

RESSALVA

Alertamos para ausência das páginas pré-textuais, resumo e algumas figuras e tabelas, não enviadas pela autora no arquivo original.

1 – INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a preocupação crescente com a saúde e com a qualidade de vida, levou as pessoas a se preocuparem em fazer exercícios físicos, ingerir alimentos saudáveis, diminuir o consumo de alimentos ricos em açúcar, sal e gordura. Além disso houve um aumento na procura por alimentos com alguma propriedade funcional. As mudanças nos hábitos alimentares e no estilo de vida se deve principalmente na busca incessante por saúde diminuindo assim os riscos de doenças.

Durante esta última década, muitos consumidores do Norte da América e Europa têm modificado os conceitos de nutrição e seus hábitos alimentares por razões de saúde, com redução da quantidade de gordura, açúcar, sal, colesterol e de certos aditivos (TAMIME *et al.*, 1994). A ciência de alimentos, anteriormente, preocupava-se em desenvolver alimentos para a sobrevivência humana, objetivo que foi substituído pelo conceito de produzi-los com qualidade. Mais recentemente, a idéia passou a ser usá-los como veículos de promoção de bem-estar e saúde, ao mesmo tempo reduzindo o risco de doenças (MATSUBARA, 2001). As indústrias de alimentos observaram esta demanda, e durante os últimos anos houve um rápido crescimento do mercado de alimentos e bebidas dietéticas (TAMIME *et al.*, 1994). Com o aumento do interesse por parte dos consumidores em reduzir a quantidade de açúcar em produtos

alimentícios, os alimentos com edulcorantes ganharam atenção especial do consumidor. A descoberta de um grande número de novos adoçantes durante a última década fez com que fossem desenvolvidos novos produtos livres de açúcares, particularmente para diabéticos, pessoas que usam dietas especiais e para obesos (OZDEMIR & SADIKOGLU, 1998).

O iogurte é um dos produtos mais antigos e conhecidos, sendo também muito apreciado e consumido no Brasil. É obtido por meio de fermentação láctica do leite integral ou desnatado, concentrado ou não, pasteurizado, no qual são utilizados *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, atingindo um pH final de 4,2-4,5 (HOFFMANN *et al.*, 1996).

Os iogurtes desnatados ou semi-desnatados de baixas calorias, também seguindo esta tendência, ganharam popularidade. A qualidade destes produtos depende da textura e do corpo, pois a quantidade de sólidos é muito baixa, assim é comum o uso de estabilizantes para melhorar a textura e reduzir a separação do soro. Os outros métodos para aumentar o conteúdo de sólidos totais são a adição de caseinatos e o uso de concentrados protéicos de soro (MISTRY & HASSAN, 1992).

O consumo de leites fermentados por muito tempo, esteve baseado no iogurte tradicionalmente produzido com fermentos compostos de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus*, o futuro aponta para o uso dos probióticos, associados ou não a esses tradicionais, quer como agentes “biotecnológicos”, ou seja, que melhoram

as características do produto tradicional, como reduzir a pós acidificação do iogurte e leites fermentados, fato evidenciado pela ação de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* sp quer como “agentes terapêuticos”, ou seja, microrganismos que promovam efeitos benéficos nos indivíduos que os ingerem (ANTUNES, 2001).

A combinação de um produto isento de açúcar com a fermentação por probióticos pode contribuir com as necessidades atuais e exigências do mercado consumidor na busca por produtos de baixas calorias e com propriedades funcionais.

2 – OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram:

- Efetuar a caracterização físico-químicas, microbiológicas e reológicas de iogurtes probióticos comerciais;
- estudar o efeito do uso de edulcorantes (aspartame; aspartame + sacarina; sucralose) sobre as características físico-químicas, microbiológicas, reológicas e sensoriais de iogurtes fermentados por culturas lácticas probióticas;
- definir qual a melhor formulação de iogurte probiótico fabricado com substituto de açúcar;
- acompanhar as alterações nas características (pH, acidez titulável, viscosidade e contagem de microrganismos probióticos) do iogurte durante 30 dias;

3 – REVISÃO DA LITERATURA

3.1 – Iogurte

De acordo com a legislação, entende-se por leites fermentados “os produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidos por coagulação e diminuição do pH do leite, ou leite reconstituído, adicionado ou não de cultivos de microrganismos específicos. Estes microrganismos devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade”. Todos os tipos de leites fermentados deverão atender a essa definição e se diferenciarão em função dos cultivos próprios empregados. Como exemplo de leites fermentados temos: iogurte, leite fermentado ou cultivado, leite acidófilo ou acidofilado, kefir, kumis e coalhada (BRASIL, 2000).

O consumo de leites fermentados remonta quase a origem da civilização humana, tendo sido, inclusive, citado na bíblia como o alimento usado para o oferecimento de Abraão a Deus ou às visitas ilustres. No entanto, somente após a II Guerra Mundial é que os leites fermentados, principalmente o iogurte, passaram a ser produzidos em escala industrial, conquistando grande parte da população mundial (ANTUNES, 2001).

O grande aumento da popularidade de leites fermentados, especialmente do iogurte, se deve em princípio ao interesse das supostas propriedades benéficas à saúde e de prolongar a vida. Basicamente,

imagina-se que uma das causas do envelhecimento humano é a absorção intestinal e a passagem para a corrente sanguínea de determinados compostos nocivos resultantes da ação de bactérias da putrefação. Acredita-se que suprimindo a ação destas bactérias evitaria as manifestações dos efeitos adversos dos produtos de seu metabolismo e que, portanto, as pessoas gozariam de vida longa, pois o iogurte causaria a inibição da ação destas bactérias. Além disso, o iogurte possui um alto valor nutritivo e é considerado equilibrado e adequado a qualquer dieta (TAMIME & ROBINSON, 1991).

Após a implantação do plano Real, com a conseqüente estabilização da moeda, pôde-se verificar um aumento no consumo de vários alimentos, com destaque para o iogurte, que se tornou acessível a um maior segmento da população. De acordo com a Associação Brasileira das Indústrias de Iogurte (ABRINI), as vendas dos produtos do setor cresceram de 170 mil toneladas em 1993 para 535 mil toneladas em 2002. (BORBA, 2002).

O iogurte constitui uma rica fonte de proteínas, cálcio, fósforo, vitaminas e carboidratos. Seu consumo também está relacionado à sua imagem positiva de alimento saudável e nutritivo, associado às suas propriedades sensoriais (TEIXEIRA *et al.*, 2000). Esse consumo também pode ser atribuído à preocupação crescente das pessoas em consumirem produtos naturais, e aos benefícios que o iogurte traz ao organismo, tais como: facilitar a ação das proteínas e enzimas digestivas no organismo

humano, facilitar a absorção de cálcio, fósforo e ferro, ser fonte de galactose, importante na síntese de tecidos nervosos e cerebrosídeos em crianças, bem como ser uma forma indireta de se tomar leite. Além disso, não se conhece casos de intolerância ligada ao iogurte, devido ao fato do teor de lactose dos produtos fermentados ser reduzido (MALTA *et al.*, 2001).

O iogurte é um gel firme e fino que provém da fermentação da lactose do leite em ácido láctico por bactérias lácticas selecionadas ocasionando queda do pH e progressiva solubilização do fosfato - citrato de cálcio e agregação da caseína, resultando em um produto de alta qualidade sensorial, doce e aromático, considerado um “produto vivo”, contendo até 5 bilhões de células por grama (CARUSO & OLIVEIRA, s.d.; POMBO GRAZINOLLI & FERNANDES, 1983).

Segundo a legislação a obtenção de iogurte deverá ser feita por *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* (mais conhecido por *Lactobacillus bulgaricus*), os quais podem ser acompanhados de outras bactérias lácticas que contribuam para a característica do produto final (BRASIL, 1997).

A utilização de culturas mistas pode influenciar positivamente em nosso organismo, porque quando juntos os microrganismos tradicionais e os probióticos (lactobacilos e bifidobactérias) podem atuar benéficamente ao produzir enzimas que ajudaram o nosso organismo a digerir os alimentos, produzir vitaminas do complexo B e em casos de diarreia

ajudam a neutralizar os microrganismos patogênicos responsáveis por infecções. O uso de probióticos é, nos dias de hoje, cada vez mais recomendado, mesmo para pessoas que não sofram de problemas digestivos. Estes microrganismos vivos podem ser ingeridos nos iogurtes, em cápsulas ou em pó (VALE, 2001).

Para leites fermentados ou cultivados, a legislação diz que “o produto deve ser obtido a partir de um fermento que deverá conter um ou vários dos seguintes cultivos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* sp, *Streptococcus thermophilus* e/ou outras bactérias lácticas que auxiliem nas características do produto final” (BRASIL, 1997).

Um estudo da Fundação Getúlio Vargas revelou que, nos últimos anos, cresceu a preferência dos brasileiros por alimentos com baixas taxas de gordura, e o iogurte por fazer parte desses produtos teve seu consumo aumentado em 428%, entre o período de 1992 e 2000 (VEJA, 2001).

3.1.1 - Etapas do processo de fabricação do iogurte

3.1.1.1 - Cuidados com a matéria-prima

O leite é o primeiro alimento que é ingerido pelos recém-nascidos, e na maioria dos casos continua sendo o único componente de sua dieta durante um considerável período de tempo. O leite tem sido um alimento de grande importância para o homem desde a domesticação de animais e do começo da agricultura para a pastagem. É um alimento de origem animal muito versátil e faz parte da dieta em muitas formas físicas diferentes (FERREIRA, 1999; VARNAM & SUTHERLAND, 1994).

A modificação do leite pode visar a melhoria de sua palatabilidade, sua digestibilidade e principalmente transformando-o num alimento funcional, por meio da adição de *Lactobacillus* e outros gêneros microbianos de importância na manutenção da saúde humana (FERREIRA, 1999).

Para a elaboração de iogurtes são usados leites de distintas espécies animais. Por esta razão, o tipo de leite utilizado, pode apresentar variações na qualidade do iogurte. Leites com elevado conteúdo de gordura (como o de ovelha, búfala ou rena) resultam em um iogurte cremoso, com excelente corpo, em comparação com o iogurte elaborado com leite desnatado. A lactose do leite é fonte de energia para os microrganismos do iogurte e as proteínas desempenham um importante

papel na formação do coágulo e, portanto, a consistência e a viscosidade do produto é diretamente proporcional à concentração de proteína presente (TAMIME & ROBINSON, 1991).

O leite, mesmo sendo obtido nas mais rigorosas condições higiênicas, possui uma certa carga microbiana inicial que pode servir de agente de transmissão de doenças contagiosas ao homem (ALAIS, 1985; CARUSO & OLIVEIRA, s.d.). Para se manter a qualidade inicial do leite e evitar que a população microbiana se multiplique, é necessário que antes da ordenha o animal e os estábulos sejam higienizados (CARUSO & OLIVEIRA, s.d.).

De uma maneira geral, esse leite deve apresentar como características fundamentais ausência total, ou presença mínima, de substâncias estranhas; ausência de organismos patogênicos; ser isento de antibióticos; acidez máxima de 20 a 24°Dornic; sabor e odor normais; extrato seco o mais elevado possível e ser proveniente de úberes sãos (CARUSO & OLIVEIRA, s.d.). Além disso, a composição do leite fresco varia dentro de uma mesma raça em função de diversos fatores (seleção do animal, fase de lactação, idade do animal, estado sanitário do úbere, etc.). Para evitar essas variações intrínsecas da composição do leite é preciso recorrer à padronização (TAMIME & ROBINSON, 1991).

3.1.1.2 – Clarificação

O leite pode conter células epiteliais ou leucócitos procedentes da glândula mamária, e em alguns casos, devido à falta de cuidado durante a obtenção do leite (TAMIME & ROBINSON, 1991). A clarificação é utilizada para remover impurezas sólidas em suspensão no leite, sendo realizada por uma centrífuga clarificadora (BRANDÃO, 1995; CARUSO & OLIVEIRA, s.d.).

3.1.1.3 - Padronização da gordura do leite

O conteúdo de gordura dos diferentes tipos de iogurtes elaborados em diversas partes do mundo varia de 0,1 a 10%, sendo necessário padronizar a composição do leite para cumprir as especificações fixadas pelas normas legais (BRANDÃO, 1995; TAMIME & ROBINSON, 1991).

Os métodos empregados para a padronização do leite incluem:

- eliminação de parte da gordura do leite;
- mistura do leite integral com o leite desnatado;
- adição de creme ao leite integral ou leite desnatado;
- utilização de uma combinação dos métodos anteriores.

3.1.1.4 - Padronização de sólidos não gordurosos

Segundo Tamime & Robinson (1991), as propriedades físicas do iogurte, como a consistência/viscosidade do coágulo, são de grande importância, pois quanto maior o conteúdo em sólidos da mistura destinada à elaboração do iogurte, maior a consistência e viscosidade do produto final. A correlação entre sólidos do leite e consistência do iogurte foi melhorada notavelmente ao aumentar os sólidos do leite de 12 para 20%.

A prática utilizada nas indústrias é a adição de leite em pó (integral, desnatado ou semi-desnatado), com o objetivo de alcançar a concentração de sólidos necessária para a melhor consistência do iogurte. O nível de adição varia de 1 a 6%, entretanto o recomendado é de 3 a 4% (CARUSO & OLIVEIRA, s.d.).

Os outros procedimentos para aumentar o teor de sólidos totais no leite é a evaporação e a ultrafiltração. Na evaporação ocorre uma pequena perda de componentes voláteis enquanto todos os demais constituintes do leite são retidos e concentrados (CARUSO & OLIVEIRA, s.d.). Na ultrafiltração uma membrana é utilizada como filtro, por onde passam moléculas pequenas, enquanto são retidas as partículas coloidais e as macromoléculas. Isto significa que as proteínas globulares as micelas de caseína, os glóbulos de gordura e as células não passam pela membrana (WALSTRA & JENNESS, 1987). A principal vantagem dos

processos de concentração do leite por ultrafiltração é a realização à temperatura ambiente, evitando, portanto, os inconvenientes causados pelo aquecimento. O leite concentrado por ultrafiltração a 18 – 20% de sólidos totais produz iogurte macio, cremoso e com típico sabor ácido, sem a necessidade de homogeneização posterior (TAMIME & DEETH, 1980).

3.1.1.5 - Adição de estabilizantes/emulsionantes

A finalidade da adição de estabilizantes à mistura base é de melhorar e manter as características desejáveis do iogurte, como textura, viscosidade/consistência, aspecto e corpo. A ação dos estabilizantes no iogurte incluem basicamente duas funções: retenção de água e de favorecer o aumento da viscosidade (TAMIME & ROBINSON, 1991).

Para Kurmann (1977) o emprego de estabilizadores não deveria ser necessário. Segundo ele, a necessidade de uma adição pode ser causada por um teor em extrato seco insuficiente, devido a erros na técnica de fabricação, como tratamento mecânico muito intenso do coágulo ou adição de frutas muito líquidas.

3.1.1.6 - Adição de açúcares e/ou agentes edulcorantes

O iogurte se tornou um alimento altamente popular nos últimos 15 a 20 anos, e seu consumo continua crescendo a cada dia, devido em grande parte à adição de frutas e adoçantes. A tecnologia de produção de adoçantes se expandiu rapidamente nos últimos 15 anos e proporcionou para a indústria de leite e derivados, adoçantes de qualidade, diferentes da sacarose. Uma alternativa é o xarope de frutose de milho (HFCS), que tem aumentado a aceitação por possuir alta qualidade e propriedades funcionais desejáveis (McGREGOR & WHITE, 1987).

A principal finalidade da adição de açúcares ou agentes edulcorantes ao iogurte é de atenuar a acidez do produto (TAMIME & ROBINSON, 1991).

Os métodos usuais de adição de agentes edulcorantes ou açúcar são:

- a adição de até 5%;
- a adição de um preparado de frutas já edulcorado ou açucarado para obter o dulçor desejado no produto acabado.

A presença de carboidratos na mistura base pode inibir o crescimento dos microrganismos do iogurte. Tramer (1973) comprovou uma diminuição na velocidade de produção de ácido pelo *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bugarius* no leite concentrado (com um extrato seco total de 16,5%) quando se aumenta a concentração de

açúcar de 6 para 12%. Um exame microscópico dos diferentes tipos de iogurte mostrou que o *S. thermophilus* apresentou maior tolerância a altas concentrações de açúcar que o *Lactobacillus bulgaricus*. Esta tolerância, das culturas utilizadas depende da linhagem usada, sendo aconselhável uma cuidadosa seleção. A inibição do crescimento das culturas do iogurte com um extrato seco total de 14-16% adicionada de açúcar (10-12%), se deve principalmente a um efeito osmótico adverso dos solutos do leite, assim como uma baixa atividade de água (A_w) (TAMIME & ROBINSON, 1991).

3.1.1.7 - Homogeneização

A homogeneização consiste literalmente na formação de uma emulsão homogênea de dois líquidos imiscíveis, como a gordura e água (TAMIME & ROBINSON, 1991), o que determina uma considerável redução do tamanho do glóbulo de gordura, evitando que a gordura se separe, especialmente nos tanques de fermentação durante o período de incubação. O leite tratado dessa forma se desnata muito lentamente, porém, também se altera em outros aspectos (WALSTRA & JENNESS, 1987).

3.1.1.8 - Tratamento térmico

Com o processamento modifica-se o leite, e quando se aplica algum tratamento térmico ocorrem numerosas modificações químicas e de outros tipos, cuja extensão depende da temperatura e da duração do tratamento (TAMIME & ROBINSON, 1991).

O leite para a fabricação de iogurte sempre é submetido a um tratamento térmico. Durante muitos anos tem-se considerado como ótimo um tratamento de 80-85°C por 30 minutos, no entanto, na prática o tratamento aplicado pode variar desde uma pasteurização em alta temperatura e curto tempo (HTST – “High Temperature Short Time”), até um processo a ultra-alta temperatura (UHT – “Ultra High Temperature”). O tratamento térmico influi sobre o aumento da viscosidade do iogurte e na obtenção de uma boa textura. Com o aquecimento eliminam-se microrganismos patogênicos produtores de toxinfecções como *Salmonella* e *Campylobacter* e também um grande número de bactérias banais, algumas das quais pode dificultar o crescimento da cultura láctica. O tratamento térmico estimula também o início do crescimento da cultura por redução do conteúdo de oxigênio do leite (VARNAM & SUTHERLAND, 1994).

Segundo Brandão (1995), o tratamento térmico a 95°C por 5 minutos ou o tratamento térmico a 85°C por 20 a 30 minutos desnatura mais de 85% das proteínas do soro, reduz bastante a biota original, ativa

a cultura e melhora a consistência do iogurte. A desnaturação das proteínas do soro reduz a contração do coágulo da caseína do iogurte, diminuindo, conseqüentemente, a sinérese.

O estudo a influência do processo de fabricação sobre a viscosidade aparente do iogurte natural batido apontou que aumentando-se o conteúdo de sólidos totais (12-20%) e a temperatura de tratamento da mistura (85-95°C) ocorre um aumento significativo na acidez e índice de consistência e um decréscimo no índice de comportamento de fluxo (PENNA & OLIVEIRA, 1999).

3.1.1.9 – Processo de fermentação

A fermentação do leite é conduzida por uma cultura mista, composta pelo *Streptococcus thermophilus* e pelo *Lactobacillus bulgaricus*. O *Streptococcus thermophilus* é uma bactéria homofermentativa produtora de ácido láctico e possui um melhor crescimento em temperaturas entre 37 e 45°C e é muito menos acidificante que o *Lactobacillus bulgaricus*.

O *Lactobacillus bulgaricus* também é homofermentativo produtor de ácido láctico, porém com crescimento ótimo em temperaturas entre 45 e 50°C, acidificando fortemente o meio. Pode produzir até 2,7% de ácido láctico no leite (CARUSO & OLIVEIRA, s.d.).

O *Streptococcus thermophilus* e o *Lactobacillus bulgaricus* exibem uma relação simbiótica durante a produção de iogurte (HATTINGH & VILJOEN, 2001), produzindo mais ácido quando misturadas do que quando se utiliza cultura isolada. A maioria das informações a respeito de seu crescimento associativo acentua a relação simbiótica, na qual o crescimento e a produção de ácido por ambos os microrganismos é estimulada. O *Lactobacillus bulgaricus* é capaz de hidrolisar a caseína em aminoácidos essenciais (valina + leucina + histidina). Estes aminoácidos estimulam o *Streptococcus thermophilus* que cresce rapidamente. O *Streptococcus thermophilus*, por sua vez, produz ácido láctico e fórmico reduzindo o pH do meio para um nível ótimo de crescimento do *Lactobacillus bulgaricus*. O ácido láctico produzido e pequenas quantidades de ácido fórmico estimulam o crescimento do *Lactobacillus bulgaricus* (HATTINGH & VILJOEN, 2001; MOON & REINBOLD, 1976; SHAH, 2001; SHANKAR & DAVIES, 1977; TAMIME & DEETH, 1980).

Labropoulos, Collins & Stone (1984) estudaram o efeito de culturas lácticas puras e mistas nas propriedades reológicas e sensoriais do iogurte. A máxima consistência é obtida em iogurtes elaborados com culturas mistas *Lactobacillus bulgaricus* e *Lactobacillus acidophilus*, ou *Lactobacillus bulgaricus* + *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus thermophilus*. Os iogurtes obtidos a partir de culturas mistas são preferidos sensorialmente àqueles elaborados com culturas puras.

De acordo com Caruso & Oliveira (s.d.) para um bom desenvolvimento do processo de fermentação do leite, as culturas devem ser resistentes à degradação, apresentar um poder acidificante médio, capacidade de desenvolvimento em simbiose e de produzirem substâncias responsáveis pela viscosidade, sabor e aroma do iogurte.

A proporção entre cocos e bacilos na cultura mista a ser empregada foi motivo de inúmeras pesquisas havendo uma certa tendência para se estabelecer a relação de 1:1 entre os dois microrganismos (CARUSO & OLIVEIRA, s.d.; KURMANN, 1977).

A relação segundo Speer (1975) entre *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* depende da temperatura de incubação, do tempo de fermentação, da linhagem dos microrganismos, da percentagem de inóculo, da acidez do leite, da intensidade do tratamento térmico do leite e das qualidades desejáveis no produto final.

Para a produção de iogurte, torna-se cada vez mais comum o uso de culturas lácticas altamente concentradas, congeladas ou liofilizadas. Esses cultivos são dotados de características definidas, de elevada atividade específica e de alta resistência bacteriológica.

Alguns anos atrás era comum utilizar culturas em que a relação entre cocos e bacilos era 1:1. Entretanto, atualmente, as culturas comerciais diferem das anteriores por apresentarem uma relação diferenciada entre os microrganismos, podendo chegar a aproximadamente 13:1 entre *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus*

bulgaricus o que contribui para um menor tempo de fermentação e um baixo grau de pós-acidificação no produto final.

A concentração de inóculo utilizada geralmente era de 2 a 3% variando de 1 a 5%. Entretanto, Kurmann (1977), já recomendava inoculações mínimas para impedir uma acidificação intensa, como por exemplo, 0,5 a 1% de cultura, pois afirma ser a percentagem de sementeira dependente de vários fatores, como: o poder acidificante das culturas; o tempo de incubação desejado; a riqueza em células bacterianas; a fase de desenvolvimento na qual se encontra a cultura; a relação lactobacilos/estreptococos e o extrato seco do leite.

Gilliland *et al.* (2002) usaram 1% de inóculo para testar a viabilidade de culturas probióticas *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* em iogurtes. Teggatz & Morris (1990) também usaram 1% de inóculo quando estudaram as mudanças que ocorrem em iogurtes elaborados com culturas filantes, quando submetidos a taxa de deformação.

As empresas que comercializam culturas recomendam inoculações que variam de 0,1 a 0,5 %; dependendo do tipo de cultura e características desejadas no produto final.

A temperatura de incubação da cultura láctica deve estar na faixa de 40 a 45°C por um período variável entre 2,5 a 5 horas, que lhe proporcionará condições ótimas de crescimento (TAMIME & ROBINSON, 1991).

Inicialmente as culturas do iogurte convertem parte da lactose em ácido láctico, originando uma diminuição do pH até um ponto em que a caseína se torna insolúvel e o leite mais viscoso. As bactérias utilizadas originam também outros metabólitos, cujos tipos e concentrações dependem das espécies bacterianas (WALSTRA & JENNESS, 1987). A produção gradual de ácido láctico começa por desestabilizar os complexos de caseína - proteínas do soro desnaturadas, por solubilização do fosfato de cálcio e dos citratos. Os agregados de micelas de caseína e/ou micelas isoladas vão se associando e coalescem parcialmente à medida que se aproxima o valor de pH do ponto isoelétrico, ou seja, 4,6 a 4,7 (TAMIME & ROBINSON, 1991).

Como a elaboração do iogurte é um processo biológico, é necessário o uso da refrigeração para controlar a atividade metabólica dos microrganismos e suas enzimas. O resfriamento do coágulo começa imediatamente após alcançar a acidez ótima do produto, a um pH próximo de 4,6 ou uma concentração de ácido láctico de 0,9%. Segundo Kurmann (1977) o resfriamento do iogurte natural deve ser iniciado a partir de pH 4,7. O objetivo básico do resfriamento é diminuir a temperatura do coágulo de 30-45°C a menos de 10°C (para cessar a atividade dos microrganismos) tão rapidamente quanto seja possível, para controlar a acidez final do produto e para chegar à temperatura de estocagem e conservação prolongada (BRANDÃO, 1995; KURMANN, 1977; TAMIME & ROBINSON, 1991).

3.1.1.10 - Adição de polpas, aromas e corantes

Para a adição de polpa pode-se utilizar frutas frescas, porém o caráter sazonal de produção das mesmas e a variabilidade de sua qualidade limitam consideravelmente sua utilização pelas indústrias, sendo mais populares as conservas de frutas, especialmente pela possibilidade de padronizar a mistura de frutas com o objetivo de satisfazer as especificações desejadas pelos consumidores (TAMIME & DEETH, 1980; TAMIME & ROBINSON, 1991).

O sabor e aroma típicos do iogurte se devem principalmente à presença de acetaldeído e outros componentes. Os lactobacilos produzem aldeído acético, que confere aroma ao iogurte, algumas linhagens de estreptococos, têm capacidade de produzir diacetil. A formação de substâncias aromáticas pode ser desprezada para a fabricação de iogurte com frutas, porém é indispensável para a fabricação de iogurte sem frutas (KURMANN, 1977).

O tratamento térmico em preparados de frutas pode originar uma diminuição da intensidade do aroma, motivo pelo qual freqüentemente se adicionam agentes aromatizantes para compensar estas perdas. Os aromatizantes se dividem em função de sua origem em três grupos: naturais, idênticos aos naturais e sintéticos ou artificiais (TAMIME & ROBINSON, 1991).

O objetivo da adição de corantes aos iogurtes de frutas é de aumentar a atração do produto. As substâncias utilizadas podem ser corantes naturais ou sintéticos. A FAO/OMS tem estabelecido algumas orientações sobre os corantes e as concentrações que podem ser utilizadas no iogurte (TAMIME & ROBINSON, 1991).

3.1.1.11 - Envase

Esta é uma etapa muito importante do processo de elaboração do iogurte. Em geral, os materiais de embalagem que entram em contato direto com os alimentos devem ser atóxicos, resistentes a ácidos, devem evitar a perda de substâncias voláteis responsáveis pelo aroma do produto, impermeáveis ao oxigênio, quimicamente inertes e não reagir com o produto. Por esta razão os plásticos são amplamente utilizados pela indústria láctea e, devido à natureza ácida do produto, os materiais mais adequados são o polietileno (PE), polipropileno (PP), poliestireno (PS), cloreto de polivinilo (PVC) e cloreto de polivinilideno (PVDC). As tampas são lâminas de alumínio ou, ainda de materiais plásticos para sistemas de fácil abertura (TAMIME & ROBINSON, 1991).

3.1.1.12 - Armazenamento refrigerado, transporte e distribuição

A refrigeração do iogurte em temperaturas inferiores a 10°C e o seu armazenamento a esta temperatura até o momento de sua venda diminui as reações bioquímicas e biológicas, resultado das atividades metabólicas das culturas lácticas do iogurte e possivelmente de microrganismos contaminantes que resistem ao tratamento térmico. Para o transporte de iogurtes, é necessário recorrer a veículos com refrigeração. O iogurte deve ser exposto em câmaras frigoríficas até a sua venda, e ser consumido após sua aquisição ou ser conservado sob refrigeração até seu consumo. A temperatura ideal para que o iogurte seja ingerido é de 10°C, já que em temperaturas inferiores não se aprecia convenientemente o sabor e o aroma devido ao frio e em temperaturas superiores perde seu frescor e pode apresentar diminuição de viscosidade (TAMIME & ROBINSON, 1991).

Tamime & Deeth (1980) recomendam resfriar o iogurte em trocadores tubulares de calor para evitar perdas de textura. Eles afirmam ser a viscosidade do iogurte danificada por tratamentos mecânicos, tais como recirculação de produto e o uso de tubulações com reduções.

3.2 – Edulcorantes

De acordo com a definição da Portaria 540/97 da Secretária da Vigilância Sanitária, edulcorantes são substâncias diferentes dos açúcares que conferem sabor doce ao alimento (BRASIL, 1997).

As pesquisas mostram que a pessoa tem um desejo inato pelo sabor doce. Há muito tempo, o mel e as frutas têm sido procurados pelo seu sabor doce, no entanto, desde a primeira refinaria, a sacarose tem sido o padrão para adoçar e o único de uso geral até hoje.

Quando o açúcar é retirado de um alimento, novas substâncias devem ser colocadas em seu lugar para devolver o sabor doce ao produto e, entre outras funções, servir de agente de volume. Para dar o sabor doce são usados os edulcorantes (FIGUEIREDO JR., 1997; WOLF, 1979) e para servir como agentes de volume são usados os polióis e as gomas (ANDERSON, 1998).

Atualmente, nos Estados Unidos, adoçantes com baixa caloria tais como o aspartame, sacarina, acesulfame e a sucralose tornaram-se alternativas para a substituição da sacarose. Estes adoçantes contribuem com poucas ou nenhuma caloria na dieta (CALORIE CONTROL COUNCIL, 2002).

