



Artículo original / Original article

Evaluación microbiológica de bebidas lácteas fermentadas de una industria láctea en el estado de Rondônia - Brasil

Microbiological evaluation of fermented milk beverages from a dairy industry in the state of Rondônia - Brazil

Aline Silva Santana¹; Paulo Henrique Gilio Gasparotto²; Jorge Vidal-Cama³;
Ricardo Ysaac García-Núñez⁴; Jerônimo Vieira Dantas-Filho^{3*}

- ¹ Pós-Graduação *latu sensu* em Gestão da Qualidade e Higiene e Tecnologia de Produtos de Origem Animal, Instituto Federal do Oeste de Pernambuco, IFOPE, Brasil **Recibido:** 12/01/2023
Aceptado: 10/03/2023
Publicado: 20/06/2023
- ² Universidade Federal do Acre, UFAC, Acre, Brasil
- ³ Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Federal de Rondônia, UNIR, Rondônia, Brasil
- ⁴ Departamento de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Puerto Maldonado, Perú

* Autor de correspondencia: jeronimovdantas@gmail.com

Resumen: La industria láctea utiliza el suero de queso como alternativa para la producción de bebidas lácteas fermentadas, resultado de mezclar leche y suero con o sin productos o sustancias alimenticias, grasa vegetal, leches fermentadas, cultivos iniciadores y otros productos lácteos. Se evaluó las características microbiológicas, en términos de coliformes totales y termotolerantes y bacterias lácticas, de las bebidas lácteas fermentadas producidas en una planta procesadora de leche del estado de Rondônia. Se analizaron 99 muestras de esta planta durante 90 días. A nivel microbiológico, se hicieron recuentos de coliformes totales, termotolerantes y de bacterias lácticas. Los datos se analizaron y clasificaron conforme al Reglamento Técnico de Identidad y Calidad de Bebidas Lácteas utilizando Excel® 2013; además, se realizó un análisis descriptivo con base estadística para calcular el porcentaje de muestras que cumplieran con los parámetros establecidos por la legislación. Se evidenció que todas las muestras cumplieran con los estándares microbiológicos de la legislación vigente.

Palabras clave: calidad; leche; microbiología; productos lácteos; suero lácteo.

Abstract: The dairy industry uses cheese whey as an alternative for the production of fermented milk beverages, the result of mixing milk and whey with or without food products or substances, vegetable fat, fermented milks, starter cultures and other dairy products. The microbiological characteristics, in terms of total and thermotolerant coliforms and lactic acid bacteria, of fermented milk beverages produced in a milk processing plant in the state of Rondônia were evaluated. Ninety-nine samples from this plant were analyzed during 90 days. At the microbiological level, total coliform, thermotolerant and lactic acid bacteria counts were made. The data were analyzed and classified according to the Technical Regulations for the Identity and Quality of Dairy Beverages using Excel® 2013; in addition, a descriptive analysis with statistical basis was performed to calculate the percentage of samples that complied with the parameters established by the legislation. It was found that all samples complied with the microbiological standards of the current legislation.

Keywords: quality; milk; microbiology; dairy products; whey.

1. Introducción

Según el IBGE (2021a), la producción de leche en Brasil en 2021 fue de 35,3 mil millones de litros. De este volumen, el 71,2 % (25,1 mil millones de litros) se refiere a leche comprada y procesada por lecherías brasileñas bajo inspección sanitaria (IBGE, 2021b).

El estado de Rondônia tiene una producción promedio de más de 2,2 millones de litros de leche por día, y es considerado el mayor productor de leche del Norte y la 9ª mayor cuenca lechera del país (Dias, J. A. et al., 2023). Cerca del 80 % de los productores de leche de Rondônia son familiares, con una producción media de 67 litros diarios por propiedad, y una productividad de 4,4 litros/vaca/día (Emater RO, 2021).

La producción de queso genera un gran volumen de suero. En un estudio realizado por Jelen (2003), se utilizan 10 litros de leche de vaca o 5,5 litros de leche de búfala para producir 1 kg de queso tradicional, produciendo 9 y 4,5 litros de suero, respectivamente.

