.com.br e j.clareth@clamalu.com.br).

**Alagoas, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do**

**Norte e Sergipe:** Latec NE Ingredientes. Tel. (82) 98787-6564

(atendimento@latecingredientes.com.br)

**São Paulo, Amazonas, Roraima, Acre:** Latec Ingredientes. Tel. (15) 3202-1017 e

(15) 98180-0002 (atendimento@latecingredientes.com.br).