

FERNANDA CRISTINA PIVA MADUREIRA

DESENVOLVIMENTO DE UMA BEBIDA LÁCTEA
FUNCIONAL



1910001327



UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS, LETRAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS
ÁREA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

FERNANDA CRISTINA PIVA MADUREIRA

DESENVOLVIMENTO DE UMA BEBIDA LÁCTEA
FUNCIONAL

São José do Rio Preto

2004



FERNANDA CRISTINA PIVA MADUREIRA

DESENVOLVIMENTO DE UMA BEBIDA LÁCTEA FUNCIONAL

DESENVOLVIMENTO DE UMA BEBIDA LÁCTEA FUNCIONAL

Dissertação apresentada no Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto, para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos.



T. 1327/05

Orientadora: Prof^a. Dr^a Ana Lúcia Barretto Penna

São José do Rio Preto

2004



637.146

M183d

50702009

13/01/2005

Doação

R\$ 32,00

Autor(a)

076/2005

Madureira, Fernanda.

Desenvolvimento de uma bebida láctea funcional / Fernanda
Madureira – São José do Rio Preto : [s.n.], 2004
173 f. : il.; 30 cm.

Orientador: Ana Lúcia Barretto Penna

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista. Instituto de
Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Leite fermentado. 2. Bebidas lácteas. 3. Probiótico. 4. Prebiótico.
I. Penna, Ana Lúcia Barreto. II. Universidade Estadual Paulista. Instituto
de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 637.141.8

FERNANDA CRISTINA PIVA MADUREIRA

DESENVOLVIMENTO DE UMA BEBIDA LÁCTEA FUNCIONAL

Dissertação para obtenção do grau de mestre apresentada no Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto, área de concentração em Engenharia e Ciência de Alimentos.

COMISSÃO JULGADORA

Presidente e orientador: Profa. Dra. Ana Lúcia Barretto Penna

2º Examinador: Profa. Dra. Neila Silvia Pereira dos Santos Richards

3º Examinador: Profa. Dra. Elisa Helena Giglio Ponsano

São José do Rio Preto

____/____/2004



AGRADECIMENTOS

A Profa. Ana Lúcia Barneto Penna, pela orientação, dedicação, amizade e por proporcionar as condições necessárias para a realização deste trabalho.

Aos funcionários, professores e à seção de pós-graduação da UNESP pela dedicação, atenção e disponibilidade.

À Diretoria da Cooperativa de Laticínios Camperosa, por tornar possível a realização desta pesquisa. A todos os funcionários desta empresa que colaboraram nas análises sensoriais e principalmente ao Juadir, Leandro e Valmirio pela ajuda e amizade.

À Terezinha, pela nossa amizade, compreensão e apoio em todos os momentos. Nossas infindáveis viagens deixarão saudades.

Aos amigos Ulisses, Karen e Fernandinha, pelo mesmo carinho, atenção, dedicação e por disponibilizar sua casa para nos hospedar.

A Raquel e à Tatiana pela amizade e colaboração.

Ao Gilmar, pela amizade e disponibilidade em ajudar sempre.

A Profa. Eliza Helene Giglio Ponzano (UNESP-Araçatuba) pelas valiosas colaborações, amizade, apoio e estímulo.

A Dava, pelo carinho e resguarda.

A Deus,

pela vida, força e por mais esta conquista.

Ao Eduardo e aos meus pais e irmãos,

pelo amor, crédito, estímulo, retaguarda e doação de tempo de convivência.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Ana Lúcia Barreto Penna, pela orientação, dedicação, amizade e por proporcionar as condições necessárias para a realização deste trabalho.

Aos funcionários, professores e à seção de pós-graduação da UNESP pela dedicação, atenção e disponibilidade.

À Diretoria da Cooperativa de Laticínios Campeзина, por tornar possível a realização desta pesquisa. A todos os funcionários desta empresa que colaboraram nas análises sensoriais e principalmente ao Juadir, Leandro e Valtinho pela ajuda e amizade.

À Terezinha, pela nossa amizade, compreensão e apoio em todos os momentos. Nossas infindáveis viagens deixarão saudades.

Aos amigos Ulisses, Karen e Fernandinha, pelo imenso carinho, atenção, dedicação e por disponibilizar sua casa para nos hospedar.

À Raquel e à Tatiana pela amizade e colaboração.

Ao Ginaldo, pela amizade e disponibilidade em ajudar sempre.

À Profa. Elisa Helena Giglio Ponsano (UNESP-Araçatuba) pelas valiosas colaborações, amizade, apoio e estímulo.

À Diva, pelo carinho e retaguarda.

RESUMO

A possibilidade de uso dos alimentos para a redução dos riscos de várias doenças tem incentivado a criação de novas tendências de mercado, como a dos alimentos funcionais. Como um exemplo, a incorporação de oligofrutose, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp. em leites fermentados pode resultar em produtos com extraordinário valor terapêutico.

O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos dos teores de soro (45, 50 e 55%), sacarose (6, 7 e 8%) e oligofrutose (1, 2 e 3%) nas características físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e reológicas de bebidas lácteas funcionais. Além disso, um estudo de estocagem da melhor formulação foi conduzido para estimar sua vida de prateleira.

Amostras de bebidas fermentadas foram avaliadas quanto ao pH, acidez titulável, gordura, sólidos totais, proteínas, cinzas e contagens de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp. Os atributos sensoriais (aparência e cor, consistência, sabor e aroma e aceitabilidade geral) foram avaliados por 50 provadores não treinados, usando uma escala hedônica de 5 pontos. Os parâmetros reológicos foram determinados a 10°C num reômetro de cone e placa, e os dados foram ajustados ao modelo da Lei da Potência. Através da metodologia de superfície de resposta foi possível correlacionar as variáveis independentes aos resultados de pH, proteínas, sólidos totais e o índice de comportamento de fluxo no ciclo descendente.

As variações nos teores de soro, açúcar e oligofrutose resultaram em pequenos efeitos nas características físico-químicas das bebidas lácteas. Houve predominância do *S. thermophilus* sobre os demais microrganismos em todas os tratamentos. Dentre os probióticos, as contagens de *L. acidophilus* foram maiores que as de *Bifidobacterium* spp., cuja contagem ficou próxima ao limite mínimo estabelecido pela legislação brasileira em

vigor (10^6 UFC/mL). Aparentemente, o desenvolvimento dos probióticos não foi afetado pela adição da oligofrutose. Amostras com maior aceitabilidade sensorial foram preparadas com os maiores teores de sacarose e de sólidos totais (variações de regular - 3 a bom - 4). Todas as bebidas exibiram comportamento de fluido newtoniano, com presença de tixotropia e quebra estrutural causada pelo cisalhamento contínuo. Durante o estudo de estocagem, houve um decréscimo na contagem das bactérias lácticas. No final do período de estocagem (35 dias), o painel sensorial considerou a formulação otimizada de boa qualidade (nota 4) e todas as bactérias lácticas, exceto as *Bifidobacterium* spp., atenderam ao limite mínimo estabelecido pela legislação brasileira em vigor.

De maneira geral, bebidas lácteas probióticas preparadas com soro resulta em produtos com atributos de qualidade aceitáveis, constituindo uma tecnologia de baixo custo, viável e inovadora.

ABSTRACT

The possibility of use of foods for reducing the risks of several diseases has stimulated the creation of new market trends, such as functional foods. As an example, the addition of oligofructose, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. in fermented milk may result in a dairy product with an extraordinary therapeutic value.

The objective of this work was to study the effect of cheese whey (45, 50 and 55%), sucrose (6, 7 and 8%) and oligofructose (1, 2 and 3%) contents on the physicochemical, microbiological, sensorial and rheological characteristics of functional dairy beverages. In addition, a storage study of the best formula was conducted to predict the product's shelf-life.

Samples of fermented beverages were evaluated for pH, titratable acidity, fat, total solids, proteins, ash contents and microbial counts of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. Sensorial attributes (appearance and color, consistency, flavor and aroma, and overall acceptance) were evaluated by 50 non-trained panelists, using a 5-points hedonic scale. Rheological parameters were measured at 10°C using a rotational rheometer with cone and plate geometry, and data were fitted by the Power Law model. Using the response surface methodology it was possible to correlate the independent variables with the results of pH, proteins, total solids and flow behavior index at downward curve.

The variations of cheese whey, sucrose and oligofructose contents resulted in small effects on the physicochemical characteristics of the dairy beverages. There was predominance of *S. thermophilus* over other microorganisms for all treatments. Within the probiotic bacteria group, *L. acidophilus* counts was higher than *Bifidobacterium* spp. counts, which were close to the minimum limit (10^6 UFC/mL) established by the Brazilian regulation. Apparently, the growth of probiotic bacteria was not affected by the addition of oligofructose.

Samples with highest sensory rates were those prepared with the highest sucrose and total solids contents (variations from regular - value 3 to good - value 4). All lactic beverages showed Newtonian flow behavior, with some thixotropy and structural breakdown effects caused by continuous shear. During the storage study, there was a decrease in lactic acid bacteria counts. By the end of storage period (35 days), the sensory panel considered the optimized formula with good quality (value 4), and all lactic acid bacteria counts, except *Bifidobacterium* spp., were above the minimum limit established by the Brazilian regulation.

Overall, probiotic dairy beverages prepared with cheese whey lead to products with acceptable quality attributes, constituting a viable and innovative low cost technology.



LISTA DE FIGURAS

Figura 16 -	Valores médios do teor de gordura das bebidas lácteas.	100
Figura 17 -	Valores médios do teor de proteínas das bebidas lácteas.	101
Figura 1 -	Processos enzimáticos usados para a produção de oligofrutose.	39
Figura 2 -	Processo de produção de FOS a partir da inulina.	40
Figura 18 -	Valores médios de pH das bebidas lácteas.	104
Figura 3 -	Processo de fabricação de bebidas lácteas com adição do soro pasteurizado ao iogurte.	44
Figura 20 -	Valores médios de acidez titulável das bebidas lácteas.	106
Figura 4 -	Processo de fabricação de bebidas lácteas a partir da mistura leite e soro antes do tratamento térmico.	45
Figura 5 -	Fluxograma de fabricação do queijo Minas Frescal.	61
Figura 6 -	Ficha de avaliação sensorial.	70
Figura 7 -	Valores médios de densidade e do teor de gordura dos lotes de leite desnatado usados nos blocos 1 e 2.	78
Figura 8 -	Valores médios do teor de sólidos totais dos lotes de leite desnatado usados nos blocos 1 e 2.	78
Figura 24 -	Valores médios de densidade e do teor de gordura dos lotes de soro dos blocos 1 e 2.	121
Figura 9 -	Valores médios de acidez titulável dos lotes de leite desnatado utilizados nos blocos 1 e 2.	79
Figura 10 -	Valores médios de pH e acidez titulável dos lotes de soro dos blocos 1 e 2.	84
Figura 29 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 7.	127
Figura 11 -	Valores médios de densidade e do teor de gordura dos lotes de soro dos blocos 1 e 2.	85
Figura 30 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 8.	127
Figura 12 -	Valores médios do teor de sólidos totais dos lotes de soro dos blocos 1 e 2.	85
Figura 32 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 12.	128
Figura 13 -	Tempos de fermentação obtidos nos processos de fabricação das bebidas lácteas.	92
Figura 33 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 13.	129
Figura 14 -	Efeito dos teores de soro de queijo Minas Frescal e de sacarose sobre o pH das bebidas lácteas.	96
Figura 34 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 14.	129
Figura 15 -	Valores médios de acidez titulável das bebidas lácteas.	98

Figura 16 -	Valores médios do teor de gordura das bebidas lácteas.	100
Figura 17 -	Valores médios do teor de proteínas das bebidas lácteas.	101
Figura 18 -	Efeito dos teores de soro de queijo Minas Frescal e de sacarose sobre o teor de proteínas das bebidas lácteas.	103
Figura 19 -	Valores médios de cinzas das bebidas lácteas.	104
Figura 20 -	Valores médios de sólidos totais das bebidas lácteas.	106
Figura 21 -	Efeito dos teores de oligofrutose e sacarose sobre o teor de sólidos totais das bebidas lácteas.	108
Figura 22 -	Avaliação sensorial das bebidas lácteas funcionais.	117
Figura 23 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 1.	124
Figura 24 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 2.	124
Figura 25 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 3.	125
Figura 26 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 4.	125
Figura 27 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 5.	126
Figura 28 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 6.	126
Figura 29 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 7.	127
Figura 30 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 8.	127
Figura 31 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 9.	128
Figura 32 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 10.	128
Figura 33 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 11.	129
Figura 34 -	Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 12.	129

LISTA DE TABELAS

Figura 35-	Efeito dos teores de soro de queijo Minas frescal e sacarose sobre o índice de consistência (curva descendente) com o teor de oligofrutose fixado em 1%.	135
Figura 36-	Efeito dos teores de soro de queijo Minas Frescal e sacarose sobre o índice de consistência (curva descendente) com o teor de oligofrutose fixado em 2%.	135
Figura 37-	Efeito dos teores de soro de queijo Minas Frescal e sacarose sobre o índice de consistência (curva descendente) com o teor de oligofrutose fixado em 3%.	136
Figura 38-	Comportamento do pH durante 35 dias de estocagem da bebida láctea otimizada.	143
Figura 39-	Desenvolvimento da acidez titulável durante 35 dias de estocagem da bebida láctea otimizada.	144
Figura 40-	Reograma da formulação otimizada, com 3 dias de armazenamento.	150
Figura 41-	Reograma da formulação otimizada, com 18 dias de armazenamento.	150
Figura 42-	Reograma da formulação otimizada, com 34 dias de armazenamento.	151
Figura 43-	Análise sensorial da bebida láctea otimizada 1.	152
Figura 44-	Análise sensorial da bebida láctea otimizada 2.	153

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição química do leite integral, leite desnatado e dos soros doce e ácido.	24
Tabela 2 -	Características físico-químicas dos soros obtidos nas fabricações de quatro tipos de queijo.	24
Tabela 3 -	Exemplos de componentes com ação funcional.	28
Tabela 4 -	Principais bactérias probióticas e seus produtos de metabolismo.	32
Tabela 5 -	Funcionalidade de algumas bactérias probióticas.	35
Tabela 6 -	Oligossacarídeos produzidos comercialmente, ordenados de acordo com o grau de utilização no mercado mundial.	38
Tabela 7 -	Planejamento dos experimentos contendo as variáveis e os níveis estudados.	65
Tabela 8 -	Caracterização físico-química do leite desnatado pasteurizado utilizado no bloco 1 (médias e desvios-padrão).	74
Tabela 9 -	Caracterização físico-química do leite desnatado pasteurizado utilizado no bloco 2 (médias e desvios-padrão).	75
Tabela 10 -	Caracterização físico-química do soro líquido de queijo Minas Frescal utilizado no bloco 1 (médias e desvios-padrão).	81
Tabela 11 -	Caracterização físico-química do soro líquido de queijo Minas Frescal utilizado no bloco 2 (médias e desvios-padrão).	82
Tabela 12 -	Caracterização físico-química das bebidas lácteas do bloco 1 (médias e desvios-padrão).	88
Tabela 13 -	Caracterização microbiológica das bebidas lácteas do bloco 1 (médias).	89
Tabela 14 -	Caracterização físico-química das bebidas lácteas do bloco 2 (médias e desvios-padrão).	90
Tabela 15 -	Caracterização microbiológica das bebidas lácteas do bloco 2 (médias).	91

Tabela 16 -	Estimativa dos coeficientes do polinômio de segundo grau, ajustado para os dados experimentais do pH, através da regressão múltipla.	95
Tabela 17 -	Análise de variância do polinômio de segundo grau, para os dados experimentais do pH.	95
Tabela 18 -	Estimativa dos coeficientes do polinômio de segundo grau, ajustado para os dados experimentais do teor de proteínas, através da regressão múltipla.	102
Tabela 19 -	Análise de variância do polinômio de segundo grau, para os dados experimentais do teor de proteínas.	103
Tabela 20 -	Estimativa dos coeficientes do polinômio de segundo grau, ajustado para os dados experimentais do teor de sólidos totais, através da regressão múltipla.	107
Tabela 21 -	Análise de variância do polinômio de segundo grau, para os dados experimentais do teor de sólidos totais.	107
Tabela 22 -	Atributos sensoriais das bebidas lácteas funcionais (médias).	116
Tabela 23 -	Parâmetros reológicos das bebidas lácteas do bloco 2, obtidos pelo Modelo da Lei da Potência ($\tau = K \gamma^n$).	123
Tabela 24 -	Estimativa dos coeficientes do polinômio de segundo grau, ajustado para os dados experimentais do índice de consistência (K) descendente, através da regressão múltipla.	134
Tabela 25 -	Análise de variância do polinômio de segundo grau, para os dados experimentais do índice de consistência (K) descendente.	134
Tabela 26 -	Caracterização físico-química do leite desnatado usado na fabricação das bebidas lácteas otimizadas 1 e 2 (médias e desvios-padrão).	138
Tabela 27 -	Caracterização físico-química do soro de queijo Minas Frescal usado na fabricação das bebidas lácteas otimizadas 1 e 2 (médias e desvios-padrão).	139
Tabela 28 -	Caracterização físico-química das bebidas lácteas otimizadas das avaliações 1 e 2 (médias e desvios-padrão).	140

Tabela 29 -	Caracterização microbiológica das bebidas lácteas otimizadas das avaliações 1 e 2 (médias).	141
Tabela 30 -	Parâmetros reológicos médios das bebidas lácteas otimizadas 1 e 2, obtidos pelo Modelo da Lei da Potência ($\tau = K \gamma^n$).	149
Apêndice 1 -	Análise de variância para os dados experimentais do pH da bebida láctea.	168
Tabela 31 -	Resultados da análise sensorial das avaliações 1 e 2 da bebida láctea otimizada (médias).	152
Apêndice 2 -	Análise de variância para os dados experimentais da acidez titulável das bebidas lácteas.	168
Apêndice 3 -	Análise de variância para os dados experimentais do teor de gordura das bebidas lácteas.	168
Apêndice 4 -	Análise de variância para os dados experimentais do teor de proteínas das bebidas lácteas.	169
Apêndice 5 -	Análise de variância para os dados experimentais do teor de cinzas das bebidas lácteas.	169
Apêndice 6 -	Análise de variância para os dados experimentais do teor de sólidos totais das bebidas lácteas.	169
Apêndice 7 -	Análise de variância para os dados experimentais da contagem de <i>Streptococcus thermophilus</i> das bebidas lácteas.	170
Apêndice 8 -	Análise de variância para os dados experimentais da contagem de <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactarius</i> das bebidas lácteas.	170
Apêndice 9 -	Análise de variância para os dados experimentais da contagem de <i>Bifidobacterium</i> spp. das bebidas lácteas.	170
Apêndice 10 -	Análise de variância para os dados experimentais da contagem de <i>Lactobacillus acidophilus</i> das bebidas lácteas.	171
Apêndice 11 -	Análise de variância para os dados experimentais dos atributos aparência e cor das bebidas lácteas.	171
Apêndice 12 -	Análise de variância para os dados experimentais do atributo consistência das bebidas lácteas.	171
Apêndice 13 -	Análise de variância para os dados experimentais dos atributos sabor e aroma das bebidas lácteas.	172
Apêndice 14 -	Análise de variância para os dados experimentais do atributo aceitabilidade geral das bebidas lácteas.	172