Apesar de um pouco atrasado em relação aos Estados Unidos e Europa, o Brasil entrou definitivamente na era dos alimentos produzidos com menores teores de açúcar e de gordura. Cada vez aumenta mais a

variedade de alimentos com a inscrição “diet” e “light”. Ao contrário do final dos anos 80, quando o brasileiro começou a comprar este tipo de produto, ingerir menos açúcar ou gordura deixou de ser uma necessidade de quem tem algum problema de saúde como, por exemplo, diabetes ou colesterol alto. Atualmente, quando o consumidor opta por estes alimentos procura, acima de tudo, um novo estilo de vida (FIGUEIREDO JR., 1997). Segundo um estudo feito pela Fundação Getúlio Vargas, o consumo de adoçantes teve uma taxa de crescimento de 609% entre o período de 1992 e 2000 (VEJA, 2001).

O desenvolvimento de adoçantes alternativos foi iniciado devido às suas vantagens na dieta, na saúde e na economia. Os adoçantes podem participar de formulações de alimentos e bebidas, com melhoria na qualidade adoçante e evitar problemas de instabilidade. Além disso, algumas propriedades sensoriais de alguns adoçantes sintéticos são conhecidas e tem seu uso limitado em bebidas de baixa caloria, no entanto, a combinação de diferentes adoçantes pode superar estas limitações. Quando dois adoçantes são misturados, a intensidade do dulçor da mistura pode ser igual (cumulativo), maior (sinergismo) ou menor (supressão) do que quando usa-se o adoçante intenso usado sozinho (HUTTEAU *et al.*, 1998).

Existem duas classes de adoçantes: os nutritivos e os não-calóricos. Os adoçantes nutritivos contêm calorias e fornecem energia, enquanto os não-calóricos (edulcorantes artificiais) não contêm calorias e

não fornecem energia. Os açúcares-alcoóis incluem o sorbitol, manitol e xilitol e são também conhecidos como edulcorantes de corpo. O nome refere-se a sua estrutura química. Os açúcares-alcoóis possuem em torno de 2 calorias/g, porém são absorvidas lentamente e incompletamente, o que requer pouca ou nenhuma insulina para seu metabolismo (RAEL, 2000).

A Resolução nº 4 do Conselho Nacional da Saúde/Vigilância Sanitária (VS) de 24/11/88 reviu o decreto 55.871 de 26/03/65 no que se refere ao uso de aditivos em alimentos. A Resolução apresenta como permitidos os seguintes edulcorantes:

- Artificiais: acesulfame K, aspartame, ciclamato e sacarina;
- Naturais: esteviosídeo, sorbitol e manitol;
- Autorizados em 1995: isomalte, maltitol e sucralose.

3.2.1 – Aspartame

A FDA (Food and Drug Administration – Administração de alimentos e medicamentos dos Estados Unidos) e aprovou o uso do aspartame em iogurtes em 1988 (KELLER *et al.*, 1991; VAN der VEN, 1988). O aspartame pode ser sintetizado a partir composto de 39,5% de ácido aspártico, 50% de fenilalanina e 10,5% de éster metílico por método químico, o que resulta em outros produtos com maior especificidade, por síntese enzimática. Possui perfil de doçura que mais se aproxima ao da

sacarose, apesar de se desenvolver mais lentamente e persistir por mais tempo (CÂNDIDO & CAMPOS, 1996; CULTOR FOOD SCIENCE, s.d. a; KELLER *et al.*, 1991; NUTRASWEET, 1996; VAN der VEN, 1988).

Os aminoácidos presentes no aspartame podem ser visualizados na Figura 1 e são idênticos aos encontrados em alimentos naturais como carnes, vegetais, produtos lácteos e grãos (MARUJO, 1989).

O aspartame não deixa qualquer sabor residual amargo, químico ou metálico. Sua doçura é de 133 e 200 vezes superior à da sacarose a 10 e 4%, respectivamente, em um copo de iogurte tem-se uma redução de 52% nas calorias do produto. Ele é geralmente, mais potente em baixas concentrações e em produtos à temperatura ambiente, acentuando o aroma e prolongando a percepção do sabor das frutas, principalmente das frutas ácidas (NUTRASWEET, 1996; NELSON, 2000). É pouco solúvel em água (cerca de 1% a 25°C), sendo que a solubilidade aumenta à medida que o pH diminui (2,2) ou que a temperatura aumenta (40°C e pH 4) e é insolúvel em óleo e gorduras (NELSON, 2000; NUTRASWEET, 1996). O Quadro 1 apresenta resumidamente as características técnicas do aspartame.

A estabilidade do aspartame é afetada pela umidade, pH (neutro ou alcalino) ou por temperaturas elevadas. A concentração não tem influência sobre a sua estabilidade. É estável em sistemas líquidos acidificados em pH entre 3 e 5. Sua estabilidade diminui em pH > 5 e com o aumento da temperatura (NELSON, 2000).

O aspartame pode ser conservado por longos períodos de tempo em estado seco, tanto puro como misturado com outros ingredientes (VAN der VEN, 1988).

O aspartame pode ser utilizado em vários produtos processados, nos quais os processos de ultra alta temperatura (UHT) ou de alta temperatura curto tempo (HTST) são necessários para sua fabricação.

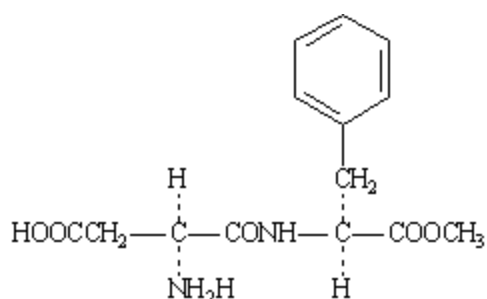


Figura 1 - Estrutura química do aspartame.

Quadro 1 – Características técnicas do aspartame

Componentes	Ácido aspártico, fenilalanina, éster metílico
Fórmula molecular	$C_{14}H_{18}N_2O_5$
Peso molecular	294,31
Descrição	Branco, inodoro, pó cristalino, com um forte gosto doce
Função	Adoçante
Solubilidade	Ligeiramente solúvel em água e etanol

3.2.2- Aspartame-acesulfame

O aspartame-acesulfame é constituído por 64% de aspartame e 36% de acesulfame, como pode ser observado na Figura 2, e está disponível como um pó branco cristalino, sem odor e possui sabor doce. Quimicamente, o íon potássio de acesulfame é substituído pelo aspartame e os dois juntos são fortemente ligados por uma ligação iônica. Seu poder de doçura é de aproximadamente 300 a 400 vezes mais que o da sacarose, dependendo da concentração usada. Uma vez dissolvido, se comporta como uma solução de aspartame e acesulfame K.

Este adoçante é especialmente apropriado para misturas em pó porque é não higroscópico, mistura-se facilmente com outros ingredientes, dissolve-se rápido e garante uma proporção fixa de aspartame e acesulfame, produzindo uma mistura significativamente mais homogênea e substancialmente mais resistente à separação (HOLLAND SWEETENER CO., 1999).

O acesulfame é obtido a partir de derivados do ácido acetoacético. Pode ser sintetizado por condensação do fluorosulfoni-isocianato com acetoacetato de terc-butila ou com propino (CÂNDIDO & CAMPOS, 1996). O Quadro 2 apresenta resumidamente as características técnicas do aspartame – acesulfame.

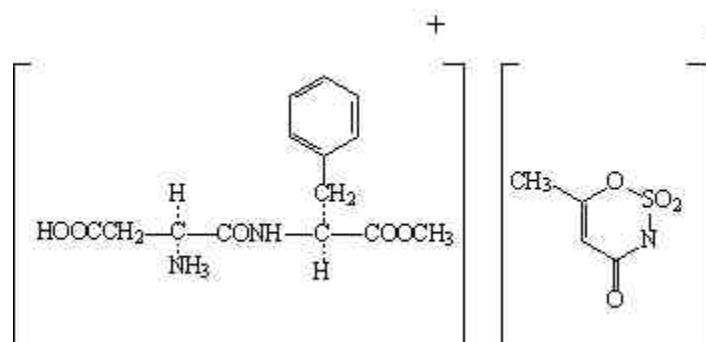


Figura 2 - Estrutura química do aspartame - acesulfame.

Quadro 2 – Características técnicas do aspartame –acesulfame.

Componentes	Aspartame-acesulfame
Fórmula molecular	$C_{18}H_{23}O_9N_3S$
Peso molecular	457,46
Descrição	Pó branco cristalino, inodoro.
Função	Agente adoçante, contribui para o aroma
Solubilidade	Ligeiramente solúvel em água e etanol

3.2.3 - Sacarina

A sacarina é um pó branco cristalino e é extremamente estável em estado seco. Ela é conhecida pelo seu sabor amargo e sabor residual metálico, o qual pode ser mascarado pela mistura com outros adoçantes, tais como ciclamato, aspartame, acesulfame-k ou sucralose (NELSON,

2000). A sacarina é solúvel em acetona, etanol e glicerol e é levemente solúvel em clorofórmio e éter dietil (NELSON, 2000).

Este adoçante apresenta uma série de características que o tornam muito próximos do adoçante ideal: possui alto poder edulcorante (200 vezes em relação à sacarose a 10%), alta estabilidade, alta solubilidade em água, não higroscópico, não cariogênico e poder calórico nulo. O perfil de doçura da sacarina é diferente ao da sacarose, pois produz um impacto edulcorante bastante lento, que vai crescendo gradativamente até atingir intensidade máxima e persistente. Os gostos amargos ou metálicos e adstringentes estão associados ao dulçor da sacarina e tendem a intensificar-se com o aumento da concentração. A associação com pequenas quantidades de aspartame tem apresentado bons resultados por melhorar o sabor e a estabilidade da mistura (sinergismo) (CÂNDIDO, 1999; CALORIE CONTROL COUNCIL, 2002).

Segundo Wolf (1979), níveis de sacarina equivalentes a 8% de açúcar produzem diminuição do sabor doce e aumento do sabor amargo. O sabor residual da sacarina é reduzido quando se utiliza a proporção de 1:10 de sacarina:ciclamato. Quando se deseja substituir mais que 50% da sacarose em refrigerantes é necessário a combinação da sacarina com ciclamato. Em derivados de leite, como no iogurte, a substituição é possível, porém alguns deles pode ser necessário adicionar um agente de corpo, como os alginatos, pectinas ou carragenas.

A sacarina é compatível com um grande número de gêneros alimentícios devido a sua ampla faixa de estabilidade em diferentes temperaturas e valores de pH. A sacarina é encontrada normalmente em pó ou em soluções (WOLF, 1979). Sua estrutura molecular esta apresentada na Figura 3.

Devido à estabilidade térmica (inalterável após 1h a 150°C) e em meio altamente ácido a alcalino (pH 2,0 a 8,0), a sacarina pode ser usada em produtos assados, temperos para saladas, geléias, bebidas carbonatadas, preparados para refrescos, enlatados e outros produtos. Em meios onde o pH é menor que 2,0 e em temperaturas extremamente altas pode ocorrer a decomposição hidrolítica da sacarina com formação de dois ácidos, sendo que nenhum destes compostos possuem sabor doce. A sacarina é estável em temperaturas normais de processamento de alimentos, porém quando aquecida a 380°C ou a exposição prolongada em condições extremas de temperatura e pH ocorre a decomposição com liberação de substâncias tóxicas como o óxido de nitrogênio e de enxofre (NELSON, 2000). É o edulcorante mais econômico considerando a relação custo/poder edulcorante (CÂNDIDO, 1999). O Quadro 3 apresenta resumidamente as características técnicas do sacarina.

A sacarina é um produto sintético que pode ser obtido a partir do tolueno (processo Remsen-Fahlberg) ou a partir do anidrido ftálico (processo Maumée) (CÂNDIDO & CAMPOS, 1996).

Por não ser metabolizada e passar pelo corpo sem ser alterada, a sacarina é um adoçante não calórico e é ideal para dietas de emagrecimento e para obesos (WOLF, 1979).

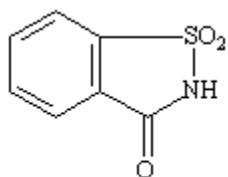


Figura 3- Estrutura química da sacarina.

Quadro 3 – Características técnicas da sacarina.

Fórmula química	C ₇ H ₅ NO ₃ S
Peso molecular	183,18
Descrição	Cristais brancos, pó cristalino, inodoro, aromático
Função	Adoçante
Solubilidade	Ligeiramente solúvel em água; solúvel em soluções básicas; ligeiramente solúvel em etanol
Acidez	Solução aquosa saturada é ácida

3.2.4 – Sucralose

A sucralose é um adoçante não calórico e possui alto poder adoçante (GRICE & GOLDSMITH, 2000). Ela é 600 vezes mais doce que a sacarose, sendo que sua doçura pode variar de 400 a 800 vezes em relação à da sacarose e duas vezes a da sacarina. Os valores de doçura relativa para a sucralose, dependem do pH, temperatura e concentração. Quando adicionada ao iogurte, seu poder adoçante é de 450 vezes. O perfil tempo-intensidade é de elevada qualidade e muito semelhante ao da sacarose e aspartame. A doçura é de percepção rápida, persistindo por um período ligeiramente maior do que a sacarose. Não possui residual amargo ou metálico. Possui alta solubilidade em água, alta estabilidade térmica, em meio aquoso e ácido e ao armazenamento. É quimicamente inerte, não é cariogênico e é um edulcorante não calórico podendo ser ingerido por diabéticos (CÂNDIDO, 1999).

Este adoçante é obtido por substituição seletiva de três grupos hidroxilas por três átomos de cloro, como pode ser visto na Figura 4, dos grupos hidroxílicos das posições 4, 1' e 6' da molécula de sacarose (CÂNDIDO & CAMPOS, 1996; GRICE & GOLDSMITH, 2000). O processo confere uma estabilidade extraordinária à ligação glicosídica em relação à hidrólise ácida, básica e enzimática (GRICE & GOLDSMITH, 2000). Segundo Wells (1989), entre todos os edulcorantes, a sucralose foi o único que não apresentou desvantagens. Um ponto positivo para sua

comercialização é o fato de ser obtido do açúcar comum (CÂNDIDO & CAMPOS, 1996).

A sucralose é um sólido cristalino branco solúvel em água tanto na forma cristalina como em solução. Na forma cristalina, a sucralose permanece estável por vários anos a 22°C, dependendo do tamanho da partícula, da embalagem e das condições ambientais. A sucralose também é estável em estado líquido concentrado, no qual são adicionados aditivos para diminuir a atividade de microrganismos. Contudo, a forma cristalina pode degradar um pouco mais rapidamente quando submetida à temperaturas elevadas por longos períodos de tempo (GRICE & GOLDSMITH, 2000; NELSON, 2000). A sucralose é solúvel em água, etanol e metanol na proporção de 28,2 g/100 mL a 20°C, não é solúvel em óleos e gorduras. A solubilidade aumenta com o aumento da temperatura, sendo solúvel em uma ampla faixa de pH, embora a sua solubilidade diminua ligeiramente com o aumento do pH (NELSON, 2000).

Devido às três substituições dos grupos hidroxilas pelos átomos de cloro na molécula de sacarose, a reatividade da sucralose é muito menor que a sacarose. Em condições ácidas, a sacarose é hidrolisada em glicose e frutose. Nas mesmas condições a sucralose é hidrolisada ligeiramente e com o aumento da temperatura aumenta a hidrólise, contudo a proporção de hidrólise é muito menor do que na sacarose. A sucralose não interage com as moléculas dos alimentos. Em pH 3 ou mais

baixo ocorre hidrólise em quantidades muito pequenas e em pH 4,0-7,5 a sucralose é perdida quando estocada a 30°C por um ano (NELSON, 2000). O Quadro 4 apresenta resumidamente as características técnicas do aspartame.

Por causa de sua excelente estabilidade, a sucralose é extremamente versátil em um número muito grande de alimentos como: bebidas carbonatadas e não carbonatadas, gomas de mascar, produtos de laticínios, compotas de frutas, sobremesas congeladas, molhos para saladas, entre outros (GRICE & GOLDSMITH, 2000).

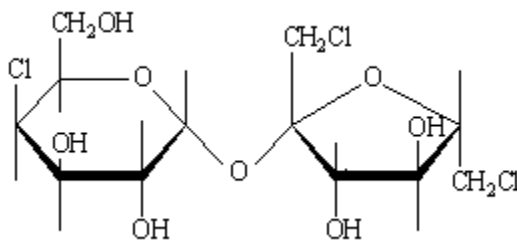


Figura 4 - Estrutura química da sucralose.

Quadro 4 – Características técnicas da sucralose.

Sinônimos	4,1',6'-triclorigalactosacarose;
Fórmula química	$C_{12}H_{19}Cl_3O_8$
Peso molecular	397,64
Descrição	Pó branco cristalino, praticamente inodoro
Função	Adoçante
Solubilidade	Facilmente solúvel em água, metanol e etanol.

3.2.5 - Polidextrose

A polidextrose dá corpo e volume às formulações dos alimentos e é produzida em altas temperaturas por polimerização da glucose, sob condições catalíticas. Pode substituir o açúcar, a gordura ou o amido, contribuindo com somente 1 kcal/g, desde que esteja parcialmente hidrolisada. Em quantidades de aproximadamente 90 g por dia, pode causar efeitos laxativos em humanos.

O Litesse®, uma marca comercial de polidextrose beneficiada, pode ser usado como substituto de gordura e de açúcar, sendo um agente de volume, transportador de sabor, redutor do ponto de congelamento, melhorando a textura e a viscosidade, é solúvel e de fácil aplicação, além de umectante. Repõe a quantidade de sólidos do açúcar

que são substituídos nos iogurtes, permitindo uma redução calórica de até 75% (ARTZ & HANSEN, 1994; CULTOR FOOD SCIENCE, s.d. b).

Para a produção de polidextrose são utilizados dextrose, sorbitol, ácido cítrico na proporção de 89 : 10 : 1. Estes últimos são provenientes do processo de produção no qual o ácido cítrico atua como catalisador e o sorbitol como agente plastificante (CÂNDIDO & CAMPOS, 1996). A Figura 5 mostra a estrutura química da polidextrose e o Quadro 5 apresenta resumidamente as características técnicas.

R = hidrogênio/ polidextrose/ glicose/ sorbitol/ ácido cítrico.

Figura 5 - Estrutura química da polidextrose.

Quadro 5 – Características técnicas da polidextrose.

Definição	É um polímero de condensação da glicose com alguns grupos de sorbitol, e com traços de ácido cítrico ou fosfórico presos ao polímero por ligações mono ou diester.
Descrição	É um sólido branco ou palha.
Função	Agente de corpo, umectante, estabilizante e com propriedade de se tornar espesso.
Solubilidade	Muito solúvel em água

3.3 – Probióticos

Segundo o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde da Resolução RDC nº 2, de janeiro de 2002, entende-se por probióticos os microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2002).

No início do século XX, o cientista russo Eli Metchnikoff, foi o primeiro a dar uma explicação científica aos efeitos benéficos das bactérias lácticas presentes no leite fermentado. Ele atribuiu a boa saúde e a longevidade dos povos bulgáricos ao consumo de grandes quantidades de leite fermentado. Em 1908 ele postulou sua teoria “longevidade sem envelhecimento”, na qual o princípio era que as

bactérias lácticas removiam as toxinas produzidas por bactérias normalmente presentes no intestino, resultando no prolongamento da vida (GILLILAND, 1989; HATTINGH & VILJOEN, 2001; WALKER & DUFFY, 1998; ZIEMER & GIBSON, 1998).

Estes microrganismos quando ingeridos vivos, aprimoram benéficamente a microflora intestinal e as funções fisiológicas do trato intestinal humano (NESTLÉ, s.d.).

Os probióticos podem ser adicionados aos alimentos ou estar presentes naturalmente. Tais propriedades probióticas estão ligadas não às espécies bacterianas propriamente ditas, mas, de modo mais específico, a certas linhagens dentro das espécies. Portanto, é necessário uma seleção cuidadosa da linhagem. Esta definição é aplicada para várias linhagens de lactobacilos ou bifidobactérias que estão presentes em produtos lácteos fermentados ou que são adicionadas ao leite em pó. A eficácia dos alimentos enriquecidos com probióticos depende da quantidade de bactérias vivas presentes no produto final (NESTLÉ, 1999).

Nos últimos anos tem havido um importante aumento na propaganda de leites fermentados contendo bactérias viáveis originárias da biota intestinal humana, como por exemplo, lactobacilos e bifidobactérias. Esses microrganismos são considerados probióticos se os mesmos forem habitantes normais do trato gastro intestinal, sobreviverem à passagem pelo estômago, mantiverem a viabilidade e atividade no

intestino. Os novos produtos têm sido desenvolvidos considerando-se aspectos desejáveis para a saúde, bem como boas características de sabor, aroma e textura. A partir desse ponto de vista, novas linhagens têm sido selecionadas usando outros critérios além daqueles utilizados para os leites fermentados tradicionais.

Os microrganismos utilizados com maior frequência como culturas lácticas, pertencem ao grupo conhecido genericamente como bactérias do ácido láctico (LAB). O crescente interesse sobre as propriedades terapêuticas dos leites fermentados tem levado a inclusão de bactérias intestinais como a *Bifidobacterium* como microrganismos fermentadores (VARNAM & SUTHERLAND, 1994).

Para que um produto denomine-se “iogurte” deve ser fermentado pelas bactérias *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, sendo estas bactérias termodúricas e homofermentativas (TAMIME & DEETH, 1980). No entanto, estas bactérias não são resistentes e não sobrevivem a passagem pelo trato gastro-intestinal, porém, para o iogurte ser considerado um produto probiótico as seguintes espécies são freqüentemente utilizadas *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis* e *Bifidobacterium adolescentis*, contendo um número de células viáveis no produto $> 10^6$ por mL, até ser consumido (KOT & BEZKOROVAINY, 2000; SABOYA, OETTERER & OLIVEIRA, 1997; SHAH, 2001; SILVA & STAMFORD, 2000; VINDEROLA, BAILO &

REINHEIMER, 2000). Estes microrganismos possuem habilidade para se estabelecerem na biota do intestino e aprimorar benéficamente a biota intestinal e as funções fisiológicas do trato intestinal humano (KAILASAPATHY & RYBKA, 1997; SABOYA, OETTERER & OLIVEIRA, 1997; SHAH, 2001; SILVA & STAMFORD, 2000).

O produto obtido pode ser utilizado como terapia antibiótica ou com outros fins médicos específicos. A incorporação de *L. acidophilus* e *B. bifidum* à cultura do iogurte pode resultar em um produto lácteo com extraordinário valor terapêutico (TAMIME & ROBINSON, 1991; RYBKA & KALASAPATHY, 1996).

As características probióticas desejáveis para uma linhagem bacteriana específica incluem a capacidade de sobreviver e colonizar o trato intestinal, a manutenção de um equilíbrio intestinal saudável através da competição com os patógenos e a estimulação das defesas imunológicas. Muitos destes probióticos são bactérias produtoras de ácido láctico e são úteis no tratamento de distúrbios da biota intestinal (LEE *et al.*, 1999).

Os *Bifidobacterium bifidum* são bactérias heterofermentativas cujos produtos da fermentação são os ácidos láctico, acético e fórmico. Desenvolvem-se bem em temperatura entre 37 e 41°C. No cólon, as bifidobactérias vivem sem oxigênio e se alimentam principalmente de lactose, que elas mesmas decompõem e fermentam, facilitando assim, a digestão do leite. Esta fermentação também cria acidez e vários

metabólitos que inibem o crescimento de bactérias patogênicas, o que explica a melhor resistência a infecções gastrointestinais (LEE *et al.*, 1999). De acordo com Silva & Stamford, (2000) a acidez desenvolvida inibe bactérias como *Salmonella*, *Clostridium*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Campylobacter jejuni*.

Os *Lactobacillus acidophilus* são bactérias Gram positivas, catalase negativas, anaeróbias a microaerófilas, homofermentativas e possuem formato de bastonete. Elas são residentes naturais do intestino humano e de animais. Os ácidos lácticos D e L são formados por glicólise homoenzimática. O acetaldeído é formado em quantidades traços. Os *Lactobacillus acidophilus* são fracos formadores de ácidos, e por esta razão, são especialmente usados em iogurtes suaves. Eles crescem em temperaturas entre 20 e 48°C, sendo a temperatura ótima de crescimento 37°C. A maioria dos lactobacilos são termodúricos, sobrevivendo à pasteurização e a outros processos térmicos (FRANCO, LANDGRAF & DESTRO, 1996). Os lactobacilos contribuem com o sabor e aroma em alimentos fermentados, produzindo vários compostos voláteis, como o diacetil e seus derivados (SILVA & STAMFORD, 2000).

Não sendo toxicogênicos, e por serem habitantes naturais do trato intestinal humano, os lactobacilos e bifidobactérias anaeróbios podem ser a parte dominante da biota fecal com 1×10^{10} UFC/g (FERREIRA, 1999; SABOYA, OETTERER & OLIVEIRA, 1997). Em razão disso, podem ser microrganismos de escolha para ajudar na recomposição e manutenção

do ecossistema intestinal, principalmente em casos em que o indivíduo necessite de se submeter a antibioticoterapia ou quimioterapia (FERREIRA, 1999). Este efeito deve ser atribuído em primeiro lugar, aos produtos do metabolismo destas bactérias tais como ácido láctico L (+), ácido acético e ácido fórmico e substâncias antibióticas como lactocidina e bacteriocidina (KAILASAPATHY & RYBKA, 1997). Além disso, os microrganismos probióticos produzem ainda outras substâncias tais como ácido cítrico, hipúrico, peróxido de hidrogênio e diacetil. Todas essas substâncias criam um ambiente hostil para microrganismos patogênicos e deterioradores de alimentos (SHAH, 2001).

Os organismos probióticos não crescem abaixo de 20°C e como função geral, não são termo - resistentes acima de 46°C. Há também um pH ótimo de crescimento entre 6,5 e 7,0, sendo que não há crescimento em pH menor que 5 e nem em pH maior que 8 (SABOYA, OETTERER & OLIVEIRA, 1997).

As bactérias probióticas são isoladas de fezes de humanos, como é o caso da *Bifidobacterium*. Os recém-nascidos alimentados exclusivamente com leite materno têm sua biota intestinal basicamente composta por *Bifidobacterium*. É nesta fase que os humanos possuem o maior número destas bactérias no intestino, que ao longo dos anos vai diminuindo (FERREIRA, 1998; MATSUBARA, 2001).

Segundo HATTINGH & VILJOEN (2001) e KALASAPATHY & RYBKA (1997), 400 a 500g/semana de iogurte probiótico contendo mais

que 10^6 UFC/mL devem ser consumidos regularmente para transferir ao consumidor o efeito probiótico.

Os estudos sobre produtos lácteos têm mostrado que o consumo de produtos contendo *L. acidophilus* e *B. bifidum* têm a potencialidade de melhorar a absorção de nutrientes, prevenir ou controlar infecções intestinais, melhorar a digestão da lactose em pessoas classificadas como lactose-intolerantes, metabolizar alguns tipos de drogas, reduzir o nível de colesterol e reduzir o risco de câncer de cólon.

A ingestão de lactobacilos melhora os movimentos peristálticos do intestino, estimula o sistema imunológico e reduz a incidência de tumores, além de estabilizar a composição da biota intestinal. Estes microrganismos agem bloqueando os receptores dos patógenos, inativando os efeitos das enterotoxinas e formando uma mistura de microrganismos resistentes a patógenos, especialmente contra *Escherichia coli* (GILLILAND, 1989; KOT & BEZKOROVAINY, 2000; LEE *et al.*, 1999; WALKER & DUFFY, 1998; ZIEMER & GIBSON, 1998; ZUBILLAGA *et al.*, 2001).

3.3.1 – Enumeração de probióticos no iogurte

A análise microbiológica é utilizada para se estudar o modo de crescimento e reprodução das espécies fermentadoras do iogurte. Para a enumeração é fundamental ajustar as condições físicas, químicas e nutritivas necessárias a cada espécie.

O método de contagem em placa é a técnica mais utilizada na determinação do tamanho de uma população bacteriana e considera, na sua aplicação três princípios : cada colônia é originada do crescimento e da multiplicação de uma bactéria; o inóculo original é sempre homogêneo; e não existe agregação das células. Na realização do método de contagem em placa é essencial que somente um número limitado de colônias cresça em cada placa. Quando muitas colônias estão presentes ocorrerá uma saturação impedindo o crescimento de algumas colônias. Este fato conduzirá a uma contagem errônea do número de células. Normalmente são analisadas entre 25 e 250 colônias. Quando esta metodologia é empregada deve-se utilizar o método de diluição seriada para garantir o número de colônias na placa permaneça na faixa desejada (TORTORA *et al.*, 2000).

O método mais utilizado para se realizar a inoculação de bactérias em placas é o de superfície. Neste método, o inóculo de 0,1mL é adicionado à superfície do meio contendo ágar já solidificado. O inóculo é, então, espalhado uniformemente na superfície do meio através da

utilização da alça de Drigalski. Para o crescimento e a manutenção de culturas anaeróbicas podem ser utilizadas jarras especiais que comportam várias placas de Petri em uma atmosfera livre de oxigênio. A remoção do oxigênio ocorre através do uso de uma embalagem contendo reagentes químicos (bicarbonato de sódio e boroidreto de sódio) que é umedecida e colocada na jarra, em seguida a jarra é selada. Por meio da reação dos produtos químicos com a água ocorre a liberação de hidrogênio e dióxido de carbono. Um catalisador de paládio presente na jarra combina o oxigênio com o hidrogênio liberado formando água. O resultado desta reação química resulta na eliminação rápida do oxigênio. O dióxido de carbono produzido pode auxiliar no crescimento de algumas bactérias anaeróbicas (TORTORA *et al.*, 2000).

Os meios seletivos são elaborados com o objetivo de favorecer o crescimento da bactéria de interesse impedindo o crescimento das outras bactérias. São poucos os meios que permitem uma boa enumeração do *L. bulgaricus* e *S. thermophilus*. Os mais utilizados são o De Man Rogosa Sharp (MRS) ágar e o Reinforced Clostridial Prussian Blue pH 5 para a enumeração do *L. bulgaricus*, enquanto o M17 é usado para a enumeração do *S. thermophilus* (CHARTERIS *et al.* 1996),.