García-Flores et al. (2015) describen el lactosuero como un subproducto de la elaboración del queso, que es una fuente potencialmente importante de nutrientes como proteínas solubles, lactosa, vitaminas, minerales y una cantidad mínima de grasa (Pinheiro Alves et al., 2014), pero que actualmente se desperdicia en muchas partes del mundo. Como subproducto, representa entre el 85 % y el 90 % del volumen de leche utilizado y conserva alrededor del 55 % de los nutrientes de la leche.

Como resultado, las industrias han estado utilizando el suero de queso como una buena alternativa para la elaboración de bebidas lácteas fermentadas, ya que puede ser aprovechado en su totalidad (Schlabitz, 2014).

Según la Instrucción Normativa 16/2005, que establece el Reglamento Técnico de Identidad y Calidad (RTIQ) para bebidas lácteas, se define bebida láctea como "producto lácteo resultante de una mezcla de leche y suero, adicionado o no de producto(s) o sustancia(s) alimenticia(s), grasa vegetal, leche(s) fermentada(s), fermentos lácteos seleccionados y otros productos lácteos". Esta mezcla se fermenta por la acción de microorganismos específicos y/o leche(s) fermentada(s) añadida(s) y no puede someterse a tratamiento térmico tras la fermentación. El recuento total de bacterias lácticas viables debe ser de al menos 10⁶ UFC/g en el producto final durante toda su vida útil (Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária Organization, 2005).

Con relación a los estándares microbiológicos, el RTIQ para Bebidas Lácteas (Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária Organization, 2005) establece que los números más probables (NMP/mL o NMP/g) de coliformes permitidos para bebidas lácteas fermentadas son de hasta 100 NMP/mL (o NMP/g) de coliformes totales y 10 NMP/mL (o NMP/g) de coliformes termotolerantes para muestras indicativas.

El objetivo de este estudio era evaluar las características microbiológicas en términos de coliformes totales y termotolerantes y bacterias lácticas de la bebida láctea fermentada producida en una planta local de procesamiento de leche.

2. Materiales y métodos

2.1. Muestreo

Para este estudio, se analizaron 99 muestras de bebidas lácteas fermentadas entre noviembre de 2021 y enero de 2022 en el laboratorio de calidad de una planta procesadora de leche ubicada en el estado de Rondônia, bajo la supervisión del Sistema de Inspección Federal (SIF). Las muestras se recogieron durante el proceso de producción y se enviaron inmediatamente al laboratorio de calidad. Debido a la variación de tamaño y sabores de las bebidas lácteas envasadas, en algunos casos se analizaron hasta cinco muestras de productos diferentes el mismo día.

Las muestras se evaluaron para los parámetros microbiológicos de recuento de coliformes totales y termotolerantes y bacterias lácticas siguiendo la Instrucción Normativa nº 30, de 26 de junio de 2018, de Métodos Analíticos Oficiales para Análisis Microbiológicos.

2.2. Preparación de las muestras

El contenido de las botellas de bebida láctea fermentada se homogeneizó agitando 25 veces la botella aún cerrada. Las botellas se abrieron asépticamente cerca de la boquilla Busen. Una vez abiertas, se alicuotaron 25 mL de la muestra en un vaso de precipitados estéril, posteriormente se añadieron 225 mL de agua peptona al 0,1 % y se homogeneizaron para visualizar su aspecto, obteniendo así la dilución 10⁻¹, tras la cual se realizaron las demás diluciones seriadas (10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵) siguiendo la metodología propuesta por Silva et al. (2017a).

2.3. Análisis microbiológico

2.3.1. Recuento de bacterias lácticas viables

El recuento de bacterias lácticas se realizó por el método de deep plating o pour plate, añadiendo 1 mL de inóculo y vertiendo unos 25 mL de agar MRS sobre la muestra en placas Petri. Después de que el medio se hubiera secado, se añadió una superposición, seguida de incubación a 35 °C durante 48 horas.