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice 1 -	Análise de variância para os dados experimentais de pH da bebidas lácteas.	168
Apêndice 2 -	Análise de variância para os dados experimentais da acidez titulável das bebidas lácteas.	168
Apêndice 3 -	Análise de variância para os dados experimentais do teor de gordura das bebidas lácteas.	168
Apêndice 4 -	Análise de variância para os dados experimentais do teor de proteínas das bebidas lácteas.	169
Apêndice 5 -	Análise de variância para os dados experimentais do teor de cinzas das bebidas lácteas.	169
Apêndice 6 -	Análise de variância para os dados experimentais do teor de sólidos totais das bebidas lácteas.	169
Apêndice 7 -	Análise de variância para os dados experimentais da contagem de <i>Streptococcus thermophilus</i> das bebidas lácteas.	170
Apêndice 8 -	Análise de variância para os dados experimentais da contagem de <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> das bebidas lácteas.	170
Apêndice 9 -	Análise de variância para os dados experimentais da contagem de <i>Bifidobacterium</i> spp. das bebidas lácteas.	170
Apêndice 10 -	Análise de variância para os dados experimentais da contagem de <i>Lactobacillus acidophilus</i> das bebidas lácteas.	171
Apêndice 11 -	Análise de variância para os dados experimentais dos atributos aparência e cor das bebidas lácteas.	171
Apêndice 12 -	Análise de variância para os dados experimentais do atributo consistência das bebidas lácteas.	171
Apêndice 13 -	Análise de variância para os dados experimentais dos atributos sabor e aroma das bebidas lácteas.	172
Apêndice 14 -	Análise de variância para os dados experimentais do atributo aceitabilidade geral das bebidas lácteas.	172



Apêndice 15 - Análise de variância para os dados experimentais do índice de consistência (K) ascendente das bebidas lácteas. 172

Apêndice 16 - Análise de variância para os dados experimentais do índice de comportamento de fluxo (n) ascendente das bebidas lácteas. 173

Apêndice 17 - Análise de variância para os dados experimentais do índice de consistência (K) descendente das bebidas lácteas. 173

Apêndice 18 - Análise de variância para os dados experimentais do índice de comportamento de fluxo (n) descendente das bebidas lácteas. 173

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	OBJETIVOS	22
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1	SORO DE QUEIJO	23
3.2	ALIMENTOS FUNCIONAIS	26
3.2.1	Probióticos	29
3.2.2	Prebióticos	36
3.2.2.1	Inulina e oligofrutose	38
3.3	BEBIDA LÁCTEA	41
3.3.1	Etapas do processo de fabricação da bebida láctea	44
3.3.1.1	Cuidados com a matéria-prima	46
3.3.1.2	Clarificação	47
3.3.1.3	Padronização do teor de gordura	48
3.3.1.4	Padronização dos sólidos não gordurosos	48
3.3.1.5	Adição de açúcares e/ou agentes edulcorantes	48
3.3.1.6	Adição de estabilizantes/emulsificantes	49
3.3.1.7	Homogeneização	50
3.3.1.8	Tratamento térmico	50
3.3.1.9	Resfriamento	52
3.3.1.10	Processo de fermentação	52
3.3.1.11	Resfriamento	55
3.3.1.12	Adição de polpas, aromas e corantes	56
3.3.1.13	Envase	57

3.3.1.14	Armazenamento refrigerado, transporte e distribuição	58
4	MATERIAL E MÉTODO	59
4.1	MATÉRIAS-PRIMAS E ADITIVOS	59
4.2	CULTURA LÁCTEA	59
4.3	EQUIPAMENTOS, VIDRARIAS E REAGENTES	59
4.4	MÉTODOS	60
4.4.1	Obtenção do soro líquido	60
4.4.2	Caracterização do leite e do soro para a fabricação das bebidas lácteas	61
4.4.3	Preparação da cultura láctea	62
4.4.4	Preparação das bebidas lácteas	63
4.4.5	Planejamento estatístico dos experimentos e análise dos resultados	64
4.4.6	Caracterização físico-química das bebidas lácteas	66
4.4.7	Caracterização microbiológica das bebidas lácteas	67
4.4.7.1	Contagem de <i>Streptococcus thermophilus</i>	67
4.4.7.2	Contagem de <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	68
4.4.7.3	Contagem de <i>Bifidobacterium</i> spp.	68
4.4.7.4	Contagem de <i>Lactobacillus acidophilus</i>	68
4.4.8	Caracterização sensorial das bebidas lácteas	69
4.4.9	Caracterização reológica das bebidas lácteas	71
4.4.10	Formulação otimizada da bebida láctea	71
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
5.1	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO –QUÍMICA DO LEITE DESNATADO	73
5.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO SORO LÍQUIDO	80
5.3	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DAS BEBIDAS LÁCTEAS	86



5.3.1	Tempo de fermentação	92
5.3.2	Valor de pH	94
5.3.3	Acidez titulável	97
5.3.4	Teor de gordura	99
5.3.5	Teor de proteínas	100
5.3.6	Teor de cinzas	104
5.3.7	Sólidos totais	105
5.3.8	Contagens microbiológicas	108
5.3.8.1	<i>Streptococcus thermophilus</i> e	
	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	109
5.3.8.2	<i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium</i> spp.	111
5.4	ANÁLISE SENSORIAL	116
5.4.1	Aparência e cor	117
5.4.2	Consistência	118
5.4.3	Sabor e aroma	120
5.4.4	Aceitabilidade geral	121
5.5	CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DAS BEBIDAS LÁCTEAS	122
5.6	FORMULAÇÃO OTIMIZADA	137
5.6.1	Caracterização físico-química do leite desnatado e do soro	137
5.6.2	Caracterização físico-química e microbiológica das bebidas lácteas	139
5.6.3	Caracterização reológica das bebidas lácteas otimizadas	148
5.6.4	Análise sensorial	151
6	CONCLUSÃO	154
	REFERÊNCIAS	156
	APÊNDICE	168



1 INTRODUÇÃO

A busca pela qualidade de vida tem levado um número cada vez maior de consumidores a modificar seus conceitos de nutrição e hábitos alimentares. Embora possuam um restrito conhecimento sobre a ciência da nutrição, suas preocupações com este assunto e a sua relação com a saúde têm aumentado consideravelmente (DIPLOCK et al., 1999).

Problemas associados ao consumo de alimentos ricos em gordura como o aumento do risco de obesidade, de alguns tipos de câncer, o aumento do colesterol sanguíneo e do risco de doenças cardíacas, têm motivado o consumo crescente de produtos com teores reduzidos de gorduras (AKOH, 1998). A Organização Mundial de Saúde (O.M.S) estima que, se as tendências atuais prosseguirem haverá em todo o mundo, entre 1995 e 2025, um crescimento de 122% no número de diabéticos e que o excesso de peso poderá se tornar uma epidemia global (COSTA; LIMA, 2002).

Além disso, a possibilidade de uso dos alimentos como veículo de promoção de bem-estar e saúde e, ao mesmo tempo, como redutor dos riscos de algumas doenças, tem incentivado as pesquisas de novos componentes naturais e o desenvolvimento de novos ingredientes, possibilitando a inovação em produtos alimentícios e a criação de novos nichos de mercado, como o dos alimentos funcionais (MATSUBARA, 2001).

Estes alimentos movimentam anualmente cerca de US\$ 230 bilhões no mercado mundial e têm apresentado um crescimento estimado de 15 a 20% ao ano. Por isso, não é difícil prever um futuro promissor para o mercado brasileiro de alimentos funcionais (PORTUGAL et al., 2001).

Dentre as indústrias de alimentos, a de laticínios está entre as que apresentam maior possibilidade de crescimento na disponibilização de produtos funcionais, em especial no



segmento de leites fermentados, através da utilização de culturas probióticas e de substâncias prebióticas (FERREIRA, C., 2001).

Na categoria dos leites fermentados, merecem destaque as bebidas lácteas, cujo mercado no Brasil vêm crescendo a cada dia. Surgidas em 1992, apresentam características semelhantes ao iogurte líquido, diferindo apenas por apresentar em sua composição o soro de queijo (RICHARDS, 1997), em quantidades que podem variar de 30% a 70% (SEIBEL; CANSIAN, 2000).

Apesar da atual valorização do soro e de seus componentes em virtude do seu alto valor nutritivo, de sua versatilidade e do surgimento de novas tecnologias de aplicação (BARBOSA et al., 2003), muitas empresas ainda o consideram como resíduo e não como um subproduto capaz de representar uma fonte de recursos para os laticínios (VIEIRA, 2000).

No Brasil, são produzidos aproximadamente 4.050.000 toneladas de soro de queijo por ano. Cerca de 50% deste total ainda não é aproveitado, sendo muitas vezes descartado nos rios (SANTOS; FERREIRA, 2001). Esta prática, além de anti-econômica gera um gravíssimo problema de poluição ambiental. Por ser um resíduo com alta concentração de matéria orgânica, contribui de maneira significativa para o aumento da demanda bioquímica de oxigênio e da acidez da água, prejudicando a vida aquática (ABREU, 2000).

Neste contexto, o desenvolvimento de uma bebida láctea funcional, fermentada com culturas probióticas e acrescida de prebiótico, seria uma alternativa bastante inovadora para o aproveitamento do soro pelas indústrias lácteas, sem a necessidade de grandes investimentos ou de grandes mudanças na rotina de fabricação. Assim, as indústrias também estariam diminuindo o desperdício, a poluição ambiental, gerando novos recursos, e principalmente, melhorando o valor nutritivo deste produto.



2 OBJETIVOS BIIOGRÁFICA

3 O presente trabalho teve como objetivos:

- formular bebidas lácteas funcionais com diferentes concentrações de matérias – primas;
- avaliar as características físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e reológicas das bebidas lácteas formuladas;
- estabelecer a ótima formulação usando a metodologia de superfície de resposta;
- produzir a formulação otimizada e avaliar suas características físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e reológicas durante 35 dias de estocagem.



3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 SORO DE QUEIJO

O soro é um subproduto da fabricação de queijos, constituindo a fase aquosa do leite, resultante da dessoragem do coágulo. Ele pode ser caracterizado como um líquido amarelo-esverdeado e, dependendo do tipo de queijo, pode possuir sabor ligeiramente ácido ou doce (USDEC, 1997; ABREU, 2000).

O soro doce provém da coagulação enzimática do leite em um pH próximo de 6,7 ou da coagulação da caseína por enzimas proteolíticas, como a renina, em um pH mínimo de 5,6. Ele pode ser obtido da fabricação dos queijos tipo Cheddar, Minas Frescal, Minas Padrão, Mussarela, Prato e Suíço. O soro ácido, é resultante da manufatura dos queijos Quark e Requeijão, entre outros. O soro doce tem um pH médio de 6,2 e o ácido de 4,6. No Brasil, a produção de soro é constituída quase que exclusivamente de soro doce (ABREU, 2000).

As composições químicas do leite integral, leite desnatado e dos soros doce e ácido podem ser evidenciadas na Tabela 1.

O valor nutricional do soro é indiscutível. Durante a fabricação do queijo, somente a caseína e a gordura do leite são removidas, restando as proteínas do soro (β -lactoglobulina, α -lactoalbumina, soroalbumina, imunoglobulinas, proteose-peptonas, lactoferrina e transferrina) (ABREU, 2000), várias vitaminas hidrossolúveis (tiamina, riboflavina, ácido pantotênico, vitamina B₆ e B₁₂), minerais (cálcio, magnésio, zinco e fósforo) e um alto teor de lactose (USDEC, 1997).

A caracterização físico-química de quatro tipos de soro, oriundos dos queijos mais comercializados no país, está apresentada na Tabela 2.



Tabela 1 - Composição química do leite integral, leite desnatado e dos soros doce e ácido.

Componentes	Leite integral	Leite desnatado	Soro doce	Soro ácido
Água (%)	87,40	90,40	93 – 94	94 – 95
Sólidos totais (%)	-	-	6,70	6,40
Proteínas (%)	3,50	3,60	0,90	0,90
Lactose (%)	4,80	5,10	4,90	4,30
Cinzas (%)	0,70	0,70	0,50	0,80
Cálcio (mg/100g)	-	-	43,2	-
Fósforo (mg/100g)	-	-	39,4	-
Lipídios (%)	3,50	0,10	0,3	0,10
Ácido láctico (%)	-	-	Traços	Até 0,80
Acidez dornic (°D)	17,1	-	11,5	-
pH	-	-	6,45	4,60

Fonte: ABREU, 2000.

Tabela 2 - Características físico-químicas dos soros obtidos nas fabricações de quatro tipos de queijo.

Parâmetros	Valores médios			
	Minas Frescal	Minas Padrão	Prato	Mussarela
pH	6,31	6,23	6,35	6,16
Acidez titulável (°D)	11,68	11,76	11,43	12,21
Densidade (g/mL)	1,0221	1,0190	1,0212	1,0204
Índice crioscópico (°H)	-0,459	-0,513	-0,670	-0,480
Umidade (g/100 mL)	93,32	94,24	93,54	93,64
Extrato seco total (g/100 mL)	6,68	5,76	6,46	6,36
Gordura (g/100 mL)	0,75	0,66	0,80	0,86
Extrato seco desengordurado (g/100 mL)	5,93	5,11	5,66	5,51
Proteínas (g/100 mL)	1,25	1,28	1,49	1,43
Lactose (g/100 mL)	2,76	2,90	2,99	2,29

Fonte: SIQUEIRA et al., 2002.



A lactose, presente no soro, pode ser fonte de material energético para diversos processos biotecnológicos e como componente utilizado na indústria farmacêutica e alimentícia (GIROTO; PAWLOWSKY, 2002).

Devido às suas propriedades funcionais, as proteínas do soro podem ser usadas em uma ampla faixa de formulações, alimentos infantis, dietas especiais, produtos de panificação, produtos lácteos (BARBOSA et al., 2003), concentrado protéico de soro (CPS), sopas, sucos de frutas fortificadas com proteínas, bases para molhos, iogurtes, bebidas fermentadas, chocolates e sorvetes (PENNA, 2000). A incorporação de produtos de soro em iogurtes melhora as características de sabor e textura, além de outros parâmetros nutricionais (HUGUNIN, 1999).

A composição de aminoácidos das proteínas do soro ultrapassa os níveis de todos os aminoácidos essenciais da proteína de referência da Food and Agriculture Organization – FAO, mostrando claramente seu valor biológico (PENNA, 2000).

Existem diversos métodos para o aproveitamento do soro, porém, nem todos se aplicam a qualquer indústria. Dentre eles pode-se citar a produção de combustível pela fermentação anaeróbica, o emprego na alimentação animal, a secagem, o transporte para outras indústrias, a separação de seus componentes e o aproveitamento direto em formulações como as bebidas lácteas (SANTOS; FERREIRA, 2001).

Uma pesquisa realizada com indústrias de laticínios do Paraná constatou que 50% das empresas fazem doação do soro para alimentação animal, 25% comercializam este derivado lácteo e 6,3% utilizam processos de evaporação e secagem. Entretanto, 12,5% ainda consideram o soro como resíduo (GIROTO; PAWLOWSKY, 2002).

Estudos recentes têm demonstrado a viabilidade da utilização do soro na produção de bebidas lácteas em concentrações que variam de 30% a 70%, com características próximas ao iogurte natural em relação à coloração e aroma (SEIBEL; CANSIAN, 2000). A viscosidade



da bebida pode variar de relativamente baixa, semelhante à de uma mistura de leite e suco de frutas, até a viscosidade dos tradicionais iogurtes para beber (LAGRANGE; DALLAS, 1997).

O aproveitamento deste subproduto é de grande importância para a economia nacional e também para a preservação do meio ambiente (SEIBEL; CANSIAN, 2000). Entretanto, para que o soro possa ser usado, é necessário que ele receba um tratamento adequado, para evitar a contaminação e o crescimento microbiano e como consequência a formação de metabólitos indesejáveis, como as aminas biogênicas (putrescina, cadaverina, tiramina e histamina), que poderão conferir risco toxicológico a este produto (CUSTÓDIO et al., 2002).

Entre os fatores que influenciam a formação das aminas biogênicas estão a disponibilidade de aminoácidos e as condições favoráveis ao crescimento de microrganismos, produção e ação de enzimas descarboxilases, o pH, a concentração de sal e a temperatura. Os microrganismos descarboxilase positivos podem fazer parte da população microbiana associada ao alimento ou serem introduzidos por contaminação (SANTOS et al., 2002).

3.2 ALIMENTOS FUNCIONAIS

De acordo com a definição da Comissão Técnico-Científica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos do Ministério da Saúde, alimentos funcionais são aqueles semelhantes em aparência ao alimento convencional, consumidos como parte da dieta usual, capazes de produzir demonstrados efeitos metabólicos ou fisiológicos úteis na manutenção de uma boa saúde física e mental e que podem auxiliar na redução do perigo de doenças crônico-degenerativas além das suas funções nutricionais básicas (PUPIN, 2001).

Os efeitos auxiliares apresentados pelos alimentos funcionais ocorrem através da modulação dos sistemas imune, endócrino, circulatório, digestivo e nervoso (SANDERS, 1998).



O conceito de alimento funcional surgiu no Japão nos anos 80, associado à questão do envelhecimento populacional, aumento da expectativa de vida, ocorrência na terceira idade de doenças crônico-degenerativas tais como o câncer, a hipertensão, diabetes, artrite e cardiopatias. Neste período, houve um grande incentivo ao desenvolvimento de projetos envolvendo universidades, indústrias e governo, para a caracterização de alimentos e/ou ingredientes que possuísem além de suas funções nutricionais normais, uma função moduladora dos processos metabólicos, que pudessem melhorar as condições de saúde, promover o bem-estar, prevenindo o surgimento precoce de doenças degenerativas e conseqüentemente reduzir a escalada dos custos nacionais da previdência social com o amparo a saúde (PUPIN, 2001). Em 1991, o conceito de alimento benéfico para a saúde recebeu o nome de FOSHU (Foods for Specified Health Use) pelo Ministério Nipônico da Saúde e Bem-Estar (ALIMENTOS, 2001).

Com exceção do Japão, nos demais países, inclusive no Brasil, as legislações ou diretrizes sobre este tipo de alimento são relativamente recentes (PUPIN, 2001). Segundo a legislação brasileira, a alegação de propriedade funcional deve estar baseada em evidências científicas como ensaios nutricionais e/ou fisiológicos e/ou toxicológicos em animais de experimentação, ensaios bioquímicos, estudos epidemiológicos e ensaios clínicos (BRASIL, 1999). Essa exigência é importante tanto para a orientação das indústrias de alimentos, como para a garantia do consumidor (PUPIN, 2001).

Dentre os ingredientes que inferem funcionalidade aos alimentos, além das fibras dietéticas, dos minerais, das vitaminas e dos óleos de peixes, encontram-se também as substâncias prebióticas e os microrganismos probióticos, principalmente espécies do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (FERREIRA, C., 2001). A Tabela 3 exemplifica alguns componentes de alimentos com ação funcional (PUPIN, 2001).



Tabela 3 - Exemplos de componentes com ação funcional.

Classe	Composto	Possíveis efeitos
Prebióticos: oligossacarídeos, polissacarídeos	Frutooligosacarídeos (inulina) e soja; fibra solúvel e insolúvel	Aumento do número de bactérias bifidogênicas, redução do risco de câncer e de doenças cardíacas
Probióticos: bactérias láticas	<i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium</i> spp.	Melhora do balanço microbiano intestinal, redução do risco de câncer
Flavonóides	Quercitina, catequina, genisteína, daidzeína, hesperidina, naringenina, antocianinas	Redução do risco de doenças cardíacas
Carotenóides	Licopeno, luteína, zeaxantina, beta-caroteno	Redução do risco de câncer
Organossulfurados	Glucosinolatos, alicina, isotiocianatos	Redução do risco de câncer
Fitoesteróis	Sitosterol, sitostanol, campesterol, stigmasterol, orizanol	Redução do risco de doenças cardíacas
Ácidos graxos	Linoléico (n-6), alfa- linolênico (n-3), eicosapentaenóico (EPA), docosahexaenóico (DHA)	Redução do risco de doenças cardíacas

Fonte: PUPIN, 2001.

O uso de um alimento funcional não diminui a importância de uma dieta saudável como o principal caminho para a prevenção de doenças.