Outros meios de cultura são usados para a contagem de probióticos. Rybka & Kalaisapathy (1996) fizeram a enumeração das bactérias *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* sp usando os meios RCPB pH5 ágar, uma

nova versão do RCPB (Reinforced Clostridial Prussian Blue) ágar. Este meio foi seletivo somente para a *Bifidobacterium* e *Lactobacillus bugaricus* inibindo o crescimento da flora não láctica devido ao pH baixo. RCPBpH5 ágar selecionou apenas o *Lactobacillus bugaricus* à partir do cultura tradicional e a *Bifidobacterium* à partir da cultura ABT (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* e *S.thermophilus*). A *Bifidobacterium infantis*, *B. breve* e *B. bifidum* produziram colônias brancas no RCPB (Reinforced Clostridial Prussian Blue) ágar pH5 ágar, enquanto que a *B. longum* produziu colônias azuis. A *Bifidobacterium infantis*, *B. breve* e *B. bifidum* cresceram no MRS ágar maltose. A diferença no tamanho das colônias de *L. acidophilus* e *B. bifidum* permitiu a diferenciação das duas espécies no MRS maltose.

Barreto *et al.* (2001) fizeram a contagem do *Lactobacillus bugaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. lactis* e *Bifidobacterium* usando outros meios como: MRS ágar, HHD ágar (meio diferencial Homofermentativo – Heterofermentativo), e LA ágar, MRS maltose, MRS sorbitol e Bifidobacterium Medium 25 (BIM 25), utilizando culturas puras e mistas. Os resultados da contagem de culturas puras de lactobacilos nos diversos meios mostraram-se equivalentes, entretanto, para a contagem total de cultura mista, o HHD foi o que apresentou melhor resultado na capacidade de recuperação de cepas. A detecção de *Bifidobacterium* foi melhor no meio BIM – 25 por ser seletivo, nos demais meios não houve crescimento significativo.

Oliveira & Damin (2002) utilizaram o meio MRS acidificado valor de pH 5,4 para a contagem de bactérias do iogurte e das probióticas em leite fermentado (*Lactobacillus bugarius*, *acidophilus* e *ramnosus*) e incubação anaeróbica a 37°C por 72 h. Após 1 dia de armazenamento obteve-se, $6,5 \times 10^7$, $1,4 \times 10^9$ e $1,8 \times 10^9$ UFC/mL de *L. bugarius*, *acidophilus* e *ramnosus*, respectivamente. Após 7 dias de armazenamento foi observado que o número de bactérias probióticas manteve-se estável, enquanto que *Lactobacillus bugarius* apresentou um ligeiro aumento. Para a contagem de *S. thermophilus* foi utilizado o M17 ágar, incubação aeróbica a 37°C durante 72 h. O número de *S. thermophilus* foi de $3,7 \times 10^9$ a $6,2 \times 10^9$ UFC/mL após 1 e 7 dias de armazenamento, respectivamente.

Segundo Charteris *et al.* (1996), Roy (2001), os meios recomendados para contagem de *L. acidophilus* são: MRS – maltose, EC, MRS – trehalose, TPPY, MRS – bile, X – GLU. Em geral, estes meios devem ser incubados em aerobiose para prevenir o crescimento do *Bifidobacterium*. A recomendação para *Bifidobacterium* segundo os mesmos autores são: RCPB (Reinforced Clostridial Prussian Blue) ágar, M 17, MRS dicloxacilina, NPNL (sulfato de neomicina, sulfato de paromicina, ácido nalidixico e cloreto de lítio), NPNL modificado, TPY (extrato de levedura triptona phytona), TPY + dicloxacilina, e outros. Estes meios são caracterizados pela presença de substâncias que diminuem o potencial redox (como cisteína, cistina, ácido ascórbico ou sulfato de

sódio), uma fonte de carbono simples, antibióticos e/ou um agente seletivo para inibir o crescimento de outras bactérias do láticas. Estes meios são freqüentemente fortificados com sangue de animais. A incubação geralmente é em condições anaeróbicas a 37-41° por ≥ 48 h.

3.4 – Reologia

Na ciência dos alimentos, a reologia é usada para o estudo da estrutura dos alimentos como resposta à aplicação de força ou deformação (SHOEMAKER *et al.*, 1992).

As propriedades reológicas de alimentos tais como produtos de leites fermentados, são importantes para determinar o desenvolvimento do fluxo, o controle de qualidade, a estocagem, o processamento e para prever o tipo de textura do alimento testado (SHAKER, JUMAH & JDAYIL, 2000).

Estas propriedades são essenciais para o desenvolvimento de operações de manuseio dos materiais, do processamento e de equipamentos usados nos laticínios, como também na classificação de certas propriedades como dureza, suavidade, viscosidade, espalhabilidade e textura, pois estas determinam a consistência do produto e influenciam na aceitabilidade pelos consumidores. (AWADHWAL & SINGH, 1985; CAMPOS, 1989; MARCOTTE, HOSHAHILI & RAMASWAMY, 2001).

Para o consumidor, as características reológicas são percebidas principalmente pelos órgãos do tato e, em pequena extensão, pelo da visão. Relacionam-se ao fluxo e deformação da matéria e suas interrelações com o fator tempo (CAMPOS, 1989).

Como qualquer outro alimento, as propriedades reológicas de derivados do leite também são determinadas pela sua composição e estrutura. Muitas mudanças que ocorrem nas propriedades dos derivados do leite em diferentes condições ambientais devem ainda ser explicadas. Certos derivados do leite, quando submetidos à deformação, exibem um amolecimento, aparentemente devido à quebra de sua estrutura. Contudo a sua estrutura pode se refazer com o tempo e exibir um comportamento tixotrópico, característico de muitos produtos (AWADHWAL & SINGH, 1985).

A manutenção da estabilidade do produto ou de sua estrutura durante a estocagem também está relacionada com a reologia (SHOEMAKER *et al.*, 1992).

Segundo Benezech & Maingonnat (1994), diferentes fatores tecnológicos influem nas propriedades reológicas de iogurtes: a preparação e tratamento térmico do leite, a incubação, o processo usado no resfriamento, durante o bombeamento e transporte e nas operações de acondicionamento.

3.4.1 - Classificação do comportamento reológico dos fluidos

A viscosidade é definida como a resistência ao escoamento ou atrito interno, sendo um fator preponderante na distinção de diferentes sistemas fluidos e importantes na aceitação sensorial de muitos alimentos. É uma propriedade básica que caracteriza o comportamento de escoamento (CARVALHO, 1990).

Do ponto de vista reológico, os alimentos fluidos podem ter seu comportamento viscoso dividido em dois grandes grupos:

a) Newtonianos: aqueles que obedecem à lei de Newton, onde a tensão de cisalhamento é diretamente proporcional ao gradiente de velocidade e a viscosidade é constante, para dadas condições de temperatura e pressão. A viscosidade dos alimentos newtonianos é influenciada somente pela temperatura e composição (PENNA, 1997; VITALI, 1983). São fluidos newtonianos a água, solventes, óleos minerais e fluidos de silicone.

b) Não Newtonianos: aqueles que exibem desvio da lei de Newton, ou seja, a tensão de cisalhamento não é, em dadas condições, proporcional ao gradiente de velocidade (PENNA, 1997).

Nestes fluidos, o termo viscosidade perde seu sentido, a menos que seja especificada a tensão de cisalhamento ou o gradiente de velocidade. Por isso, costuma-se utilizar o termo viscosidade aparente (RAO & RIZVI, 1986).

Nos sistemas não newtonianos, há duas classes de fluidos: os independentes e os dependentes do tempo de aplicação da tensão de cisalhamento e fluidos que apresentam recuperação elástica (CAMPOS, 1989).

Os fluidos cuja viscosidade não varia com o tempo são os plásticos de Bingham, os pseudoplásticos e os dilatantes (CAMPOS, 1989).

Os fluidos dependentes do tempo (tixotrópicos e reopéticos) apresentam uma viscosidade aparente, para um gradiente de velocidade constante, que varia tanto com a tensão de cisalhamento como com a duração de sua aplicação (PENNA, 1997).

Alguns alimentos apresentam propriedades viscosas e elásticas conjugadamente (CAMPOS, 1989). Os alimentos que não são sólidos ou líquidos, porém possuem as duas propriedades podem ser considerados viscoelásticos (SHOEMAKER *et al.*, 1992). Quando a tensão de cisalhamento cessa, ocorre uma certa recuperação da deformação. Tal comportamento é descrito por alimentos como: sorvete de massa e creme de leite, iogurte e ainda farinhas de trigo, gelatinas e queijos (VITALI, 1983).

Muitos fatores podem afetar as propriedades de fluxo do alimento, tais como efeitos químicos (composição do alimento), efeitos físico-químicos e físicos (temperatura).

3.5 – Análise sensorial

Um bom programa de controle deve possuir todos os tipos de análise, inclusive análise sensorial.

A análise sensorial é uma medida multidimensional com 3 vantagens importantes:

- identifica a presença ou ausência de diferenças perceptíveis;
- identifica e quantifica as características sensoriais importantes, de forma rápida;
- identifica problemas particulares que não poderiam ser detectados por outros procedimentos analíticos.

A análise sensorial deve fazer parte de um sistema de monitoração que estabelece o que, como, quanto, quando e onde verificar o processo para mantê-lo sob controle. Estas análises podem ser usadas para detectar odor ou sabor desagradáveis, cor fora do padrão, textura ou consistência anormais (MORI, 1993).

As especificações relativas ao gosto, textura, aroma e aparência devem ser bem compreendidas e interpretadas por todos os responsáveis, utilizando a mesma linguagem.

Os inspetores conhecem o produto e comparam-no com a amostra de referência por meio de um teste de diferença. Quando são detectadas diferenças, avalia-se o grau de diferença e sua caracterização. Os desvios

observados podem ser classificados de acordo com o tipo ou com o risco que apresentam (MORAES, 1983):

- defeitos leves - variação do nível de doçura
- defeitos críticos - crocância de produtos assados, fritos ou secos
- defeitos graves - rancidez em um produto gorduroso

Para cada avaliação deve ser determinado o critério de rejeição do produto.

A avaliação da qualidade do iogurte pode ser feita através de algumas análises de laboratório, tais como: acidez titulável, valor de pH, análise de composição, vida de prateleira e avaliações sensoriais, tais como sabor, aparência, consistência e textura (KROGER, 1976). O iogurte deve apresentar quatro atributos importantes, caracterizados da seguinte forma:

3.5.1 – Corpo

O corpo do iogurte firme e do batido deve ser suficientemente viscoso, firme e coeso, para que o produto possa ser removido de seu recipiente e consumido com colher. Além disso, ele deve ter suficiente elasticidade para resistir ao manuseio normal durante operações de pós incubação, e pelos consumidores em casa, sem excessiva separação de soro ou fragmentos (ROSSI, 1983; O'NEIL, KLEYN & HARE, 1979). A contração do coágulo e separação de soro durante o envase são também

considerados defeitos de corpo. A separação de soro não é apenas prejuízo para a aparência visual, mas também revela problemas de corpo e textura (NIELSEN, 1975). Várias são as formas pelas quais se pode evitar a separação do soro no iogurte: homogeneização da gordura ou aumento do conteúdo de proteínas para cerca de 3,5 %; diminuição do conteúdo de minerais; tratamento térmico; abaixamento da temperatura de incubação; resfriamento lento do coágulo; agitação ou vibração; uso de culturas produtoras de substâncias viscosas; uso de estabilizantes e cuidados na manipulação e no transporte (KROGER, 1976).

3.5.2 - Textura

A textura deve ser suave, livre de grumos ou grânulos, bem como apresentar-se sem fissuras. O iogurte pronto tende a tornar-se granuloso quando o coágulo torna-se excessivamente firme antes da agitação. Algumas vezes a granulação é também causada pelo baixo desenvolvimento de ácido como resultado da baixa temperatura de incubação ou controle inadequado da temperatura, ou ainda, pelo uso de cultura láctica inativa, causada pela presença de fagos ou inibidores (ROSSI, 1983; O'NEIL, KLEYN & HARE, 1979). A textura grosseira, áspera pode aparecer se a mistura é perturbada momentos antes da geleificação ocorrer, perto do ponto isoelétrico (NIELSEN, 1976). A homogeneização da mistura contribui para maciez e boa qualidade do

iogurte. O conteúdo de gordura do leite na mistura ajuda a dar a sensação de maciez e cremosidade (VEDAMUTHU, 1991 a). Culturas produtoras de exopolissacarídeos produzem uma textura macia e sedosa. Elas são especialmente usadas para dar uma textura similar a do “milk shake” em iogurtes líquidos. Fissuras e efervescências são causadas por gases, como gás carbônico ou hidrogênio, produzidos inadequadamente pelas culturas ou biota contaminante. Bactérias do grupo coliforme, espécies formadoras de esporos como os *Bacillus* e leveduras produzem os gases acima mencionados.

3.5.3 – Sabor e aroma

O iogurte deve ter um nítido sabor ácido. O maior componente volátil deve ser o acetaldeído. O sabor e aroma do iogurte dependem inteiramente dos organismos da cultura e de seu metabolismo durante a fermentação. Sabores e odores estranhos são geralmente causados por subprodutos da fermentação inadequada (ROSSI, 1983; O'NEIL, KLEYN & HARE, 1979). O sabor e o aroma devem-se ao ácido láctico e quantidades muito pequenas de acetaldeído, diacetil e ácido acético. A concentração de acetaldeído no iogurte varia de 10 a 50 ppm (SOUZA, 1996). Os componentes originais do leite e suas concentrações também têm o seu papel, especialmente a gordura e os sólidos não gordurosos (KROGER, 1976). O iogurte é, antes de tudo, um produto da fermentação

simbiótica das bactérias da cultura láctea, então é necessário selecionar os cocos e bacilos em proporções adequadas. O sabor e aroma final do iogurte dependem também do tipo e da qualidade dos ingredientes usados na mistura do iogurte, do tempo e da temperatura de fermentação. Leite fresco, creme e leite em pó desnatado para a fortificação produzem um iogurte com sabor fresco e limpo (VEDAMUTHU, 1991 b).

3.5.4 – Tempo ou vida de prateleira

A vida de prateleira do iogurte deve ser em torno de trinta dias, período no qual o produto deve manter suas características próprias, desde que adequadamente refrigerado. A manutenção da qualidade é um importante atributo no mercado de produtos alimentícios que depende das condições microbiológicas e está relacionada com a sanitização da indústria. Se as boas práticas de fabricação são seguidas, o produto irá ter razoável vida de prateleira (VEDAMUTHU, 1991 c).

Os microrganismos ativos na deterioração do iogurte são diferentes da maioria dos outros produtos lácteos. O iogurte é um produto relativamente estável por causa de sua acidez. O alto conteúdo de ácido láctico inibe a maioria dos microrganismos psicotróficos Gram-negativos. O valor de pH da maioria das amostras do mercado varia de abaixo de 3,6 a acima de 4,2. A acidez titulável geralmente varia entre 1,1 a 1,3 %. Os microrganismos que estão geralmente envolvidos na deterioração de

alimentos ácidos são leveduras e bolores. As leveduras são mais tolerantes ao ácido do que bactérias, e bolores são sempre mais tolerantes ao ácido que leveduras. Os bolores podem usar o ácido como fonte de carbono e energia no seu metabolismo. Além de serem tolerantes ao ácido, bolores e leveduras são também psicrotróficos. Ainda, seu crescimento relativamente rápido e metabolismo durante a estocagem refrigerada do iogurte afetam a manutenção da qualidade. Então, medidas preventivas e de controle precisam ser tomadas para prevenir problemas relativos a bolores e leveduras (VEDAMUTHU, 1991 c).

4 - MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – Matéria – prima

A matéria – prima utilizada para a produção dos iogurtes dos dois processamentos foi:

- leite desnatado em pó

4.2 – Culturas lácticas

As culturas utilizadas na elaboração dos iogurtes do processamento A e B estão relacionadas a seguir:

- cultura láctica mista ABY – 1, contendo *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e bifidobactérias, produzida pela Christian Hansen (Processamento A);
- cultura láctica mista MYBio, contendo *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e bifidobactérias, produzida pela Rodhia (Processamento B);

4.3 – Edulcorantes

Os edulcorantes usados em ambos os processamentos estão relacionados a seguir:

- aspartame;
- sacarina;
- sucralose.

4.4 – Agente de corpo

- polidextrose

4.5 – Açúcar referência

- a sacarose foi utilizada como referência para comparar com os iogurtes elaborados com edulcorantes.

4.6 – Métodos

4.6.1 - Iogurtes comerciais

Foram coletadas 6 amostras aleatórias em diversos supermercados. Os produtos foram submetidos a avaliação físico-química, microbiológicas e reológica, com o objetivo de obter a caracterização dos produtos comerciais.

4.6.2 - Reconstituição do leite em pó

Leite em pó desnatado foi reconstituído em água a 40°C sob agitação, aproximadamente 14% de sólidos totais.

4.6.3 - Caracterização do leite reconstituído

Para a caracterização do leite desnatado reconstituído foram determinadas em triplicatas os teores de acidez, gordura e sólidos totais, e verificado a presença de antibióticos. Os métodos usados para a avaliação do leite foram:

- Acidez: a acidez foi quantificada por titulação ácido - alcalimétrica usando-se solução de NaOH 1/9 N e fenolftaleína como indicador (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1976).
- Gordura: o teor de gordura foi determinado utilizando-se o método de Gerber (CASE, BRADLEY JR. & WILLIAMS, 1985).
- Sólidos totais: os sólidos totais foram determinados a partir da secagem da amostra em estufa a vácuo por 24h a 70°C (CASE, BRADLEY JR. & WILLIAMS, 1985).
- Presença de antibióticos: a verificação da presença de antibióticos do grupo beta lactâmicos foi feita pelo teste Snap™ Beta Lactâmicos (TRONCO, 1997).

4.6.4- Preparação da cultura láctica

As culturas lácticas mistas ABY-1 (processamento A) e MY-BIO (processamento B) contendo *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e bifidobactérias, liofilizadas e congeladas foram dissolvidas em 1000 mL de leite reconstituído esterilizado (14% de sólidos totais) e em seguida distribuídas em tubos de ensaio estéreis e mantidas em congelador à temperatura de -18°C . Na ocasião do uso das culturas, as mesmas foram descongeladas e inoculadas diretamente ao leite para a fabricação do iogurte.

4.6.5 - Técnicas de preparo do iogurte

Neste trabalho, o efeito do teor de açúcar ou dos edulcorantes (aspartame, aspartame + sacarina ou sucralose) foi estudado sobre as características físico-químicas, microbiológicas, reológicas e sensoriais dos iogurtes fabricados com as culturas lácticas probióticas em dois processamentos, A e B. Cada processamento foi composto de 13 tratamentos.

A diferença entre os processamentos A e B se limitou ao tipo e concentração da cultura láctica utilizada.

Para os tratamentos, o leite reconstituído foi aquecido a 60°C e dividido em iguais porções. Uma das porções não foi fortificada e as remanescentes foram acrescidas de açúcar ou edulcorantes e 2% polidextrose, em quantidades correspondentes a 4, 5 e 6% de sacarose, conforme o tratamento. A seguir essa mistura foi aquecida à 85°C e mantida por 20 minutos em banho termostatizado para ocorrer a destruição de microrganismos indesejáveis e a desnaturação das proteínas do soro. Passado este tempo, a mistura foi resfriada em banho de água e gelo até atingir 42°C, para receber a cultura láctica em condições assépticas, na quantidade de 2% para o processamento A e 0,5% para processamento B conforme recomendação dos fabricantes. Foi feita uma agitação lenta e a transferência de uma pequena quantidade para um bequer para controle da fermentação. O produto foi incubado em estufa a 42°C iogurte foi calculado a partir do início da inoculação, até obter-se valor de pH próximo a 4,5 para o processamento A e 4,8 para o processamento B. Terminada a fermentação, foi feito um resfriamento inicial até aproximadamente 20°C, e a quebra do coágulo agitando-se manualmente durante 1 minuto para o processamento A e 2 minutos para o processamento B. Em seguida, foi feito o resfriamento final em banho de água e gelo. O iogurte foi embalado em copos plásticos transparentes com tampas termosoldáveis e armazenado em refrigerador à temperatura de 5°C, aproximadamente.

A Tabela 1 mostra as variáveis independentes (tipos de edulcorantes) e os níveis das variações que foram usados no planejamento experimental composto de treze tratamentos.

Tabela 1 – Planejamento dos experimentos contendo as variáveis e os níveis que foram estudados.

Tratamentos	Controle (sem açúcar)	Referência (com açúcar)	Aspartame	Aspartame + sacarina	Sucralose
1	Sem adição				
2		4%			
3			0,02%		
4				0,02%	
5					0,009%
6		5%			
7			0,025%		
8				0,025%	
9					0,011%
10		6%			
11			0,03%		
12				0,03%	
13					0,013%

Foram considerados valores de doçura superiores ao da sacarose:

Aspartame - duzentas vezes mais doce que a sacarose;

Aspartame + sacarina - idem ao anterior;

Sucralose – quatrocentos e cinquenta vezes.

4.6.6 - Caracterização físico-química dos iogurtes

Para a caracterização dos iogurtes comerciais e experimentais foram realizadas, em triplicata, as determinações de sólidos totais, gordura, pH, acidez e proteína, de acordo com as seguinte metodologias:

- Sólidos totais: as amostras foram submetidas à secagem em estufa a vácuo por 24h a 70°C, conforme recomendado pela American Public Health Association (CASE, BRADLEY JR. & WILLIAMS, 1985);
- Gordura: o teor de gordura foi determinado, pelo método de Gerber, conforme o recomendado pela American Public Health Association (CASE, BRADLEY JR. & WILLIAMS, 1985);
- Valor de pH: as determinações dos valores de pH foram realizadas em um potenciômetro digital marca Analion.
- Acidez: a acidez foi quantificada por titulação ácido - alcalimétrica usando-se solução de NaOH 1/9 N e fenolftaleína como indicador (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1976) no dia da produção do iogurte.
- Proteína: o teor de proteínas foi determinado em triplicata, pelo método Micro Kjeldahl (AOAC, 1995) após uma semana de fabricação.

4.6.7 – Contagem de probióticos

As contagens de probióticos dos iogurte foram realizadas após três dias de fabricação. Foram feitas as diluições decimais seriadas, onde 10 mL de amostra foi transferida de forma asséptica para um Erlenmeyer estéril contendo 90 mL de água destilada estéril. Essa solução foi então homogeneizada e em seguida foram feitas as diluições subseqüentes.

4.6.7.1 – Contagem de *Lactobacillus acidophilus*

Para a enumeração de *Lactobacillus acidophilus* foi utilizado o meio De Man, Rogosa Sharp (MRS) formulado em laboratório, adicionado da solução de maltose, conforme descrito por CHR. HANSEN (1999). Após a inoculação por superfície, as placas foram incubadas invertidas, em jarras contendo gerador de anaerobiose Anaerobac (Probac), a 37°C por 72 horas. A morfologia das colônias está representada na Figura 6.



Figura 6 – Morfologia das colônias de *Lactobacillus acidophilus* apresentadas no meio de cultura MRS – maltose, após 72 horas de incubação.

4.6.7.2 – Contagem de *Bifidobacterium sp*

Para a enumeração de *Bifidobacterium sp* foi utilizado o meio De Man Rogosa Sharp (MRS) formulado em laboratório, adicionado da solução de glicose, suplementado com solução de Dicloxacilina (solução A) L-cisteína (solução B) e Cloreto de Lítio (solução C), conforme descrito por CHR. HANSEN (1999). Após a inoculação por superfície, as placas foram incubadas invertidas, em jarras contendo gerador de anaerobiose

Anaerobac (PROBAC), a 37°C por 72 horas. A morfologia das colônias está ilustrada na Figura 7.

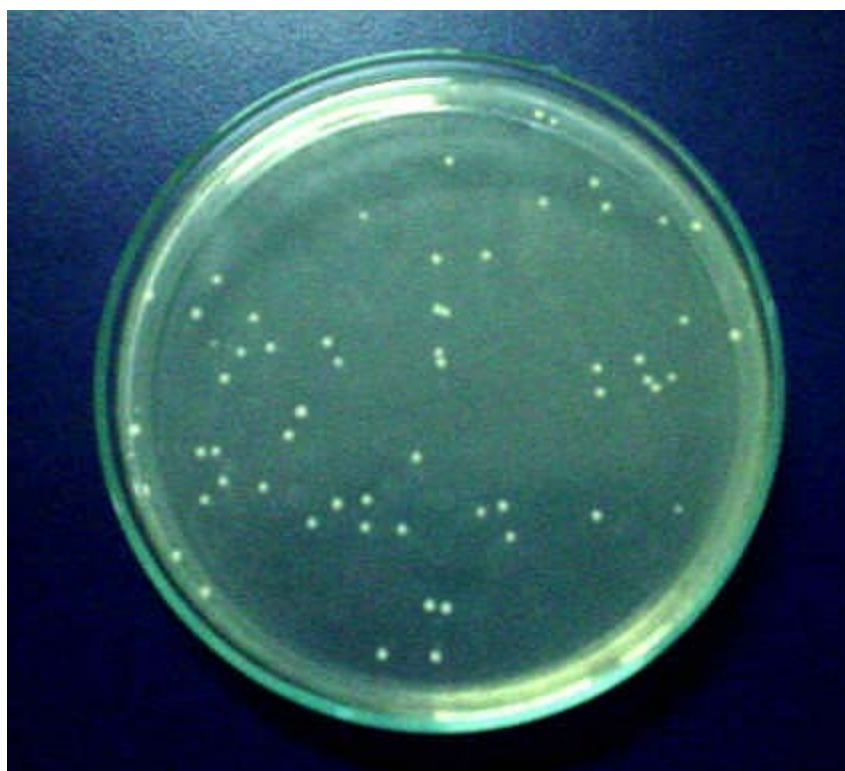


Figura 7 – Morfologia das colônias de *Bifidobacterium* apresentadas no meio de cultura MRS – glicose com as soluções A, B, C, após 72 horas de incubação.

4.6.8 - Determinação dos parâmetros reológicos

Os parâmetros reológicos foram obtidos a 10°C, em duplicata, usando-se um reômetro de cone e placa, modelo RVDV III, marca Brookfield, Stoughton, EUA. O reômetro possui uma camisa

termostatzada situada ao redor do arranjo cone e placa, em cujo interior circula água para aquecimento ou resfriamento, permitindo um melhor controle da temperatura.

O aumento da tensão de cisalhamento foi obtido pelo aumento da rotação, a partir da variação contínua da velocidade angular do cone.

4.6.8.1 – iogurtes comerciais

Com a finalidade de obter dados para orientar a avaliação dos produtos dos processamentos A e B, foram utilizadas as seguintes condições para a avaliação dos iogurtes comerciais que se encontram no quadro 6:

Quadro 6 – Condições de avaliação dos iogurtes comerciais.

Amostra	Cone	Variação da rotação	Volume da amostra	Aumento da rotação
A, B	41 cP	10-200	2 mL	10 rpm a cada 10 seg.
C	51 cP	10-250	0,5 mL	
D, F,e G	41 cP	10-250	2 mL	

4.6.8.2 – logurtes experimentais

Foram utilizadas rotações entre 10 e 250 rpm, com acréscimos de 10 rpm a cada 10 segundos, 2 mL de amostra e cone 41 CP (5 – 122), para processamento A e 0,5 mL de amostra cone 51 CP (20 - 512) para o processamento B, uma vez que os cones são específicos para cada faixa de viscosidade.

A taxa de deformação foi determinada usando-se um programa computacional (Brookfield Reocalc for Windows) que emprega as seguintes equações:

$$\dot{\gamma} = \frac{\omega}{\sin \theta} \qquad \tau = \frac{T}{\frac{2}{3}\pi r^3}$$

em que: $\dot{\gamma}$ = Taxa de deformação (1/s) θ = Ângulo do cone

τ = Tensão de cisalhamento (Pa) T = Torque

ω = Velocidade angular do cone (rpm) r = raio do cone

A descrição do comportamento reológico foi feita utilizando-se os modelos reológicos da Lei da Potência e de Herschel-Bulkley, usando-se o programa Origin versão 3,5.

4.6.9 - Análise sensorial

Os iogurtes foram submetidos à avaliação sensorial por uma equipe de 50 provadores não treinados. Os parâmetros analisados foram:

- Aceitabilidade geral – traduzida pelo “conjunto”, relativa à primeira impressão causada pelo produto como um todo, sem representar a média das notas das outras características avaliadas;
- Aparência e cor – dizem respeito ao aspecto visual do produto;
- Consistência – diz respeito ao “corpo” do produto quando removido do recipiente com uma colher;
- Sabor e aroma.

Para expressar sua opinião a respeito das amostras, os provadores utilizaram uma escala hedônica de nove pontos (Figura 8).

As amostras foram servidas em potes brancos de plásticos com capacidade para 70 mL, codificados com números aleatórios de três dígitos, sempre duas horas antes ou depois das refeições, no período mais adequado para as realizações destas avaliações.

Após a preparação de todos os experimentos, a análise de variância dos resultados das amostras foi realizada a partir do delineamento de blocos casualizados (DBC), com a utilização do teste de Tukey, considerando-se um nível de significância $p < 0,05$ (GOMES, 1977), utilizando o programa computacional STAT, desenvolvido por BANZATTO & KRONKA, 1995.

Nome: _____ Data: _____

Instruções:

- Experimente as amostras e expresse sua opinião, usando a escala abaixo para descrever sua idéia a respeito da aceitabilidade geral, aparência e cor, consistência, sabor e aroma. Após experimentar cada amostra, tome um pouco de água e experimente a próxima.
- Aceitabilidade geral – traduzida pelo “conjunto”, relativa à primeira impressão causada pelo produto como um todo, sem representar a média das notas das outras características avaliadas;
- Aparência e cor – diz respeito ao aspecto visual do produto;
- Consistência – diz respeito ao “corpo” do produto quando consumido;
- Sabor e aroma.

Escala:

- | | |
|--------------------------|-----------------------------|
| 9 – Gostei muitíssimo | 4 – Desgostei ligeiramente |
| 8 – Gostei muito | 3 – Desgostei moderadamente |
| 7 – Gostei moderadamente | 2 – Desgostei muito |
| 6 – Gostei ligeiramente | 1 – Desgostei muitíssimo |
| 5 – Indiferente | |

Código da amostra	Aceitabilidade geral	Aparência e cor	Consistência	Sabor e aroma

Figura 8 – Ficha de avaliação sensorial.