2.3.2. Recuento de coliformes

Se tomaron alícuotas de 1 mL de los tubos que contenían las muestras diluidas 10, 100 y 1000 veces y se transfirieron a una serie de 3 tubos que contenían caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) y se homogeneizaron. Los tubos se incubaron a 35 °C durante 48 horas.

Transcurrido este tiempo, se leyeron los resultados. Los tubos que obtuvieron resultados positivos, es decir, la producción de gases en los tubos de LST, se volvieron a analizar, lo que se denominó reanálisis, utilizando caldo de lactosato verde brillante (VRBL) en una estufa a 35 °C durante 48 horas para identificar los coliformes totales y caldo EC para los coliformes termotolerantes en una estufa a 45 °C durante 48 horas.

Transcurridas 48 horas, se realizó la lectura de coliformes en los tubos y el recuento de bacterias lácticas en las placas mediante un contador de colonias.

2.4. Análisis estadístico

Se utilizó el programa Excel® 2013 para representar los datos y clasificar la norma microbiológica relativa al RTIQ para bebidas lácteas (Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária Organization, 2005), y se realizó un análisis descriptivo de los datos como base estadística para calcular el porcentaje de muestras que cumplían con los parámetros establecidos por la legislación.

3. Resultados y discusión

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, se constató que 100 % de las muestras analizadas presentaron parámetros microbiológicos con valores inferiores a los establecidos por el RTIQ para bebidas lácteas (Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária Organization, 2005). Las 99 muestras presentaron valores inferiores a 3 números más probables de coliformes totales y termotolerantes por gramo de muestra analizada. La legislación establece un máximo de 100 NMP/g-1 para coliformes totales y un máximo de 10 NMP/g-1 para coliformes termotolerantes (Figura 1).