Os alimentos funcionais sempre estiveram disponíveis para o consumidor, mas apenas nos últimos anos começaram a aparecer em maior quantidade, especialmente na forma de bebidas. Acredita-se que eles constituirão aproximadamente 25% de todos os produtos alimentícios até o final desta década (BUCIONE, 2001).

O mercado internacional de alimentos funcionais movimentou cerca de US\$ 27,8 bilhões em 1998, US\$ 31,6 bilhões em 1999, e estima-se que alcançará US\$ 51,3 bilhões em 2004. As vendas de bebidas funcionais foram de aproximadamente US\$ 4 bilhões em 2000, podendo



atingir US\$ 24 bilhões até 2005. A categoria das bebidas funcionais engloba os produtos probióticos, prebióticos, com proteínas da soja e fitoesteróis (PENNA, 2002).

O mercado de produtos funcionais está aberto e não é difícil prever para o mercado brasileiro um futuro promissor, principalmente relacionado aos iogurtes e leites fermentados contendo culturas probióticas e substâncias prebióticas (BUCIONE, 2001; PENNA, 2002).

O Japão lidera este mercado com mais de 50 produtos lácteos diferentes contendo microrganismos viáveis. Essa tendência também tem sido constatada em países da Europa como a Suécia, onde mais de 25% do mercado de fermentados é de produtos probióticos. Estima-se que atualmente, mais de 80 produtos diferentes, contendo bactérias bífidas, estão sendo comercializados no mercado mundial. Nos mercados europeu e japonês, a tendência é utilizar novas estirpes probióticas e misturas mais complexas. Já em outros, como nos Estados Unidos e no Brasil, a maioria dos produtos probióticos contém estirpes de *Lactobacillus acidophilus* e de *Bifidobacterium* (FERREIRA, C., 2001).

3.2.1 Probióticos

A história dos alimentos suplementados com microrganismos vivos remonta a milhares de anos atrás, já que no Velho Testamento (Gênesis 18, 8) há menções sobre o uso de leites fermentados. Desde então, seu consumo em diferentes formas tem persistido até hoje (ANTUNES, 2001).

Os efeitos benéficos dos leites fermentados tiveram sua base científica no começo do século XX, com o microbiologista russo Eli Metchnikoff, que propôs uma teoria sobre o prolongamento da vida baseada no consumo diário de leites fermentados pelos povos dos Bálcãs (GONZÁLEZ, 1997). Ele acreditava que a atividade metabólica das bactérias ácido-láticas inibiria as bactérias intestinais do mesmo modo que inibem a putrefação dos alimentos



(ADAMS; MOSS, 1997). Suas publicações “The prolongation of life” e “The bacillus of long life” podem ser consideradas o nascimento dos alimentos probióticos (GONZÁLEZ, 1997).

Os probióticos são definidos como um suplemento alimentar microbiano vivo, que afeta de maneira benéfica o organismo através da melhora do seu balanço intestinal (GOLDIN, 1998). Da mesma forma, alimentos probióticos são definidos como alimentos contendo microrganismos vivos, que possuem um efeito benéfico sobre a microflora intestinal e as funções fisiológicas do trato intestinal humano (SHAH, 2001; PENNA, 2002).

Para que as bactérias probióticas promovam efeitos benéficos, os alimentos devem conter um mínimo de 10^6 UFC por grama do produto (SHAH, 2001). Dentre estes efeitos, destacam-se:

- melhora na digestibilidade devido à hidrólise de proteínas, gorduras e carboidratos;
- aumento do valor nutricional devido aos níveis mais altos de vitaminas do complexo B e aminoácidos livres;
- antagonismo dos patógenos entéricos devido à produção de ácidos, inibidores microbianos e prevenção da adesão ou ativação de patógenos;
- colonização do intestino;
- efeito anticarcinogênico, principalmente de câncer do trato gastrointestinal, devido à degradação de pré-carcinogênicos, redução das enzimas promotoras das substâncias carcinogênicas e pela estimulação do sistema imune;
- ação hipocolesterolêmica devido à inibição da síntese do colesterol;
- estímulo da formação de macrófagos, células supressoras e γ -interferon (GILLILAND, 1989; GOMES; MALCATA, 1999; LEE et al., 1999; ZUBILLAGA et al., 2001).

A produção de ácido láctico L(+), acético e fórmico, além de substâncias antimicrobianas como a lactocidina e a bacteriocidina durante a fermentação destas bactérias, cria um ambiente hostil para microrganismos patogênicos, como *Salmonella*, *Clostridium*, *Bacillus*

cereus, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Campylobacter jejuni* (LEE et al., 1999; SILVA; STAMFORD, 2000) e deteriorantes (KAILASAPATHY; RYBKA, 1997).

As propriedades probióticas não estão ligadas às espécies bacterianas propriamente ditas, mas a certas linhagens dentro de algumas espécies (PENNA, 2002).

A escolha de uma boa linhagem probiótica deve ser baseada em algumas propriedades:

- ser de origem humana;
- ser segura para uso alimentar ou clínico. Seus efeitos sobre a saúde devem ser clinicamente validados e documentados;
- ter a habilidade de sobreviver em ambientes ácidos, como o do produto ou o do estômago e de resistir aos sais biliares;
- ter a capacidade de aderir, colonizar e se multiplicar no intestino (TAMIME, 1997; SHAH, 2001; BERTERRECHE, 2002).

Os microrganismos mais comumente descritos como possuidores de características probióticas e seus produtos de metabolismo estão descritos na Tabela 4 (FERREIRA, C., 2001). Shah (2001) cita ainda como bactérias probióticas as espécies *bulgaricus*, *lactis*, *plantarum*, *paracasei*, *fermentum* e *helveticus* de *Lactobacillus* e as espécies *essensis*, *lactis*, *laterosporus* e *subtilis* de *Bifidobacterium*.

Basicamente, são três os mecanismos propostos para o modo de ação das bactérias probióticas no organismo: (1) supressão das bactérias patogênicas viáveis através da produção de compostos antibacterianos, competição por nutrientes e competição por zonas de adesão; (2) alteração do metabolismo microbiano por aumento ou diminuição da atividade enzimática e (3) estimulação da imunidade por aumento dos níveis de anticorpos e da atividade macrofágica (PENNA, 2002).



Tabela 4 - Principais bactérias probióticas e seus produtos de metabolismo.

Espécies	Produtos de metabolismo
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	DL lactato
<i>Lactobacillus casei</i>	L(+) lactato
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	L(+) lactato
<i>Lactobacillus reuterii</i>	DL lactato, CO ₂
<i>Enterococcus faecium</i>	L(+) lactato
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	L(+)lactato, acetato
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	L(+)lactato, acetato
<i>Bifidobacterium breve</i>	L(+)lactato, acetato
<i>Bifidobacterium infantis</i>	L(+)lactato, acetato
<i>Bifidobacterium longum</i>	L(+)lactato, acetato

Fonte: FERREIRA, C., 2001.

Recém-nascidos alimentados exclusivamente com leite materno têm sua flora intestinal basicamente composta por *Bifidobacterium* (85% a 90%). É nesta fase que os humanos possuem o maior número destas bactérias no intestino, que ao longo dos anos vai diminuindo. As bactérias probióticas são isoladas das fezes de humanos (MATSUBARA, 2001).

A microbiota intestinal é composta por cerca de 100 trilhões de bactérias, pertencentes a mais de 400 espécies de natureza saprofítica e patogênica, que vivem harmoniosamente protegendo o hospedeiro. Elas antagonizam o crescimento dos microrganismos patogênicos, impedem a reabsorção de compostos aminados indesejáveis, desconjugam ácidos biliares, biodisponibilizam minerais como cálcio e ferro, além de favorecer o metabolismo de substâncias como a lactose. Alguns fatores como a dieta, o consumo de drogas, situações de estresse, tratamentos quimioterápicos e tratamentos com antibióticos podem ocasionar um desequilíbrio no balanço microbiano intestinal, provocando diferentes tipos de problemas gastrointestinais (FERREIRA, C., 2001; BERTERRECHE, 2002).

Os lactobacilos e os estreptococos são os principais constituintes da microflora do intestino delgado (ADAMS; MOSS, 1997). Microrganismos anaeróbios estritos como os bacteróides e



as bifidobactérias constituem 99% da flora do intestino grosso e das fezes (ARUNACHALAM, 1999). *E. coli*, enterococos, lactobacilos, clostrídios, fusobactérias, leveduras, estafilococos e pseudomonas se encontram em menor quantidade (ADAMS; MOSS, 1997).

Por serem habitantes naturais do trato intestinal humano e não toxigênicos, os lactobacilos e as bifidobactérias podem ser os microrganismos de escolha para a recomposição e manutenção do ecossistema intestinal (SABOYA et al., 1997; FERREIRA, C., 1999).

Teshima et al. (2002) estudaram os efeitos do consumo de leite desnatado enriquecido com estirpes probióticas de *B. breve* na modulação de diferentes grupos da microbiota intestinal de ratas adultas. Após 28 dias de administração, a avaliação do conteúdo cecal e colônico dos animais demonstrou que o grupo que consumiu a dieta adicionada de probióticos apresentou maiores concentrações de bactérias bífidas e menor presença de *E. coli* do que o grupo controle.

Existem bem descritas 56 espécies de *Lactobacillus* e 29 de *Bifidobacterium* (ARUNACHALAM, 1999). Destas últimas, somente 10 são de origem humana (GOMES; MALCATA, 1999) e só 5 espécies (*B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis* e *B. longum*) têm interesse para a produção de produtos lácteos fermentados (ARUNACHALAM, 1999).

As *Bifidobacterium* foram primeiramente isoladas e descritas em 1899-1900 por Tissier. São caracterizadas geralmente como Gram-positivo, não formadoras de esporos (GOMES; MALCATA, 1999), heterofermentativas, anaeróbias, com pH ótimo de crescimento de 6,5 a 7,0 (ARUNACHALAM, 1999) e temperatura ótima de crescimento entre 37° e 41°C (GOMES; MALCATA, 1999). Produzem ácidos acético e lático sem geração de CO₂. Além da glicose, todas as bifidobactérias de origem humana utilizam galactose, lactose e frutose como fontes de carbono. Em algumas instâncias podem fermentar carboidratos complexos.



Seu crescimento é estimulado por componentes glicoprotéicos da α -caseína do colostro humano e em menor extensão do leite humano (GOMES; MALCATA, 1999).

Os *Lactobacillus* foram isolados primeiramente em 1890 por Moro. São bactérias Gram-positivo, que não formam esporos, nem possuem flagelos (GOMES; MALCATA, 1999) e que sobrevivem à pasteurização e a outros processos térmicos (FRANCO et al., 1996). Deste grupo, o mais comumente usado em alimentos é o *L. acidophilus* que se caracteriza por ser catalase negativo, anaeróbio ou microaerófilo, homofermentativo e por ter formato de bastonete (DANISCO, 2000). Muitas cepas de *L. acidophilus* fermentam celobiose, frutose, galactose, glicose, lactose, maltose e manose (GOMES; MALCATA, 1999). Estes microrganismos produzem ácido láctico das formas D e L através da glicólise homoenzimática e quantidades traços de acetaldeído (DANISCO, 2000). Seu crescimento ótimo ocorre entre 35-40°C e pH de 5,5-6,0 (GOMES; MALCATA, 1999).

Os microrganismos probióticos podem ser adicionados ou estar presentes naturalmente nos alimentos (PENNA, 2002). A adição pode ser feita como componente da cultura que dará origem ao produto, na forma de cultura concentrada em conjunto com a cultura tradicional no início do processamento ou como uma cultura concentrada após a fermentação (FERREIRA, C., 2001).

Por terem baixa atividade proteolítica, os probióticos são usados geralmente em conjunto com a cultura de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* para reduzir o tempo de fermentação (SHIHATA; SHAH, 2000; SHAH, 2001). Estes últimos por sua vez, não são habitantes naturais do intestino, não sobrevivem às condições ácidas e à concentração de bile encontrada no trato gastrointestinal (SHAH, 2001).

Fatores como o pH, acidez, concentração de peróxido de hidrogênio, temperatura de estocagem, conteúdo de oxigênio e concentrações de ácido láctico e acético podem afetar a



viabilidade das culturas probióticas em leites fermentados durante a fabricação e estocagem (DAVE; SHAH, 1997).

A Tabela 5 apresenta algumas espécies de bactérias probióticas e suas respectivas funcionalidades (FERREIRA, C., 2001).

Tabela 5 - Funcionalidade de algumas bactérias probióticas.

Função	Espécies
Balanço da microbiota intestinal	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>B. bifidum</i>
Estímulo do sistema imune	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. rhamnosus</i>
Redução de enzimas fecais	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. gasseri</i>
Ação antitumorigênica	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. adolescentis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. longum</i>
Prevenção de diarreia dos viajantes	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>
Prevenção de diarreia por rotavírus	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>
Prevenção de diarreia pseudomembranosa (<i>Clostridium difficile</i>)	<i>L. rhamnosus</i>
Prevenção de diferentes tipos de diarreia (antibioticoterapia, quimioterapia, etc.)	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>B. bifidum</i>
Diminuição do colesterol sérico	<i>L. acidophilus</i>

Fonte: FERREIRA, C., 2001.

Além dos probióticos, estudos recentes têm demonstrado que mudanças na composição bacteriana do intestino também podem ser estimuladas pela adição de fatores bifidogênicos na dieta, designados prebióticos (SHAH, 2001; PENNA, 2002).

Estes, por sua vez, são definidos como compostos, usualmente da natureza de carboidratos, que não são digeridos pelo hospedeiro e que chegam até o cólon onde são metabolizados preferencialmente pelas bifidobactérias como fonte de energia (GOMES; MALCATA, 1999).



3.2.2 Prebióticos

Os primeiros estudos com os prebióticos ocorreram por volta de 1959, quando a lactulose foi usada para estimular *Bifidobacterium bifidum*. O termo prebiótico foi introduzido muito depois por Gibson e Roberfroid (1995). Segundo estes pesquisadores, os prebióticos são alimentos não digeríveis pelo hospedeiro e que têm a propriedade de serem fermentados de maneira seletiva no cólon, favorecendo o seu bem estar.

Estas substâncias têm a vantagem de não sofrerem as dificuldades de sobrevivência que os microrganismos probióticos precisam enfrentar (FERREIRA, C, 2001). Seu uso maximiza o efeito dos produtos bífidus, formando assim a categoria dos alimentos simbióticos (SHAH, 2001).

A funcionalidade dos alimentos prebióticos está relacionada à sua atuação direta no aumento do tempo de esvaziamento do estômago; na modulação do trânsito do trato gastrointestinal; na diminuição do colesterol, via adsorção de ácidos biliares (FERREIRA, C., 2001; BERTERRECHE, 2002) e à sua atuação indireta na modulação da fermentação microbiana através do estímulo das bactérias bífidas, que são responsáveis pela diminuição do pH e da absorção de amônia (TOMOMATSU, 1994; FERREIRA, C., 2001; BERTERRECHE, 2002).

Para que uma substância seja classificada como prebiótico, ela deve possuir algumas características importantes como não ser hidrolisada ou absorvida na parte superior do trato gastrointestinal, ser substrato seletivo para um número limitado de microrganismos habitantes do cólon e produzir alteração na microbiota do cólon tornando-a mais saudável para o hospedeiro (FERREIRA, C., 2001).

Alguns carboidratos, oligo e polissacarídeos, que ocorrem naturalmente em frutas e vegetais podem ser usados como prebióticos (BERTERRECHE, 2002).



Os oligossacarídeos possuem dulçor entre 0,3 e 0,6 vezes o da sacarose (CRITTENDEN; PLAYNE, 1996). Eles também fornecem baixa caloria (2,3 a 3,3 Kcal/g), apresentam viscosidade semelhante a da solução de sacarose, boa estabilidade aos tratamentos térmicos e reduzem a atividade de água do alimento ajudando no controle do crescimento de microrganismos. A ingestão dos oligossacarídeos ramificados melhora a consistência das fezes, alivia a constipação e estimula o crescimento de bactérias benéficas no intestino (USHIJIMA, 2001). Os oligossacarídeos de alto peso molecular promovem um aumento da viscosidade das soluções (CRITTENDEN; PLAYNE, 1996).

Os oligossacarídeos também podem ser usados para alterar a temperatura de congelamento dos alimentos e para reduzir as reações de Maillard. Devido à sua capacidade de reter umidade, podem ser usados para prevenir a secagem excessiva de alimentos (CRITTENDEN; PLAYNE, 1996).

Vários oligossacarídeos não digeríveis têm sido usados na dieta, especificamente para aumentar o número de bifidobactérias da microflora intestinal. Resultados promissores têm sido encontrados "in vitro" usando a oligofrutose. Estudos clínicos têm relatado o aumento da população de bifidobactérias no cólon após a adição de oligofrutose na dieta humana na razão de 15 g/dia (GOMES; MALCATA, 1999).

A Tabela 6 relaciona os oligossacarídeos de grau alimentar produzidos comercialmente. A oligofrutose representa uma das maiores classes de oligossacarídeos bifidogênicos em termos de produção mundial (CRITTENDEN; PLAYNE, 1996).



Tabela 6 - Oligossacarídeos produzidos comercialmente, ordenados de acordo com o grau de utilização no mercado mundial.

1. Lactulose	7. Glucosilsacarose*
2. Galactooligossacarídeo	8. Ciclodextrinas*
3. Frutooligossacarídeo (FOS)	9. Oligossacarídeos de soja
4. Isomalto-oligossacarídeo	10. Lactosacarose
5. Malto-oligossacarídeo*	11. Gentiooligossacarídeo
6. Palatinose-oligossacarídeo	12. Xylo-oligossacarídeo

* Não são bifidogênicos.

Fonte: FERREIRA, C., 2002.

3.2.2.1 Inulina e oligofrutose (FOS)

A inulina é um frutano, uma mistura de polímeros de frutose com grau de polimerização de 2 a 60. O FOS é um derivado da inulina, com grau de polimerização de 2-10 unidades, que não é metabolizado pelas enzimas digestivas e nem pela maioria das bactérias indesejáveis do intestino. Quimicamente, consiste em moléculas de sacarose, nas quais uma, duas ou três unidades de frutose são adicionadas por ligações β -(2-1) à molécula de frutose da sacarose (NEVEN, 2001).

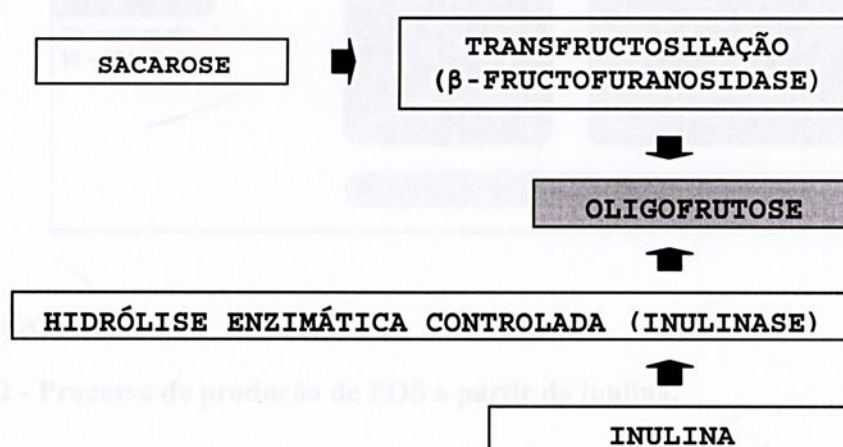
O FOS e a inulina ocorrem naturalmente em muitas frutas e vegetais, incluindo banana, cevada, alho, alho poró, cebola, centeio, tomate, aspargos, tubérculos, trigo, alcachofra e chicória, fazendo parte de uma dieta normal (NEVEN, 2001). No entanto, as quantidades encontradas nestes alimentos são pequenas, exigindo um consumo elevado para se obter o efeito funcional esperado (FERREIRA, C., 2001).