4.6.10 – Formulação otimizada

Para a formulação otimizada, foi selecionado o produto que apresentou as características semelhantes ao iogurte elaborado com açúcar, as maiores rotas na avaliação sensorial e as maiores contagens de probióticos com base nos resultados do tratamento estatístico utilizando-se o Teste Tukey. Foi selecionado e elaborado o iogurte contendo aspartame + sacarina (tratamento 8) do processamento B.

O iogurte foi submetido a avaliação das características físico-químicas, conforme descrito no item 4.6.6, a contagem das bactérias lácticas conforme descrito no item 4.6.7, avaliação reológica, conforme descrito no item 4.6.8, avaliação sensorial, conforme descrito no item 4.6.9.

A determinação de pH, de acidez, dos parâmetros reológicos e da contagem de microrganismos do iogurte foi efetuada após 1, 15 e 30 de armazenamento. Além da contagem dos microrganismos probióticos foram feitas também as contagens dos microrganismos da cultura tradicional do iogurte *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus*.

A contagem de *Streptococcus thermophilus* foi determinada através de inoculação em superfície em placas de petri, utilizando-se o meio M17 ágar. Após a inoculação, as placas foram incubadas invertidas, a 37°C por 48 h em aerobiose conforme descrito pels International Dairy

Federation - IDF (1997). A morfologia das colônias está ilustrada na Figura 9.

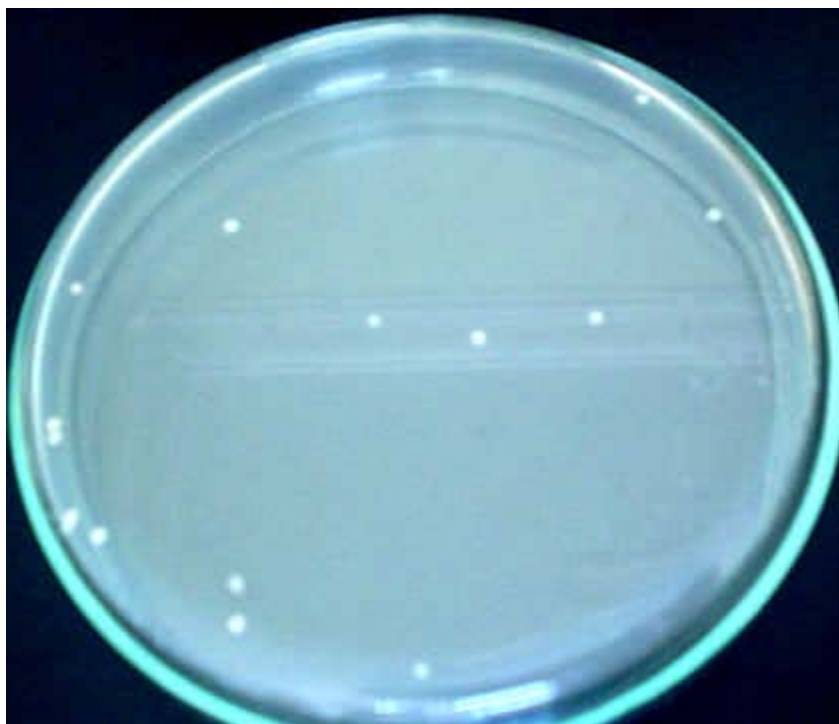


Figura 9 – Morfologia das colônias de *Streptococcus thermophilus* apresentadas no meio de cultura M17, após 48 horas de incubação.

A contagem de *Lactobacillus bulgaricus* foi feita utilizando-se MRS ágar glicose acidificado . Após a inoculação, as placas foram incubadas invertidas, em jarras contendo gerador de anaerobiose Anaerobac (PROBAC), a 37°C por 48 h, conforme descrito pela International Dairy

Federation - IDF, (1997). A figura 10 mostra a morfologia das colônias dos *Lactobacillus bulgaricus*.



Figura 10 – Morfologia das colônias de *Lactobacillus bulgaricus* apresentadas no meio de cultura MRS – ágar glicose acidificado, após 72 horas de incubação.

5 - RESULTADOS

5.1- Caracterização físico-química do leite reconstituído

A caracterização físico-química do leite reconstituído foi feita com o objetivo de determinar o teor de gordura, de sólidos totais, de acidez titulável e a presença de antibióticos e constatar se este poderia ser utilizado como matéria prima para a fabricação do iogurte.

Os valores médios da avaliação do leite reconstituído a 14% de sólidos totais (lotes 1, 2 e 3) encontram-se na Tabela 2. Esses valores estão de acordo com o Regulamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (RISPOA) pelo artigo 476, onde define que para o leite desnatado reconstituído ser considerado normal deve apresentar teor de acidez igual a 15 a 20°D, o teor de gordura deve ser em torno de 0,1 a 0,5% e extrato seco total $\geq 8,5\%$ e deve estar isento de antibióticos (BRASIL, 1980) .

Tamime & Deeth (1980) fizeram uma revisão sobre as alterações nas características químicas e físicas que ocorrem durante a fabricação do iogurte como resultado do processamento e da fermentação microbiana. Estas alterações ocorrem durante o tratamento térmico e manipulação. O conteúdo de sólidos totais no leite é importante para a consistência e para o aroma do iogurte e o aumento no teor de sólidos aumentam estas propriedades. De acordo com os autores o conteúdo no total de sólidos deve ser de 14 a 18%.

Contudo, o efeito do conteúdo de sólidos totais pode afetar a atividade da cultura do iogurte e em níveis acima de 25% pode afetar a água disponível para a cultura. A acidez titulável também pode ser afetada pelo conteúdo de sólidos totais do leite devido a ação tampão de proteínas, fosfatos, citratos, lactatos. O aumento no total de sólidos resulta no aumento da acidez titulável e redução no tempo de coagulação. O dobro no conteúdo de sólidos não gordurosos resulta no dobro da acidez titulável do leite (TAMIME & DEETH 1980).

Verificando os resultados encontrados para o leite reconstituído pode-se fazer as seguintes observações: que a acidez do leite reconstituído aumentou quando o teor de sólidos foi maior, podendo-se dizer que o teor de sólidos do leite pode ter influenciado na acidez. O teor de sólidos do leite reconstituído variou de 13,90 a 14,01% como pode ser observado na Tabela 2, conforme o recomendado por TAMIME & DEETH (1980), pois não iram prejudicar a atividade da cultura e podem contribuir para a formação do aroma e da consistência no iogurte.

Tabela 2 – Características físico-químicas do leite reconstituído.

Análises	Unidades	Lote 1	Lote 2	Lote3
Gordura	%	0,10 ± 0,00	0,10 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Sólidos totais	%	13,78 ± 0,01	14,01 ± 0,01	13,90 ± 0,10
Acidez	°D	28,64 ± 0,42	29,57 ± 0,20	29,11 ± 0,01
Antibióticos	-	negativo	negativo	negativo

5.2 - Caracterização dos iogurtes probióticos comerciais

Os resultados da avaliação físico-química e microbiológica dos iogurtes probióticos comerciais estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Características físico-químicas e microbiológicas dos iogurtes comerciais.

Amostras	Valor de pH	Gordura %	Sólidos totais %	<i>Bifidobacterium</i> UFC/mL	<i>L. acidophilus</i> UFC/mL
A	3,95 ± 0,00	1,70 ± 0,10	19,05 ± 0,15	4,3 x 10 ¹⁵	3,3 x 10 ¹⁴
B	4,19 ± 0,01	1,90 ± 0,00	20,81 ± 0,05	5,4 x 10 ¹⁵	2,2 x 10 ¹²
C	3,85 ± 0,03	3,20 ± 0,20	23,08 ± 0,13	5,1 x 10 ¹⁵	5,8 x 10 ¹⁵
D	4,20 ± 0,00	2,33 ± 0,00	20,51 ± 0,00	3,2 x 10 ¹⁷	2,6 x 10 ¹⁷
E	4,48 ± 0,01	0,00 ± 0,00	8,61 ± 0,28	6,0 x 10 ¹⁷	1,8 x 10 ²⁰
F	4,19 ± 0,01	0,00 ± 0,00	8,53 ± 0,08	3,3 x 10 ¹⁷	4,6 x 10 ¹⁹

A Tabela 3 mostra os resultados referentes aos valores de pH, gordura, sólidos totais e contagem de probióticos realizados nos iogurtes comerciais.

Examinando-se os resultados referentes ao pH dos iogurtes comerciais, encontrou-se variação de 3,85 a 4,48, como mostra a Figura 11. Esta faixa foi mais ampla do que a encontrada por Gurgel & Oliveira (1995), de 4,02 e 4,48. O valor de pH é importante, uma vez que o iogurte com baixa acidez (pH > 4,6) favorece a separação do soro porque o gel não foi suficientemente formado, por outro lado, em pH < 4,0, a contração

do coágulo, devido à redução da hidratação das proteínas, também causa deessoramento (BRANDÃO, 1995).

A Figura 12 mostra que o teor de gordura dos iogurtes comerciais variou de 0 a 3,20%. Durante a fabricação, o teor de gordura do leite é padronizado em função do tipo de iogurte que será produzido (sem gordura, de baixa caloria e o integral) (BRANDÃO, 1987). As amostras utilizadas para as análises eram constituídas de iogurtes integrais, semi-desnatados e desnatados, o que explica a grande variação nos teores de gordura encontrados. Estas variações estão de acordo com a legislação brasileira em vigor, que estabelece para os iogurtes integrais uma faixa de 3,0 a 5,9%, para os semi-desnatados 0,6 a 2,9% e para os desnatados um máximo de 0,5% (BRASIL, 1997).

Os iogurtes apresentaram valores de sólidos totais entre 8,53 e 23,08%, como apresentado na Figura 13. Os encontrados para as amostras de A a D estão de acordo com os obtidos por Teixeira *et al.* (2000) de 12,18 a 21,10% e 16,50 a 25,50% para iogurtes naturais e com polpas de frutas, respectivamente. Os iogurtes das amostras E e F foram elaborados com leite desnatado e sem açúcar (conforme consta no rótulo) o que explica os baixos teores de sólidos encontrados.

A contagem dos microrganismos probióticos variou de $4,3 \times 10^{15}$ a $6,0 \times 10^{17}$ para as bifidobactérias e $2,2 \times 10^{12}$ a $1,8 \times 10^{20}$ para *L. acidophilus*, com mostra a Figura 14, muito superior ao valor mínimo estabelecido pela legislação brasileira em vigor, de 10^6 UFC/mL para a

bifidobactérias e 10^7 UFC/mL para a contagem total de bactérias lácticas (BRASIL, 1997).

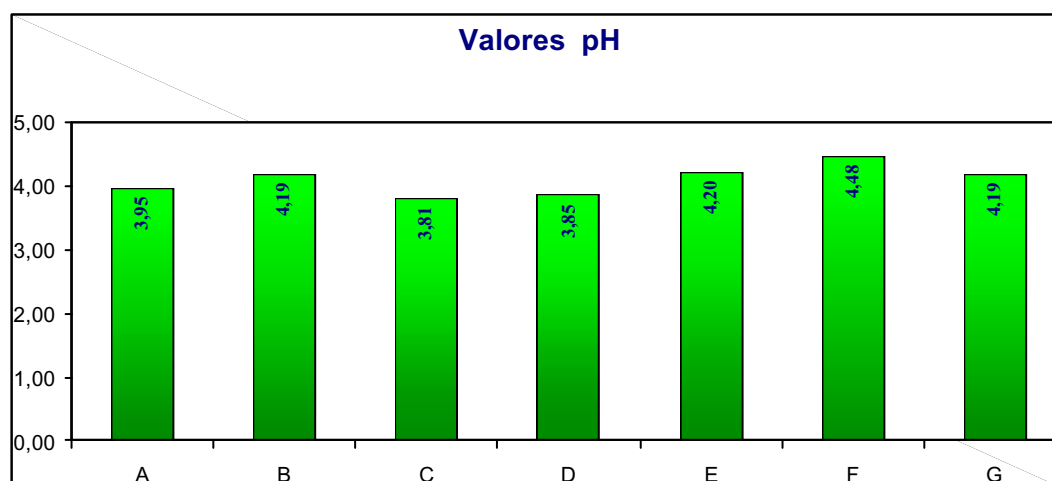


Figura 11 - Valores médios de pH dos iogurtes comerciais.

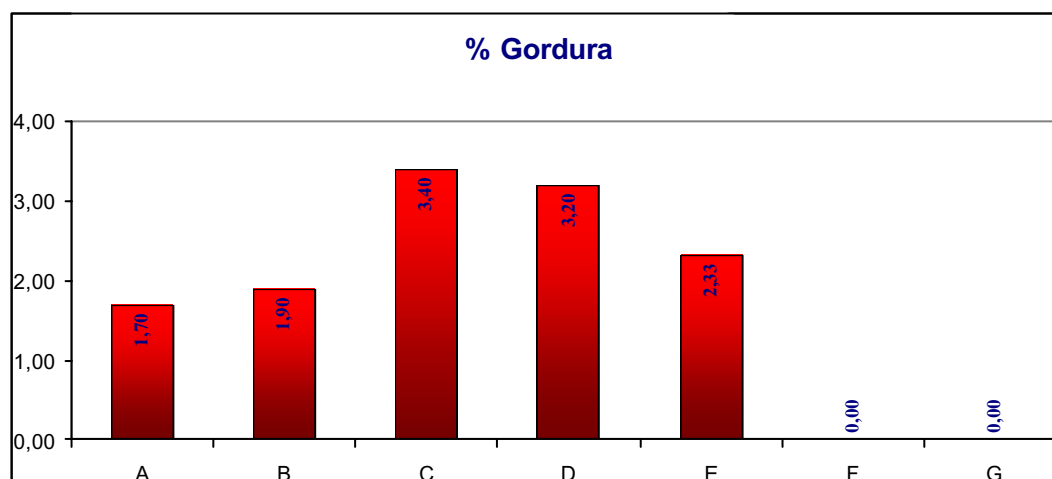


Figura 12 - Valores médios dos teores de gordura dos iogurtes comerciais.

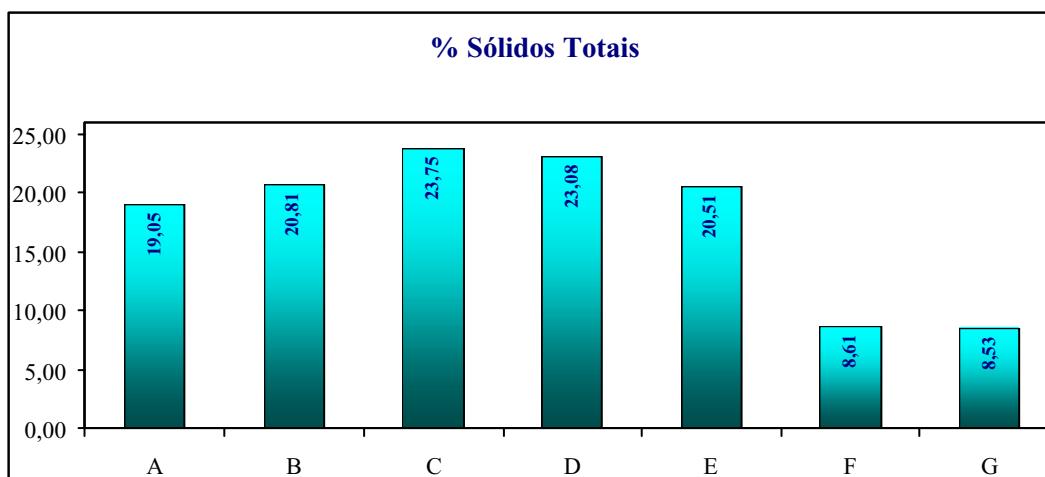


Figura 13 - Valores médios dos teores de sólidos totais dos iogurtes comerciais.

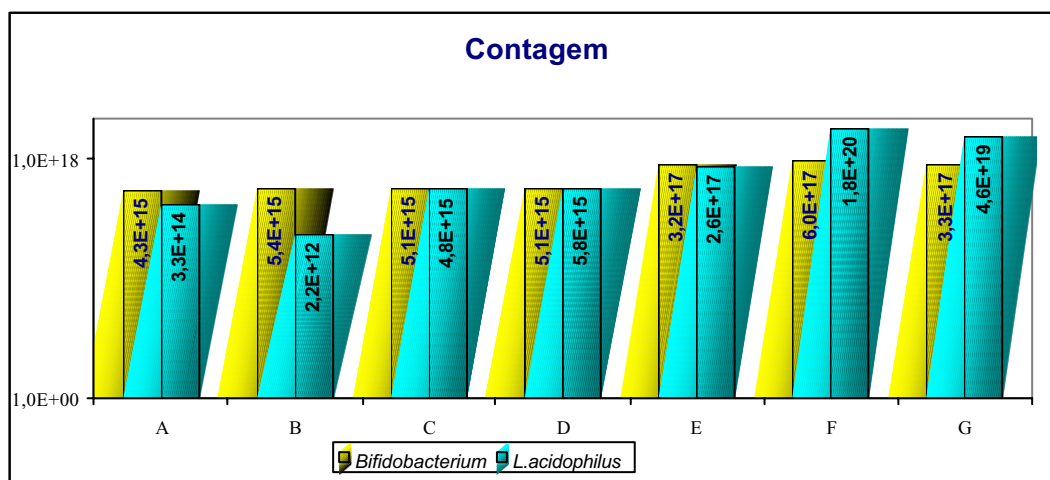


Figura 14 – Contagem de microrganismos probióticos no iogurte comercial (UFC/mL).

5.3 – Determinação dos parâmetros reológicos dos iogurtes probióticos comerciais

Os parâmetros reológicos para os iogurtes comerciais estão apresentados nas Tabelas 4 e 5.

Os iogurtes comerciais testados apresentaram índices de consistência (K) variando de 0,076 a 2,427 Pa.sⁿ para as curvas ascendentes utilizando o modelo da Lei da Potência e de 0,030 a 1,851 Pa.sⁿ para o modelo de Herschel-Bulkley. O índice de comportamento de fluxo (n) variou de 0,37 a 0,67 utilizando o modelo da Lei da Potência, enquanto que para o modelo de Herschel-Bulkley, a variação foi 0,48 a 0,81. A tensão inicial de escoamento (τ_{0H}) oscilou entre 2,07 a 32,92 Pa. Os coeficientes de determinação (R^2) variaram de 0,9415 a 0,9992 para as curvas ascendentes, para o modelo da Lei da Potência, enquanto que para o modelo de Herschel-Bulkley oscilaram entre 0,9201 e 0,9999, demonstrando que ambos os modelos explicam mais de 92% dos resultados experimentais, podendo ser usados para fins preditivos.

Para as curvas descendentes, os valores dos índices de consistência (K) situaram na faixa de 0,041 a 0,525 Pa.sⁿ para o modelo da Lei da Potência e de 0,007 a 0,144 Pa.sⁿ para o modelo de Herschel-Bulkley. O índice de comportamento de fluxo (n) variou de 0,63 a 0,84 e de 0,82 a 1,09 para os modelos da Lei da Potência e de Herschel-Bulkley, respectivamente. A tensão inicial de escoamento (τ_{0H}) variou de 2,98 a

44,96 Pa. Os valores dos coeficientes de determinação (R^2) demonstram que os modelos explicam mais de 97% dos resultados experimentais.

Os iogurtes apresentaram comportamento de fluido não newtoniano ($n < 1$) com presença de tixotropia, como mostram as Figuras de 15 a 20. Comparando-se os resultados das curvas ascendentes com as descendentes, observou-se a formação de uma curva de histerese demonstrando perda da estrutura provocada pelo cisalhamento contínuo.

As amostras F e G apresentaram teores de sólidos muito reduzido típicos de produtos desnatados (8,61 e 8,53, respectivamente) e sofreram maior degradação, isto pode ser observado tanto no modelo da Lei da Potência como no modelo de Herschel-Bulkley. Segundo CAMPOS (1989) um dos fatores que pode contribuir para uma maior degradação é o teor reduzido de sólidos.

Nas curvas descendentes, usando o modelo de Herschel-Bulkley, com exceção das amostras B e F, observou-se valores dos índices de comportamento de fluxo muito próximos a 1 ($n \cong 1$, newtoniano), demonstrando que o produto submetido ao cisalhamento 2 a 182 s^{-1} , este passa a ter comportamento newtoniano.

Este comportamento também foi observado por RAMASWAMY & BASAK (1991), quando avaliaram as características reológicas de iogurtes (fírmes e batidos) comerciais, utilizando um reômetro Haake Rotovisco Modelo RV 20. O comportamento ascendente da amostra foi descrito pelo modelo de Herschel-Bulkley enquanto que o comportamento

descendente foi essencialmente linear. Tanto a curva ascendente como a descendente demonstraram uma degradação progressiva da estrutura.

Na prática, a transferência do produto por bombas que utilizam este cisalhamento poderia modificar o comportamento do produto, deixando-os menos consistentes.

Tabela 4 - Parâmetros reológicos dos iogurtes comerciais obtidos pelo

Modelo da Lei da Potência ($\tau = K \dot{\gamma}^n$).

Amostras	Curvas ascendentes			Curvas descendentes		
	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²
A-1	0,076	0,67	0,9953	0,059	0,71	0,9868
A-2	0,077	0,65	0,9911	0,056	0,70	0,9854
B-1	0,671	0,56	0,9937	0,434	0,64	0,9896
B-2	0,523	0,60	0,9934	0,438	0,63	0,9883
C-1	0,806	0,38	0,9415	0,041	0,84	0,9817
C-2	0,733	0,37	0,9840	0,101	0,67	0,9707
D-1	0,961	0,54	0,9985	0,193	0,79	0,9916
D-2	0,625	0,59	0,9987	0,126	0,84	0,9928
E-1	2,201	0,40	0,9992	0,352	0,69	0,9843
E-2	2,204	0,41	0,9983	0,366	0,68	0,9864
F-1	2,427	0,48	0,9954	0,525	0,66	0,9918
F-2	2,286	0,49	0,9962	0,525	0,66	0,9918

1 e 2 – representam embalagens diferentes do mesmo produto

Tabela 5 - Parâmetros reológicos dos iogurtes comerciais obtidos pelo

Modelo de Herschel - Bulkley ($\tau = \tau_{0H} + K_H \dot{\gamma}_H^{n_H}$).

Amostras	Curvas ascendentes				Curvas descendentes			
	τ_{0H} (Pa)	K_H (Pa.s ⁿ)	n_H	R^2	τ_{0H} (Pa)	K_H (Pa.s ⁿ)	n_H	R^2
A-1	2,07	0,035	0,80	0,9994	3,10	0,014	0,96	0,9990
A-2	2,39	0,030	0,81	0,9996	2,98	0,012	0,97	0,9987
B-1	12,99	0,300	0,70	0,9984	14,81	0,140	0,84	0,9977
B-2	12,25	0,217	0,75	0,9988	13,81	0,144	0,82	0,9982
C-1	13,19	0,307	0,52	0,9201	9,36	0,007	1,09	0,9969
C-2	13,40	0,246	0,52	0,9873	9,25	0,017	0,94	0,9836
D-1	32,92	0,339	0,68	0,9994	31,49	0,036	1,05	0,9985
D-2	18,14	0,327	0,68	0,9999	25,05	0,025	1,07	0,9993
E-1	27,52	1,232	0,48	0,9998	44,66	0,038	1,02	0,9989
E-2	26,66	1,268	0,48	0,9988	43,60	0,043	1,01	0,9988
F-1	12,43	1,818	0,53	0,9964	39,21	0,107	0,91	0,9991
F-2	14,79	1,851	0,52	0,9953	38,06	0,110	0,91	0,9981

1 e 2 – representam embalagens diferentes do mesmo produto

Figura 15-16

Figura 17-18

Figura 19-20

5.4 - Caracterização físico-química e microbiológica dos iogurtes probióticos produzidos em laboratório

Os resultados físico-químicos e microbiológicos dos iogurtes preparados conforme os treze tratamentos, para os dois processamentos encontram-se nas Tabelas 6 e 7.

5.4.1 – Tempo de fermentação

O tempo de fermentação variou de 285 a 500 min. para o processamento A, superior ao processamento B, de 220 a 335 min., como mostram as Figuras 21 e 22. Estes tempos de fermentação foram inferiores aos observados por DAVE & SHAH (1998). Eles obtiveram de 450 a 540 min. de fermentação quando adicionaram concentrado protéico de soro, soro em pó ou hidrolisado ácido de caseína para obtenção do iogurte.

No processamento A, o tempo necessário para atingir o pH 4,5 no tratamento 6 foi consideravelmente maior. Isto não aconteceu nos demais tratamentos, quando se utilizou nível de adoçante equivalente a 4 e 6% de sacarose, onde tempo de fermentação foi menor. Isto pode estar provavelmente relacionado ao tempo de armazenamento da cultura antes do uso favorecendo a perda de atividade e diminuição no número de células viáveis, e conseqüentemente provocando aumento no tempo de

fermentação. Nos tratamentos com nível de adição equivalente a de 6% de sacarose foi utilizado uma cultura com menor tempo de armazenamento resultando em menor tempo de fermentação na maioria dos tratamentos.

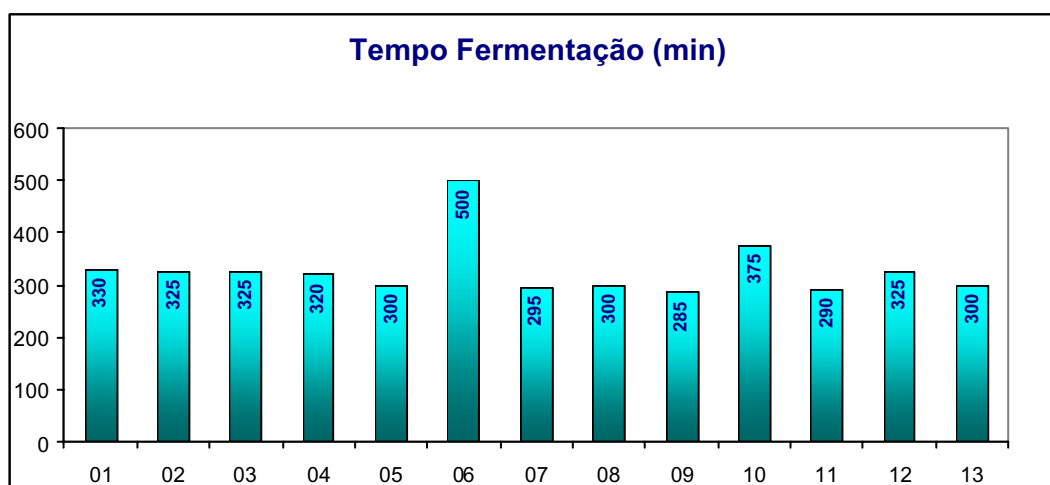


Figura 21 – Tempo médio da fermentação dos iogurtes produzidos no processamento A.

Por outro lado no processamento B, pode-se observar um ligeiro aumento no tempo de fermentação com o aumento da concentração de adoçantes e quando se utilizou sucralose (tratamentos 5, 9 e 13), aspartame + sacarina (tratamentos 4, 8 e 12) e açúcar (tratamentos 6 e 10) o tempo de fermentação foi maior. O aumento na concentração provavelmente pode ter afetado a atividade da cultura. Acredita-se também que esta cultura é muito menos susceptível ao tempo de armazenamento pois sua atividade não foi tão influenciada como a do processamento A.

Tabela 6

Tabela 7

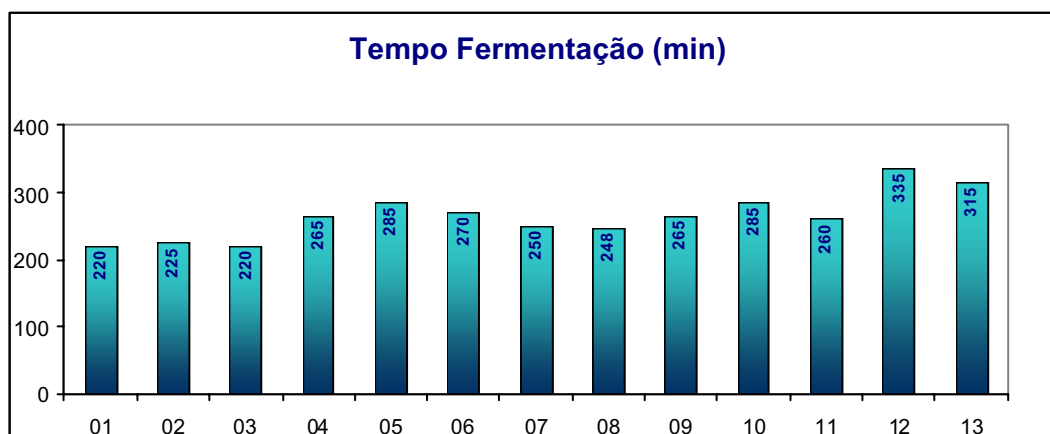


Figura 22 – Tempo médio da fermentação dos iogurtes produzidos no processamento B.

5.4.2 – Valor de pH

As Figuras 23 e 24 apresentam a variação de pH nos três níveis de adição de adoçante (equivalentes a 4, 5 e 6% de sacarose) que foi de 4,05 a 4,53 para o processamento A e de 4,63 a 4,93 para o processamento B. No processamento A, o maior valor de pH foi observado no tratamento 11, elaborado com aspartame, estatisticamente igual aos tratamentos 1 (referência), 4 (com aspartame + sacarina), 7 (com aspartame) 10 (controle 6% de açúcar), e estatisticamente diferente dos demais.

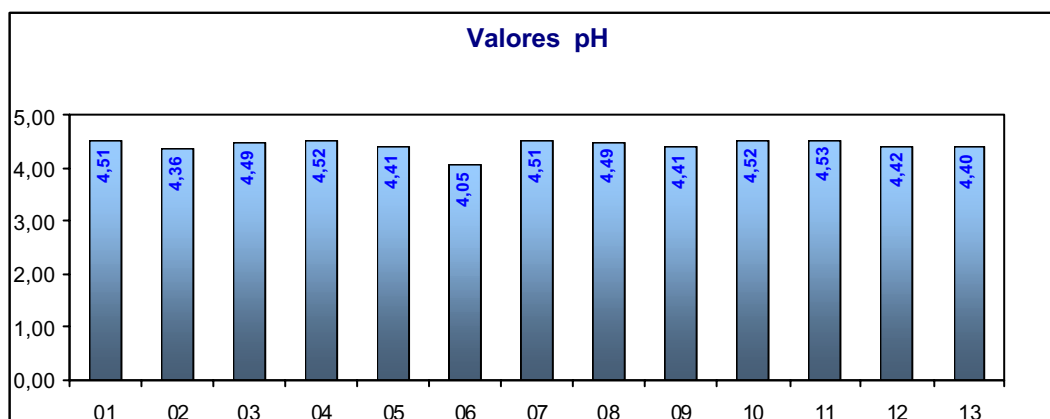


Figura 23 – Valores médios de pH dos iogurtes probióticos produzidos no processamento A.