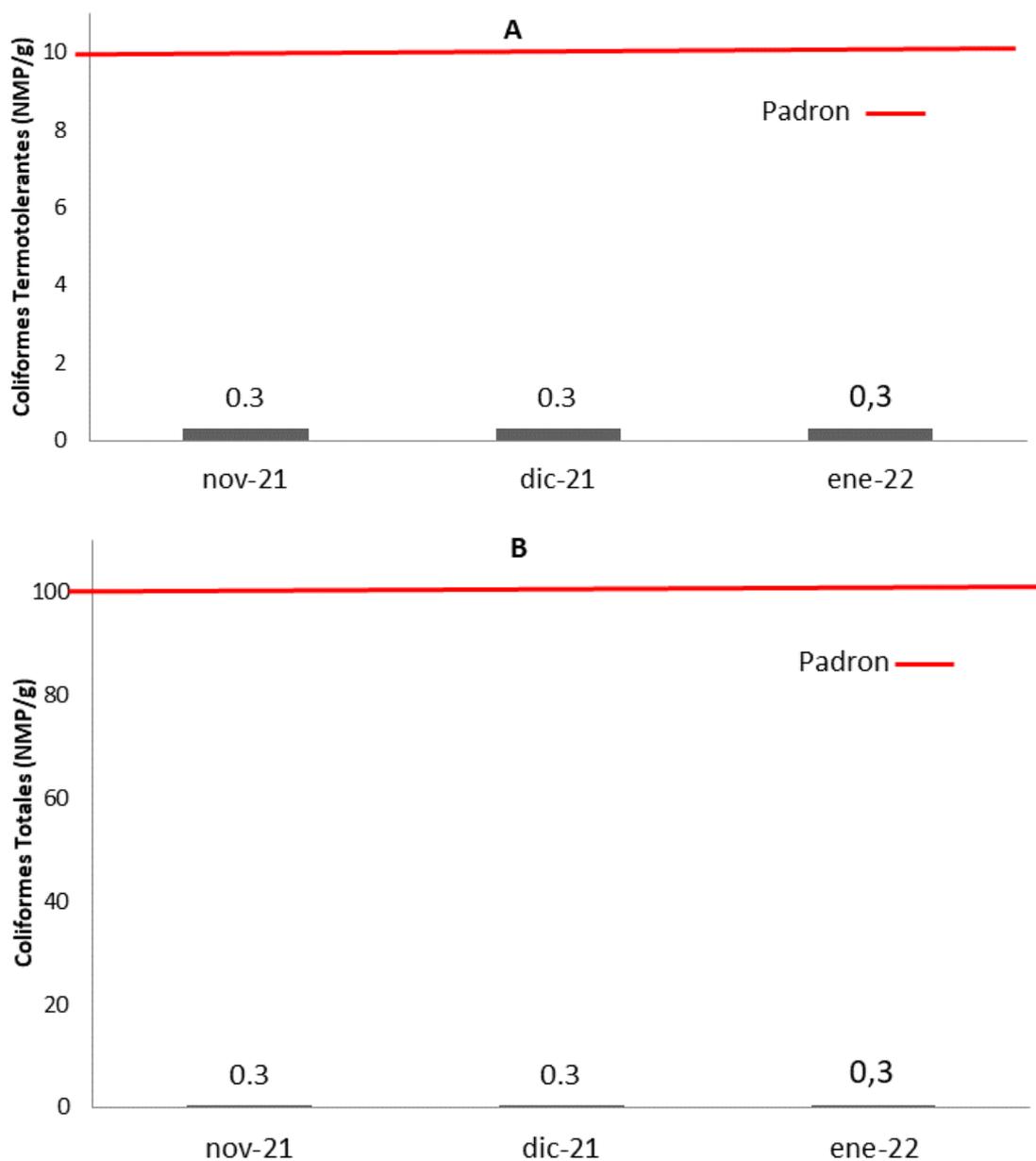


Figura 1. Recuento de coliformes termotolerantes (A) y coliformes totales (B) presentes en la bebida láctea fermentada a lo largo de los tres meses.

Al analizar el recuento de bacterias de la leche, se pudo observar que había una variación de 1×10^6 a 9×10^6 UFC/g a lo largo de los tres meses, analizándose hasta cinco muestras en determinados días de noviembre y diciembre y hasta tres muestras el mismo día en enero (figura 2), pero todas las muestras estaban dentro de los parámetros establecidos por la legislación.