O FOS pode ser extraído destes alimentos e concentrado ou pode ser fabricado industrialmente por processos enzimáticos. Neste caso, ele pode ser produzido a partir de açúcares simples, como a sacarose, através de uma reação de transglicosilação ou por meio da



hidrólise controlada de polissacarídeos como a inulina (USHIJIMA, 2001). Estes processos podem ser visualizados na Figura 1.

No entanto, eles produzem oligossacarídeos com diferenças no grau de polimerização e algumas vezes na posição da ligação glicosídica. Em geral, o produto resultante não é puro e sim um composto de oligossacarídeos de diversos graus de polimerização, contendo como contaminantes mono, di e polissacarídeos, que podem ser removidos por membranas ou cromatografia (CRITTENDEN; PLAYNE, 1996).



Fonte: CRITTENDEN; PLAYNE (1996).

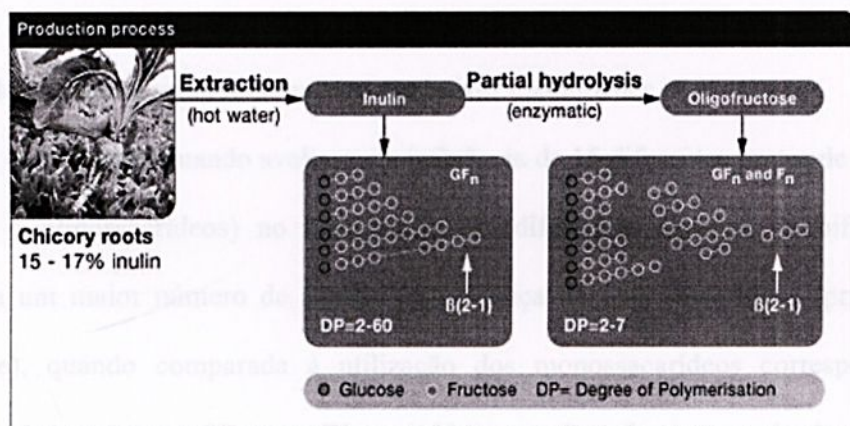
Figura 1 - Processos enzimáticos usados para a produção de oligofrutose.

A Figura 2 representa a produção do FOS na Europa a partir da hidrólise da inulina, que por sua vez, é extraída da raiz da chicória por um processo de difusão em água quente (ORAFI, 1999).

Devido ao seu poder adoçante e por não ser digerido (NEVEN, 2001), o FOS tem sido amplamente utilizado, no Japão e na Europa, como adoçante funcional na fabricação de gomas de mascar, geléias, balas, doces, biscoitos e bebidas lácteas, com uma contribuição calórica mínima (FERREIRA, C., 2001). Neven (2001) cita ainda a sua aplicação em iogurtes

de frutas com um posicionamento “diet” ou de baixas calorias. No Brasil, o seu uso é bastante recente (FERREIRA, C., 2001).

Nas bebidas lácteas, dependendo da concentração de uso, o FOS pode ter a função de fibra, de prebiótico ou de simbiótico. A dosagem pode variar de 1 a 3% (ORAFIT, 1999).



Fonte: ORAFIT, 1999.

Figura 2 - Processo de produção de FOS a partir da inulina.

Vários trabalhos têm comprovado o efeito bifidogênico da oligofrutose. Em um primeiro estudo clínico, Gibson e Roberfroid (1995) administraram 15 g/dia de oligofrutose em voluntários durante duas semanas. Os resultados demonstraram que a ingestão da oligofrutose causou um significativo aumento do número das bifidobactérias em detrimento aos bacteróides e clostrídios potencialmente patogênicos. Os lactobacilos também aumentaram. Contagens realizadas duas semanas após o término da ingestão de FOS mostraram uma diminuição do número de bifidobactérias.

Djouzi e Andrieux (1997) estudaram o efeito de três oligossacarídeos sobre o metabolismo da microflora intestinal de ratas estéril, inoculadas com microrganismos da flora fecal humana. O frutooligossacarídeo e o galactooligossacarídeo proporcionaram um aumento do número de bifidobactérias de 2 ciclos logarítmicos.

Rao (2001) estudou o efeito da ingestão de uma pequena dose de FOS (5 g/dia) sobre a microflora fecal de indivíduos saudáveis, especialmente bifidobactérias, comparado com a ingestão de placebo (sacarose). A ingestão do placebo não teve nenhum efeito sobre as bactérias fecais, ao passo que o consumo de oligofrutose por 11 dias resultou em um aumento de 1 ciclo logarítimo no número de bifidobactérias. Duas semanas após o término da ingestão de FOS, o número destas bactérias reduziu aos níveis encontrados antes do tratamento, confirmando seu efeito prebiótico mesmo em baixas quantidades.

Hopkins et al. (1998) quando avaliaram a influência de 15 diferentes fontes de carboidratos (mono, di e oligossacarídeos) no crescimento de diferentes espécies de bifidobactérias, observaram um maior número de células na presença de oligossacarídeos (principalmente oligofrutose), quando comparada à utilização dos monossacarídeos correspondentes. O mesmo foi observado por Gibson e Wang (1994) para *B. infantis*, quando da utilização de oligofrutose em comparação com a glicose.

3.3 BEBIDA LÁCTEA

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, entende-se por bebida láctea o produto obtido a partir de leite ou leite reconstituído e/ou derivados de leite, reconstituídos ou não, fermentado ou não, com ou sem adição de outros ingredientes, onde a base láctea represente pelo menos 51% massa/massa (m/m) do total de ingredientes do produto. O produto fermentado deve ainda ser processado mediante a ação de um cultivo de microrganismos específicos, e/ou adicionado de leite fermentado, e/ou outros produtos lácteos fermentados e não poderá ser submetido a tratamento térmico após a fermentação. A contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10^6 UFC/g no produto



final para o(s) cultivo(s) láctico(s) específico(s) empregado(s) durante todo o prazo de validade (BRASIL, 2000).

A fermentação do leite além de aumentar a sua durabilidade, melhora também o seu valor nutricional, devido à maior disponibilização das vitaminas do complexo B (produto do metabolismo dos microrganismos envolvidos na fermentação), à maior absorção do cálcio pelo organismo na forma de lactato de cálcio e ao desdobramento da lactose, possibilitando o consumo de lácteos por indivíduos intolerantes a este açúcar (FERREIRA, C., 1997). Isto ocorre devido à redução na concentração da lactose e à presença da β -galactosidase dos microrganismos da cultura (ADAMS; MOSS, 1997). A hidrólise da caseína e a desnaturação das proteínas do soro durante o tratamento térmico do leite parecem facilitar a ação das enzimas digestivas do estômago (FERREIRA, C., 1997).

A popularidade das bebidas lácteas com iogurte está crescendo de forma acentuada, tanto por constituir uma fonte prazerosa de alto valor nutritivo, como por ser uma bebida refrescante e de baixo custo (LAGRANGE; DALLAS 1997). Segundo dados da AC Nielsen, o consumo de produtos lácteos no Brasil tem registrado um crescimento médio de 5% ao ano, sendo que somente o segmento de iogurtes registrou em 2001 um consumo de 292,42 milhões de litros (SANTOS, 2002). Juntamente com os iogurtes líquidos, as bebidas lácteas à base de iogurte representam atualmente cerca de 42,7% deste mercado (FERREIRA, A., 2003).

Diante desta perspectiva de mercado, as indústrias lácteas estão buscando alternativas, como o desenvolvimento de produtos de baixa caloria, com a redução simultânea ou isolada do teor de gordura e açúcar, e os alimentos funcionais (COSTA; LIMA, 2002).

Os iogurtes desnatados ou semidesnatados estão cada vez mais populares. Entretanto, a qualidade destes produtos depende da textura e do corpo, devido à baixa quantidade de sólidos (MISTRY; HASSAN, 1992), e dos seus aspectos sensoriais e fisiológicos, uma vez



que a gordura contribui para o sabor e sua percepção no aparelho bucal, para a cremosidade, aparência, aroma, odor e para a sensação de saciedade após as refeições (AKOH, 1998).

Para melhorar a textura e reduzir a separação de soro, o uso de estabilizantes tem sido bastante comum, pois eles contribuem para o aumento dos sólidos totais (MISTRY; HASSAN, 1992).

Castro et al. (2002b) demonstraram que o uso de celulose microcristalina, amido modificado e concentrado protéico de soro nas formulações de iogurtes desnatados, fermentados com cultura probiótica, não alterou de forma significativa as características físico-químicas e microbiológicas destes produtos.

A ultrafiltração associada à fortificação do leite desnatado com concentrado de proteínas do leite e a aplicação de culturas produtoras de exopolissacarídeos também podem ser usadas para a melhoria da qualidade dos iogurtes desnatados. Estes microrganismos, além de produzir ácido e aroma, ajudam a aumentar a viscosidade do produto (MISTRY, 2002).

A descoberta de novos adoçantes durante a última década, também possibilitou o desenvolvimento de vários produtos livres de açúcares. Ao comparar o uso dos edulcorantes aspartame, sacarina e sucralose na fabricação de iogurtes probióticos, Pinheiro et al. (2002) demonstraram que é possível elaborar um iogurte probiótico com estes edulcorantes sem afetar a viabilidade dos microrganismos probióticos e com boa aceitabilidade sensorial.

A funcionalidade de bebidas lácteas formuladas com 40% de soro de queijo Minas Frescal e fermentadas por *Lactobacillus acidophilus* foi demonstrada por Martins et al. (2003). A bebida apresentou características semelhantes às do iogurte líquido, com boa aparência e sabor agradável. Entretanto, a propriedade probiótica proporcionada pela presença de células viáveis, manteve-se apenas por 7 dias após a fabricação.

Figura 3 - Processo de fabricação de bebidas lácteas com adição de soro pasteurizado ao iogurte.

3.3.1 Etapas do processo de fabricação da bebida láctea

O processo de fabricação das bebidas lácteas fermentadas é bastante simples, utilizando-se em grande parte os equipamentos disponíveis nas indústrias lácteas. O soro pode ser pasteurizado e adicionado após o término da fermentação, como apresentado na Figura 3 ou misturado ao leite antes do tratamento térmico, como na Figura 4 (LIMA et al., 2002).

A vantagem da adição de soro ao final da fermentação é que a partir de uma única base, a indústria pode fabricar produtos diferentes variando-se a concentração de soro, aromas, polpas de frutas e corantes.

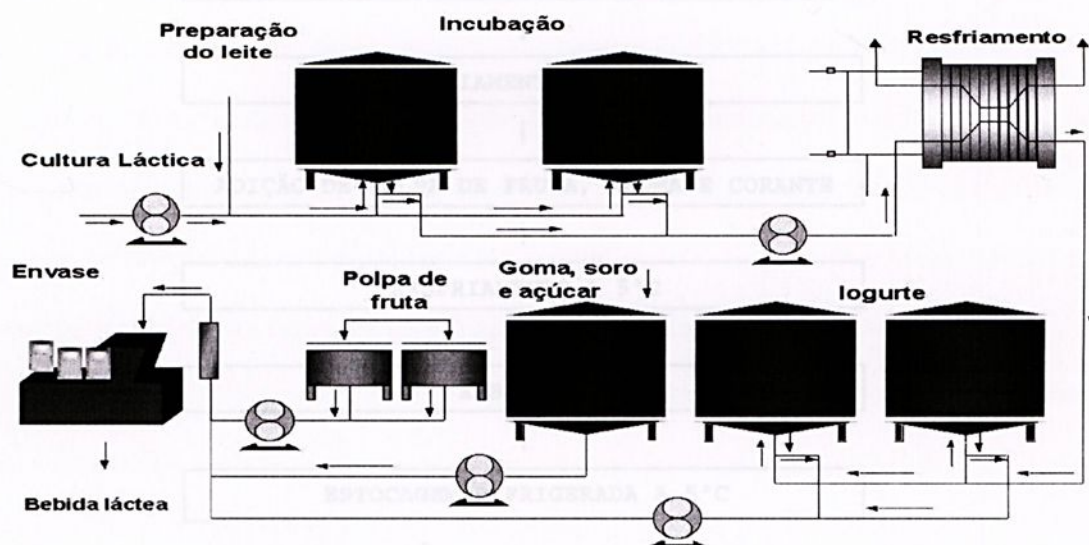


Figura 3 – Processo de fabricação de bebidas lácteas com adição do soro pasteurizado ao iogurte.

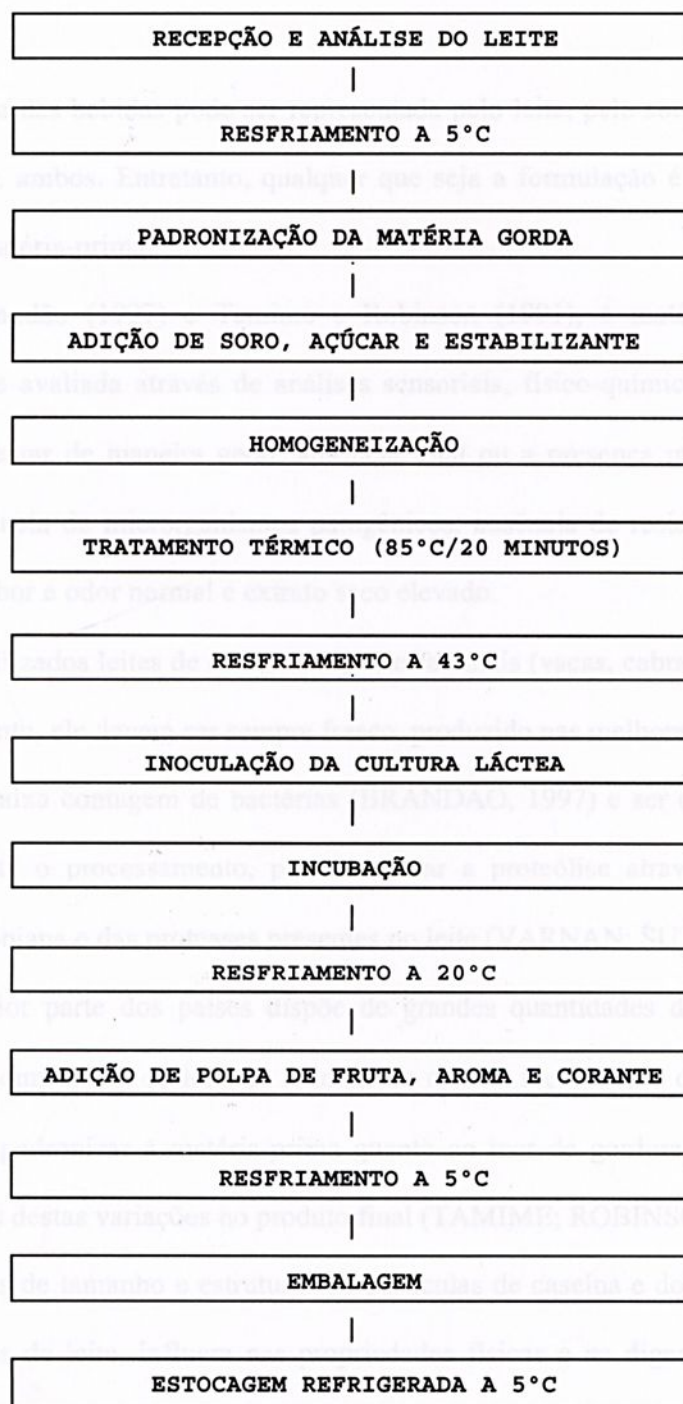


Figura 4 – Processo de fabricação de bebidas lácteas a partir da mistura leite e soro antes do tratamento térmico.

3.3.1.1 Cuidados com a matéria-prima

↓ tudo

[A base láctea das bebidas pode ser representada pelo leite, pelo soro de queijo, ou ainda, pela mistura de ambos. Entretanto, qualquer que seja a formulação é imprescindível a boa qualidade da matéria-prima.

Segundo Brandão (1997) e Tamime e Robinson (1991), a matéria-prima deverá ser cuidadosamente avaliada através de análises sensoriais, físico-químicas e microbiológicas, devendo apresentar de maneira geral, ausência total ou a presença mínima de substâncias estranhas, ausência de microrganismos patogênicos, ausência de resíduos de antibióticos e sanitizantes, sabor e odor normal e extrato seco elevado.

Podem ser utilizados leites de distintas espécies animais (vacas, cabras, ovelhas, búfalas ou renas). No entanto, ele deverá ser sempre fresco, produzido nas melhores condições sanitárias possíveis, ter baixa contagem de bactérias (BRANDÃO, 1997) e ser conservado em baixas temperaturas até o processamento, para controlar a proteólise através da diminuição da atividade microbiana e das proteases presentes no leite (VARNAN; SUTHERLAND, 1994).

Como a maior parte dos países dispõe de grandes quantidades de leite de vaca, com diferenças na composição do leite de animais de mesma raça e entre diferentes espécies, se faz necessário padronizar a matéria-prima quanto ao teor de gordura e sólidos totais para evitar os efeitos destas variações no produto final (TAMIME; ROBINSON, 1991).

As diferenças de tamanho e estrutura das partículas de caseína e dos glóbulos de gordura dos vários tipos de leite, influem nas propriedades físicas e na digestibilidade do produto (RASIC; KURMANN, 1978).

Quanto ao teor de gordura, o leite pode ser integral, semi-desnatado ou desnatado (BRANDÃO, 1997). Normalmente ele é padronizado para atender os requerimentos legais e a preferência do consumidor (VARNAN; SUTHERLAND, 1994).



As proteínas desempenham um importante papel na formação do coágulo e, portanto, a consistência e a viscosidade do produto estão diretamente relacionadas com a concentração de proteínas presentes (TAMIME; ROBINSON, 1991).

As bebidas lácteas podem conter ainda outros ingredientes como açúcares, acidulantes, aromatizantes, reguladores de acidez, estabilizantes, espessantes, emulsificantes, corantes, conservantes, pedaços, polpa ou suco de fruta, mel, entre outros. Todos deverão ter sua qualidade assegurada pelo fabricante e a concentração de uso não deverá exceder os limites máximos autorizados no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade específico (BRASIL, 2000).

Recentemente, a indústria tem utilizado ingredientes opcionais como os substitutos de gorduras, os edulcorantes, vitaminas, fibras e prebióticos (TAMIME, 1997; BERTERRECHE, 2002; FERREIRA, C., 2002).

Quanto ao sabor, embora as bebidas de frutas continuem sendo preferidas, versões com sabor e aromas picantes ou elaboradas com ervas finas estão ganhando popularidade entre os consumidores adultos (LAGRANGE; DALLAS, 1997).

3.3.1.2 Clarificação

A clarificação do leite é usada para a remoção das células epiteliais, dos eritrócitos e leucócitos e de partículas em suspensão com tamanho superior a 10 microns de diâmetro. Este processo é realizado em um equipamento denominado padronizadora centrífuga (RASIC; KURMANN, 1978; TAMIME; ROBINSON, 1991; BRANDÃO, 1995).

No caso do soro, a clarificação é necessária para a remoção das partículas de caseína oriundas da fabricação de queijos.



3.3.1.3 Padronização do teor de gordura

A padronização da gordura deve levar em conta o valor final requerido para o produto.

Em geral, ela pode ser feita através do desnate, da adição de leite desnatado ao leite integral (VARNAN; SUTHERLAND, 1994) ou de leite integral ao leite desnatado, da adição de creme de leite ou utilizando uma combinação dos métodos anteriores (RASIC; KURMANN, 1978; ABREU, 2000).

3.3.1.4 Padronização dos sólidos não gordurosos

O teor de sólidos é importante pelas suas propriedades físicas, como a consistência e a viscosidade, e pelo valor nutritivo do produto. Ele pode variar de 9 a 30% e, se necessário, também poderá sofrer correção através da adição de caseinato, leite em pó, soro em pó, concentrado protéico de soro ou ainda por meio da evaporação e osmose reversa (TAMIME ; ROBINSON, 1991; ABREU, 2000).