No processamento B, o maior valor de pH foi observado no tratamento 6, elaborado com 4% açúcar, e estatisticamente diferente dos demais tratamentos. Segundo Hattingh & Vlljoen (2001), o pH para os iogurtes comerciais varia entre 3,7 e 4,3, ligeiramente inferior aos obtidos nos iogurtes experimentais. Por outro lado, os valores obtidos são superiores aos encontrados por Malta *et al.* (2001) que avaliaram a qualidade microbiológica e físico-química de diversas marcas de iogurtes e obtiveram valores de pH abaixo de 4,5, provavelmente pelas más condições de armazenamento das amostras nos locais de venda.

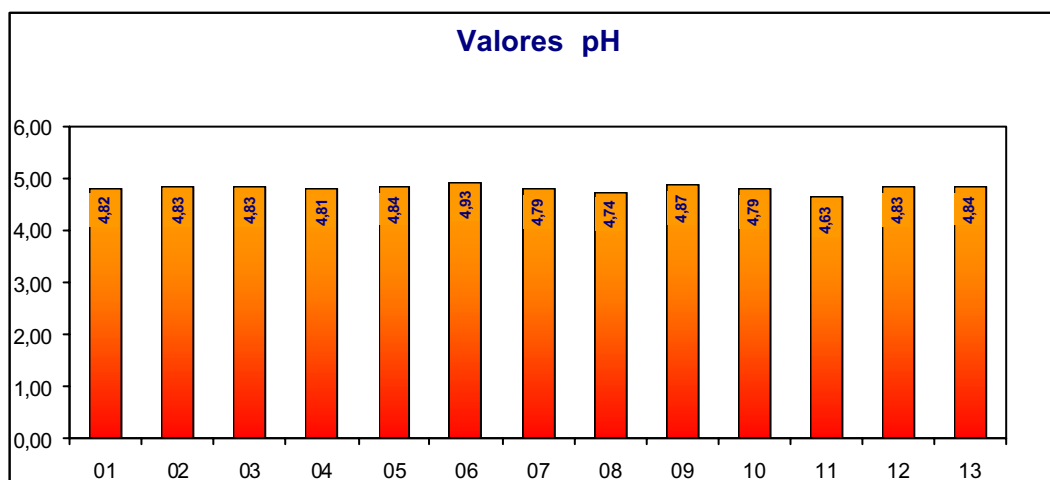


Figura 24 – Valores médios de pH dos iogurtes probióticos produzidos no processamento B.

No entanto, Kurmann (1977) considera adequados os valores de pH próximos a 4,5, pois em valores inferiores, pode haver rejeição por parte dos consumidores.

Segundo Brandão (1995), o controle do pH é importante porque um iogurte com acidez baixa, pH maior que 4,6, favorece a separação do soro porque a estrutura do gel não foi suficientemente formada. Por outro lado, se o pH estiver abaixo de 4,0, a contração do coágulo, devido à redução da hidratação das proteínas, também causa dessoramento. Apesar de ter fixado o término da fermentação em valores superiores a 4,6 nos iogurtes do processamento B, não ocorreu dessoramento das amostras, provavelmente pela produção de exopolissacarídeo pela cultura utilizada. Este composto formado age como um estabilizante, evitando o dessoramento.

As tabelas 8 e 9 mostram as análises de variância dos valores de pH dos processamentos A e B.

Tabela 8 – Análise de variância para os dados experimentais de pH dos iogurtes probióticos (Processamento A).

Desvio padrão	0,0089
Erro padrão da média	0,0051
Média geral	4,4305
Coeficiente de variação	0,2

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	12	0,6409	0,0534	671,94**
Resíduo	26	0,0021	0,0001	
Total	38	0,643		

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$)

Tabela 9 – Análise de variância para os dados experimentais de pH dos iogurtes probióticos (Processamento B).

Desvio padrão	0,0166
Erro padrão da média	0,0096
Média geral	4,8121
Coeficiente de variação	0,35

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	12	0,1676	0,014	50,45**
Resíduo	26	0,0072	0,0003	
Total	38	0,1748		

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$)

5.4.3 – Acidez titulável

As Figuras 25 e 26 mostram a variação na acidez titulável, de 117,27 a 140,22°D para o processamento A, bem mais elevada quando comparada aos valores encontrados no processamento B, de 72,96 a 98,21°D. Esta diferença está relacionada provavelmente com a cultura utilizada no processamento B, menos acidificante, resultando em um produto mais suave.

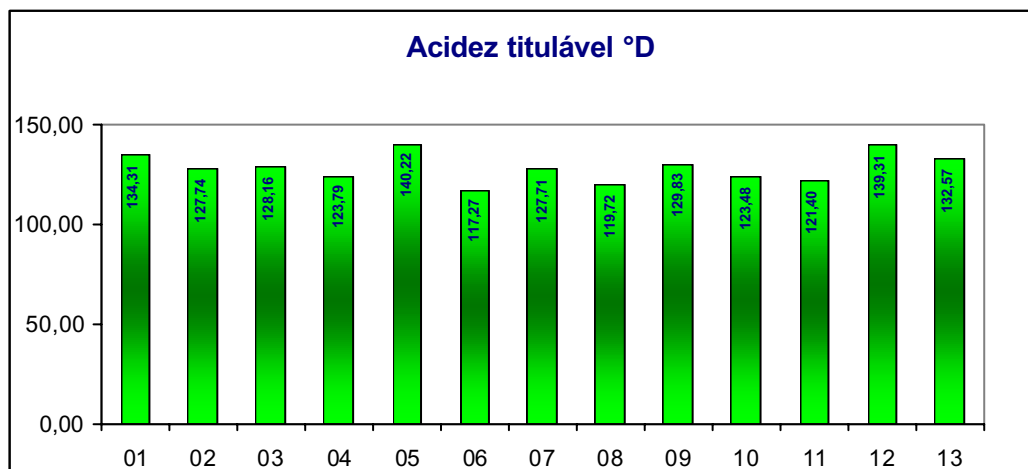


Figura 25 – Valores médios dos teores de acidez titulável dos iogurtes produzidos no processamento A.

No processamento B, o tratamento 8, elaborado com aspartame + sacarina foi o que apresentou o maior valor para acidez titulável, sem diferir significativamente do tratamento 13 e estatisticamente diferente dos demais tratamentos provavelmente pela estimulação do processo fermentativo com maior produção de ácido. No processamento A, os tratamentos 5, elaborado com sucralose, e o 12, elaborado com aspartame + sacarina, foram os que obtiveram os maiores valores para acidez titulável e apresentaram diferença significativa dos demais tratamentos. Observou-se também que o aumento de açúcar de 4 para 6%, ocasionou um aumento na acidez titulável com exceção do tratamento 6 (processamento A), aumentou, não sendo detectada a causa desta diminuição.

Nos tratamentos do processamento B com nível de adição de edulcorante equivalente a 5% de sacarose observa-se que esta quantidade favoreceu uma maior produção de ácido sem aumentar o tempo de fermentação, comparado com os demais tratamentos. Provavelmente quando utilizou-se valores equivalentes a 6% de sacarose houve influencia na atividade da cultura, uma vez que o tempo de fermentação aumentou e a acidez titulável diminuiu.

Os valores de acidez titulável de ambos os processamentos atendem ao estabelecido pela legislação brasileira em vigor, que é de 60 a 150°D (BRASIL, 1997).

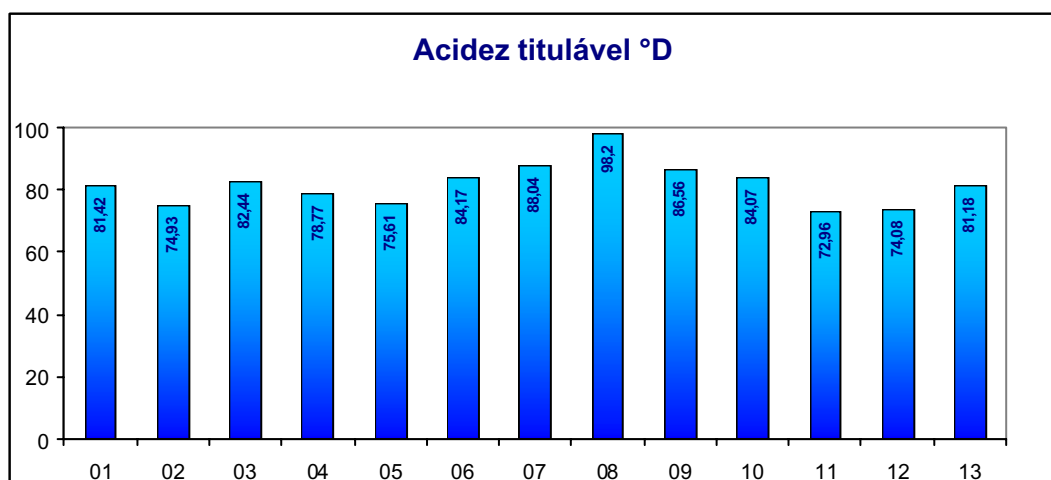


Figura 26 – Valores médios dos teores de acidez titulável dos iogurtes produzidos no processamento B.

A relação entre sólidos totais e acidez titulável também foi relatada por Pombo, Granzinolli & Fernandes (1983) que verificaram que influencia tem a elaboração de iogurte com diferentes teores de sólidos totais (12,15

a 17,15%), mediante a adição de leite em pó, sobre a acidez, pH, desnaturação de proteínas do soro, viscosidade do produto e mudanças durante a estocagem. O aumento do teor de sólidos totais, resultou em aumento na acidez titulável de 0,83 a 1,20% em um período de 7 dias.

A análise de variância dos dados experimentais de acidez titulável dos processamentos A e B estão apresentados nas Tabelas 10 e 11 e mostraram diferenças significativas ($P < 0,01$) entre as amostras de cada processamento.

Tabela 10 – Análise de variância para os dados experimentais de acidez titulável dos iogurtes probióticos (processamento A).

Desvio padrão	1,0055
Erro padrão da média	0,5806
Média geral	128,0969
Coeficiente de variação	0,78

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	12	1636,3468	136,3622	134,86**
Resíduo	26	26,289	1,0111	
Total	38	1662,6358		

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$)

Tabela 11 – Análise de variância para os dados experimentais de acidez titulável dos iogurtes probióticos (processamento B).

Desvio padrão	0,7129
Erro padrão da média	0,4116
Média geral	81,7256
Coeficiente de variação	0,87

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	12	1724,4492	143,7041	282,74**
Resíduo	26	13,2147	0,5083	
Total	38	1737,6639		

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$)

5.4.4 – Teor de gordura

O teor de gordura no iogurte manteve-se na faixa de 0,00 a 0,10% em ambos os processamentos, como apresentado nas Figuras 27 e 28.

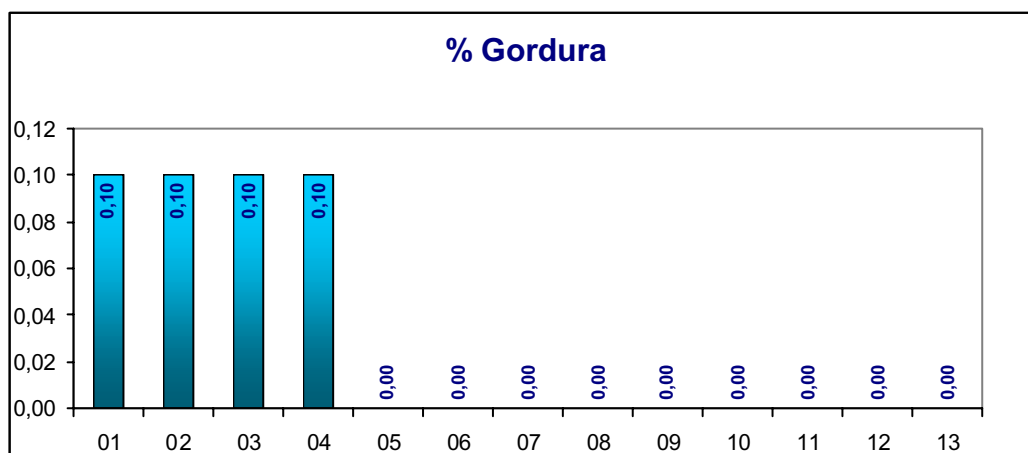


Figura 27 – Valores médios dos teores de gordura dos iogurtes probióticos produzidos no processamento A.

Segundo Robinson & Tamime (1975) e Brandão (1995), o teor de gordura para iogurtes produzidos com leite desnatado deve ter um conteúdo máximo de gordura de 0,5%, como os observados nos dois processamentos.

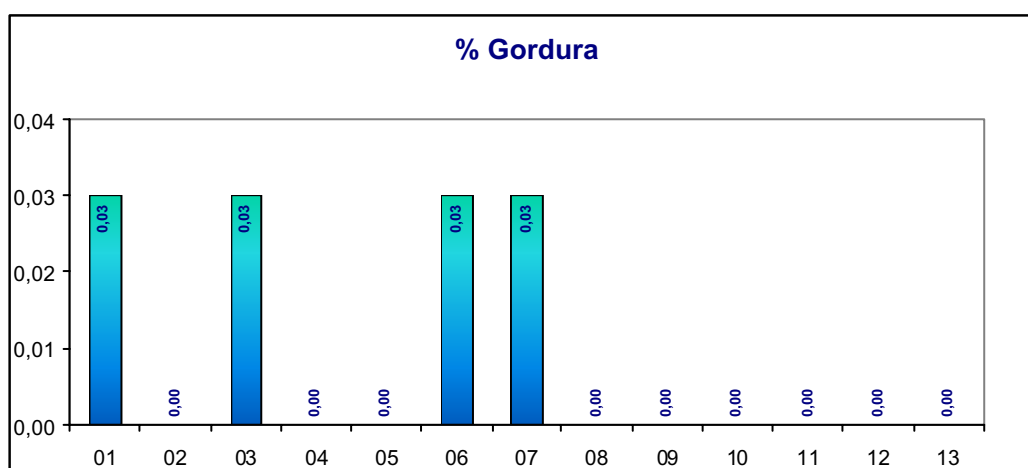


Figura 28 – Valores médios dos teores de gordura dos iogurtes probióticos produzidos no processamento B.

5.4.5 – Teor de proteínas

No processamento A, os valores encontrados para os teores de proteínas variaram entre 4,91 e 5,95% como mostra a Figura 29, muito próximos aos encontrados por BARRANTES *et al.* (1994), que obtiveram valores entre 5,40 a 5,65%, estudando a qualidade de iogurtes usando leite em pó desnatado e substitutos de gordura.

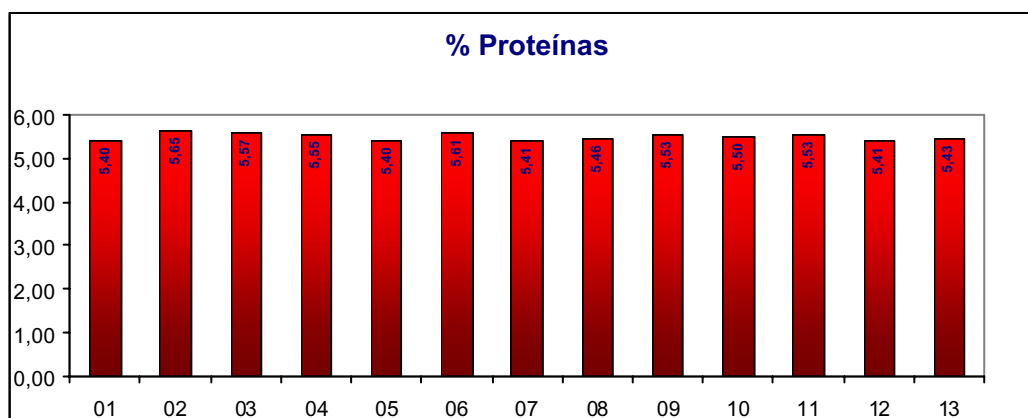


Figura 29 – Valores médios dos teores de proteínas dos iogurtes produzidos no processamento A.

No processamento B, foram encontrados valores para proteínas que variaram de 5,53 a 5,68%, como mostra a Figura 30. O maior teor de proteínas foi obtido no tratamento 2, elaborado com açúcar e estatisticamente igual aos tratamentos 11, elaborado com aspartame e 12 elaborado com aspartame + sacarina estatisticamente diferente dos demais tratamentos.

As Tabelas 12 e 13 mostram as análises de variância para os teores de proteína dos processamentos A e B, respectivamente.

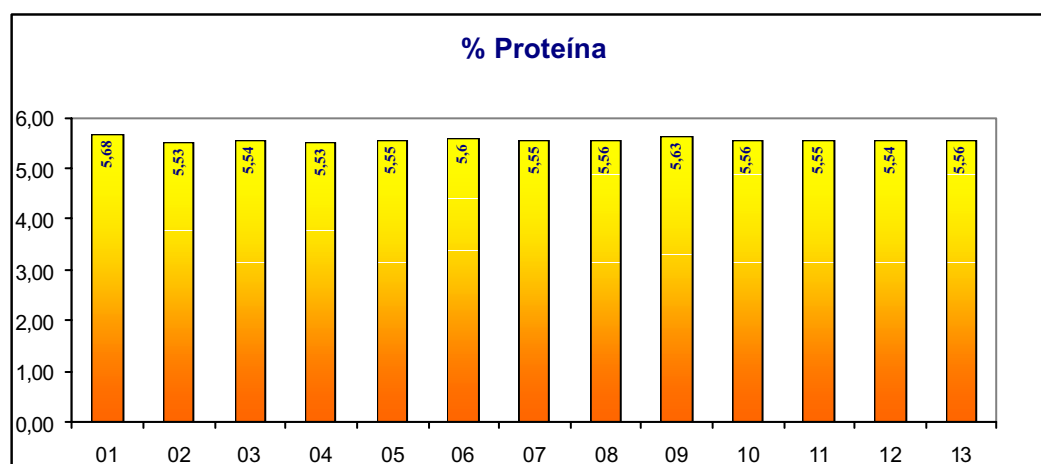


Figura 30 – Valores médios dos teores de proteína dos iogurtes produzidos no processamento B.

Tabela 12 – Análise de variância para os dados experimentais de proteínas dos iogurtes probióticos (Processamento A).

Desvio padrão	0,1251
Erro padrão da média	0,0722
Média geral	5,4985
Coeficiente de variação	2,27

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	12	0,2583	0,0215	1,38 NS
Resíduo	26	0,4066	0,0156	
Total	38	0,6649		

NS: não significativo

Tabela 13 – Análise de variância para os dados experimentais de proteínas dos iogurtes probióticos (Processamento B).

Desvio padrão	0,7867
Erro padrão da média	0,4542
Média geral	5,4400
Coeficiente de variação	14,46

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	12	7,4101	0,6175	1,00 NS
Resíduo	26	16,0893	0,6188	
Total	38	23,4994		

NS: não significativo

5.4.6 – Teor de sólidos totais

Os teores de sólidos totais apresentaram valores entre 13,38 e 19,95% para o processamento A e de 13,65 a 20,37% para o processamento B, como apresentado nas Figuras 31 e 32, muito próximos em ambos os processamentos, devido à padronização das quantidades dos ingredientes adicionados ao leite para a fabricação do iogurte.

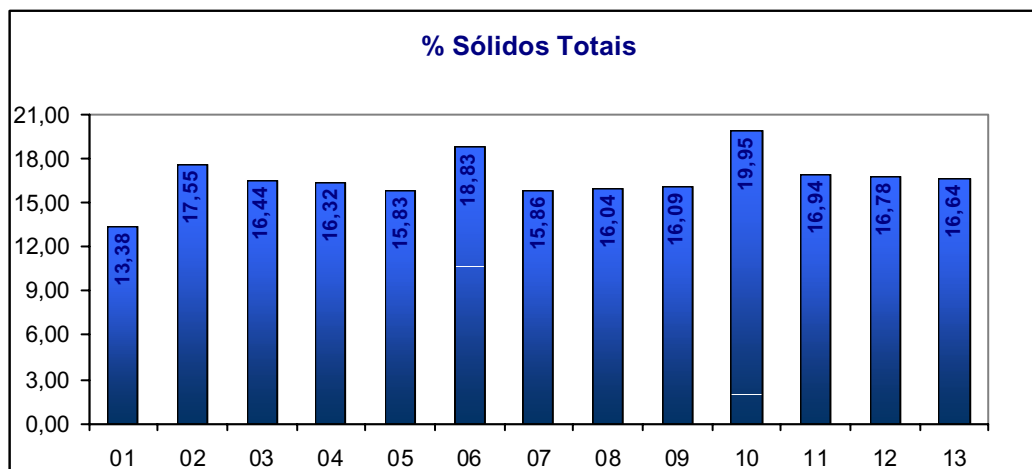


Figura 31 – Valores médios dos teores de sólidos totais dos iogurtes probióticos produzidos no processamento A.

Caruso & Oliveira (s.d.), recomendam valores de sólidos lácteos entre 14 e 16%, sendo necessária a adição desses ao leite utilizado no processo, pois normalmente, o teor de sólidos no leite varia na faixa de 10 a 14%. Segundo Brandão (1987), Robinson & Tamime (1975) e Tamime & Deeth (1980), o teor de sólidos do leite utilizado para a elaboração de iogurte pode variar de 9 a 30%. Porém, níveis de sólidos acima de 25% afetam a disponibilidade de umidade e retardam a atividade da cultura.

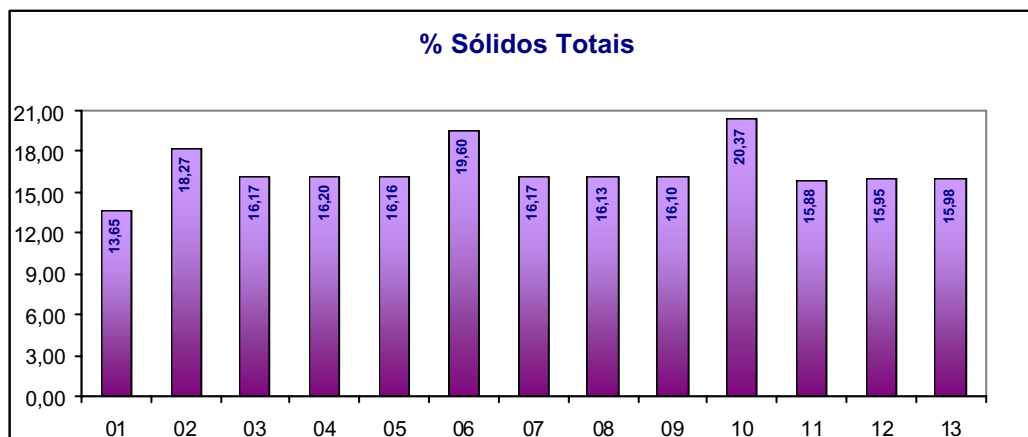


Figura 32 – Valores médios dos teores de sólidos totais dos iogurtes probióticos produzidos no processamento B.

Os maiores teores de sólidos foram observados nos tratamentos 2, 6 e 10, cujas formulações foram preparadas com 4, 5 e 6% de açúcar, respectivamente. Segundo Rasic & Kurmann (1978) o iogurte natural com extrato seco total entre 9,5 e 12,0% requer maior desnaturação das soroproteínas que o iogurte com sólidos totais acima de 14%, para aumentar a capacidade de retenção de água e evitar o dessoramento.

A análise de variância dos teores de sólidos totais dos iogurtes dos processamentos A e B estão apresentados nas Tabelas 14 e 15.

Tabela 14 – Análise de variância para os dados experimentais de sólidos totais dos iogurtes probióticos (Processamento A).

Desvio padrão	1,2604
Erro padrão da média	0,7277
Média geral	17,1962
Coeficiente de variação	7,33

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	12	302,6123	25,2177	15,87**
Resíduo	26	41,3067	1,5887	
Total	38	343,9190		

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$)

Tabela 15 – Análise de variância para os dados experimentais de sólidos totais dos iogurtes probióticos (Processamento B).

Desvio padrão	0,1639
Erro padrão da média	0,0946
Média geral	16,6077
Coeficiente de variação	0,99

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Tratamentos	12	114,4287	9,5357	355,00**
Resíduo	26	0,6984	0,0269	
Total	38	115,1271		

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$)

5.4.7 – Contagem de probióticos

A contagem dos microrganismos probióticos variou de $3,0 \times 10^{17}$ a $6,9 \times 10^{19}$ UFC/mL para *Bifidobacterium* sp e $1,8 \times 10^{17}$ a $3,8 \times 10^{17}$ UFC/mL para *L. acidophilus* (processamento A), como mostra a Figura 33. No tratamento 8, elaborado com aspartame + sacarina, embora apresente maior n° de células viáveis (UFC/mL) não difere significativamente dos tratamentos 13 e 5, elaborados com sucralose, 7, com aspartame, e ao 6, com açúcar, e estatisticamente diferente dos demais.

As elevadas contagens de probióticos dos processamento A e B chamaram a atenção, levantando a hipótese dos meios utilizados não estarem selecionando adequadamente os microrganismos, permitindo o crescimento de mais de uma espécie simultaneamente, resultando na contagem não diferenciada.

Embora os meios utilizados: MRS maltose e MRS glicose mais soluções A, B e C, atendessem a recomendação de CHARTERIS *et al.* (1996), ROY (2001), não permitiram a obtenção de contagens suficientemente confiáveis.

Contagens significativamente inferiores foram observadas por Vinderola, Bailo & Reinheimer (2000). Ao estudarem a viabilidade de bactérias do iogurte durante a estocagem refrigerada a 5°C por 4 semanas, observaram que o nível de perda de viabilidade depende do tipo de iogurte (firme ou líquido, semi-desnatado ou integral) e da cultura láctica utilizada. As contagens iniciais de *L. acidophilus* e *B. bifidum* variaram de 10^6 a 10^7 UFC/mL, enquanto que no final da estocagem eram menores que 10^4 UFC/mL.

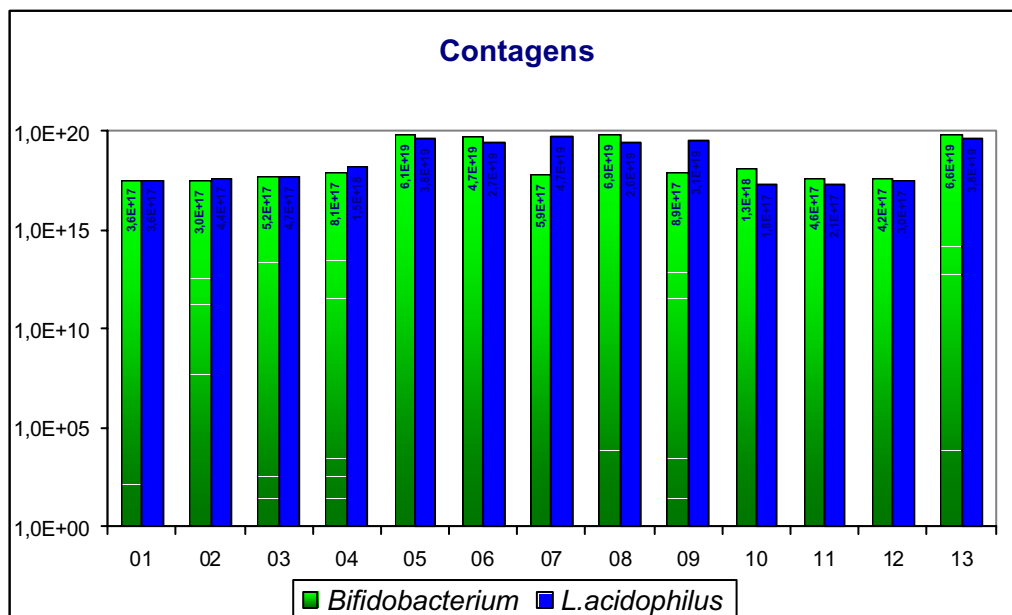


Figura 33 – Contagem de microrganismos probióticos no iogurte produzido no processamento A em UFC/mL.

Para o processamento B, as contagens foram de $2,6 \times 10^{11}$ a $4,5 \times 10^{17}$ UFC/mL para *Bifidobacterium* sp e de $2,2 \times 10^{13}$ a $4,6 \times 10^{17}$ UFC/mL para *L. acidophilus*, como mostra a Figura 34. As Tabelas 16, 17, 18 e 19 mostram a análise de variância da contagem de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* sp para os processamentos A e B, respectivamente. A maior contagem foi observada no tratamento 7 (com aspartame) estatisticamente igual aos tratamentos 8, com aspartame + sacarina, 9, com sucralose, 6 e 10, com açúcar, e estatisticamente diferente dos demais.

Os valores encontrados para as contagens mostram que os edulcorantes afetaram ligeiramente a viabilidade da cultura de probióticos

e que o uso de 0,025% de aspartame ou aspartame + sacarina ou 0,011% de sucralose, equivalentes a 5% de sacarose, resultou em maior crescimento dos microrganismos (tratamento 6 a 9), onde as contagens de *L. acidophilus* e de *Bifidobacterium* foram superiores às obtidas nos iogurtes sem açúcar (tratamento 1) e com açúcar (tratamento 2, 6 e 10). A contagem para *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* para ambos os processamentos foram superiores ao valor mínimo estabelecido pela legislação brasileira em vigor (BRASIL, 1997).