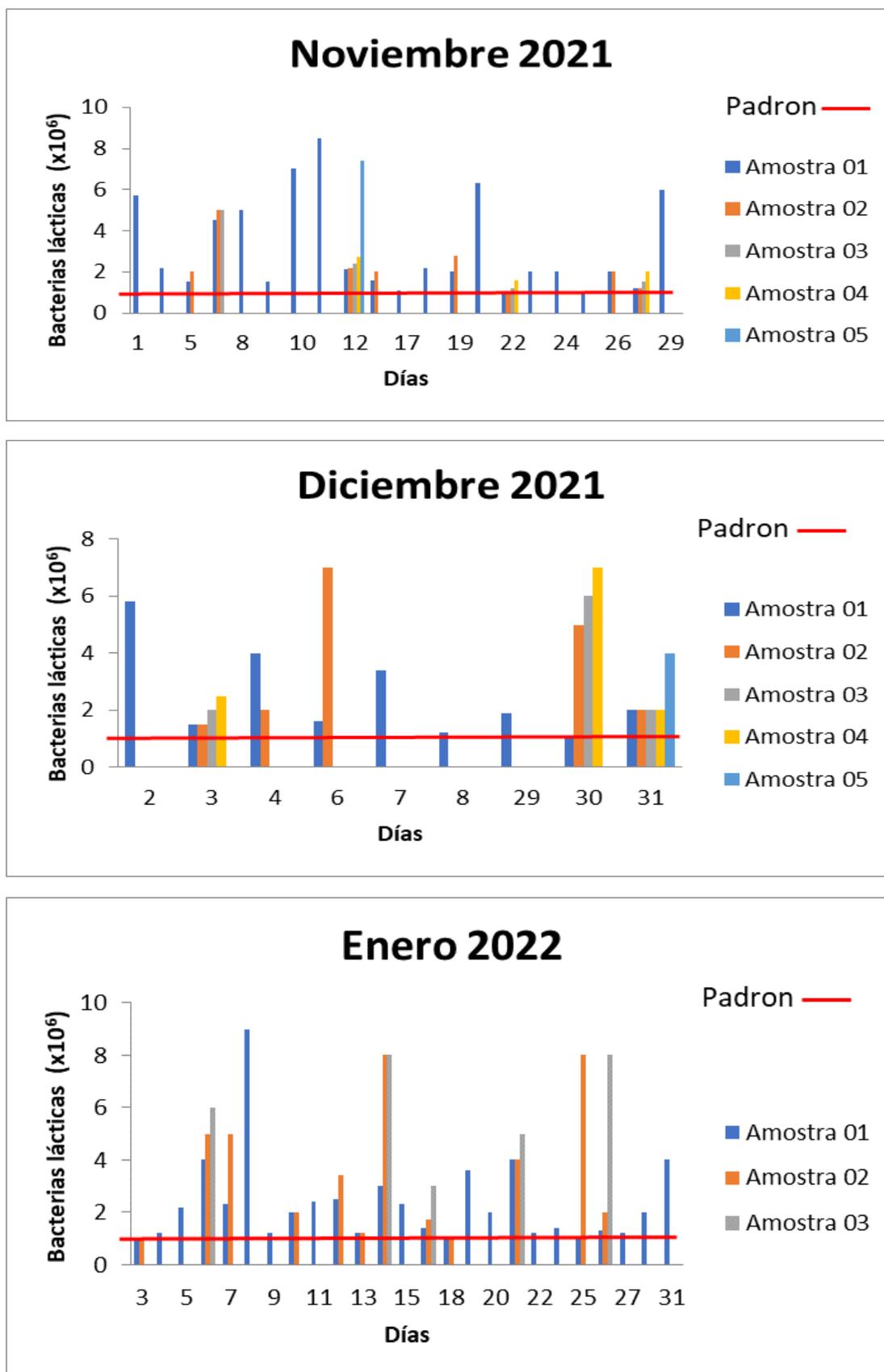


Figura 2. Recuento de bacterias lácticas viables presentes en la bebida láctea fermentada a lo largo de los tres meses.

Las bacterias del grupo de los coliformes forman parte de la familia Enterobacteriaceae. Son bacilos Gram negativos, no formadores de esporas, que tienen la capacidad de fermentar la

lactosa con producción de gas cuando se incuban entre 35 y 37 °C (totales) o 44 y 45,5 °C (termotolerantes). Cuando están presentes en los alimentos, estos microorganismos pueden señalar la probable existencia de contaminación fecal, la probable presencia de agentes patógenos o el posible deterioro de un alimento. Así, la presencia de coliformes totales y termotolerantes es una indicación de prácticas sanitarias insatisfactorias durante la preparación del producto (Franco, G.M. & Landraf, M., 2008).

El estudio de Costa et al. (2013) evaluó el desarrollo y la caracterización fisicoquímica, microbiológica y sensorial de bebidas lácteas fermentadas elaboradas con diferentes estabilizantes y espesantes. Los autores obtuvieron resultados similares a los de este estudio en el sentido de que, de los diez tratamientos utilizados, todas las muestras se encontraban dentro de los estándares establecidos. Esto puede explicarse por el hecho de que las bebidas lácteas se consideran alimentos ácidos, lo que dificulta la proliferación de microorganismos contaminantes (Reis, J.A. et al., 2013). Otro factor considerable es la higiene y el saneamiento adecuados durante todo el proceso de producción y almacenamiento de las bebidas lácteas fermentadas.

En cuanto a las bacterias lácticas, Forsythe (2002) informa de que su principal función en los alimentos es acidificar estos productos a un pH próximo a 4,0, lo que dificulta el desarrollo de bacterias indeseables mediante la producción de ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico. Esto permite que la vida útil de los productos fermentados sea mucho mayor que la de los productos en los que la materia prima no ha sido fermentada. Otra función es desarrollar las propiedades sensoriales de los productos fermentados.