O aumento do conteúdo de sólidos totais do leite, particularmente de proteína, melhora o sabor, a consistência, a viscosidade e previne a separação do soro (RASIC; KURMANN, 1978; VARNAN; SUTHERLAND, 1994).

3.3.1.5 Adição de açúcares e/ou agentes edulcorantes

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

O açúcar normalmente é adicionado na forma sólida antes da pasteurização e deve preferencialmente ser refinado para evitar a incorporação de impurezas. A concentração de



sacarose pode variar de 0 a 12%. Acima deste valor pode haver um aumento da pressão osmótica, suficiente para inibir o crescimento normal das bactérias da cultura (BRANDÃO, 1997).

Os edulcorantes devem ser adicionados depois da pasteurização, para evitar a degradação térmica (VARNAN; SUTHERLAND, 1994).

3.3.1.6 Adição de estabilizantes / emulsificantes

Os estabilizantes são hidrocolóides de origem animal ou vegetal (RASIC; KURMANN, 1978) usados para reduzir ou eliminar o risco de sinérese, aumentar a viscosidade do produto final, melhorar a cremosidade (TAMIME; ROBINSON, 1991) e até mesmo para reduzir custos, à medida que permitem a redução de gordura e/ou de sólidos no produto final (NICOLAU; OLSEN, 2002). Além disso, eles permitem a redução de calorias do produto com a manutenção da qualidade sensorial (VARNAN; SUTHERLAND, 1994).

Esta classe de produtos inclui, entre outros, gelatina, ágar-ágar, goma guar, pectina, carragena e amido. A gelatina pode ser usada em concentrações de até 1% e os demais no máximo até 0,5% (VARNAN; SUTHERLAND, 1994; BRASIL, 2001; NICOLAU; OLSEN, 2002).

Eles podem ser adicionados na forma de mistura com os demais ingredientes secos ou dissolvidos em água ou leite antes da pasteurização, no leite quente logo após o tratamento térmico ou após a incubação (RASIC; KURMANN, 1978). Neste dois últimos casos é necessário se definir padrões microbiológicos para os estabilizantes (VARNAN; SUTHERLAND, 1994). Na maioria das vezes, é feita a mistura com os demais ingredientes secos e a adição é realizada antes da homogeneização e da pasteurização. O tratamento



térmico visa a destruição das formas vegetativas dos microrganismos patogênicos e de alguns esporulados.

3.3.1.7 Homogeneização

[A homogeneização do leite não é uma prática obrigatória, mas quando realizada promove a dispersão homogênea dos constituintes, melhorando sabor, consistência, apresentação e digestibilidade do produto (RASIC; KURMANN, 1978; ABREU, 2000). Reduz também a susceptibilidade de sinérese e a formação de grânulos. Entretanto, é necessária a definição de uma pressão ótima para cada tipo de iogurte, para evitar um aumento na separação do soro (VARNAN; SUTHERLAND, 1994). Normalmente, utiliza-se uma pressão de 15 a 20 MPa a 50-60°C. A homogeneização de estágio simples é a mais usada, mas o tratamento de dois estágios a 4 MPa também pode ser aplicado (ADAMS; MOSS, 1997).

Durante este processo ocorre a formação de uma emulsão homogênea entre a gordura e a água (TAMIME; ROBINSON, 1991), determinando uma considerável redução no tamanho do glóbulo de gordura, evitando que ele se separe, especialmente nos tanques de fermentação durante o período de incubação (WALSTRA; JENNESS, 1987).]

3.3.1.8 Tratamento térmico

O tratamento térmico da mistura (leite, soro, açúcar, etc.) é usado para se alcançar diversos efeitos importantes. Dentre eles, pode-se citar a pasteurização, a eliminação de microrganismos competidores, a inativação de enzimas diversas, a melhoria da atividade de fermentação, a desnaturação das proteínas do soro e a melhoria da digestibilidade protéica (ABREU, 2000).



A melhoria do leite como meio de crescimento para os microrganismos da cultura láctea é conseguida devido à inativação das imunoglobulinas, à expulsão do oxigênio e à liberação de concentrações estimuladoras de grupos sulfidril (ADAMS; MOSS, 1997).

A extensão das modificações químicas e físicas que ocorrem no leite durante o processamento e o tratamento térmico depende da temperatura e da duração do tratamento (TAMIME; ROBINSON, 1991).

[Existem controvérsias na literatura a respeito do tipo de tratamento térmico que proporciona melhor atividade de fermentação. Alguns autores comentam que há uma faixa de temperatura de inibição e de ativação das bactérias, devido à formação de sulfetos voláteis, à redução do potencial de oxiredução, ao pH e à desnaturação protéica. Somado aos efeitos de temperatura, existem fatores ligados à composição físico-química, tais como o teor de sólidos não gordurosos, o conteúdo total de sólidos, a qualidade do leite, a atividade de água e a variabilidade entre as culturas, que também podem influenciar na avaliação mais completa do efeito da temperatura no processo fermentativo de iogurtes e bebidas lácteas. Na prática, observam-se os seguintes binômios de tempo-temperatura (BRANDÃO, 1997): 80°C/30 minutos; 85°C/15 minutos; 90°C/5 minutos; 95°C/3 minutos.]

A maior consequência do tratamento térmico no entanto, é a desnaturação das proteínas do soro e sua interação com a κ -caseína. Por muitos anos acreditou-se que esta interação envolvia somente a β -lactoglobulina mas, recentemente foi demonstrado que a α -lactoalbumina também está envolvida (VARNAN; SUTHERLAND, 1994).

Nos tratamentos térmicos a 95°C/5 minutos ou a 85°C/20-30 minutos ocorre a desnaturação de mais de 85% das proteínas do soro, uma considerável redução da flora original, a ativação da cultura láctea e uma melhora da consistência do iogurte. A desnaturação das proteínas do soro também ocasiona uma redução na contração do coágulo de caseína, diminuindo a possibilidade de sinérese (BRANDÃO, 1997).



A redução da sinérese e o aumento da firmeza do gel são conseqüências das ligações covalentes entre a κ -caseína e a β -lactoglobulina, que resultam em uma menor exposição dos grupos hidrofóbicos (VARNAN; SUTHERLAND, 1994).

3.3.1.9 Resfriamento

[Após o tratamento térmico, a mistura é resfriada na faixa de 40-45°C para a inoculação da cultura láctea (TAMIME; ROBINSON, 1991). Esta faixa de temperatura corresponde à média das temperaturas ótimas do *S. thermophilus* (39°C); *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (45°C) (ADAMS; MOSS, 1997); *L. acidophilus* (38°C) e *Bifidobacterium* spp. (39°C) (GOMES; MALCATA, 1999).]

3.3.1.10 Processo de fermentação

A fermentação pode ser definida como o processo metabólico no qual mudanças químicas são desenvolvidas nos componentes orgânicos do leite, ou seja, proteínas, carboidratos e gordura, através da ação de enzimas elaboradas por microrganismos específicos (BRANDÃO, 1997). Dentre os compostos produzidos, os mais importantes para o sabor e aroma dos leites fermentados são o ácido láctico, o acetaldeído e o diacetil (VARNAN; SUTHERLAND, 1994).

A fermentação pode ocorrer na própria embalagem, quando se quer um coágulo firme, ou em tanques de grande capacidade, quando se trata de um produto batido (ADAMS; MOSS, 1997).

Ela dura aproximadamente 4 horas, durante as quais as bactérias usadas fermentam a lactose fazendo o pH baixar de seu valor inicial 6,3-6,5 para 4,6 (ADAMS; MOSS, 1997). A diminuição do pH durante a fermentação promove a desestabilização dos 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 (4,6 a 4,7), produzindo um gel contínuo (WALSTRA; JENNESS, 1987; TAMIME; ROBINSON, 1991).

[Os microrganismos mais comumente usados para a fermentação são membros do grupo das bactérias ácido-láticas. Elas consistem em bacilos ou cocos Gram-positivo, na maior parte aerotolerantes, catalase e oxidase negativas. Sua energia celular provém da fermentação do carboidrato produzindo principalmente ácido lático. Podem ser homo ou heterofermentativas (VARNAN, SUTHERLAND, 1994).

As bactérias ácido-láticas também necessitam de uma alta demanda de fatores de crescimento como peptídeos e aminoácidos, por isso, possuem um complexo sistema de proteinases e peptidases que atuam na caseína do leite (SHIHATA; SHAH, 2000).

Até recentemente, a produção de leites fermentados estava baseada na utilização de fermentos compostos de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, entretanto, o futuro aponta para o uso de microrganismos probióticos, que associados ou não aos tradicionais podem ser usados como agentes biotecnológicos (auxiliando na redução da pós-acidificação) ou como agentes terapêuticos (proporcionando efeitos benéficos nos indivíduos que os ingerem) (ANTUNES, 2001).

As bactérias probióticas possuem menor atividade proteolítica e de β -galactosidase quando comparadas às bactérias tradicionais do iogurte (SHIHATA; SHAH, 2000; SHAH, 2001). Estas características explicam o crescimento mais rápido das bactérias do iogurte no leite, quando comparado com o da probióticas e o porquê do seu uso conjunto (SHAH, 2001).

A prática de usar as bactérias probióticas juntamente com as do iogurte reduz muito o tempo de fermentação. A incorporação de micro-nutrientes ao leite, como peptídeos e aminoácidos, também pode proporcionar a redução neste tempo (OLIVEIRA et al., 2001).



Por isso, a escolha da cultura a ser usada é extremamente importante. Deve-se optar por aquela que melhor se adapta ao produto que se quer fabricar, ou seja, à sua consistência, acidez, tempo de fermentação, etc. (COSTA; LIMA, 2002).

Para o desenvolvimento adequado do processo fermentativo do leite, as culturas devem ser resistentes à degradação, apresentar um poder acidificante médio, ter a capacidade de se desenvolver em simbiose e produzir substâncias que contribuam para a viscosidade, sabor e aroma do produto (CARUSO; OLIVEIRA, s.d.).

Geralmente, a concentração usada de inóculo é de 2% (ADAMS; MOSS, 1997), podendo variar de 1% a 5%. A quantidade utilizada dependerá do poder acidificante da cultura, do tempo de incubação desejado, do número de células bacterianas existentes e da fase de desenvolvimento em que se encontram, do extrato seco do leite e da relação *Lactobacillus/Streptococcus*. Alguns fabricantes de culturas concentradas congeladas chegam a recomendar o uso de concentrações mínimas, como 0,08%.

A temperatura de incubação deve estar na faixa de 40 a 45°C (TAMIME; ROBINSON, 1991).

Normalmente, a fermentação do leite é conduzida por uma cultura mista composta de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, que exibem uma relação simbiótica durante a produção do iogurte. Ambos são homofermentativos, produtores de ácido láctico (CARUSO; OLIVEIRA, s.d.).

Durante a incubação, o *S. thermophilus* cresce rapidamente, utilizando os aminoácidos essenciais produzidos pelo *L. bulgaricus* (valina, glicina e histidina), atingindo um máximo em torno de 2 horas de incubação e obtendo uma relação de 4:1. Este por sua vez, produz ácido láctico que reduz o pH do meio para 5,5, nível ótimo para o *L. bulgaricus*. O consumo do oxigênio e as pequenas quantidades de ácido fórmico produzidas estimulam o crescimento do *L. bulgaricus*, que atinge seu máximo em torno de 3,5 horas de incubação, voltando a



relação final de 1:1. O *L. bulgaricus* é mais tolerante à acidez e produz compostos aromáticos (MOON; REINBOLD, 1976; SHANKAR; DAVIES, 1977; ABREU, 2000; HATTINGH; VILJOEN, 2001).

A relação final 1:1 entre as bactérias do iogurte vem sendo cada vez menos usada, em virtude da preferência dos consumidores por produtos com sabor mais suave e menos ácidos. Esta proporção pode ser manipulada, de acordo com as características desejadas no produto final. Objetivando-se diminuir a pós-acidificação do iogurte durante sua vida-de-prateleira e garantir um sabor suave, tem-se aumentado muito o número de *S. thermophilus* em relação ao *L. bulgaricus*, sendo que a relação pode variar de 7:1 a 10:1 (PEREIRA, 2002).

3.3.1.11 Resfriamento

[Como a elaboração das bebidas lácteas fermentadas consiste em um processo biológico, é necessário o uso de refrigeração para controlar a atividade metabólica dos microrganismos, a produção de ácidos e a atividade das enzimas.

Atingido o pH de 4,6, inicia-se o resfriamento até a temperatura atingir 15°C a 20°C. Após a adição de polpa de frutas, aromas e corantes, procede-se ao resfriamento final até a temperatura de 5°C (VARNAN; SUTHERLAND, 1994).]

Entretanto, o ideal é que o resfriamento seja iniciado assim que o pH atingir 4,7, para que ao final desta etapa o mesmo não fique muito abaixo de 4,6.

Nos produtos com pH maior do que 4,6, a separação do soro é favorecida porque a estrutura do gel não foi suficientemente formada. Nos que apresentam pH abaixo de 4,0, a sinérese é devida à redução da hidratação das proteínas e conseqüentemente à contração do coágulo (BRANDÃO, 1997).



É importante o uso de baixas velocidades durante o resfriamento, uma vez que a agitação excessiva causa redução na viscosidade do produto (VARNAN; SUTHERLAND, 1994).

3.3.1.12 Adição de polpas, aromas e corantes

A adição de polpa pode ser feita utilizando-se frutas frescas, porém, o caráter sazonal de sua produção e a variabilidade da sua qualidade limitam consideravelmente seu uso pelas indústrias. O uso de conservas de frutas se tornou bastante popular, especialmente pela possibilidade de se padronizar a mistura de frutas, satisfazendo as especificações desejadas pelos consumidores (TAMIME; DEETH, 1980; TAMIME; ROBINSON, 1991).

O tratamento térmico dos preparados de frutas pode causar uma diminuição da intensidade do aroma. Por isso, freqüentemente adicionam-se agentes aromatizantes para compensar estas perdas. Os aromatizantes se dividem, em função de sua origem, em três grupos: naturais, idênticos aos naturais e sintéticos (TAMIME; ROBINSON, 1991).

A cor é um dos fatores mais importantes de preferência, já que é a característica que mais facilmente desperta a atenção do consumidor. Os corantes alimentares podem ser divididos em naturais, idênticos aos naturais e sintéticos. Entretanto, o número de corantes artificiais comprovadamente inócuos à saúde é pequeno e em função de novos estudos sobre toxidez eles vêm sendo sistematicamente substituídos pelos naturais. Atualmente, somente sete corantes artificiais estão aprovados pela Administração de Alimentos e Medicamentos (Food and Drug Administration): tinturas amarela 5 e 6, vermelha 3 e 40, azul 1 e 2 e verde 3 (DERGAL, 1981; FENNEMA, 1982; COULTATE, 1990; BOBBIO; BOBBIO, 1992). A FAO/OMS estabelece orientações sobre os diferentes corantes e suas concentrações de uso (TAMIME; ROBINSON, 1991).



Os corantes e os aromatizantes são adicionados normalmente após a pasteurização, para evitar a degradação térmica. No entanto, ela pode ser feita antes ou depois da fermentação (VARNAN; SUTHERLAND, 1994).

Existem atualmente misturas contendo aromas, corantes e polpas de frutas, que atendem a todas as exigências tecnológicas de fabricação e qualidade.

3.3.1.13 Envase

Vários tipos de embalagens podem ser usadas para o envase dos leites fermentados, dentre elas, as garrafas de vidro e os potes plásticos (VARNAN; SUTHERLAND, 1994). Devido à natureza ácida dos produtos lácteos, o polietileno (PE), o polipropileno (PP), o poliestireno (PS), o cloreto de polivinilo (PVC) e cloreto de polivinilideno (PVDC) têm sido amplamente utilizados pelas indústrias de laticínios. Quanto às tampas, os materiais mais adequados são as lâminas de alumínio ou os materiais plásticos com sistema de fácil abertura (TAMIME; ROBINSON, 1991).

A escolha do material é de suma importância porque os erros cometidos na seleção podem trazer repercussões muito graves em termos econômicos ou no que diz respeito à qualidade do produto embalado.

É imprescindível que os materiais das embalagens que entram em contato direto com o produto sejam atóxicos, resistentes a ácidos, impermeáveis ao oxigênio, quimicamente inertes, não reajam com o alimento e evitem a perda de substâncias voláteis responsáveis pelo aroma do produto (TAMIME; ROBINSON, 1991).



3.3.1.14 Armazenamento refrigerado, transporte e distribuição

[As bebidas lácteas fermentadas deverão ser conservadas e comercializadas em temperatura não superior a 10°C (BRASIL, 2000). O seu armazenamento nestas condições ocasiona uma diminuição das reações bioquímicas e biológicas resultantes da atividade metabólica das culturas lácteas e de possíveis contaminantes (TAMIME; ROBINSON, 1991).

O transporte da fábrica ao comércio deve ser o mais rápido possível e em caminhões refrigerados, principalmente no verão, para evitar a depreciação da qualidade do produto (ABREU, 2000).]

4.2 CULTURA LÁCTEA

Cultura láctea mista MY BIO 6 (EZAL-RHODIA), contendo *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp.

4.3 EQUIPAMENTOS, VIDRARIAS E REAGENTES

- Acidímetro (Gerber);
- Autoclave (Alpha);
- Balança analítica (Mettler Toledo PB 3002);
- Balança semi-analítica (Marconi Equipamentos);
- Banho termostático (Fenem);
- Bloco digestor de nitrogénio (Marconi Equipamentos);
- Centrífuga de Gerber (Pharolox);

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 MATÉRIAS-PRIMAS E ADITIVOS

- Leite fluído desnatado pasteurizado;
- Soro líquido do queijo Minas Frescal;
- Açúcar refinado;
- Oligofrutose - FOS (RAFTILOSE P95 – ORAFTI);
- Estabilizante SBB 280 (DANISCO CULTOR), contendo uma mistura de amido e gelatina.

4.2 CULTURA LÁCTEA

- Cultura láctea mista MY BIO 6 (EZAL-RHODIA), contendo *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp.

4.3 EQUIPAMENTOS, VIDRARIAS E REAGENTES

- Acidímetro (Gerber);
- Autoclave (Alpha);
- Balança analítica (Mettler Toledo PB 3002);
- Balança semi-analítica (Marconi Equipamentos);
- Banho termostático (Fanem);
- Bloco digestor de nitrogênio (Marconi Equipamentos);
- Centrífuga de Gerber (Plurinox);



- Crioscópio digital microprocessado (M90 Laktron);
- Destilador de nitrogênio (Marconi Equipamentos);
- Estufa a vácuo MA 030 (Marconi Equipamentos);
- Estufa de esterilização e secagem (Fanem);
- Estufa de fermentação (Fabbe);
- Forno mufla 100-1200°C (Quimis);
- Geladeira;
- pHmetro (B374 Micronal);
- Reômetro RVDV III Brookfield;
- Termolactodensímetro (Mercúrio);
- Vidrarias básicas, meios de cultura e reagentes diversos usados em laboratório.

4.4 MÉTODOS

4.4.1 Obtenção do soro líquido

O soro foi obtido do processo de fabricação do queijo Minas Frescal, onde o leite foi acidificado somente pelo uso de ácido láctico, como descrito na Figura 5.

Depois disso, o soro foi filtrado para a retirada das partículas de caseína, resfriado a 5°C e estocado nesta mesma temperatura até o momento do seu uso.