Conta

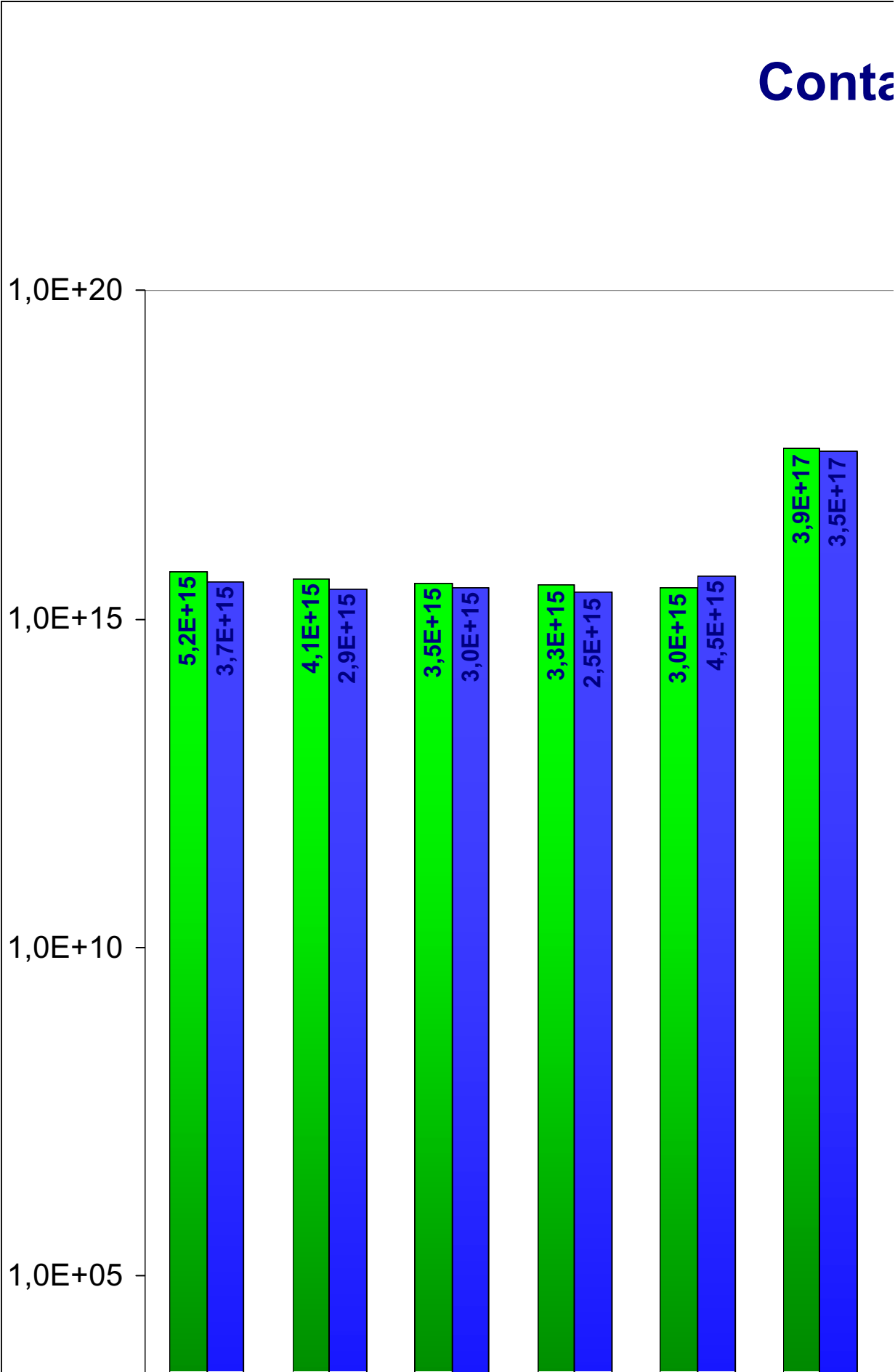


Figura 34 – Contagem de microrganismos probióticos no iogurte produzido no processamento B em (UFC/mL).

As elevadas contagens após a preparação são necessárias para garantir o efeito probiótico, uma vez que ocorre a perda da viabilidade dos microrganismos durante a estocagem.

Tabela 16 – Análise de variância para os dados experimentais da contagem de *L. acidophilus* (processamento A).

Desvio padrão	$2,95 \times 10^{18}$
Média geral	$5,04 \times 10^{18}$
Coeficiente de variação	$5,98 \times 10^1$

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	12	$3,27 \times 10^{36}$	$1,32 \times 10^{36}$	0,11**
Resíduo	13	$6,84 \times 10^{39}$	$2,85 \times 10^{38}$	
Total	25	$6,84 \times 10^{39}$		

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$)

Tabela 17 – Análise de variância para os dados experimentais da contagem de *Bifidobacterium* (processamento A).

Desvio padrão	$4,00 \times 10^{18}$
Média geral	$1,91 \times 10^{19}$
Coeficiente de variação	$2,09 \times 10^1$

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	12	$1,49 \times 10^{37}$	$1,49 \times 10^{37}$	0,017**
Resíduo	13	$2,15 \times 10^{40}$	$8,96 \times 10^{38}$	
Total	25	$2,15 \times 10^{40}$		

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$)

Tabela 18 – Análise de variância para os dados experimentais do *L. acidophilus* (processamento B).

Desvio padrão	$1,44 \times 10^{19}$
Média geral	$1,07 \times 10^{19}$
Coeficiente de variação	$1,34 \times 10^1$

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	12	$5,4 \times 10^{35}$	$5,4 \times 10^{35}$	0,002**
Resíduo	13	$7,1 \times 10^{39}$	$2,96 \times 10^{38}$	
Total	25	$7,1 \times 10^{39}$		

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$)

Tabela 19 – Análise de variância para os dados experimentais da contagem de *Bifidobacterium* (processamento B).

Desvio padrão	$2,04 \times 10^{18}$
Média geral	$1,51 \times 10^{19}$

Coeficiente de variação

 $1,35 \times 10^1$

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	12	$6,23 \times 10^{35}$	$6,23 \times 10^{35}$	0,002**
Resíduo	13	$9,48 \times 10^{39}$	$3,95 \times 10^{38}$	
Total	25	$9,48 \times 10^{39}$		

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$)

Em ambos os processamentos, houve maior contagem de *Bifidobacterium* sp. em relação aos *L. acidophilus* com exceção dos tratamentos 2, 4 e 9 para o processamento A e 5 e 11 para o processamento B, como mostram as Tabelas 6 e 7. Segundo Hattingh & Viljoen (2001), o crescimento do *Bifidobacterium* sp é inibido em pH 3,6. O pH dos iogurtes dos processamentos A e B foram superiores a 3,6, não havendo inibição da atividade da *Bifidobacterium* sp.

Dave & Shah (1997) relataram a obtenção de contagens inferiores às obtidas experimentalmente nos processamento A e B quando avaliaram a viabilidade das bactérias probióticas comerciais durante a produção e estocagem do iogurte por 35 dias. O número de probióticos durante a produção e a viabilidade destes organismos durante a estocagem foi dependente da espécie utilizada. Houve também redução de três ciclos logarítmicos da contagem de *Bifidobacterium* sp a partir da contagem inicial ($>10^6$) durante a estocagem do iogurte a 4 ou 10°C.

Rybka & Kalaisapathy (1996), Dave & Shah (1997) também observaram o crescimento simultâneo do *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* sp quando utilizou MRS – ágar com solução de maltose. Os autores utilizaram a diferença de tamanho das colônias para diferenciar as 2 espécies e segundo Dave & Shah (1996) o MRS ágar pode ser utilizado para a contagem total de probióticos.

5.5 – Determinação dos parâmetros reológicos dos iogurtes probióticos produzidos em laboratório

Os parâmetros reológicos dos iogurtes probióticos produzidos em laboratório obtidos pelo modelo da Lei da Potência e de Herschel-Bulkley, a partir da regressão não linear dos dados de taxa de deformação e tensão de cisalhamento, que estão apresentados nas Tabelas 20 e 21. As Figuras de 35 a 47 mostram os reogramas com o comportamento dos iogurtes do processamento A. Os produtos apresentaram comportamento de fluido não Newtoniano com presença de tixotropia.

Os iogurtes probióticos apresentaram índices de consistência (K) variando de 2,52 a 6,92 Pa.sⁿ para as curvas ascendentes, utilizando o modelo da Lei da Potência e de 1,17 a 6,68 Pa.sⁿ para o modelo de Herschel-Bulkley. O índice de comportamento de fluxo (n) variou de 0,19 a 0,33 utilizando o modelo da Lei da Potência, enquanto que para o modelo de Herschel-Bulkley, a variação foi 0,20 a 0,41. As tensões iniciais

de escoamento (τ_{OH}) oscilaram entre 1,35 a 37,19 Pa. Os coeficientes de determinação (R^2) variaram de 0,9797 a 0,9998 para as curvas ascendentes, para o modelo da Lei da Potência, enquanto que para o modelo de Herschel-Bulkley apresentaram valores entre 0,9781 a 0,9994. Ambos os modelos explicam mais de 97% dos resultados experimentais, podendo ser usados para fins preditivos.

Para as curvas descendentes, os valores de índices de consistência (K) encontrados foram 0,47 a 1,32 Pa.sⁿ para o modelo da Lei da Potência e de 0,09 a 0,36 Pa.sⁿ para o modelo de Herschel-Bulkley. Os índices de comportamento de fluxo (n) variaram de 0,48 a 0,59 e de 0,67 a 0,82, para os modelos da Lei da Potência e de Herschel-Bulkley, respectivamente. As tensões iniciais de escoamento (τ_{OH}) variaram de 24,99 a 108,17 Pa. Os valores dos coeficientes de determinação (R^2) demonstram que os modelos podem ser utilizados para descrever os resultados experimentais, uma vez que oscilaram de 0,9885 a 0,9988 e de 0,9718 a 0,9987 para os modelos da Lei da Potência e de Herschel-Bulkley, respectivamente.

Os reogramas com o comportamento reológico dos iogurtes do processamento B apresentaram três estágios (Figuras de 48 a 60), assim, um único modelo, como o da Lei da Potência ou de Herschel-Bulkley, não pode ser aplicado por toda a amplitude de variação da taxa de deformação (0 a 960 s⁻¹). Em taxas de deformação entre 0 e 384 s⁻¹ (0 a 100 rpm), os modelos descreveram o comportamento reológico das

amostras a partir da relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento com coeficiente de determinação - $R^2 > 0,75$.

Os parâmetros reológicos dos iogurtes probióticos produzidos em laboratório no processamento B obtidos pelos modelos da Lei da Potência e de Herschel-Bulkley, a partir da relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento, estão apresentados nas Tabelas 22 e 23.

Os iogurtes probióticos elaborados apresentaram índices de consistência (K) variando de 1,87 a 5,24 Pa.sⁿ, para as curvas ascendentes, utilizando o modelo da Lei da Potência, e de 0,43 a 3,40 Pa.sⁿ para o modelo de Herschel-Bulkley. Os índices de comportamento de fluxo (n) variaram de 0,11 a 0,27, utilizando o modelo da Lei da Potência, enquanto pelo modelo de Herschel-Bulkley, a variação foi de 0,19 a 0,41. As tensões iniciais de escoamento (τ_{OH}) oscilaram entre 6,85 a 50,67 Pa. Os coeficientes de determinação (R^2) variaram de 0,8459 a 0,9884 para as curvas ascendentes, para o modelo da Lei da Potência, enquanto pelo modelo de Herschel-Bulkley os valores oscilaram entre 0,7973 a 0,9570, demonstrando que ambos os modelos explicam mais de 75% dos resultados experimentais.

Para as curvas descendentes, os valores dos índices de consistência (K) encontrados foram 0,04 a 0,15 Pa.sⁿ, para o modelo da Lei da Potência, e de 0,005 a 0,084 Pa.sⁿ para o modelo de Herschel-Bulkley. Os índices de comportamento de fluxo (n) variaram de 0,53 a 0,99 e de 0,84 a 1,02 para os modelos da Lei da Potência e de Herschel-

Bulkley, respectivamente. As tensões iniciais de escoamento (τ_{OH}) variaram de 4,84 a 54,40 Pa. Os valores dos coeficientes de determinação (R^2) demonstram que os modelos podem ser utilizados para descrever os resultados experimentais, uma vez que os mesmos oscilaram de 0,9879 a 0,9999 e de 0,9996 a 0,9999 para os modelos da Lei da Potência e de Herschel-Bulkley, respectivamente.

Não foi observada influência do tipo e da concentração de edulcorante no parâmetros reológicos dos iogurtes. As diferenças observadas entre os processamentos A e B estão provavelmente relacionadas ao tipo de cultura utilizada.

Os iogurtes apresentaram comportamento não Newtoniano com presença de tixotropia. Os índices de consistência (K) foram maiores nas curvas ascendentes em comparação com as descendentes. A diferença entre as curvas ascendentes e descendentes, com a formação de uma curva de histerese é a medida da extensão da quebra estrutural causada pelo cisalhamento. Este comportamento é típico dos fluidos tixotrópicos. O índice de comportamento de fluxo (n) foi maior na curva descendente, demonstrando que o produto apresenta comportamento mais próximo ao dos fluidos newtonianos ($n=1$).

Segundo Holdsworth (1993), a principal característica da relação cisalhamento – deformação é o desenvolvimento da curva de histerese; quanto maior a área sob a curva, maior o efeito tixotrópico.

Observou-se também aumento da tensão de cisalhamento com o aumento da taxa de deformação até aproximadamente 384 s^{-1} (100 rpm), quando um aumento adicional da taxa de deformação provocou uma diminuição da tensão de cisalhamento. Para os iogurtes contendo 4% de açúcar ou valores equivalentes em edulcorantes, o aumento da tensão de cisalhamento atinge um máximo em 75 Pa e taxas de deformação variando de 38 a 269 s^{-1} , enquanto nos iogurtes adicionados de 5 e 6 % de açúcar ou valores equivalentes de edulcorantes, o máximo é obtido em 102 Pa e taxas de deformação variando de 38 a 384 s^{-1} .

Este pico de tensão de cisalhamento na curva foi explicado por Teggatz & Morris (1990) como o ponto de quebra das ligações entre os exo-polissacarídeos e as células bacterianas em taxas de deformação de 220 s^{-1} e 150 Pa. O tratamento térmico e condições de incubação durante a preparação do iogurte podem explicar estas pequenas diferenças.

Hassan *et al.* (1996) determinando as propriedades reológicas de um iogurte desnatado fermentado por três tipos de culturas (filante encapsulada, não filante encapsulada e não filante não encapsulada) observaram resultados semelhantes. A cultura filante encapsulada apresentou uma quebra entre as ligações de exo-polissacarídeos e células bacterianas numa taxa de deformação igual a 376 s^{-1} e tensão de cisalhamento de 117 Pa, valores muito próximos aos observados experimentalmente.

A ausência do pico de cisalhamento nas curvas reológicas dos iogurtes do processamento A segundo Hassan *et al.* (1996), é típica de produtos elaborados com culturas não filantes, devido às interações proteína-proteína.

Observou-se também que os iogurtes do processamento B apresentaram maior curva de histerese quando comparados aos do processamento A. Como os iogurtes do processamento B eram muito mais consistentes que os iogurtes do processamento A, ao serem submetidos ao cisalhamento apresentaram maior quebra estrutural, e conseqüentemente, maior índice de comportamento de fluxo, ou seja, os iogurtes ficaram mais líquidos.

A presença de tixotropia em iogurtes também foi observada por Basak & Ramaswamy (1994) quando avaliaram simultaneamente a taxa de deformação e a dependência do tempo de iogurtes batidos e a influência da adição de pectina e polpa de morango, utilizando um viscosímetro rotacional.

Barrantes, Tamime & Sword (1994) b não observaram mudanças nas propriedades reológicas dos iogurtes quando utilizaram substitutos de gordura. Os autores encontraram similaridade nas propriedades reológicas de todos os iogurtes.

Penna & Telis-Romero (1998) estudaram a influência de diferentes teores de sólidos, diferentes temperaturas de tratamento térmico do leite e diferentes temperaturas da amostra sobre as propriedades reológicas do

iogurte natural batido. Os iogurtes apresentaram comportamento pseudoplásticos, independente das variáveis em estudo.

O adequado conhecimento destas características reológicas dos produtos lácteos é essencial para o projeto, manuseio de materiais e na escolha e dimensionamento correto de equipamentos usados na indústria de laticínios.

Tabela 20 - Parâmetros reológicos dos iogurtes do processamento A obtidos pelo Modelo da Lei da Potência ($\tau = K \dot{\gamma}^n$).

Tratamentos	Curvas ascendentes			Curvas descendentes		
	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²
1-1	3,30	0,30	0,9994	0,79	0,52	0,9927
1-2	3,47	0,31	0,9998	0,90	0,52	0,9932
2-1	6,10	0,25	0,9994	1,32	0,49	0,9927
2-2	5,80	0,26	0,9992	1,32	0,50	0,9935
3-1	4,90	0,26	0,9993	0,86	0,54	0,9917
3-2	4,00	0,30	0,9997	0,82	0,56	0,9926
4-1	3,74	0,29	0,9985	0,82	0,53	0,9903
4-2	4,02	0,27	0,9988	0,84	0,52	0,9914
5-1	6,83	0,23	0,9954	0,89	0,54	0,9886
5-2	6,34	0,20	0,9921	0,76	0,54	0,9900
6-1	6,92	0,19	0,9797	0,98	0,50	0,9902
6-2	6,07	0,20	0,9823	1,03	0,48	0,9942
7-1	3,64	0,28	0,9997	0,63	0,55	0,9914
7-2	3,27	0,30	0,9984	0,61	0,56	0,9967
8-1	3,33	0,30	0,9980	0,64	0,55	0,9924

8-2	2,76	0,33	0,9980	0,64	0,56	0,9922
9-1	4,93	0,25	0,9979	0,76	0,54	0,9904
9-2	4,70	0,25	0,9969	0,76	0,54	0,9988
10-1	5,26	0,22	0,9972	0,54	0,58	0,9908
10-2	4,22	0,26	0,9941	0,57	0,58	0,9897
11-1	2,52	0,32	0,9986	0,60	0,55	0,9924
11-2	3,29	0,28	0,9989	0,47	0,59	0,9897
12-1	3,09	0,29	0,9972	0,50	0,58	0,9919
12-1	3,00	0,29	0,9978	0,51	0,58	0,9926
13-1	2,61	0,31	0,9993	0,47	0,58	0,9893
13-2	2,90	0,31	0,9991	0,71	0,53	0,9885

1 e 2 – representam embalagens diferentes do mesmo produto

Tabela 21 - Parâmetros reológicos dos iogurtes do Processamento A

obtidos pelo Modelo de Herschel-Bulkley ($\tau = \tau_{OH} + K_H \dot{\gamma}^{n_H}$).

Tratamentos	Curvas ascendentes				Curvas descendentes			
	τ_{OH}	K_H (Pa.s ⁿ)	n_H	R^2	τ_{OH}	K_H (Pa.s ⁿ)	n_H	R^2
1-1	21,35	2,20	0,35	0,9994	37,98	0,15	0,77	0,9987
1-2	22,84	2,29	0,36	0,9983	37,29	0,22	0,73	0,9985
2-1	24,94	4,49	0,29	0,9988	46,11	0,32	0,70	0,9986
2-2	22,66	4,36	0,29	0,9983	43,32	0,36	0,67	0,9985
3-1	31,65	3,06	0,32	0,9983	39,09	0,21	0,74	0,9977
3-2	16,42	3,13	0,34	0,9993	36,21	2,19	0,38	0,9718
4-1	37,11	1,82	0,38	0,9943	37,46	0,18	0,75	0,9972
4-2	35,99	2,06	0,36	0,9900	35,66	0,20	0,73	0,9976
5-1	1,58	6,68	0,23	0,9952	48,40	0,14	0,81	0,9969
5-2	1,85	6,21	0,20	0,9921	38,12	0,14	0,78	0,9981
6-1	5,26	5,63	0,21	0,9809	39,22	0,20	0,71	0,9983
6-2	6,85	6,35	0,20	0,9781	93,16	0,20	0,73	0,9972
7-1	12,14	2,92	0,30	0,9990	31,76	0,14	0,77	0,9980
7-2	10,03	2,69	0,31	0,9984	28,79	0,16	0,75	0,9984
8-1	2,83	2,58	0,34	0,9976	29,68	0,16	0,75	0,9974

8-2	2,93	3,13	0,30	0,9977	31,65	0,14	0,77	0,9987
9-1	1,35	4,83	0,25	0,9980	38,22	0,15	0,78	0,9978
9-2	3,53	4,45	0,26	0,9983	38,67	0,14	0,79	0,9969
10-1	37,19	2,80	0,29	0,9952	30,28	0,12	0,80	0,9975
10-2	36,12	2,12	0,34	0,9832	32,87	0,12	0,81	0,9970
11-1	27,91	1,21	0,41	0,9923	27,40	0,15	0,75	0,9965
11-2	28,46	1,76	0,36	0,9988	27,08	0,11	0,80	0,9958
12-1	27,31	1,82	0,36	0,9988	24,99	0,14	0,77	0,9967
12-1	28,15	1,55	0,38	0,9927	25,31	0,14	0,77	0,9975
13-1	30,58	1,17	0,41	0,9929	28,24	0,09	0,82	0,9967
13-2	32,58	1,32	0,41	0,9927	31,65	0,15	0,75	0,9951

Tabela 22 - Parâmetros reológicos dos iogurtes do Processamento B

obtidos pelo Modelo da Lei da Potência ($\tau = K \dot{\gamma}^n$).

Tratamentos	Curvas ascendentes			Curvas descendentes		
	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²
1-1	2,05	0,22	0,9533	0,07	0,61	0,9946
1-2	2,27	0,21	0,9321	0,09	0,59	0,9885
2-1	2,17	0,21	0,9144	0,12	0,53	0,9907
2-2	1,87	0,24	0,9232	0,13	0,53	0,9910
3-1	2,07	0,23	0,9045	0,06	0,64	0,9879
3-2	2,65	0,20	0,9050	0,06	0,64	0,9909
4-1	3,85	0,13	0,8767	0,05	0,99	0,9999
4-2	3,78	0,13	0,8459	0,08	0,61	0,9837
5-1	2,29	0,20	0,9290	0,09	0,56	0,9884
5-2	2,95	0,17	0,8857	0,12	0,54	0,9904
6-1	2,48	0,25	0,9656	0,11	0,62	0,9912
6-2	2,76	0,23	0,9556	0,10	0,61	0,9914
7-1	3,21	0,21	0,9552	0,04	0,75	0,9937
7-2	3,06	0,21	0,9603	0,04	0,78	0,9971
8-1	5,24	0,15	0,9177	0,05	0,71	0,9929
8-2	4,02	0,19	0,9522	0,06	0,71	0,9929

9-1	2,40	0,26	0,9807	0,08	0,67	0,9921
9-2	2,29	0,27	0,9884	0,08	0,66	0,9922
10-1	4,66	0,15	0,9134	0,14	0,58	0,9913
10-2	5,09	0,14	0,9145	0,15	0,57	0,9909
11-1	4,31	0,15	0,9355	0,05	0,72	0,9947
11-2	3,54	0,18	0,9317	0,05	0,70	0,9930
12-1	5,15	0,11	0,8966	0,09	0,61	0,9916
12-1	2,88	0,18	0,9536	0,05	0,68	0,9935
13-1	3,36	0,18	0,9565	0,09	0,62	0,9923
13-2	2,72	0,20	0,9648	0,09	0,62	0,9923

1 e 2 – representam embalagens diferentes do mesmo produto

Tabela 23 - Parâmetros reológicos dos iogurtes do Processamento B obtidos pelo Modelo de Herschel-Bulkley ($\tau = \tau_{OH} + K_H \dot{\gamma}^{n_H}$).

Tratamentos	Curvas ascendentes				Curvas descendentes			
	τ_{OH}	K_H (Pa.s ⁿ)	n_H	R^2	τ_{OH}	K_H (Pa.s ⁿ)	n_H	R^2
1-1	27,96	0,44	0,41	0,9246	5,81	0,008	0,95	0,9997
1-2	31,51	0,43	0,41	0,8957	6,57	0,008	0,95	0,9998
2-1	27,67	0,50	0,38	0,8802	6,58	0,015	0,84	0,9997
2-2	25,81	0,44	0,41	0,8898	6,65	0,017	0,84	0,9996
3-1	26,59	0,53	0,39	0,8708	5,42	0,005	1,01	0,9997
3-2	34,33	0,52	0,39	0,8657	5,30	0,008	0,95	0,9998
4-1	43,03	0,61	0,31	0,8330	6,67	0,014	0,86	0,9996
4-2	42,87	0,57	0,31	0,7973	6,39	0,013	0,86	0,9996
5-1	30,49	0,43	0,39	0,8924	6,16	0,009	0,91	0,9996
5-2	37,70	0,48	0,37	0,8310	6,64	0,015	0,85	0,9997
6-1	9,50	1,85	0,28	0,9570	7,82	0,017	0,90	0,9999
6-2	8,13	2,18	0,25	0,9491	7,52	0,015	0,92	0,9999
7-1	9,02	2,55	0,23	0,9499	5,01	0,007	1,02	0,9999
7-2	6,85	2,56	0,25	0,9555	5,70	0,076	1,03	0,9999
8-1	22,60	3,40	0,19	0,9095	6,23	0,009	0,99	0,9999
8-2	26,65	2,11	0,25	0,9367	6,34	0,009	0,99	0,9999

9-1	26,26	0,93	0,37	0,9537	7,04	0,011	0,97	0,9999
9-2	27,37	0,81	0,39	0,9250	7,19	0,012	0,96	0,9999
10-1	36,50	1,89	0,24	0,8808	8,98	0,019	0,88	0,9999
10-2	37,69	2,14	0,22	0,8907	9,39	0,019	0,88	0,9999
11-1	35,60	1,63	0,25	0,9089	4,84	0,010	0,96	0,9999
11-2	26,33	1,65	0,25	0,9016	5,48	0,009	0,98	0,9999
12-1	50,67	1,08	0,25	0,8653	6,87	0,013	0,92	0,9999
12-2	34,46	0,65	0,36	0,9273	4,86	0,009	0,95	0,9998
13-1	38,81	0,77	0,34	0,9320	6,58	0,013	0,91	0,9999
13-2	31,69	0,75	0,36	0,9446	6,57	0,014	0,91	0,9999

1 e 2 – representam embalagens diferentes do mesmo produto

Figura 35-36

Figura 37-38

Figura 39-40

Figura 41-42

Figura 43-44

Figura 45-46

Figura 47

Figura 48-49

Figura 50-51

Figura 52-53

Figura 54-55

Figura 56-57

Figura 58-59

Figura 60

5.6 – Análise sensorial

Os resultados das avaliações sensoriais dos tratamentos para os processamentos A e B, para os atributos aparência e cor, consistência, sabor e aroma e aceitabilidade geral podem ser vistos nas Tabelas 24 e 25 e nas Figuras 61 e 62.

Em relação a aparência o tratamento 1 (referência) do processamento A foi o que recebeu maior nota 7,8 para este atributo e foi estatisticamente igual aos tratamentos 5 (sucralose), 6 e 10 (com açúcar). Os iogurtes elaborados com aspartame + sacarina não diferiram estatisticamente da aparência daqueles elaborados com açúcar com exceção do tratamento 8

A aparência e cor para o processamento B foi estatisticamente igual em todos tratamentos. A melhor aparência do processamento B

pode estar relacionada ao tipo de cultura utilizada, resultando em menor sinérese. Além disso foi observado que os produtos apresentaram cor característica, sem grumos, e com aspecto homogêneo.

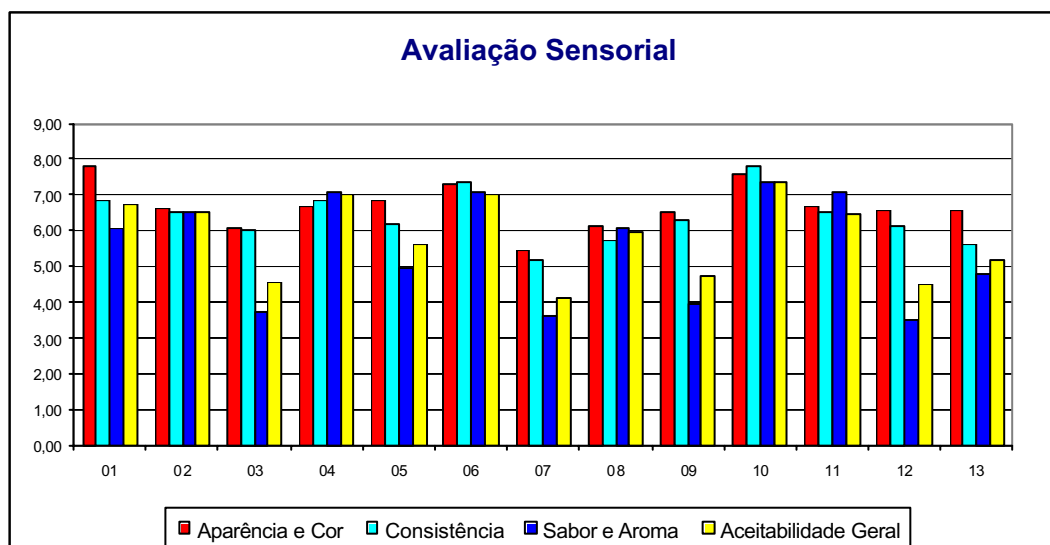


Figura 61 – Avaliação sensorial dos iogurtes probióticos do processamento A.

Tabela 24 – Atributos sensoriais dos iogurtes probióticos obtidos no processamento A.

Tratamentos	Aparência e cor	Consistência	Sabor e aroma	Aceitabilidade geral
01	7,80 ^a	6,86 ^{abc}	6,08 ^b	6,74 ^{ab}
02	6,64 ^{bc}	6,52 ^{bcd}	6,50 ^{ab}	6,54 ^{abc}
03	6,06 ^{cd}	6,04 ^{cde}	3,76 ^{de}	4,58 ^{fg}
04	6,68 ^{bc}	6,88 ^{abc}	7,10 ^{ab}	7,04 ^a
05	6,84 ^{abc}	6,18 ^{cde}	4,94 ^c	5,62 ^{cde}
06	7,32 ^{ab}	7,34 ^{ab}	7,06 ^{ab}	7,02 ^a
07	5,48 ^d	5,20 ^e	3,64 ^e	4,14 ^g
08	6,12 ^{cd}	5,72 ^{de}	6,10 ^b	5,98 ^{bcd}
09	6,54 ^{bc}	6,32 ^{bcd}	3,94 ^{cde}	4,76 ^{efg}
10	7,56 ^{ab}	7,80 ^a	7,34 ^a	7,36 ^a
11	6,68 ^{bc}	6,52 ^{bcd}	7,06 ^{ab}	6,48 ^{abc}
12	6,56 ^{bc}	6,14 ^{cde}	3,50 ^e	4,54 ^{fg}
13	6,58 ^{bc}	5,62 ^{de}	4,80 ^{cd}	5,18 ^{def}

Letras iguais para a mesma coluna indicam que não há diferença significativa.