En Recife (PE), Lima, M. T. et al. (2009) evaluaron los parámetros microbiológicos y fisicoquímicos de las bebidas lácteas comercializadas en 2009. En este estudio se evaluaron 18 muestras de bebidas lácteas fermentadas de diferentes marcas, de las cuales sólo seis cumplían las normas de recuento de bacterias lácticas establecidas por la legislación. El pH y la acidez resultaron ser superiores a los ideales para la acción de las bacterias lácticas. Gurgel y Oliveira (1995) describen que puede haber variaciones en la acidez del producto dependiendo de la temperatura de refrigeración, del tiempo de almacenamiento y del poder de post-acidificación de los cultivos utilizados, que también están relacionados con cambios en los valores de pH. Por lo tanto, las muestras que estaban apagadas podrían estar relacionadas con estos factores.

En el estudio de Andrade (2010), todas las muestras de bebidas lácteas fermentadas comercializadas en grandes cadenas de supermercados de Belo Horizonte (MG) que fueron analizadas presentaron recuentos de bacterias lácticas viables totales superiores al mínimo establecido por la RTIQ para bebidas lácteas (Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária Organization, 2005), al igual que este estudio.

Silva et al. (2017b), en un estudio realizado en el sudeste de Minas Gerais, prepararon y evaluaron las características fisicoquímicas y microbiológicas de una bebida láctea fermentada simbiótica, con *Lactobacillus casei* y el prebiótico povidexrosa, a base de suero fluido y diferentes concentraciones de suero en polvo, y obtuvieron resultados similares a los de este estudio, en el que todas las muestras analizadas estaban dentro de los estándares requeridos tanto para coliformes como para bacterias lácticas.

Estos resultados reflejan el proceso de calidad en el que se procesan las bebidas lácteas bajo condiciones higiénicas y sanitarias adecuadas (Lima, M. T. et al., 2009), en cuanto a la manipulación de ingredientes e insumos, utensilios y equipos utilizados para la obtención del producto final, garantizando así productos aptos para el consumo humano sin que representen un riesgo para la salud del consumidor.

4. Conclusiones

Con estos resultados, podemos concluir que las bebidas lácteas fermentadas evaluadas en este estudio estaban dentro de los estándares de la legislación vigente en cuanto a coliformes totales, coliformes termotolerantes y bacterias lácticas.

Financiamiento

No financiado.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflictos de interés en relación con su trabajo.

Contribución de autoría

Conceptualización y Metodología: Jerônimo Viera Dantas Filho, Aline Silva Santana, Paulo Henrique Gilio Gasparotto, Jorge Luis Vidal Cama, Ricardo Ysaac García Núñez. Escritura y revisión: Jerônimo Viera Dantas Filho, Aline Silva Santana, Paulo Henrique Gilio Gasparotto, Jorge Luis Vidal Cama, Ricardo Ysaac García Núñez. Administración y supervisión del proyecto: Jerônimo Viera Dantas Filho.