Para a caracterização do leite e do soro foram feitas determinações de pH, acidez, densidade, gordura, sólidos totais e índice crioscópico, em triplicata. No leite também foram realizadas as análises para a verificação da presença de resíduos de antibióticos. Os métodos usados estão descritos a seguir:

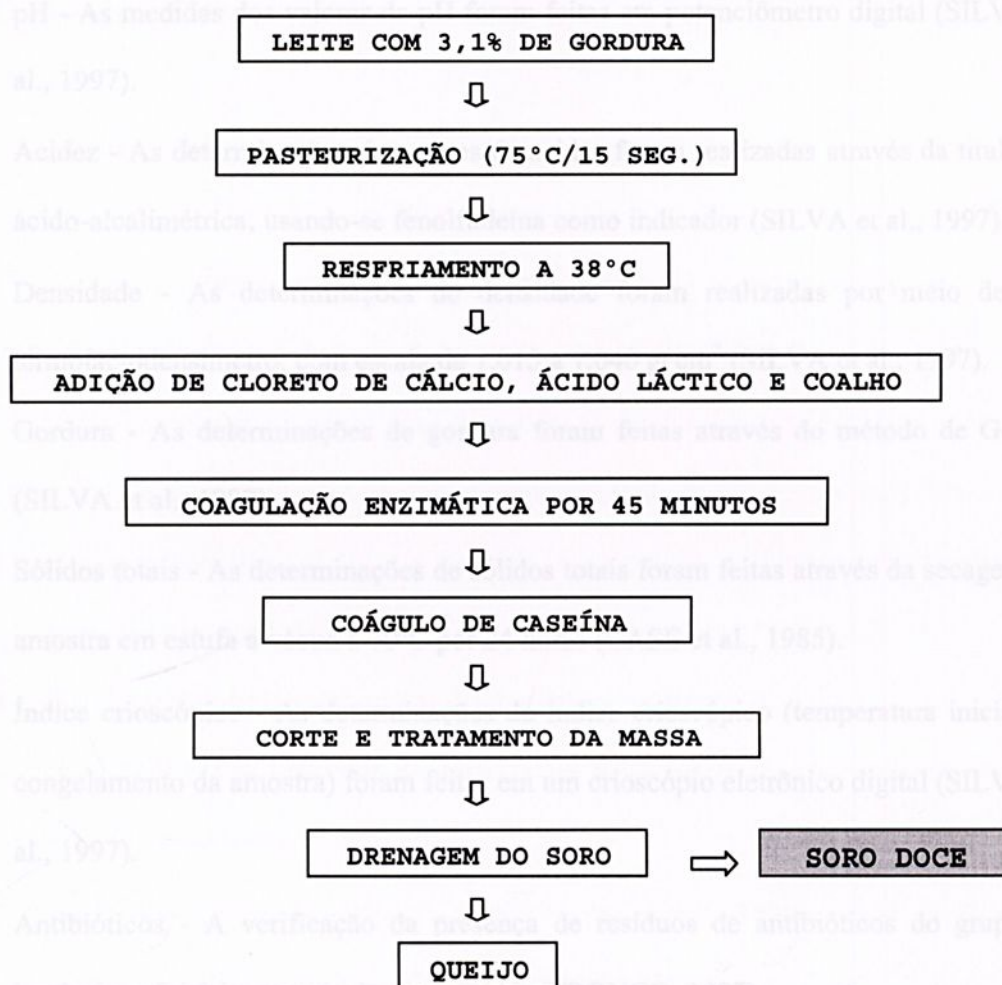


Figura 5 - Fluxograma de fabricação do queijo Minas Frescal.

4.4.2 Caracterização do leite e do soro para a fabricação das bebidas lácteas

Para a caracterização do leite e do soro foram feitas determinações de pH, acidez, densidade, gordura, sólidos totais e índice crioscópico, em triplicata. No leite também foram realizadas as análises para a verificação da presença de resíduos de antibióticos. Os métodos usados estão descritos a seguir:

- pH - As medidas dos valores de pH foram feitas em potenciômetro digital (SILVA et al., 1997).
- Acidez - As determinações dos teores de acidez foram realizadas através da titulação ácido-alcalimétrica, usando-se fenolftaleína como indicador (SILVA et al., 1997).
- Densidade - As determinações de densidade foram realizadas por meio de um termolactodensímetro, com escala de 1,015 a 1,040 g/cm³ (SILVA et al., 1997).
- Gordura - As determinações de gordura foram feitas através do método de Gerber (SILVA et al., 1997).
- Sólidos totais - As determinações de sólidos totais foram feitas através da secagem da amostra em estufa a vácuo a 70°C por 24 horas (CASE et al., 1985).
- Índice crioscópico - As determinações do índice crioscópico (temperatura inicial de congelamento da amostra) foram feitas em um crioscópio eletrônico digital (SILVA et al., 1997).
- Antibióticos - A verificação da presença de resíduos de antibióticos do grupo β -lactâmicos foi feita através do teste SNAP (TRONCO, 1997).

4.4.3 Preparação da cultura láctea

A cultura mista MY BIO 6 (EZAL-RHODIA), liofilizada e de uso direto, foi dissolvida assepticamente em um litro de leite desnatado esterilizado e resfriado a 5°C, para em seguida ser distribuída em frascos esterilizados. Os frascos foram então mantidos sob congelamento, à temperatura de -18°C, e descongelados na ocasião do uso.

4.4.4 Preparação das bebidas lácteas

Neste trabalho, foram estudados os efeitos das variáveis independentes: concentração de soro de queijo (45, 50 e 55 %), conteúdo de sacarose (6, 7 e 8 %) e conteúdo de oligofrutose (1, 2 e 3 %) e suas interações nas características físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e reológicas das bebidas lácteas fermentadas por bactérias probióticas.

Foram feitas 12 diferentes formulações da bebida láctea, variando-se as concentrações de soro, de sacarose e de oligofrutose, conforme o planejamento dos experimentos (Tabela 7). A concentração do estabilizante (0,4%) foi mantida fixa em todas as formulações e todas elas seguiram a mesma sequência de fabricação.

Todos os tratamentos foram preparados duas vezes, constituindo os blocos 1 e 2.

Após a mistura do leite desnatado ao soro, foram adicionados sacarose, oligofrutose e o estabilizante, sob agitação constante e vigorosa.

A mistura foi então aquecida até 85°C e mantida nesta temperatura por 20 minutos em banho termostatizado, para a pasteurização do produto e a desnaturação das proteínas do soro. Depois disso, a mistura foi resfriada em banho de água e gelo até a temperatura de 43°C e então foi inoculada com a cultura láctea.

Os tratamentos do bloco 1 receberam 0,5% da cultura láctea e os do bloco 2 foram adicionados de 1%, em condições assépticas. Feita a homogeneização, transferiu-se uma pequena quantidade para um béquer para o controle da fermentação e incubou-se o produto a 43°C.

Atingido o pH estabelecido (4,8 para o bloco 1 e 4,7 para o bloco 2), procedeu-se o resfriamento inicial até 20°C e a quebra do coágulo durante 30 segundos, aproximadamente. Em seguida, foi feito o resfriamento final em banho de água e gelo até a temperatura de 5°C.



A bebida foi então envasada assepticamente em garrafas de polietileno com capacidade de 250 mL, tampada e armazenada em refrigerador à 5°C.

4.4.5 Planejamento estatístico dos experimentos e análise dos resultados

Os ensaios foram realizados segundo um planejamento experimental do tipo fatorial com três níveis (2^3) e quatro pontos centrais (MONTGOMERY, 2001). A Tabela 7 mostra as variáveis independentes e os níveis das variações que foram usados nos 12 tratamentos.

O ponto central codificado como “0” foi selecionado segundo dados disponíveis na literatura, testes preliminares e recomendação do fornecedor da oligofrutose. Os níveis de variação codificados como -1 e 1 foram escolhidos para cobrir a região experimental conveniente. Os valores originais desses níveis foram estabelecidos pela equação:

$$X_1 = \frac{\text{soro} - 50}{5}$$

X_1 = valor codificado da variável soro líquido (%).

$$X_2 = \frac{\text{açúcar} - 7}{1}$$

X_2 = valor codificado da variável sacarose (%).

$$X_3 = \frac{\text{FOS} - 2}{1}$$

X_3 = valor codificado da variável oligofrutose (%).



Tabela 7 - Planejamento dos experimentos contendo as variáveis e os níveis estudados.

Tratamentos	Níveis das variáveis codificadas			Níveis das variáveis originais		
	X ₁	X ₂	X ₃	Soro (%)	Sacarose (%)	FOS (%)
01 ✓	-1	-1	-1	45	6	1
02	1	-1	-1	55	6	1
03	-1	1	-1	45	8	1
04	1	1	-1	55	8	1
05	-1	-1	1	45	6	3
06	1	-1	1	55	6	3
07	-1	1	1	45	8	3
08 ✓	1	1	1	55	8	3
09	0	0	0	50	7	2
10	0	0	0	50	7	2
11	0	0	0	50	7	2
12 ✓	0	0	0	50	7	2

X₁ = soro líquido; X₂ = sacarose; X₃ = frutooligossacarídeo (FOS).

Como não se conhecia a relação entre as variáveis independentes e a resposta, uma equação polinomial de segundo grau foi usada para estabelecer um modelo matemático preditivo, segundo Barros Neto et al. (1995), cuja equação geral é:

^
$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3 + \varepsilon$$

em que:

^
“Y” é a função resposta genérica.

“X” são as variáveis codificadas, obtidas a partir das variáveis originais.

“b” são os coeficientes estimados pela técnica de mínimos quadrados.

“ε” é o resíduo, medindo o erro experimental.



A significância dos modelos foi testada pela análise de variância (ANOVA) dos resultados das amostras com a utilização do teste de Tukey, através do programa ESTAT, desenvolvido por Banzatto e Kronka (1995). Foi considerado um nível de significância de 1%.

A influência das variáveis foi visualizada pela representação tridimensional da superfície de resposta e das linhas de iso-resposta, empregando-se o programa computacional STATISTICA.

4.4.6 Caracterização físico-química das bebidas lácteas

Para a caracterização físico-química das bebidas lácteas foram realizadas as análises, em triplicata, descritas a seguir:

- pH - As medidas dos valores de pH foram feitas em potenciômetro digital (SILVA et al., 1997).
- Acidez - As determinações dos teores de acidez foram realizadas através da titulação ácido-alcalimétrica, usando-se fenolftaleína como indicador (SILVA et al., 1997).
- Gordura - As determinações de gordura foram feitas através do método de Gerber (SILVA et al., 1997).
- Sólidos totais - As determinações foram feitas através da secagem da amostra em estufa a vácuo a 70°C por 24 horas (CASE et al., 1985).
- Proteínas - As análises foram realizadas baseando-se na determinação do nitrogênio pelo método de Micro-Kjeldahal (AOAC, 1995). Para a conversão de nitrogênio em proteínas foi utilizado o fator 6,38.
- Cinzas - A determinação das cinzas foi feita através da incineração da amostra em mufla a 550°C (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).



4.4.7 Caracterização microbiológica das bebidas lácteas

Em todos os tratamentos, as análises microbiológicas foram feitas quatro dias após a fabricação.

Para a caracterização microbiológica, 10 mL de cada amostra foi transferido de forma asséptica para um frasco contendo 90 mL de água peptonada 0,1% estéril. Esta solução foi homogeneizada e, em seguida, foram feitas as diluições subseqüentes, até 10^{-9} . Foram inoculadas (1 mL) por profundidade e em duplicata todas as diluições ímpares. O meio de cultura e o tipo de incubação usado para cada microrganismo estão descritos a seguir.

A avaliação das condições higiênico-sanitárias de fabricação foi feita através da verificação da presença de coliformes totais, coliformes fecais e bolores e leveduras, utilizando-se a técnica das placas PetrifilmTM da 3M Microbiology Products (FRANCO, 1996). As placas de coliformes totais e fecais foram incubadas a 32°C/24-48 horas e as de bolores e leveduras a 25°C/5 dias, ambas em aerobiose, conforme orientação do fabricante.

4.4.7.1 Contagem de *Streptococcus thermophilus*

Para a enumeração de *Streptococcus thermophilus* foi utilizado o meio M 17 ágar, formulado em laboratório. Após a inoculação, as placas foram incubadas em aerobiose a 37°C por 48 horas. Para efeito de enumeração, foram consideradas as colônias que apresentaram formato lenticular com 1-2 mm de diâmetro (IDF, 1997).



4.4.7.2 Contagem de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

Para a enumeração de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* foi utilizado o meio De Man Rogosa Sharp (MRS) ágar glicose, formulado em laboratório e acidificado até pH 5,4 com ácido acético glacial. Após a inoculação, as placas foram incubadas em anaerobiose a 37°C por 72 horas. Para efeito de enumeração, foram consideradas as colônias que apresentaram formato lenticular com 1-3 mm de diâmetro (IDF, 1997).

4.4.7.3 Contagem de *Bifidobacterium* spp.

Para a enumeração de *Bifidobacterium* foi utilizado o meio De Man Rogosa Sharp (MRS) ágar, formulado em laboratório, adicionado de uma solução de glicose e suplementado com soluções de dicloxacilina, cloreto de lítio e cloreto de cisteína. Após a inoculação, as placas foram incubadas em anaerobiose a 37°C por 72 horas (CHR. HANSEN, 1999).

4.4.7.4 Contagem de *Lactobacillus acidophilus*

Para a enumeração de *Lactobacillus acidophilus* foi utilizado o meio De Man Rogosa Sharp (MRS) ágar, formulado em laboratório, adicionado da solução de maltose. Após a inoculação, as placas foram incubadas em anaerobiose a 37°C por 72 horas (IDF, 1995).



4.4.8 Caracterização sensorial das bebidas lácteas

As bebidas lácteas foram submetidas à análise sensorial por uma equipe de 50 provadores não treinados. Os parâmetros avaliados foram:

- Aceitabilidade geral - é 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.

Para expressar sua opinião a respeito das amostras, os provadores utilizaram uma escala hedônica de 5 pontos, cuja ficha de avaliação sensorial está representada na Figura 6 (MAGALHÃES; PORTO, 1997). Foram servidos em copos plásticos 30 mL de cada amostra, codificados com números aleatórios de três dígitos, sempre duas horas depois das refeições. Em cada sessão foram avaliadas 3 formulações diferentes.

Código da Amostra	Aceitabilidade Geral	Aparência e Cor	Consistência	Sabor e Aroma

Figura 6 - Ficha de avaliação sensorial.

Nome: _____ Data: ____/____/____

Instruções:

Experimente as amostras e use a escala abaixo para expressar sua opinião a respeito da aceitabilidade geral, aparência e cor, consistência, sabor e aroma. Após experimentar uma amostra, tome um pouco de água e experimente a próxima.

- Aceitabilidade geral: é 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:

- 5 – Ótima
- 4 – Boa
- 3 – Regular
- 2 – Ruim
- 1 - Péssima

Código da Amostra	Aceitabilidade Geral	Aparência e Cor	Consistência	Sabor e Aroma

Figura 6 - Ficha de avaliação sensorial.

4.4.9 Caracterização reológica das bebidas lácteas

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

Foram utilizadas rotações entre 10 e 250 rpm, com acréscimos de 10 rpm a cada 10 segundos, 0,5 mL de amostra e cone CP 40.

A taxa de deformação foi determinada usando-se um programa computacional (Brookfield Reocalc for Windows). A descrição do comportamento reológico foi feita utilizando-se o modelo reológico da Lei da Potência, por meio do programa Origin versão 3.5.

4.4.10 Formulação otimizada da bebida láctea

A formulação otimizada foi estabelecida através da metodologia de superfície de resposta, segundo os resultados das avaliações físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e reológicas dos tratamentos do bloco 2.

Feita a caracterização físico-química do leite desnatado e do soro, a bebida foi preparada conforme o tratamento 8 (Tabela 7), segundo a metodologia descrita no item 4.4.4. Após a fabricação, a bebida foi armazenada a 5°C durante 35 dias. Neste período, foi submetida às avaliações físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e reológicas, conforme descrito nos



itens 4.4.6, 4.4.7, 4.4.8 e 4.4.9, respectivamente. Este procedimento foi feito duas vezes, constituindo as avaliações 1 e 2.

As determinações dos teores de sólidos totais, cinzas, proteínas e gordura foram feitas após 3 dias de estocagem. As determinações de pH e acidez foram feitas após 1, 3, 10, 17, 24 e 33 dias de fabricação. Os parâmetros reológicos foram avaliados após 3, 18 e 34 dias de armazenamento. As contagens microbiológicas foram realizadas após 5, 15, 25 e 35 dias de armazenamento.

Além de se determinar em que momento o produto seria considerado inaceitável pelo consumidor, esta avaliação teve como objetivo verificar até quando ele poderia ser considerado fonte de microrganismos probióticos.

Normalmente, os iogurtes são bastante estáveis, devido ao seu caráter ácido, à presença de inibidores bacterianos e de substâncias bacteriostáticas produzidas pelos microrganismos usados para a fermentação (PINHEIRO, 2003).

Para a caracterização do leite destonado pasteurizado utilizado como matéria-prima na fabricação das bebidas lácteas, foram efetuadas as seguintes análises: pH, acidez, densidade, índice crioscópico, teores de gordura e de sólidos totais e presença de resíduos de antibióticos.

Através de exames quantitativos, é possível identificar a adição de substâncias adulterantes, a eventual presença de conservantes, fazer o cálculo aproximado do rendimento industrial (SIVIERI; OLIVEIRA, 2002) e avaliar a eficiência da padronização do leite.

Os valores médios obtidos nas avaliações dos lotes de leite dos blocos 1 e 2 estão apresentados nas Tabelas 8 e 9, respectivamente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As bebidas lácteas foram elaboradas segundo o planejamento experimental descrito na Tabela 7. Todos os tratamentos foram preparados duas vezes, constituindo os blocos 1 e 2.

Primeiramente, foram elaboradas todas as bebidas do bloco 1. Procedeu-se então as caracterizações físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. As análises reológicas dos tratamentos não foram realizadas em consequência de problemas com o equipamento.

Após a avaliação dos resultados obtidos com as bebidas do bloco 1, foram elaboradas as bebidas do bloco 2. Neste, foram feitas as caracterizações físico-químicas físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e reológicas dos produtos elaborados conforme os tratamentos.

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE DESNATADO

Para a caracterização do leite desnatado pasteurizado utilizado como matéria-prima na fabricação das bebidas lácteas, foram efetuadas as seguintes análises: pH, acidez, densidade, índice crioscópico, teores de gordura e de sólidos totais e presença de resíduos de antibióticos.

Através de exames quantitativos, é possível identificar a adição de substâncias adulterantes, a eventual presença de conservantes, fazer o cálculo aproximado do rendimento industrial (SIVIERI; OLIVEIRA, 2002) e atestar a eficiência da padronização do leite.

Os valores médios obtidos nas avaliações dos lotes de leite dos blocos 1 e 2 estão apresentados nas Tabelas 8 e 9, respectivamente.



Tabela 8 – Caracterização físico-química do leite desnatado pasteurizado utilizado no bloco 1 (médias e desvios-padrão).

Análises	Lote*					
	1	2	3	4	5	6
pH	7,00 ± 0,01 ^c	6,98 ± 0,01 ^d	7,12 ± 0,00 ^b	6,79 ± 0,01 ^f	6,86 ± 0,01 ^e	7,17 ± 0,01 ^a
Acidez (°D)	15,9 ± 0,0 ^a	15,0 ± 0,0 ^c	15,0 ± 0,0 ^c	16,0 ± 0,0 ^a	15,5 ± 0,0 ^b	15,5 ± 0,0 ^b
Densidade (g/cm ³)	1,033 ± 0,000 ^d	1,034 ± 0,000 ^b	1,033 ± 0,000 ^d	1,033 ± 0,000 ^c	1,033 ± 0,000 ^a	1,034 ± 0,000 ^b
Crioscopia (°H)	-0,533 ± 0,002 ^a	-0,531 ± 0,001 ^a	-0,534 ± 0,001 ^a	-0,533 ± 0,001 ^a	-0,531 ± 0,001 ^a	-0,533 ± 0,002 ^a
Gordura (%)	0,2 ± 0,0 ^b	0,1 ± 0,0 ^c	0,2 ± 0,0 ^b	0,2 ± 0,0 ^b	0,1 ± 0,0 ^c	0,3 ± 0,0 ^a
Sólidos totais (%)	8,79 ± 0,00 ^d	8,79 ± 0,00 ^d	8,79 ± 0,00 ^d	8,84 ± 0,00 ^c	8,84 ± 0,00 ^b	9,04 ± 0,00 ^a
Antibiótico	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

a, b, c, d, e, f Médias em uma linha com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p < 0,01).