Tabela 25 – Atributos sensoriais dos iogurtes probióticos obtidos no processamento B.

Tratamentos	Aparência e cor	Consistência	Sabor e aroma	Aceitabilidade geral
01	7,22 ^a	7,16 ^a	5,10 ^{bc}	5,84 ^{de}
02	7,32 ^a	7,52 ^a	7,38 ^a	7,36 ^{ab}
03	7,54 ^a	7,26 ^a	5,90 ^b	6,40 ^{bcd}
04	7,42 ^a	7,28 ^a	7,14 ^a	7,00 ^{abc}
05	7,10 ^a	7,06 ^a	4,46 ^c	5,14 ^e
06	7,14 ^a	7,00 ^a	6,96 ^a	6,92 ^{abc}
07	7,26 ^a	7,00 ^a	5,52 ^b	6,26 ^{cd}
08	7,34 ^a	7,06 ^a	7,02 ^a	7,02 ^{abc}
09	6,92 ^a	6,86 ^a	4,30 ^c	5,22 ^e
10	7,30 ^a	7,36 ^a	7,58 ^a	7,40 ^a
11	7,30 ^a	7,32 ^a	5,76 ^b	6,22 ^{cd}
12	7,18 ^a	7,58 ^a	7,48 ^a	7,40 ^a
13	7,28 ^a	7,16 ^a	5,94 ^b	6,30 ^{cd}

Letras iguais para a mesma coluna indicam que não há diferença significativa.

As Tabelas de 26 e 27 apresentam as análises de variância dos dados experimentais da aparência e cor para os processamentos A e B, respectivamente.

Tabela 26 - Análise de variância para os dados experimentais de aparência e cor para o processamento A.

Desvio padrão	1,5325
Erro padrão da média	0,2167
Média geral	6,6815
Coeficiente de variação	22,94

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	49	493,6938	10,0754	4,29**
Tratamentos	12	232,3785	19,3649	8,25**
Resíduo	588	1381,0062	2,3486	
Total	649	2107,0785		

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$).

Tabela 27 - Análise de variância para os dados experimentais de aparência e cor para o processamento B.

Desvio padrão	1,3067
Erro padrão da média	0,18487
Média geral	7,2554
Coeficiente de variação	18,01

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Blocos	49	323,6062	6,6042	3,87**
Tratamentos	12	14,0462	1,1705	0,69NS
Resíduo	588	1003,9538	1,7074	
Total	649	1341,6062		

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$).

NS: não significativo.

Para o processamento A, o tratamento 10 (com 6 % de açúcar) foi o que obteve maior nota (7,8), para o atributo consistência, relacionada ao

elevado teor de sólidos totais. Este resultado mostra que os provadores gostaram muito de sua consistência, que é estatisticamente igual aos tratamentos 1 (referência) e 6 (com 5% de açúcar) e 4 (aspartame + sacarina), e é estatisticamente diferente dos demais. Quando utilizou-se 0,025 e 0,030% de aspartame + sacarina, equivalentes a 5 e 6% de açúcar, respectivamente, os iogurtes apresentaram diferença significativa na consistência quando comparados com sacarose, relacionada ao menor teor de sólidos.

Para o processamento B não houve diferença significativa entre as amostras para o atributo consistência, indicando que não houve diferença no grau de aceitação da consistência das amostras por parte dos provadores, apesar da diferença no teor de sólidos totais.

As análises de variância para os dados experimentais de consistência para os processamentos A e B estão apresentadas nas Tabelas 28 e 29, respectivamente.

Tabela 28 - Análise de variância para os dados experimentais de consistência para o processamento A.

Desvio padrão	1,5392
Erro padrão da média	0,2177
Média geral	6,3954
Coeficiente de variação	24,07

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	49	416,4631	8,4992	3,59**
Tratamentos	12	303,8462	25,3205	10,69**
Resíduo	588	1393,0769	2,3692	
Total	649	2113,3862		

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$).

Tabela 29 - Análise de variância para os dados experimentais de consistência para processamento B.

Desvio padrão	1,3909
Erro padrão da média	0,1967
Média geral	7,2015
Coeficiente de variação	19,31

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	49	280,2908	5,7202	2,96**
Tratamentos	12	26,7385	2,2282	1,15NS
Resíduo	588	1137,5692	1,9346	
Total	649	1444,5985		

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$).

NS: não significativo.

O iogurte de ambos processos foram fabricados com teores de sólidos, acima de 13% de sólidos totais, mas os iogurtes do processamento B apresentaram maior consistência quando comparados aos iogurte do processamento A., resultando em maior preferência pelos provadores.

Estes resultados também foram observados nas determinações das características reológicas dos iogurtes. Hassan *et al.* (1996) e Teggats & Morris (1990) atribuem a maior consistência à produção de exopolissacarídeos pela cultura. No nosso experimento isto pode ter ocorrido com a cultura do processamento B.

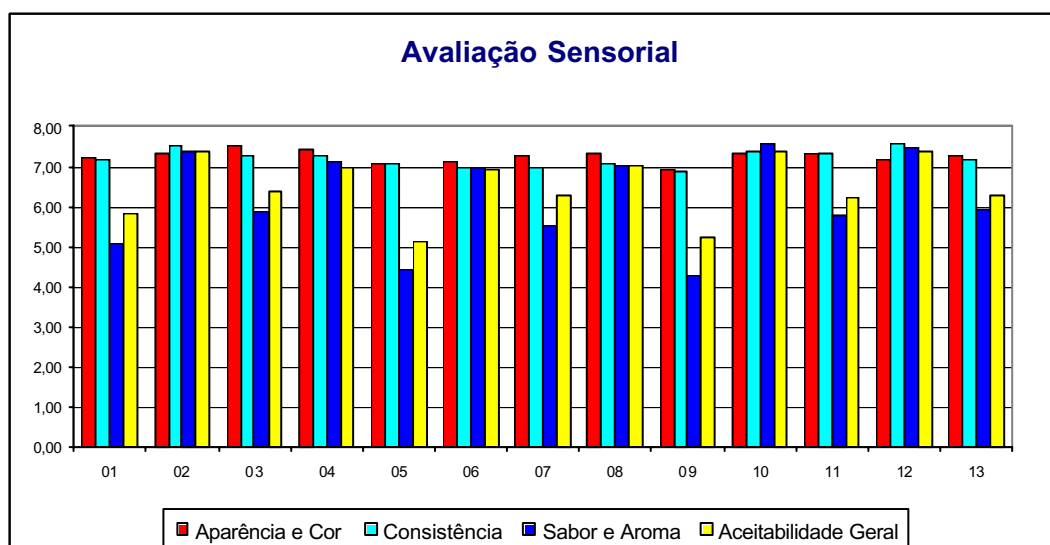


Figura 62 – Avaliação sensorial dos iogurtes probióticos do processamento B.

No processamento A, os provadores consideraram o sabor e o aroma do iogurte do tratamento 10, elaborado com 6% de açúcar o

melhor, atribuindo nota 7,34 e demonstrando que eles gostaram moderadamente do produto, estatisticamente igual aos tratamentos 2 e 6 elaborados com 4 e 5% de açúcar, respectivamente, e 4, elaborado com aspartame + sacarina. Os produtos elaborados com aspartame e sucralose em quantidade equivalentes a 4 e 5% de açúcar receberam as menores notas. Isto pode ser explicado porque a concentração de edulcorante utilizada não foi suficiente para promover o dulçor esperado.

O iogurte elaborado com 0,025% de aspartame + sacarina (tratamento 8) não apresentou diferença significativa daquele elaborado com 5% de sacarose.

Ao se utilizar 0,030% de aspartame + sacarina (tratamento 12), houve diferença significativa no sabor e aroma quando comparado com o elaborado com 6% de açúcar. Esta menor preferência provavelmente está relacionada ao elevado teor de acidez (139,31°D) produzida durante a fermentação.

As Tabelas 30 e 31 mostram as análises de variância para os dados experimentais de sabor e aroma, para os tratamentos A e B, respectivamente.

Tabela 30 - Análise de variância para os dados experimentais de sabor e aroma para o processamento A.

Desvio padrão	1,6412
Erro padrão da média	0,2321
Média geral	5,5262
Coeficiente de variação	29,7

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	49	378,0554	7,7154	2,86**
Tratamentos	12	1310,1354	109,1779	40,53**
Resíduo	588	1583,8646	2,6936	

Total 649 3272,0554

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$).

Tabela 31 - Análise de variância para os dados experimentais de sabor e aroma para o processamento B.

Desvio padrão	1,5194
Erro padrão da média	0,2149
Média geral	6,1954
Coeficiente de variação	24,53

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	49	426,1862	8,6977	3,77*
Tratamentos	12	786,4862	65,5405	28,39**
Resíduo	588	1357,5138	2,3087	
Total	649	2570,1862		

* Teste significativo a 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$).

Para o atributo sabor e aroma, no tratamento B, o iogurte do tratamento 10, elaborado 6% açúcar (nota 7,58), é estatisticamente igual aos tratamentos 2 e 6 (com 4 e 5% de açúcar, respectivamente) e 4, 8 e 12, elaborados com aspartame + sacarina, e estatisticamente diferente dos demais. Segundo Nelson (2000), a combinação da sacarina com outros adoçantes como o aspartame diminui o sabor amargo e residual metálico, o que pode ter favorecido a preferência por estes tratamentos.

A adição de sucralose, em todas as concentrações testadas, influenciaram negativamente o sabor e aroma dos iogurte, resultando nas menores notas para este atributo.

Os provadores não observaram diferenças significativas no sabor e aroma dos iogurtes quando aumentou-se a concentração de aspartame de 0,02, para 0,025 e para 0,03%, equivalentes a 4, 5 e 6% de sacarose, sem diferença significativa com o iogurte elaborado sem açúcar e sem edulcorante.

Pode-se observar também que as médias das notas de sabor e aroma para o processamento B foram maiores em relação ao processamento A, provavelmente pelo maior pH e menor acidez titulável. Segundo Man & Jones (1996) o aumento da acidez pode alterar o perfil de sabor dos iogurtes, diminuindo a preferência do produto.

Em relação à aceitabilidade geral dos iogurtes do processamento A, o iogurte do tratamento 10 com 6% de açúcar (nota 7,36), foi o preferido, mostrando que os provadores gostaram moderadamente do

produto. Este produto é estatisticamente igual aos iogurtes dos tratamentos 4 (aspartame + sacarina), 6, elaborado com 5% de açúcar, 1 (referência), 2, com 5% de açúcar, e 11, com aspartame, e estatisticamente diferente dos demais.

No processamento B, os resultados encontrados para a aceitabilidade geral coincide com os resultados de sabor e aroma. Onde o iogurte do tratamento 10, elaborado com 6% de açúcar, nota 7,34, é não difere significativamente aos iogurtes dos tratamentos 2 e 6 (com 4 e 5% de açúcar) e 4, 8 e 12, elaborados com aspartame + sacarina, e estatisticamente diferente dos demais. Isto demonstra que a aceitabilidade do iogurte está diretamente relacionada ao sabor e o aroma do produto.

As análises de variância para a aceitabilidade geral dos iogurtes dos processamentos A e B estão apresentados nas Tabelas 32 e 33, respectivamente.

Tabela 32 - Análise de variância para os dados experimentais de aceitabilidade geral para o processamento A.

Desvio padrão	1,5346
Erro padrão da média	0,217
Média geral	5,8446
Coeficiente de variação	26,26

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	49	290,0754	5,9199	2,51**
Tratamentos	12	734,4862	61,2072	25,99**
Resíduo	588	1384,7446	2,355	
Total	649	2409,3062		

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$).

Tabela 33 - Análise de variância para os dados experimentais de aceitabilidade geral para o processamento B.

Desvio padrão	1,4923
Erro padrão da média	0,211
Média geral	6,4954
Coeficiente de variação	22,97

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	49	357,2554	7,2909	3,27**
Tratamentos	12	363,8062	30,3172	13,61**
Resíduo	588	1309,4246	2,2269	
Total	649	2030,4862		

** Teste significativo a 1% de probabilidade ($P < 0,01$).

Fonseca & Neves (1998) elaboraram um iogurte dietético de graviola com leite desnatado, polpa de graviola, cultura láctica e três adoçantes: aspartame, sucralose e frutose, para determinar a concentração adequada de cada aditivo através de análise sensorial e

comparar o valor calórico dos produtos com uma amostra com 10% de sacarose. Os produtos preferidos foram aqueles elaborados com aspartame, seguidos pelos elaborados com frutose e sucralose. Os produtos apresentaram valor calórico menor que o produto com 10% de sacarose.

Os resultados obtidos por Fonseca & Neves (1998) são semelhantes aos obtidos por Silva *et al.* (1995), que desenvolveram e avaliaram as características físico-químicas e sensoriais de iogurte “light” elaborado com leite desnatado, aspartame e “dairy-lo” (concentrado protéico de soro). Os iogurtes preferidos sensorialmente foram os elaborados com 120 ppm (0,012%) ou 135 ppm (0,0135%) de aspartame e 2% de “dairy-lo”. Estas quantidades são menores que as substituições realizadas nos processamento A e B de 0,020 a 0,030% de aspartame.

Barrantes, Tamime & Sword (1994a) também utilizaram os atributos aparência e cor, corpo e textura, sabor e aroma e aceitabilidade geral e escala hedônica para avaliar iogurtes de baixa caloria, frescos e estocados durante 20 dias a 5°C. Os provadores consideraram regulares (valor 3) a maioria dos iogurtes e consideraram que os substitutos de gordura não afetaram a qualidade do produto.

As notas para os atributos aparência e consistência (nos três níveis de adição), sabor e aroma e aceitabilidade geral (nos níveis de 5 e 6%) foram maiores para os iogurtes adicionados de açúcar, diminuindo com a adição de adoçantes, demonstrando que a adição de adoçantes pode

influenciar nesses atributos. Entretanto, no processamento B os diferentes níveis de adição de edulcorantes não influenciaram a preferência dos provadores pelos iogurtes com aspartame + sacarina. Provavelmente o tipo de cultura utilizada teve maior influência nas características sensoriais do que o tipo e concentração de edulcorante, proporcionando ao iogurte uma aparência mais homogênea e um sabor mais suave e o uso combinado dos dois adoçantes (aspartame + sacarina) também favoreceu a preferência.

De uma maneira geral, os iogurtes elaborados com aspartame + sacarina apresentaram características sensoriais mais próximas daquelas obtidas nos iogurtes elaborados com açúcar.

5.7 - Formulação otimizada

Analisando simultaneamente as características físico-químicas, sensoriais e reológicas, o iogurte elaborado com aspartame + sacarina (tratamento 8) do processamento B foi considerado o melhor.

O produto apresentou pH mais alto e conseqüentemente menor acidez, obteve as maiores notas para os atributos sensoriais analisados estatisticamente iguais aos adicionados de açúcar em relação aos demais. Os resultados reológicos foram homogêneos para todos os produtos do processamento B. Considerando a dificuldade de obtenção de resultados confiáveis na contagem de probióticos, este parâmetro não foi considerado para a escolha da melhor formulação.

Os resultados das avaliações físico-químicas do iogurte otimizado estão apresentados na Tabela 34.

Tabela 34 - Características físico-químicas médias da formulação otimizada

Dias	Valor de pH	Gordura %	Sólidos Totais %	Acidez °D	Proteínas %
01	4,88 ± 0,01	0,00 ± 0,00	16,15 ± 0,01	79,28 ± 0,58	5,00 ± 0,30
15	4,65 ± 0,06			99,54 ± 0,00	
30	4,50 ± 0,00			122,10 ± 0,20	

Média de 3 determinações.

5.7.1 – Valor de pH

A Figura 63 apresenta a variação de pH durante os 30 dias de armazenamento do produto. Após 1 dia de fabricação, o iogurte apresentou pH 4,88, diminuindo gradativamente até alcançar 4,50 após 30 dias. Esta diminuição do pH está relacionada à pós acidificação do iogurte durante o armazenamento refrigerado. Oliveira & Damin (2002) também observaram ligeira diminuição do pH (de 4,12 a 4,55 e 4,03 a 4,43 após 1 e 7 dias a 4°C), quando estudaram a viabilidade de bactérias do iogurte e das probióticas em leites fermentados.

Ellis (1996) obteve valores de pH entre 4,1 e 4,2 no tempo zero e 3,9 a 4,0 após 30 dias de armazenamento quando analisou 3 marcas de iogurtes.

Segundo Beal *et al.*(1999) a queda do pH nos sete primeiro dias de armazenamento está relacionada com o consumo de lactose e produção de ácido láctico e galactose, mostrando a existência de atividade metabólica da bactéria láctica durante a estocagem refrigerada, conhecida como pós-acidificação.

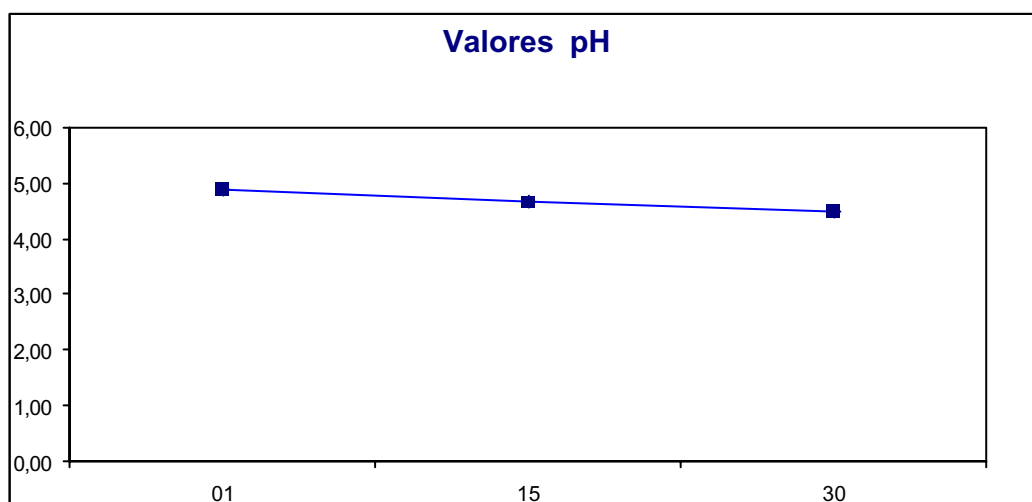


Figura 63 - Valores médios de pH dos iogurtes elaborados conforme o tratamento 8.

5.7.2 – Acidez titulável

A Figura 64 mostra a variação na acidez titulável do iogurte durante os 30 dias de armazenamento. A acidez titulável aumentou de 79,28 para

122,10°D. Estes valores demonstram a pós acidificação durante o armazenamento. Dave & Shah (1996) também observaram aumento na acidez depois de 35 dias de estocagem de um iogurte elaborado com culturas tradicionais e probióticas. Segundo Beal *et al.* (1999) os iogurtes estão sujeitos ao decréscimo de pH e aumento da acidez durante a estocagem refrigerada, conhecida como pós-acidificação. Isso se deve à persistente atividade das bactérias durante a estocagem do produto.

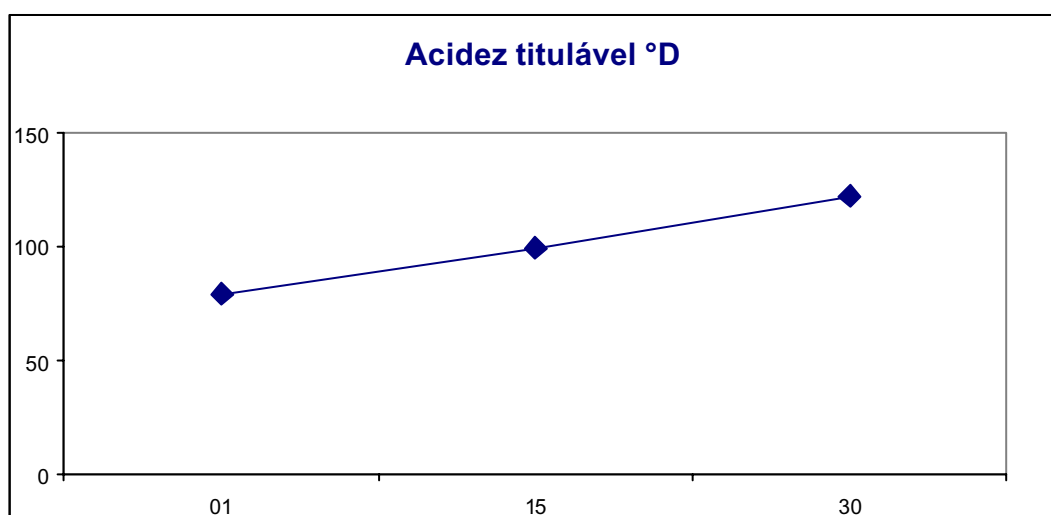


Figura 64 - Valores médios de acidez titulável dos iogurtes produzidos conforme tratamento o 8.

5.7.3 - Contagem de bactérias lácticas

Diante das elevadas contagens dos microrganismos probióticos obtidos no processamento A e B, foram preparados esfregaços em lâminas e submetidos a coloração de Gram para identificação dos

microrganismos, foi observado crescimento simultâneo de cocos e bastonetes em um mesmo meio, conforme apresentado na Figura 65.

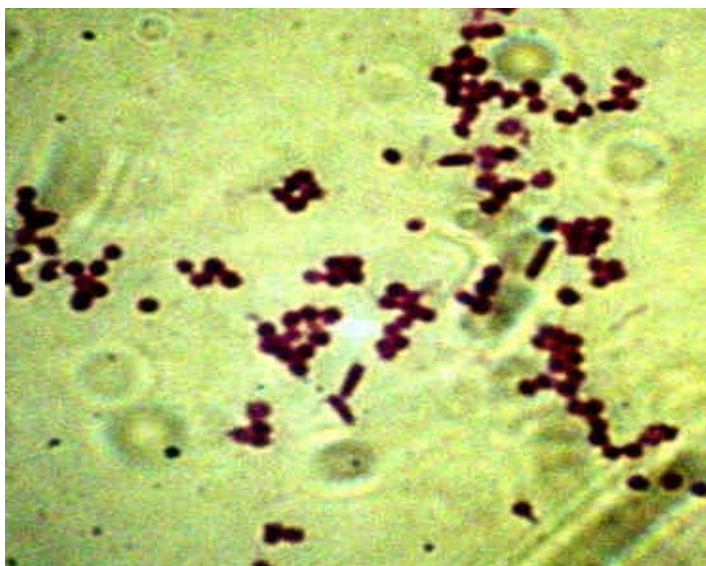


Figura 65 – Crescimento simultâneo de cocos e bastonetes no meio MRS - maltose.

O meio MRS utilizado para as contagens do processamento A e B foi preparado de acordo com as orientações estabelecidas pela Chr. Hansen, foi substituído pelas orientações do IDF (1997). Foram realizadas as seguintes alterações no meio MRS: foi substituída a triptona pela peptona e acrescido extrato de carne. Os outros ingredientes, as soluções adicionadas, o tempo e as condições de incubação foram mantidas.

Com estas modificações foi possível obter melhores resultados, comparados com os encontrados no processamento A e B, selecionado melhor o crescimento dos microrganismos. Isto pode ser observado na

Tabela 35, que mostra a contagem das bactérias lácticas no iogurte, durante 30 dias.

Tabela 35 – Contagem média do número de células viáveis das bactérias lácticas dos iogurtes fabricados com cultura probiótica durante o tempo de estocagem.

Tempo de estocagem (dias)	<i>Bifidobacterium</i> UFC/mL	<i>L. acidophilus</i> UFC/mL	<i>L. bulgaricus</i> UFC/mL	<i>S. thermophilus</i> UFC/mL
1	$9,8 \times 10^8$	$9,8 \times 10^8$	$2,5 \times 10^6$	$2,5 \times 10^{10}$
15	$1,2 \times 10^4$	$6,6 \times 10^4$	$5,1 \times 10^8$	$9,3 \times 10^8$
30	$1,4 \times 10^4$	$7,8 \times 10^4$	$1,1 \times 10^8$	$9,0 \times 10^8$

Para *Bifidobacterium* e *L. acidophilus* houve um decréscimo de 4 ciclos logarítmicos durante o armazenamento de 30 dias. Para o *S. thermophilus* a redução foi de dois ciclos logarítmicos. Entretanto, houve aumento da contagem de *L. bulgaricus*, provavelmente pela sua maior tolerância à acidez.

Rybka & Kailasapathy (1995) encontraram contagens de células viáveis para a *Bifidobacterium* que diminui de $1,6 \times 10^7$ para $4,9 \times 10^5$ UFC/mL. Dave & Shah (1997) obtiveram uma contagem de células viáveis de *L. acidophilus* que variou de $3,9 \times 10^7$ a $1,2 \times 10^6$ UFC/mL. Segundo Charteris *et al.* (1997), Dave & Shah (1997), a viabilidade das bactérias probióticas armazenadas sob refrigeração e baixo pH, por longos

períodos pode diminuir, e ainda, a viabilidade do *L. acidophilus* pode ser afetada pela presença do *Lactobacillus bulgaricus*.

Os valores encontrados para a contagem dos probióticos não estão de acordo com padrão estabelecido pelo Regulamento Técnico Mercosul de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, onde a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10^7 UFC/g no produto final, durante todo o prazo de validade e, no caso em que mencione(m) o uso de Bifidobactérias, a contagem será de 10^6 UFC de Bifidobactérias/g (BRASIL, 1997). No último dia de estocagem apenas as contagens de células viáveis de *Lactobacillus bulgaricus* e o *Streptococcus thermophilus* foram superiores a 10^6 UFC/g. Também houve predominância na contagem de células viáveis de *Streptococcus thermophilus* nos três períodos.

A sobrevivência das bactérias probióticas em produtos lácteos fermentados depende de vários fatores, tais como a linhagem utilizada, interação entre as espécies presentes, condições da cultura, composição química do meio (fonte de carboidrato), acidez final, conteúdo de sólidos do leite, disponibilidade de nutrientes, promotores e inibidores de crescimento, concentração de açúcar (pressão osmótica), oxigênio dissolvido (especialmente para a *Bifidobacterium* sp.), quantidade inoculada, temperatura de incubação, tempo e temperatura de estocagem (KALAIAPATHY & RYBKA 1997; HATTINGH & VILJOEN 2001, SHAH, 2001).

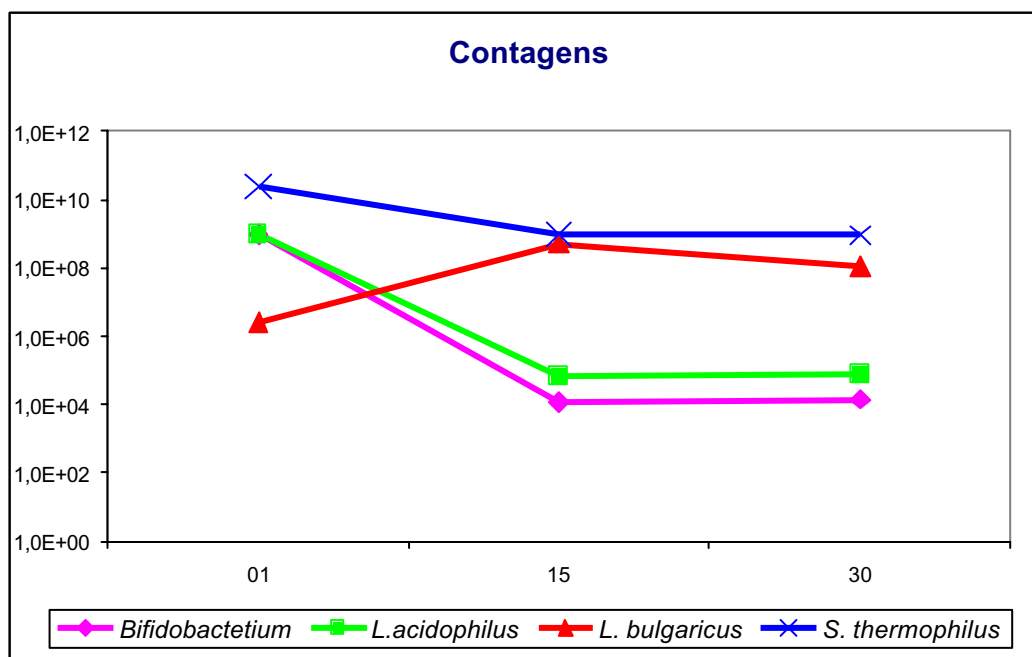


Figura 66 - Contagem de microrganismos probióticos e tradicionais do iogurte (UFC/mL).

Os resultados mostraram que apesar da utilização de culturas contendo microrganismos probióticos, o produto não apresentou contagem suficiente para ter o efeito probiótico para o consumidor, assim, a cultura utilizada contribui somente para os efeitos tecnológicos do produto, melhorando as características do produto tradicional, como reduzir a pós acidificação do iogurte e leites fermentados, fato evidenciado pela ação de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* sp (ANTUNES, 2001).

5.7.4 - Determinação dos parâmetros reológicos do iogurte probióticos.

As Tabelas 36 e 37 mostram os parâmetros reológicos dos iogurtes do tratamento 8, obtidos da relação entre a taxa de deformação e tensão de cisalhamento, pelos modelos da Lei da potência e de Herschel-Bulkley, respectivamente.

Tabela 36 - Parâmetros reológicos do iogurte otimizado obtidos pelo Modelo da Lei da Potência ($\tau = K \dot{\gamma}^n$).

Dias amostras	Curvas ascendentes			Curvas descendentes		
	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²
1-1	3,53	0,18	0,9645	0,79	0,64	0,9922
1-2	3,75	0,17	0,9409	0,59	0,63	0,9922
15-1	3,28	0,16	0,9516	0,62	0,66	0,9931
15-2	4,23	0,10	0,9017	0,53	0,66	0,9931
30-1	4,78	0,11	0,9344	1,04	0,59	0,9917
30-2	4,59	0,11	0,8129	0,83	0,61	0,9924

Tabela 37 - Parâmetros reológicos do iogurte otimizado obtidos pelo

Modelo de Herschel-Bulkley ($\tau = \tau_{OH} + K_H \dot{\gamma}^{n_H}$).