Referências bibliográficas

- Andrade, E.H. *Qualidade físico-química, microbiológica e detecção de soro lácteo por cromatografia líquida de alta eficiência em bebidas lácteas fermentadas*. [Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária]. <http://hdl.handle.net/1843/SSLA-87MJGN>
- Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária Organization (Ed.) (2018). *Regulamento técnico de colheita de amostras e envio de resultados de controle e qualidade oficial de produtos de uso veterinário*. Instrução normativas da MAPA Nº 30 DE 13 09 2018. Diário Oficial da República Federativa do Brasil
- Ministério da agricultura do abastecimento e da reforma agrária Organization (Ed.) (2005). *Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea*. Instrução Normativa IN Nº 16 de 23 de agosto de 2005). Diário Oficial da República Federativa do Brasil
- Costa, V.S., Nicolau, E. S., Torres, C. L., Fernandes, P. R., Rosa, I. R., Nascimento, R. C. (2013) Desenvolvimento e caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de bebida láctea fermentada elaborada com diferentes estabilizantes/espessantes. *Semina: Ciências Agrárias, Semina: Ciências Agrárias*, 34(1), 209-226. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n1p209>
- Dias, J. A., De Oliveira, A. M., Macedo, C. C. (Ed.) (2023). *Boas práticas de ordenha para redução da contagem de bactérias deteriorantes do leite nas condições de produção prevalentes em Rondônia*. <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1158828/boas-praticas-de-ordenha-para-reducao-da-contagem-de-bacterias-deteriorantes-do-leite-nas-condicoes-de-producao-prevalentes-em-rondonia>
- Emater RO (Ed.) (2021). *Técnica orientada pela Emater-RO a pecuaristas gera aumento na produção de leite em Rondônia*. <http://www.emater.ro.gov.br/ematerro/2021/07/14/tecnica-orientada-pela-emater-ro-a-pecuaristas-gera-aumento-na-producao-de-leite-em-rondonia/>
- IBGE. (Ed.) (2021a). *Pesquisa da Pecuária Municipal, 2021*. <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?edicao=34981&t=destaques>
- IBGE. (Ed.) (2021b). *Pesquisa Trimestral do Leite*. <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9209->

- pesquisa-trimestral-do-leite.html?edicao=33984&t=downloads
- Franco, G.M., Landraf, M. (2008) *Microbiologia dos Alimentos*. Editorial Atheneu
- Forsythe, S.J. (2002) *Microbiologia da segurança alimentar*. Editorial Artmed
- García-Flores, R., Martins, R., de Souza Filho, O. V., González, M., Mattos, C., Rosenthal, A., & Juliano, P. (2015). A novel facility and equipment selection model for whey utilisation: A Brazilian case study. *Computers and Electronics in Agriculture*, 117, 127-140. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2015.07.016>
- Gurgel, M. S. C. C. A., Oliveira, A. J. (1995). Avaliação das características físico-químicas do iogurte. *Leite & Derivados*, 4 (22), 38-43
- Jelen, P. Whey processing. In: Roginski, H.; Fuquay, J.W., Fox, P.F. (eds.) (2003). *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Academic Press, v. 4, p. 2739-2751
- Lima, M. T., Ferraz, P. S., Lima, C. T., Araújo, G. T., Paiva, J. E., Shinohara, K. S., Lopes, J. T. (2009) Análise microbiológica e Físico-química de bebidas Lácteas comercializadas no Recife – PE. Recife: Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).
- Pinheiro Alves, M., De Oliveira Moreira, R., Henrique Rodrigues Júnior, P., Carla de Freitas Martins, M., Tuler Perrone, Í., & Fernandes de Carvalho, A. (2014). Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. *Revista Do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 69(3), 212. <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v69i3.341>
- Reis, J.A., Penna, A.L., Hoffmann, F.L. (2013) Microbiota contaminante em bebidas lácteas fermentadas comerciais. *Rev Inst Adolfo Lutz. São Paulo*, 72(1):93-8. <http://hdl.handle.net/11449/122276>
- Schlabit, C. (2014) Aplicação de soro de ricota na elaboração de bebida láctea fermentada funcional. [Dissertação de mestrado], Centro Universitário UNIVATES]. <https://www.univates.br/bduserver/api/core/bitstreams/4481aa50-b1ea-4358-807f-53a06e8dd1c1/content>
- Silva, N., Amstalden, V.C., De Arruda, N.F., Taniwaki, M.H., Romeiro, R.A., Okazaki, M.M., Thie, B. (2017a) *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água*. Editora lucher.
- Silva, T.J., De Oliveira, A., Cunha de Souza, D., De Almeida, W. (2017b) Bebida láctea funcional a base de soro fluido e em pó: qualidade físico-química e microbiológica. *Higiene Alimentar* – 31(268). <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-846500>