* Lotes

Lote 1 - leite usado no tratamento 2.

Lote 2 - leite usado no tratamento 4.

Lote 3 - leite usado nos tratamentos 3, 8 e 12.

Lote 4 - leite usado nos tratamentos 7 e 11.

Lote 5 - leite usado nos tratamentos 1, 6 e 10.

Lote 6 - leite usado nos tratamentos 5 e 9.



Tabela 9 – Caracterização físico-química do leite desnatado pasteurizado utilizado no bloco 2 (médias e desvios-padrão).

Análises	Lote*			
	1	2	3	4
pH	6,75 ± 0,01 ^a	6,71 ± 0,01 ^b	6,74 ± 0,01 ^a	6,74 ± 0,01 ^{ab}
Acidez (°D)	15,9 ± 0,0 ^a	16,0 ± 0,0 ^a	15,9 ± 0,0 ^a	15,9 ± 0,0 ^a
Densidade (g/cm ³)	1,033 ± 0,000 ^b	1,034 ± 0,000 ^a	1,033 ± 0,000 ^b	1,033 ± 0,000 ^b
Crioscopia (°H)	-0,531 ± 0,002 ^a	-0,532 ± 0,000 ^a	-0,530 ± 0,006 ^a	-0,530 ± 0,000 ^a
Gordura (%)	0,1 ± 0,0 ^c	0,4 ± 0,0 ^a	0,2 ± 0,0 ^b	0,1 ± 0,0 ^c
Sólidos totais (%)	8,72 ± 0,00 ^d	9,15 ± 0,00 ^a	8,79 ± 0,00 ^b	8,72 ± 0,00 ^d
Antibiótico	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

a, b, c, d Médias em uma linha com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p < 0,01).

* Lotes

Lote 1 - leite usado nos tratamentos 1, 6 e 9.

Lote 2 - leite usado nos tratamentos 2, 5 e 11.

Lote 3 - leite usado nos tratamentos 3, 7 e 12.

Lote 4 - leite usado nos tratamentos 4, 8 e 10.



Para o bloco 1, as médias das médias dos lotes de leite e seus respectivos desvios-padrão foram: pH ($6,83 \pm 0,50$), acidez ($15,7 \pm 0,3$ °D), densidade ($1,033 \pm 0,001$ g/cm³), índice crioscópico ($0,532 \pm 0,001$ °H), gordura ($0,2 \pm 0,1$ %) e sólidos totais ($8,91 \pm 0,12$ %).

As obtidas para os lotes do bloco 2 foram: pH ($6,74 \pm 0,02$), acidez ($15,9 \pm 0,0$ °D), densidade ($1,033 \pm 0,001$ g/cm³), índice crioscópico ($-0,531 \pm 0,001$ °H), gordura ($0,2 \pm 0,1$ %) e sólidos totais ($8,85 \pm 0,21$ %).

Os resultados do teste de antibiótico foram negativos para todos os lotes analisados.

Os valores encontrados atendem aos requisitos estabelecidos pela Instrução Normativa nº51 (BRASIL, 2002), demonstrando ser esta matéria-prima adequada para a elaboração das bebidas lácteas. Os padrões legais para o leite desnatado são: acidez de 14 a 18 °D, densidade de 1,028 a 1,034 g/cm³, índice crioscópico máximo de $-0,530$ °H, gordura máxima 0,5 %, mínimo de 8,61 % para os sólidos totais e ausência para resíduo de antibióticos.

Estes resultados também foram muito semelhantes aos obtidos para o leite desnatado no estudo de Sivieri e Oliveira (2002), onde $6,68 \pm 0,07$ foi o valor médio e o desvio-padrão do pH, $0,17 \pm 0,11$ % o da gordura, $9,00 \pm 0,29$ % o dos sólidos totais e $1,033 \pm 0,001$ g/cm³ o da densidade.

A análise de variância dos resultados do bloco 1 demonstrou que houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre os lotes com relação ao pH, acidez titulável, densidade, gordura e sólidos totais. O índice crioscópico não variou significativamente ($p > 0,01$).

A análise de variância dos resultados do bloco 2 demonstrou que não foi significativa a diferença encontrada entre os lotes com relação aos parâmetros de acidez titulável e índice crioscópico ($p > 0,01$). Entretanto, houve diferença significativa com relação ao pH, a densidade, o teor de gordura e de sólidos totais ($p < 0,01$).

Esta variação pode ser explicada em função de diversos fatores que alteram a composição do leite, como a raça do animal, fase de lactação, idade, estado sanitário do úbere,



alimentação, condições climáticas, estação do ano e o tempo decorrido entre as ordenhas (TAMIME; ROBINSON, 1991; VILELA, 2003).

Teixeira et al., (2003) em um estudo sobre a influência de fatores do meio ambiente na composição do leite em rebanhos do estado de Minas Gerais, verificaram que as médias das porcentagens de gordura e proteína foram altas logo após o parto, decresceram até 50 dias e aumentaram novamente até o final da lactação, enquanto que a produção do leite diminuiu. Os teores de gordura e proteínas foram maiores no inverno do que no verão.

Para evitar o efeito das variações intrínsecas da composição do leite é preciso recorrer à padronização do mesmo com o objetivo de cumprir as especificações legais e manter sempre a mesma qualidade do produto final, satisfazendo também as exigências dos consumidores (TAMIME; ROBINSON, 1991).

A gordura é um ingrediente chave para os aspectos sensoriais e fisiológicos dos alimentos. Está relacionada com a percepção do sabor, da cremosidade, do aroma e do odor no aparelho bucal (SIVIERI; OLIVEIRA, 2002).

A falta de padronização do teor de gordura reflete no teor de sólidos totais do leite e conseqüentemente, nos teores de gordura e sólidos totais do produto final, podendo influenciar a aceitabilidade geral das bebidas lácteas.

As Figuras 7 e 8 apresentam os valores médios da densidade, gordura e sólidos totais dos lotes de leite desnatado usados nos blocos 1 e 2.



Figura 8 – Valores médios do teor de sólidos totais dos lotes de leite desnatado usados nos blocos 1 e 2.

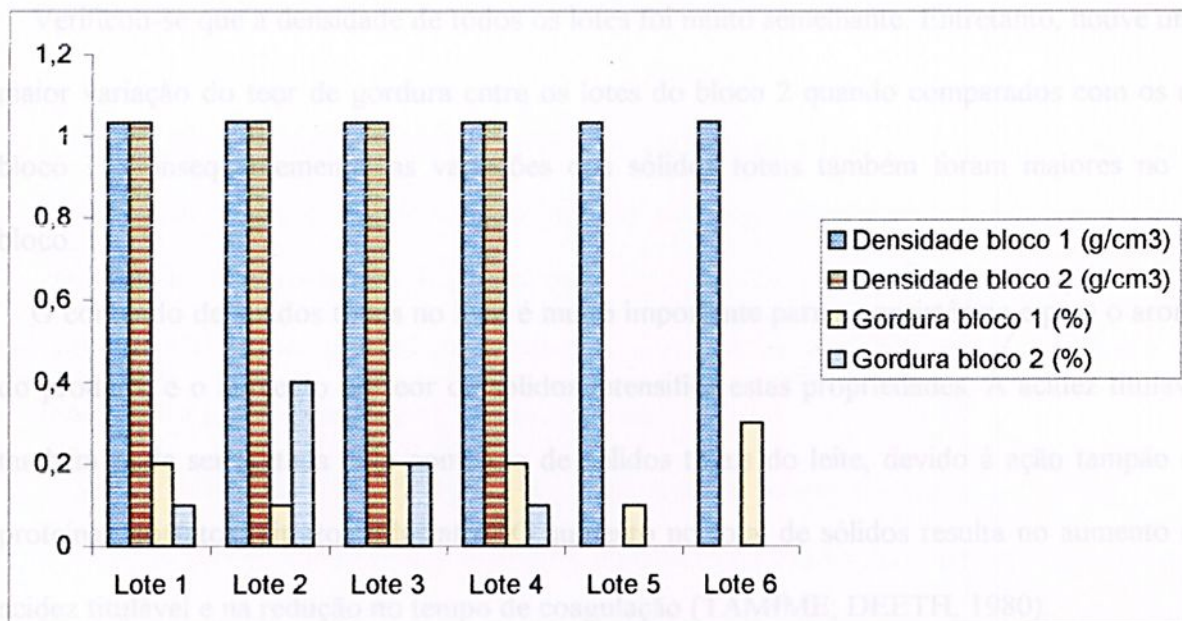


Figura 7 – Valores médios de densidade e do teor de gordura dos lotes de leite desnatado usados nos blocos 1 e 2.

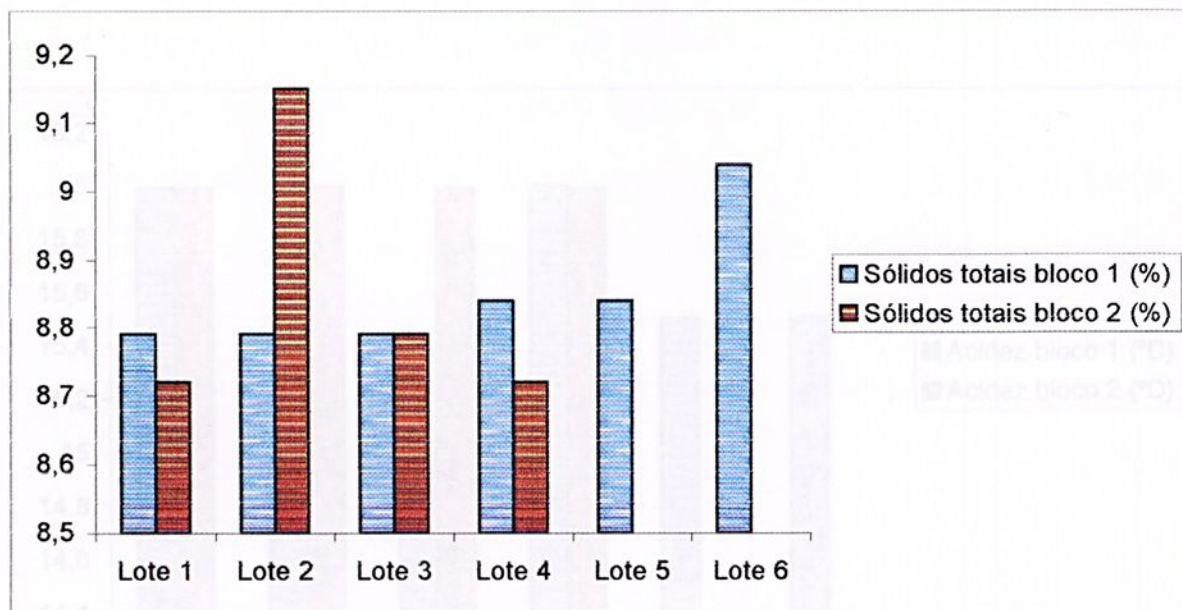


Figura 8 – Valores médios do teor de sólidos totais dos lotes de leite desnatado usados nos blocos 1 e 2.

Verificou-se que a densidade de todos os lotes foi muito semelhante. Entretanto, houve uma maior variação do teor de gordura entre os lotes do bloco 2 quando comparados com os do bloco 1. Conseqüentemente, as variações dos sólidos totais também foram maiores no 2º bloco.

O conteúdo de sólidos totais no leite é muito importante para a consistência e para o aroma do produto, e o aumento no teor de sólidos intensifica estas propriedades. A acidez titulável também pode ser afetada pelo conteúdo de sólidos totais do leite, devido à ação tampão de proteínas, fosfatos, citratos e lactatos. O aumento no total de sólidos resulta no aumento da acidez titulável e na redução no tempo de coagulação (TAMIME; DEETH, 1980).

Apesar da variação do teor de sólidos ter sido maior para os lotes do bloco 2, este fator provavelmente não influenciou a acidez do leite, já que não houve diferença significativa para este parâmetro.

A Figura 9 apresenta os resultados médios de acidez titulável dos lotes de leite desnatado utilizados nos blocos 1 e 2.

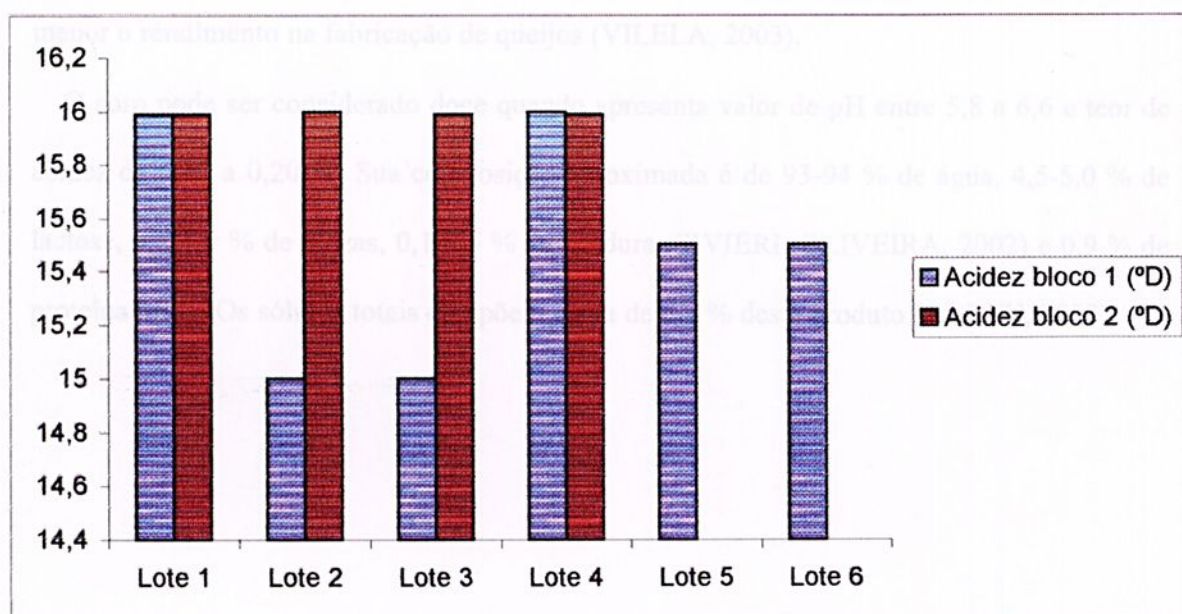


Figura 9 – Valores médios de acidez titulável dos lotes de leite desnatado utilizados nos blocos 1 e 2.

5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO SORO LÍQUIDO

Para a caracterização do soro líquido utilizado como matéria-prima na fabricação das bebidas lácteas, foram efetuadas as análises de pH, acidez titulável, densidade, teores de gordura e de sólidos totais e índice crioscópico.

Os valores médios obtidos nas avaliações dos lotes de soro dos blocos 1 e 2 estão apresentados nas Tabelas 10 e 11, respectivamente.

Esta caracterização é muito importante porque o soro possui uma composição variada, que depende do tipo de queijo de que se origina, do tratamento térmico, do manuseio e de outros fatores como o tipo de coagulante, tempo e temperatura de coagulação, ponto da coalhada, corte, velocidade das liras e mexedura.

As alterações físico-químicas do leite causadas pela estocagem refrigerada provocam a solubilização da β -caseína, migração do fosfato de cálcio micelar para a fase aquosa (até 10%), aumentam a hidratação das micelas e reduzem o seu tamanho, além de modificar a membrana do glóbulo de gordura. Como consequência, maior é o tempo de coagulação, menor a firmeza da coalhada, maior a perda de finos no soro, maior dificuldade de sinérese e menor o rendimento na fabricação de queijos (VILELA, 2003).

O soro pode ser considerado doce quando apresenta valor de pH entre 5,8 a 6,6 e teor de acidez de 0,10 a 0,20 %. Sua composição aproximada é de 93-94 % de água, 4,5-5,0 % de lactose, 0,8-1,0 % de cinzas, 0,1-0,5 % de gordura (SIVIERI; OLIVEIRA, 2002) e 0,9 % de proteína bruta. Os sólidos totais compõem cerca de 6,9 % deste produto (ABREU, 2000).



Tabela 10 – Caracterização físico-química do soro líquido de queijo Minas Frescal utilizado no bloco 1 (médias e desvios-padrão).

Análises	Lote*					
	1	2	3	4	5	6
pH	6,70 ± 0,01 ^c	6,71 ± 0,01 ^c	6,79 ± 0,01 ^b	6,45 ± 0,01 ^e	6,61 ± 0,01 ^d	6,89 ± 0,01 ^a
Acidez (°D)	11,0 ± 0,0 ^b	11,0 ± 0,0 ^b	10,5 ± 0,0 ^b	12,3 ± 0,6 ^a	11,0 ± 0,0 ^b	11,0 ± 0,0 ^b
Densidade (g/cm ³)	1,024 ± 0,000 ^b	1,024 ± 0,000 ^b	1,026 ± 0,001 ^a	1,026 ± 0,000 ^a	1,026 ± 0,000 ^a	1,026 ± 0,000 ^a
Crioscopia (°H)	-0,557 ± 0,002 ^{ab}	-0,546 ± 0,001 ^c	-0,558 ± 0,002 ^a	-0,556 ± 0,001 ^{ab}	-0,558 ± 0,003 ^a	-0,552 ± 0,002 ^b
Gordura (%)	0,6 ± 0,0 ^c	0,7 ± 0,1 ^b	0,8 ± 0,0 ^a	0,5 ± 0,0 ^d	0,8 ± 0,0 ^a	0,7 ± 0,0 ^b
Sólidos totais (%)	7,01 ± 0,28 ^b	7,18 ± 0,00 ^{ab}	7,37 ± 0,09 ^a	6,97 ± 0,06 ^b	7,34 ± 0,03 ^a	7,16 ± 0,02 ^{ab}

a, b, c, d, e Médias em uma linha com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p < 0,01).

* Lotes

Lote 1 - leite usado no tratamento 2.

Lote 2 - leite usado no tratamento 4.

Lote 3 - leite usado nos tratamentos 3, 8 e 12.

Lote 4 - leite usado nos tratamentos 7 e 11.

Lote 5 - leite usado nos tratamentos 1, 6 e 10.

Lote 6 - leite usado nos tratamentos 5 e 9.

Tabela 11 – Caracterização físico-química do soro líquido de queijo Minas Frescal utilizado no bloco 2 (médias e desvios-padrão).

Análises	Lote*			
	1	2	3	4
pH	6,47 ± 0,01 ^{ab}	6,45 ± 0,01 ^b	6,42 ± 0,01 ^c	6,48 ± 0,01 ^a
Acidez (°D)	10,9 ± 0,0 ^a	10,9 ± 0,0 ^a	10,9 ± 0,0 ^a	10,9 ± 0,0 ^a
Densidade (g/cm ³)	1,027 ± 0,000 ^a	1,025 ± 0,000 ^b	1,026 ± 0,000 ^b	1,027 ± 0,000 ^a
Crioscopia (°H)	-0,539 ± 0,001 ^b	-0,557 ± 0,000 ^a	-0,556 ± 0,001 ^a	-0,540 ± 0,001 ^b
Gordura (%)	0,5 ± 0,0 ^c	0,7 ± 0,0 ^a	0,6 ± 0,0 ^b	0,6 ± 0,0 ^b
Sólidos totais (%)	6,99 ± 0,04 ^a	7,09 ± 0,01 ^a	6,99 ± 0,02 ^a	6,96 ± 0,10 ^a

^{a, b, c} Médias em uma linha com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p < 0,01).