Amostras Dias	Curvas ascendentes				Curvas descendentes			
	τ_{OH}	K_H (Pa.s ⁿ)	n_H	R^2	τ_{OH}	K_H (Pa.s ⁿ)	n_H	R^2
A-1	39,12	8,85	0,33	0,9439	5,37	0,10	0,96	0,9999
B-1	42,69	8,33	0,33	0,9113	5,79	0,09	0,98	0,9999
A-15	36,55	7,04	0,32	0,9256	5,19	0,10	0,93	0,9998
B-15	42,79	7,42	0,26	0,8676	4,55	0,08	0,94	0,9998
A-30	54,03	6,08	0,31	0,8670	7,10	0,14	0,90	0,9999
B-30	51,59	5,74	0,31	0,7575	5,89	0,13	0,90	0,9998

As Figuras de 67 a 69 mostram os reogramas dos iogurtes probióticos após 1, 15 e 30 dias de armazenamento.

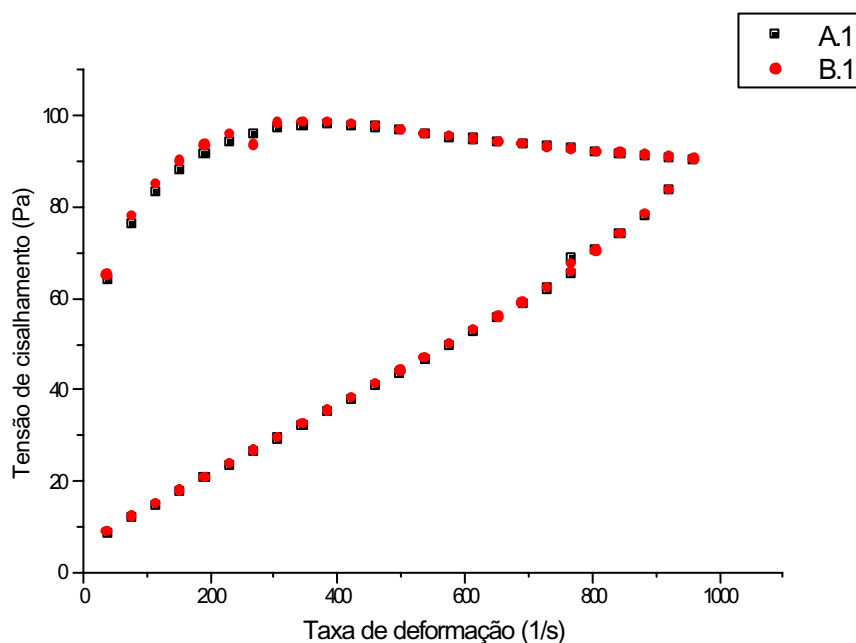


Figura 67 - Reograma da formulação otimizada, com 1 dia de armazenamento.

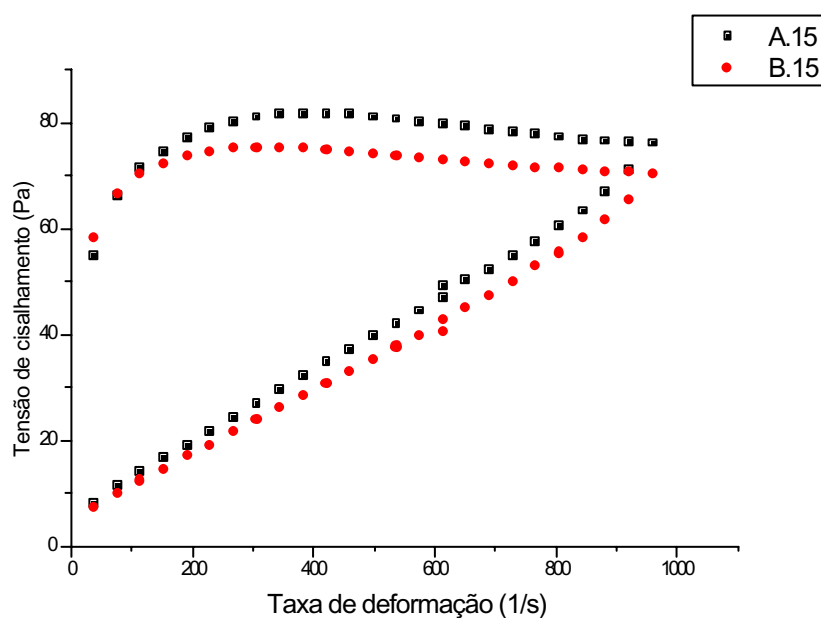


Figura 68 - Reograma da formulação otimizada, com 15 dias de armazenamento.

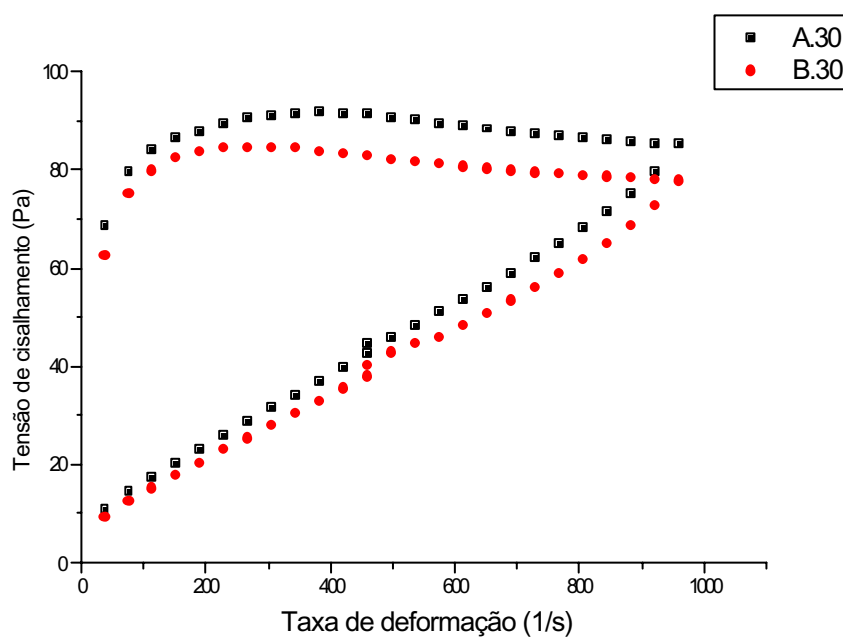


Figura 69 - Reograma da formulação otimizada, com 30 dias de armazenamento.

O iogurte apresentou comportamento não Newtoniano, com presença de tixotropia, durante todo o período de estocagem.

Houve aumento do índice de consistência e decréscimo do índice de comportamento de fluxo, para ambos os modelos nas curvas ascendentes e descendentes.

Aparentemente, com o armazenamento o produto vai tornando-se mais firme e encorpado. Isto pode estar relacionado com a presença de polidextrose e com as interações da caseína na matriz do gel com o abaixamento do pH.

6 – CONCLUSÕES

Processamentos A e B:

- A utilização de edulcorantes não influenciou as características físico-químicas dos iogurtes do processamento A e B, tais como pH, gordura, sólidos totais, acidez titulável e proteínas.
- O tipo e o aumento na concentração de adoçantes não aumentou o tempo de fermentação porém, a adição de açúcar fez com que o tempo de fermentação aumentasse no processamento A. No processamento B, o tipo de adoçantes não influenciou, mas o aumento na concentração de adoçantes proporcionou um ligeiro aumento no tempo de fermentação.
- O tipo de cultura utilizada influenciou as características físico-químicas, reológicas e sensoriais.
- A acidez titulável e contagem dos microrganismos do processamento dos iogurtes do processamento A foram maiores comparados aos do processamento B.
- As características reológicas dos iogurtes probióticos não foram influenciadas pelo uso de adoçantes, no entanto, o tipo de cultura utilizada influenciou na consistência dos iogurtes. Os iogurtes dos dois

processamentos apresentaram comportamento de fluido não newtoniano, com presença de tixotropia.

- A cultura utilizada no processamento B resultou em produtos com melhores características sensoriais em relação ao processamento A.
- Os produtos elaborados com aspartame + sacarina (tratamento 8) apresentaram simultaneamente as características mais próximas aos elaborados com 5% desacarose.

Formulação otimizada

- O pH diminuiu e acidez aumentou durante o período de estocagem.
- Durante a estocagem, houve aumento do índice de consistência e decréscimo do índice de comportamento de fluxo. O iogurte apresentou comportamento newtoniano, com presença de tixotropia.
- A contagem de bactérias probióticas diminuiu nos primeiros 15 dias e depois permaneceu praticamente constante.
- A contagem do *S. thermophilus* predominou em todo período de armazenamento.
- A contagem de microrganismos probióticos após 30 dias de estocagem não atendeu ao máximo estabelecido na legislação brasileira em vigor, assim, o produto obtido não pode ser considerado probiótico.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde Resolução RDC nº 2, 7 de janeiro de 2002.

ALAIS, C. Microbiologia e higiene de la leche y de los productos lacteos. **Ciência de la leche**. Barcelona: Editorial Reverté, 1985. p. 323 - 433.

ANDERSON, G. H. Macronutrient substitutes: definition and rationale. Nutritional implications of macronutrient substitutes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 36, p. 145-148, 1998.

ANTUNES, L. A. F. Microrganismos probióticos e alimentos funcionais. **Indústria de Laticínios**, v. 6, n. 34, p. 30-34, 2001.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16. ed. Washington, 1995. v. 1 – 2.

ARTZ, W. E.; HANSEN, S. L. Other fat substitutes. In: AKOH, C. C.; SWANSON, B. G. **Carbohydrate polyesters as fat substitutes**, 1994, p. 197- 236.

AWADHWAL, N. K., SINGH, C. P. A rheological model for milk products. **Journal of Food Science**, v. 50, p. 1611-1614, 1985.

BANZATTO, D. A., KRONKA, S. D. **Experimentação agrícola**. 3. ed. Jaboticabal: FUNESP, 1995.

BARRANTES, E.; et al. Production of low-calorie yogurt using skim milk powder and fat-substitute. 2. Compositional quality. **Milchwissenschaft**, v. 49, n. 3, p. 135-139, 1994.

BARRANTES, E.; TAMIME, A. Y.; SWORD, A. M., Production of low-calorie yogurt using skim milk powder and fat-substitute. 3. Microbiological and organoleptic qualities. **Milchwissenschaft**, v. 49, n. 4, p. 205-208, 1994 a.

BARRANTES, E.; TAMIME, A. Y.; SWORD, A. M., Production of low-calorie yogurt using skim milk powder and fat-substitute. 4. Rheological properties. **Milchwissenschaft**, v. 49, n. 5, p. 263-266, 1994 b.

BARRETO, P. M. G.; et al. Avaliação de métodos para identificação de diferentes culturas de lactobacilos e bifidobactéria. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 17., 2002. Porto Alegre. **Anais Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Porto Alegre:SBCTA, 2002. 1 CD-ROM.

BASAK, S.; RAMASWAMY, H. S. Simultaneous evaluation of shear rate and time dependency of stirred yogurt rheology as influenced by added pectin and strawberry concentrate. **Journal of Food Engineering**, Canadá, v. 21, n. 4, p. 385-393, dezembro, 1994.

BEAL, C., et al. Combined effects of culture conditions and storage time on acidification and viscosity of stirred yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 4, p. 673-681, 1999.

BENEZECH, T.; MAINGONNAT, J. F. Characterization of the rheological properties of yogurt – a review. **Journal of Food Engineering**, França, v. 21, n. 4, p. 447-472, agosto, 1994.

BORBA, R. Símbolo apagado. **Correio Brasiliense**, p.1 e 2, 2001. Disponível em: <<http://www.2correioweb.com.br/cw>> Acesso em: 24 abr. 2003.

BRANDÃO, S. C. C. Tecnologia da fabricação de iogurte. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 42, n. 250, p. 3-8, setembro, 1987.

BRANDÃO, S. C. C. Tecnologia da produção industrial de iogurte. **Leite & Derivados**, Juiz de Fora, v. 5, n. 25, p. 24-38, novembro – dezembro, 1995.

BRASIL. Decreto lei n. 30.6912, de 29 de março de 1952. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União Brasília**, Poder., Brasília, DF, 1980. Seção X, [Alterado pelo Decreto 1255 de 25/06/1962].

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. **Regulamento Mercosul de identidade e qualidade de leites fermentados**. Brasília: DIPOA, 1997.

CALORIE CONTROL COUNCIL. **Low Calorie Sweeteners**. Disponível em: <<http://www.caloriecontrol.org/lowcalqa.html>> Acesso em: 25 fev. 2002.

CAMPOS, S. D. S. **Reologia e textura de alimentos**. ITAL. Campinas: ITAL, 1989. 84 p.

CÂNDIDO, L. M. B. Edulcorantes em leites fermentados. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE LEITE FERMENTADOS, 1999, Campinas, **Anais Seminário Internacional De Leite Fermentados**, Chr. Hansen – Tetra Pack, 1999.

CÂNDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. **Alimentos para fins especiais: dietéticos**. São Paulo: Varela, 1996.

CARUSO, J. G .B.; OLIVEIRA, A. J. **Leite: obtenção, controle de qualidade e processamento**. São Paulo: Secretaria da Indústria e Comércio, Ciência e Tecnologia do Estado de São Paulo, s.d.

CARVALHO, F. V. **Determinação de algumas características reológicas do leite adicionado de goma xantana e/ou glucomannan**, 1990. 135f. Dissertação (Mestrado) – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo,

CASE, R. A.; BRADLEY JR; WILLIAMS, R. R. Chemical and physical methods. In: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of dairy products**. 15. ed. Washington, 1985. p. 327-404.

CHARTERIS, W. P., et al. Selective detection, enumeration and identification of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in mixed bacterial populations. **International Journal of Food Microbiology**, v. 35, p. 1–27, outubro, 1997.

HANSEN C.; **Method for counting probiotic bacteria**. *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacteria* in milk products made with nu-trish cultures. 1999. 4 p. Guideline.

CULTOR FOOD SCIENCE. **Aspartame**, s.d. a- 1 p. Catálogo Técnico.

CULTOR FOOD SCIENCE. **Litesse®**, s.d. b- 1 p. Catálogo Técnico

DAVE, R. I.; SHAH, N. P. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. **Journal of Dairy Science**, Australia, v. 81, n. 11, p. 2804-2816, junho, 1998.

DAVE, R. I., SHAH, N. P. Viability of yogurt and probiotic bacteria in yogurts made from commercial starter cultures. **International Dairy Journal**, Australia, v. 7, n. 1, p. 34-41, setembro, 1997.

ELLIS, M. J. Shelf life evaluation of foods. London: Black Academic and Professional, 1996. p. 28-39. In: MAN, C. M .D., JONES, A. A. (Ed.).

FERREIRA, C. L. L. F. Leite acidófilo: oito décadas de evolução. **Leite & Derivados**, Viçosa, v. 8, n. 47, p. 22-26, jul/ago, 1999.

FERREIRA, C. L. L. F. Produtos lácteos probióticos: uma realidade. **Leite & Derivados**, Viçosa, v. 7, n. 42, p. 66-70, set/out, 1998.

FIGUEIREDO JUNIOR., I. Açúcar e gordura: substitutos à altura. **Engenharia de Alimentos**, n. 14, p. 18-23, 1997.

FONSECA, R. R.; NEVES, R. C. A. Elaboração de iogurte dietético de graviola. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 16., Rio de Janeiro. **Anais Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Rio de Janeiro: SBCTA, 1998, 1 CD-ROM.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

GILLILAND, S. E. *Acidophilus* milk products: a review of potential benefits to consumers. **Journal of Dairy Science**, Oklahoma, v. 72, n. 10, p. 2483-2494, outubro, 1989.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 7. ed. São Paulo: Nobel, 1977. 466 p.

GRICE, H. C.; GOLDSMITH, L. A. Sucralose: an overview of the toxicity data. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, suppl. 2, p. S1- S6, 2000.

GURGEL, M. S. C. C. A.; OLIVEIRA, A. J. Avaliação das características físico-químicas do iogurte. **Leite & Derivados**, v. 4, n. 22, p. 38-43, mai/jun, 1995.

HASSAN, A. N.; et al. Rheological properties of yogurt made with encapsulated nonropy lactic cultures. **Journal Dairy Science**, Manhattan, v. 79, n. 12, p. 2091-2097, junho, 1996.

HATTINGH, A. L.; VILJOEN, B. C. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, África do Sul, v. 11, p. 1-17, fevereiro, 2001.

HELDMAN, D. R. **Food process engineering**. Westport: Avi, 1975. 401 p.

HOFFMANN, F. L., et al. Iogurte – falta de cuidados altera qualidade microbiológica. **Indústria de Laticínios**, v. 1, n. 4, p. 32-34, setembro, 1996.

HOLDSWORTH, S. D. Rheological models used for the prediction of the flow properties of food products: a literature review. **Trans. Inst. Chem. Eng.**, v. 71, part C, p. 139-179, 1993.

HOLLAND SWEETENER CO. Sweetener links aspartame, acesulfame. **Food Technology**, v. 53, n. 6, p. 147, junho, 1999.

HUTTEAU, F., et al. Physicochemical and psychophysical characteristics of binary mixtures of bulk and intense sweeteners. **Food Chemistry**, França, v. 63, n. 1, p. 9-16, outubro, 1998.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 2. ed. São Paulo, 1976. v. 1, 371p.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION - IDF STANDARD 117B: 1997. **Yogurt** - enumeration of characteristic microorganisms, 1997. 5 p.

KAILASAPATHY, K.; RYBKA, S. *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* sp – their therapeutic potential and survival in yogurt. **Australian Journal of Dairy Technology**, Australia, v. 52, n. 1, p. 28-35, abril, 1997.

KELLER, S. E.; et al. Degradation of aspartame in yogurt related to microbial growth. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 1, p. 22-23, 1991.

KOT, E.; BEZKOROVAINY, A. The binding of H₂O₂ – generated Fe (III) to *Bifidobacterium thermophilum* depends on the method of its production. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 6, p. 1032, setembro, 2000.

KROGER, M. Quality of yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 59, n. 2, p. 344-350, 1976.

KURMANN, J.A. Os fatores biológicos e técnicos da fabricação do iogurte. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS. 4., 1977, Juiz de Fora:

Central Formulários 1977, p. 74-84. **Anais CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS.**

LABROPOULOS, A. E.; COLLINS, W. F.; STONE, W. K. Effects of ultra-high temperature and at vat processes on heat induced rheological properties of yogurt. **Journal Dairy Science.** v. 67, n. 2, p. 405-409, 1984.

LEE, Y. K., et al. **Handbook of Probiotics.** New York: John Wiley, 1999. 211 p.

MALTA, H. L., et al. Verificação da qualidade físico-química e microbiológica de alguns iogurtes vendidos na região de viçosa – MG. In: CONGRESSO DE LATICÍNIOS, 18, 2001,. Juiz de Fora: Central Formulários 2001,. **Anais CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS.** p. 152-158.

MAN, C. M. D.; JONES, A. A., (Ed). **Shelf** life evaluation of foods. Savoy, 1996. 321 p.

MARCOTTE, M.; HOSHAHILI, A. R. T.; RAMASWAMY, H. S. Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature. **Food Research International**, Canadá, v. 34, p. 695-703, março, 2001.

MARUJO, R. Aspartame. In: ANGELUCCI, E.; FURLANETTO, S. M. C. **Seminário:** edulcorantes em alimentos. Campinas: ITAL, 1989, 46 p.

MATSUBARA, S. Alimentos funcionais: uma tendência que abre perspectivas aos laticínios. **Indústria de Laticínios**, v. 6, n. 34, p. 10-18, jul/ago, 2001.

McGREGOR, J. U.; WHITE, C. H. Effect of sweeteners on major volatile compounds and flavor of yogurt. **Journal of Dairy Science**, Mississipi, v. 70, n. 9, p. 1829-1834, abril, 1987.

MISTRY, V. V., HASSAN, H. N. Manufacture of nonfat yogurt from a high milk protein powder. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 4, p. 947-957, outubro, 1992.

MOON, N. J., REINBOLD, G. W. Commensalism and competition in mixed cultures of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. **Journal Milk Food Technology**, Colorado, v. 39, n. 5, p. 337-341, maio, 1976.

MORAES, M. A. C. **Métodos para avaliação sensorial dos alimentos**. Campinas: Ed. da UNICAMP, 1983. 79 p.

MORI, E. E. M. Análise sensorial em controle de qualidade na indústria de alimentos. In: **SEMINÁRIO SOBRE QUALIDADE NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS**, 1993. Campinas. ITAL, 1993, p. 85 – 92.

NELSON, A. L. **Sweeteners alternative**: practical guide for the food industry. Saint Paul: Eangan Press, 2000. 99 p.

NESTLÉ. Biota intestinal e saúde. **Alimentos e Nutrição**:fundamentos. (Comunicações de Nutrição da Nestlé), s.d. 4p. Catálogo Técnico.

NESTLÉ. Probióticos – Una bifidobacteria que protege a los niños: la Bb12. **Nutrición, Salud y Bienestar**, p. 27-33, 1999.

NIELSEN, V.H. Factors which control the body and texture of commercial yogurts. **American Dairy Review**, n. 37, p. 76, 1975.

NIELSEN, V.H. Use of solids in cultured milk products. **Culture Dairy Products Journal**, v. 11, p. 12-13, 1976.

NUTRASWEET. Ingredients overview. **Bulletin Nutrasweet Kelco Company**, Deerfield, n. 5200, junho, 1996, 4p.

O'NEIL, J. M.; KLEYN, D. H.; HARE, L. B. Consistency and compositional characteristics of commercial yogurts. **Journal Dairy Science**, v. 62, n. 6, p. 1032-1036, 1979.

OLIVEIRA, M. O., DAMIN, M. R. Efeitos do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação e na viabilidade de bactérias do iogurte e das probióticas em leite fermentado. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. 17, 2002. **ANAIS**: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Porto Alegre: SBCTA, 2002. p. 3015 – 3018, 1 CD - ROM.

OZDEMIR, M.; SADIKOGLU, H. Characterization of rheological properties of systems containing sugar substitutes and carrageenan. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 33, p. 439-444, 1998.

PENNA, A. L. B. **Parâmetros reológicos de gomas para a fabricação de bebidas lácteas à base de soro**. São Paulo, 1997. 128 p Monografia (Exame de Qualificação) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo].

PENNA, A. L. B.; OLIVEIRA, M. N. The influence of manufacturing process on the apparent viscosity of plain stirred yogurt. In: IFT ANNUAL MEETING, Chicago, 1999. **Book of Abstracts**. Chicago: Institute of Food Technologist, 1999, p. 206, (resumo 79-21).

PENNA, A.L.B., TELIS-ROMERO, J. Avaliação dos parâmetros reológicos de iogurte natural batido. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. 16, 1998. **ANAIS**: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Rio de Janeiro: SBCTA, 1998. 1CD-ROM.

PEREIRA, M. A. G. **Efeito do teor de lactose e do tipo de cultura no processo de acidificação e pós acidificação de iogurte**. Campinas, 2002. 87 p. Monografia (Exame de Qualificação). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

POMBO, A. F. W.; GRANZINOLLI, G. G. M.; FERNANDES, R. M. Sólidos totais do leite, acidez, pH e viscosidade do iogurte. **Revista do Instituto de Laticínio Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 38, n. 227, p. 19-24, junho, 1983.

RAEL, S. Artificial sweeteners – What's out there ? **EHPP Nutrition Newsletter**, v. 1, n. 3, Ago. 2000. Disponível em: <<http://www.unn.edu/~ehpp/Listserve3.htm>>. Acesso em: 25 fev. 2002.

RAMASWAMY, H.S., BASAK, S. Rheology of stirred yogurts. **Journal of Texture Studies**, Canadá, v. 22, p. 231-241, fevereiro, 1991.

RAO, M. A.; RIZVI, S. S. H. **Engineering properties of foods**. New York: Marcel Dekker, 1986. 398 p.

RASIC, J. L., KURMANN, J. A. **Yoghurt: scientific grounds technology, manufacture & preparation**. Copenhagen: Technical Dairy, 1978. 427 p.

ROBINSON, R. K.; TAMIME, A. Y. Yogurt: a review of the product and its manufacture. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v. 28, n. 3, p. 149-163, julho, 1975.

ROSSI, E. A. **Formulação de um sucedâneo do iogurte, a base de soro de leite e extrato aquoso de soja**. Londrina, 1983. 73 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Londrina.

ROY, D. Media for the isolation and enumeration of bifidobacteria in dairy products. **International Journal of Food Microbiology**, Canadá, v. 69, p. 167 - 182, fevereiro, 2001.

RYBKA, S.; KAILASAPATHY, K. The survival of culture bacteria in fresh and freeze-dried AB culture. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 50, n. 1, p. 51 - 57, 1995.

RYBKA, S.; KAILASAPATHY, K. Media for the enumeration of yoghurt bacteria. **International Dairy Journal**, Australia, v. 6, p. 839 - 850, março, 1996.

SABOYA, L. V.; OETTERER, M.; OLIVEIRA, A. J. Propriedades profiláticas e terapêuticas de leites fermentados – uma revisão. **Boletim Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 31, n. 2, p. 176-185, jul/dez, 1997.

SHAH, N. P. Functional foods from probiotics and prebiotics. **Food Technology**, v. 55, n. 11, p. 46-52, november, 2001.

SHAKER, R. R.; JUMAH, R. Y.; JDAYIL, B. A. Rheological properties of plain yogurt during coagulation process: impact of fat content and preheat treatment of milk. **Journal of Food Engineering**, v. 44, p. 175-180, dezembro, 2000.

SHANKAR, P. A.; DAVIES, F. L. Associative bacterial growth in yogurt starters; initial observations on stimulatory factors. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v. 30, n. 1, p. 31-32, Janeiro, 1977.

SHOEMAKER, C. F.; LEWIS, J. I.; TAMURA, M. S. Instrumentation for rheological measurements of food. **Food Technology**, California, v. 42, n. 3, p. 80-84, março, 1987.

SHOEMAKER, C. F.; NANTZ, J.; BONNANS, S.; NOBLE, A. C. Rheological characterization of dairy products. **Food Technology**, v. 46, n. 1, p. 98-102, 104, 1992.

SILVA, L. L.; STAMFORD, T. L. M. Alimentos probióticos: uma revisão. **Higiene Alimentar**, Pernambuco, v. 14, n. 68-69, p. 41-50, jan/fev, 2000.

SILVA, R.C.; et al Desenvolvimento de iogurte “light” a partir de leite desnatado, aspartame e dairy-lo. **Leite & Derivados**, v. 5, n. 25, p. 39-44, 1995.

SOUZA, G. Iogurte: tecnologia, consumo e produção em alta. **Leite & Derivados**, n. 28, p. 44-48, 50, 1996.

SPEER, E. **Lactologia industrial**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1975.

TAMIME, A.Y., BARCLAY, M.N.I., DAVIES, G., BARRANTES, E. Production of low-calorie yogurt using skim milk powder and fat-substitute. 1. A review. **Milchwissenschaft**, Scotland, v. 49, n. 2, p. 85-88, 1994.

TAMIME, A. Y.; DEETH, H. C. Yogurt: technology and biochemistry. **Journal of Food Protection**, Australia, v. 43, n. 12, p. 939-971, dezembro, 1980.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yogurt: ciencia y tecnología**. Zaragoza: Acribia, 1991. 368 p.

TEGGATZ, J. A.; MORRIS, H. A. Changes in the rheology and microstructure of ropy yogurt during shearing. **Food Structure**, Saint Paul, v. 9, p. 133-138, maio, 1990.

TEIXEIRA, A. C. P.; et al. Qualidade do iogurte comercializado em Belo Horizonte. **Leite & Derivados**, v. 9, n. 51, p. 32-37, mar/abr., 2000.

TORTORA, G. J.; et al. **Microbiologia**. 6 ed. Porto Alegre. Editora Artes Médicas Sul, 2000.

TRAMER, J. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v. 26, n. 16, 1973. Apud: TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yogurt: ciencia y tecnología**. Zaragoza: Acribia, 1991. 368 p.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. Santa Maria: Ed da UFSM, 1997.

VALE, P.L. **Saúde natural** – Os habitantes benéficos do nosso aparelho digestivo. Vidas. Disponível em: <<http://www.expresso.pt/ed1459/v195.asp>>. Acesso em: 16 jan. 2001.

VAN DER VEN, A.A. Aspartame: propriedades e aplicações. **Alimentaria**, v. 61, p. 61-64, junho, 1988.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Leche y productos lácteos**. Tecnología, Química y Microbiología., p. 1-34, 365-401, 1994. Zaragoza: Acribia

VEDAMUTHU, E.R. The yogurts story - past, present and future. Part IV. **Dairy, Food Environmental Sanitarians**., v. 11, n. 7, p. 371-374, 1991 a.

VEDAMUTHU, E.R. The yogurts story - past, present and future. Part V. **Dairy, Food Environmental Sanitarians** v. 11, n. 8, p. 444-446, 1991 b.

VEDAMUTHU, E.R. The yogurts story- past, present and future. Part VI. **Dairy, Food Environmental Sanitarians**., v. 11, n. 9, p. 513-514, 1991 c.

VEJA. São Paulo: Abril, v. 34, n. 14, p. 34, 2001.

VINDEROLA, C. G.; BAILO, N.; REINHEIMER, J. A. Survival of probiotic in Argentina yogurts during refrigerate storage. **Food Research International**, Argentina, v. 33, p. 97-102, janeiro, 2000.

VITALI, A. A. Comportamento reológico de suco de laranja concentrado congelado à baixas temperaturas. São Paulo, 1983. 214p Dissertação (Doutorado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.

WALKER, W. A.; DUFFY, L. C. Diet and bacterial colonization: Role of probiotics and prebiotics. **Journal Nutrition Biochemical**., New York, 9 p. 668-675, dezembro, 1998.

WALSTRA, P.; JENNESS, R. **Química y física lactológica**. Zaragoza: Acribia, 1987. 423 p.

WELLS, A. G. The use of intense sweeteners in soft drinks. In: GRENBY, T. H. (Ed.). **Progress in sweeteners**. London: Elsevier, 1989. p. 169-214. Apud: CÂNDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. **Alimentos para fins especiais**: dietéticos. São Paulo: Varela, 1996.

WOLF, E. Practical problems of cyclamate and saccharin incorporation in foodstuffs. In : **Health and sugar substitutes**, v. 14, p. 153-158, 1981.

ZIEMER, C. J.; GIBSON, G. R. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: Perspectives and future strategies. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 473 - 479, 1998.

ZUBILLAGA, M., et al. Effect of probiotics and functional foods and their in different diseases. **Nutrition Research**, Paris, v .21, p. 569-579, outubro, 2001.