* Lotes

Lote 1 - leite usado nos tratamentos 1, 6 e 9.

Lote 2 - leite usado nos tratamentos 2, 5 e 11.

Lote 3 - leite usado nos tratamentos 3, 7 e 12.

Lote 4 - leite usado nos tratamentos 4, 8 e 10.

No bloco 1, as médias das médias dos lotes de soro e seus respectivos desvios-padrão foram: pH $6,69 \pm 0,15$, acidez titulável $11,1 \pm 0,6$ °D, densidade $1,025 \pm 0,001$ g/cm³, índice crioscópico $-0,555 \pm 0,005$ °H, gordura $0,7 \pm 0,1$ % e sólidos totais $7,17 \pm 0,16$ %.

As obtidas no bloco 2 foram: pH $6,46 \pm 0,03$, acidez titulável $10,9 \pm 0,0$ °D, densidade $1,026 \pm 0,001$ g/cm³, índice crioscópico $-0,548 \pm 0,010$ °H, gordura $0,6 \pm 0,1$ % e sólidos totais $7,01 \pm 0,06$ %.

Todos os lotes avaliados apresentaram resultados muito próximos dos relatados na literatura que caracterizam o soro doce.

Siqueira et al. (2002) obtiveram $6,31 \pm 0,14$ de pH, $11,68 \pm 2,19$ °D de acidez titulável, $1,022 \pm 0,005$ g/cm³ de densidade, $0,75 \pm 0,40$ % de gordura e $6,68 \pm 1,25$ % de sólidos totais no soro de queijo Minas Frescal.

Sivieri e Oliveira (2002) utilizaram soro de queijo para a elaboração de bebidas lácteas que apresentavam resultados médios de $6,54 \pm 0,09$ para o pH, $12,11 \pm 0,55$ °D para a acidez, $1,026 \pm 0,000$ g/cm³ para a densidade, $0,10 \pm 0,00$ % para a gordura e $6,39 \pm 0,10$ % para os sólidos totais.

Mosquim (1996) avaliando a composição do soro de diversos tipos de queijo obteve média de $0,40$ % para o teor de gordura e $6,76$ % para o teor de sólidos totais.

Penna (1997) analisou soros de queijos para serem usados na elaboração de bebidas lácteas e encontrou os seguintes valores: densidade $1,027$ g/cm³, acidez $9,18$ °D, pH $6,43$, gordura $1,5$ % e teor de sólidos totais $6,29$ %.

Apesar da discrepância dos resultados obtidos nos dois blocos, a análise de variância demonstrou que houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre os lotes do bloco 1 com relação ao pH, acidez titulável, densidade, gordura, sólidos totais e índice crioscópico. No bloco 2, o pH, a densidade, a gordura e o índice crioscópico foram estatisticamente diferentes ($p < 0,01$),

enquanto que a acidez titulável e os sólidos totais dos lotes não diferiram significativamente entre si ($p > 0,01$).

Estas diferenças podem ser explicadas pelas variações na composição do leite e até mesmo no processamento usado para a fabricação do queijo Minas Frescal, como tempo de coagulação, corte da coalhada e mexedura, entre outras.

A Figura 10 apresenta os valores médios de pH e acidez titulável obtidos nas análises dos lotes de soro dos blocos 1 e 2. A análise da Figura demonstra que não houve grande variação do pH entre os blocos e que a acidez do bloco 2 foi mais estável quando comparada com a do bloco 1.

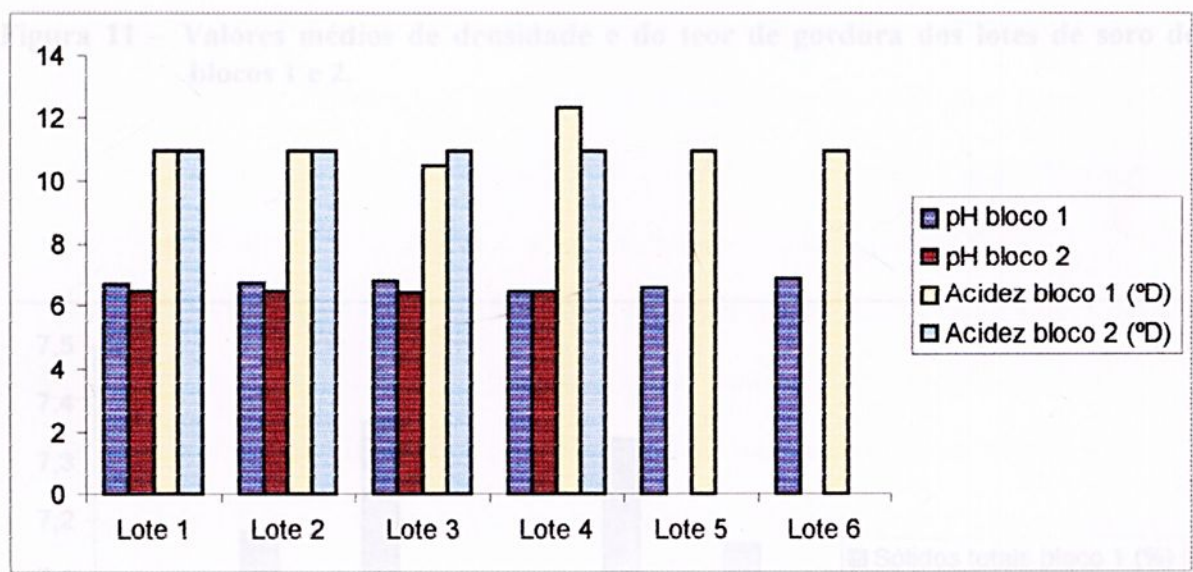


Figura 10 – Valores médios de pH e acidez titulável dos lotes de soro dos blocos 1 e 2.

A Figura 11 apresenta os valores médios de densidade e gordura dos blocos 1 e 2. A densidade foi praticamente a mesma para os dois blocos, ao passo que o teor de gordura teve maior variação no bloco 1 quando comparado com o bloco 2. Conseqüentemente, também houve maior variação no teor de sólidos totais do bloco 1, como mostra a Figura 12. Provavelmente, a obtenção do soro utilizado no bloco 2 foi melhor padronizada.

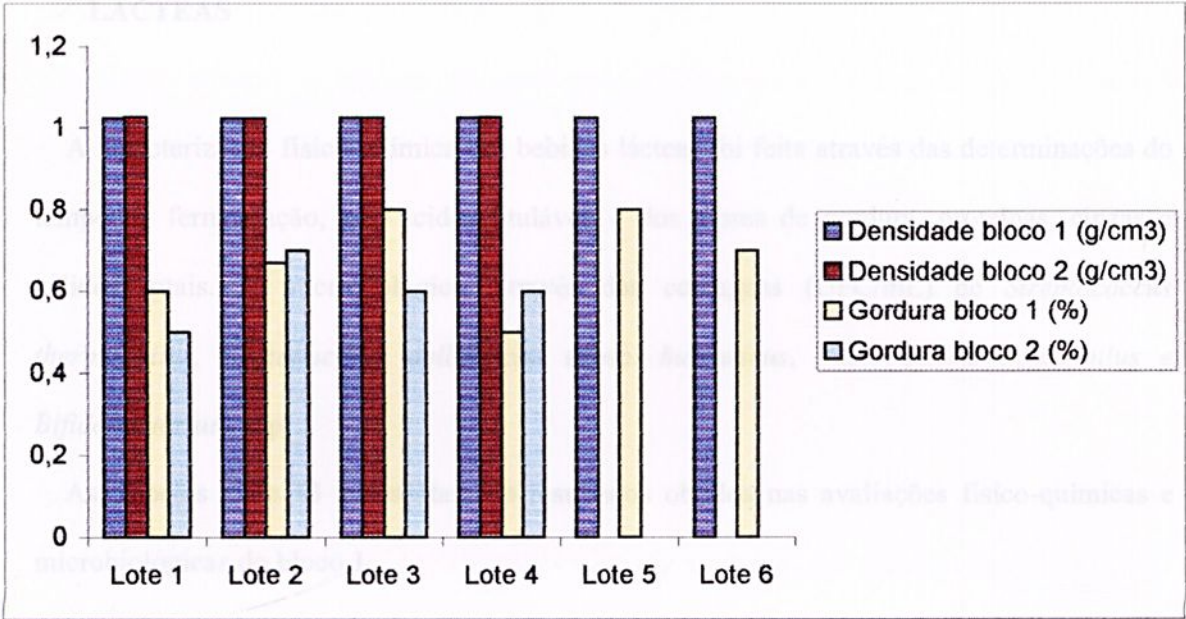


Figura 11 – Valores médios de densidade e do teor de gordura dos lotes de soro dos blocos 1 e 2.

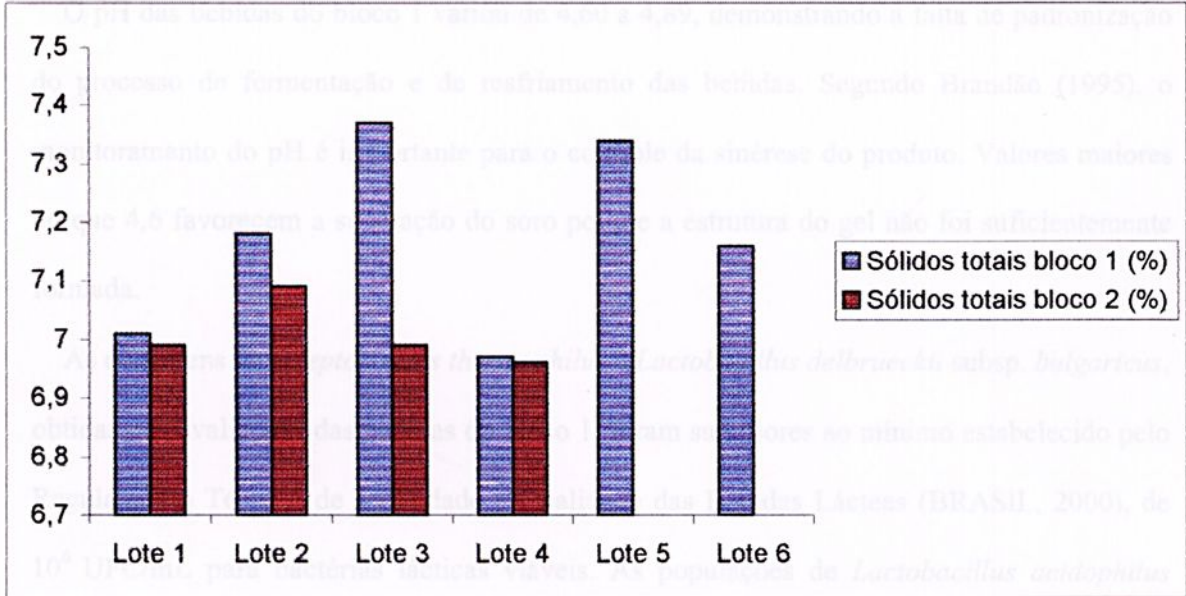


Figura 12 – Valores médios do teor de sólidos totais dos lotes de soro dos blocos 1 e 2.

5.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DAS BEBIDAS LÁCTEAS

A caracterização físico-química das bebidas lácteas foi feita através das determinações do tempo de fermentação, pH, acidez titulável, e dos teores de gordura, proteínas, cinzas e sólidos totais. A microbiológica, através das contagens (UFC/mL) de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp.

As Tabelas 12 e 13 apresentam os resultados obtidos nas avaliações físico-químicas e microbiológicas do bloco 1.

A análise de variância dos resultados das bebidas lácteas do bloco 1 demonstrou que houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre os tratamentos, com relação ao pH, acidez titulável, gordura, proteínas, sólidos totais, contagem de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp. Somente os valores obtidos para o teor de cinzas foram estatisticamente iguais ($p > 0,01$).

O pH das bebidas do bloco 1 variou de 4,60 a 4,89, demonstrando a falta de padronização do processo de fermentação e de resfriamento das bebidas. Segundo Brandão (1995), o monitoramento do pH é importante para o controle da sinérese do produto. Valores maiores do que 4,6 favorecem a separação do soro porque a estrutura do gel não foi suficientemente formada.

As contagens de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, obtidas nas avaliações das bebidas do bloco 1, foram superiores ao mínimo estabelecido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade das Bebidas Lácteas (BRASIL, 2000), de 10^6 UFC/mL para bactérias lácticas viáveis. As populações de *Lactobacillus acidophilus* ficaram muito próximas deste limite. Entretanto, as baixas contagens de *Bifidobacterium* spp.,



com exceção do tratamento 4 ($1,5 \times 10^6$ UFC/mL), demonstraram ser inviável a rotulagem do produto como fonte deste microrganismo.

Como durante o período de estocagem dos produtos fermentados podem ocorrer reduções de até 3 ciclos logarítmicos nas contagens destes microrganismos (DAVE; SHAH, 1997), foram feitas alterações no processo de fabricação das bebidas do bloco 2 a fim de que estes produtos pudessem ser considerados probióticos, tanto com relação a *Lactobacillus acidophilus*, como em relação a *Bifidobacterium* spp. Por isso, a quantidade de cultura láctea inoculada passou de 0,5% para 1%.

Com o intuito de padronizar o pH das bebidas, o valor fixado para início do resfriamento foi 4,7. Todas as condições de resfriamento e estocagem foram minuciosamente controladas.

O tratamento 4 foi o preferido pelos provadores na análise sensorial do bloco 1, recebendo as maiores notas para todos os atributos testados. Entretanto, em virtude das alterações na preparação das bebidas do bloco 2 e da realização da caracterização reológica, as discussões referentes às bebidas lácteas foram todas baseadas nos resultados obtidos no bloco 2.

As Tabelas 14 e 15 apresentam os resultados obtidos nas avaliações físico-químicas e microbiológicas das bebidas do bloco 2.



Tabela 12 – Caracterização físico-química das bebidas lácteas do bloco 1 (médias e desvios-padrão).

Tratamentos	X ₁	X ₂	X ₃	Tempo de fermentação (minutos)	pH	Acidez Titulável (°D)	Teor de gordura (%)	Teor de proteínas (%)	Teor de cinzas (%)	Sólidos Totais (%)
01	45	6	1	310	4,65 ± 0,01 ^f	50,0 ± 0,0 ^c	0,4 ± 0,1 ^{ab}	2,67 ± 0,09 ^a	0,65 ± 0,07 ^{abc}	14,58 ± 0,02 ^g
02	55	6	1	240	4,60 ± 0,01 ^h	51,7 ± 0,3 ^a	0,4 ± 0,0 ^b	2,19 ± 0,11 ^{bc}	0,57 ± 0,01 ^{bcd}	15,02 ± 0,04 ^f
03	45	8	1	290	4,63 ± 0,00 ^{fg}	50,7 ± 0,3 ^b	0,4 ± 0,0 ^b	2,23 ± 0,16 ^{bc}	0,66 ± 0,03 ^{abc}	16,60 ± 0,07 ^b
04	55	8	1	260	4,60 ± 0,01 ^{gh}	51,0 ± 0,0 ^b	0,3 ± 0,0 ^c	2,57 ± 0,25 ^{ab}	0,56 ± 0,05 ^{cd}	16,61 ± 0,02 ^b
05	45	6	3	295	4,82 ± 0,03 ^b	49,0 ± 0,0 ^d	0,4 ± 0,0 ^b	2,30 ± 0,20 ^{abc}	0,49 ± 0,01 ^d	16,12 ± 0,03 ^{de}
06	55	6	3	265	4,74 ± 0,01 ^{cd}	46,0 ± 0,0 ^g	0,5 ± 0,0 ^a	2,10 ± 0,15 ^c	0,63 ± 0,03 ^{abc}	16,01 ± 0,25 ^{de}
07	45	8	3	340	4,75 ± 0,00 ^c	52,0 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,0 ^c	2,06 ± 0,09 ^c	0,62 ± 0,03 ^{abc}	17,57 ± 0,04 ^a
08	55	8	3	280	4,71 ± 0,01 ^{de}	46,7 ± 0,6 ^f	0,5 ± 0,0 ^a	2,01 ± 0,12 ^c	0,70 ± 0,03 ^a	17,48 ± 0,07 ^a
09	50	7	2	295	4,89 ± 0,01 ^a	47,0 ± 0,0 ^f	0,4 ± 0,0 ^b	2,28 ± 0,04 ^{abc}	0,47 ± 0,04 ^d	16,22 ± 0,01 ^{cd}
10	50	7	2	300	4,76 ± 0,01 ^c	48,0 ± 0,0 ^e	0,5 ± 0,1 ^{ab}	2,22 ± 0,09 ^{bc}	0,68 ± 0,03 ^a	16,37 ± 0,02 ^{bc}
11	50	7	2	315	4,74 ± 0,00 ^{cd}	49,0 ± 0,0 ^d	0,3 ± 0,0 ^c	2,02 ± 0,10 ^c	0,62 ± 0,02 ^{abc}	15,96 ± 0,04 ^e
12	50	7	2	275	4,70 ± 0,00 ^e	49,2 ± 0,3 ^d	0,5 ± 0,0 ^a	2,08 ± 0,06 ^c	0,67 ± 0,02 ^{ab}	16,39 ± 0,07 ^{bc}

a, b, c, d, e, f, g, h Médias em uma coluna com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p < 0,01).

X₁ = Teor de soro (%); X₂ = Teor de sacarose (%); X₃ = Teor de oligofrutose (%).

Tabela 13 – Caracterização microbiológica das bebidas lácteas do bloco 1 (médias).

Tratamentos	X ₁	X ₂	X ₃	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium</i> spp.	Coliformes totais e fecais	Bolores e leveduras
				(UFC/mL)	(UFC/mL)	(UFC/mL)	(UFC/mL)	(UFC/mL)	(UFC/mL)
01	45	6	1	3,7 x 10 ^{11 c}	5,1 x 10 ^{8 b}	2,0 x 10 ^{7 b}	3,4 x 10 ^{5 d}	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
02	55	6	1	2,7 x 10 ^{9 g}	8,3 x 10 ^{6 b}	4,7 x 10 ^{7 b}	9,4 x 10 ^{5 b}	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
03	45	8	1	2,4 x 10 ^{11 de}	1,9 x 10 ^{7 b}	9,7 x 10 ^{8 a}	1,8 x 10 ^{5 e}	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
04	55	8	1	1,1 x 10 ^{9 g}	1,0 x 10 ^{7 b}	3,5 x 10 ^{8 ab}	1,5 x 10 ^{6 a}	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
05	45	6	3	2,6 x 10 ^{12 a}	1,6 x 10 ^{11 a}	8,0 x 10 ^{8 a}	1,2 x 10 ^{5 ef}	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
06	55	6	3	3,3 x 10 ^{11 cd}	3,3 x 10 ^{8 b}	2,5 x 10 ^{7 b}	5,2 x 10 ^{5 c}	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
07	45	8	3	4,5 x 10 ^{9 g}	2,2 x 10 ^{7 b}	2,6 x 10 ^{7 b}	4,2 x 10 ^{4 f}	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
08	55	8	3	1,7 x 10 ^{11 ef}	2,1 x 10 ^{7 b}	4,7 x 10 ^{8 ab}	3,6 x 10 ^{5 d}	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
09	50	7	2	1,2 x 10 ^{12 b}	1,2 x 10 ^{9 b}	4,2 x 10 ^{8 ab}	1,1 x 10 ^{5 ef}	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
10	50	7	2	9,1 x 10 ^{10 fg}	4,4 x 10 ^{7 b}	4,7 x 10 ^{7 b}	1,5 x 10 ^{5 ef}	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
11	50	7	2	2,3 x 10 ^{9 g}	9,6 x 10 ^{6 b}	2,5 x 10 ^{7 b}	4,3 x 10 ^{4 f}	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
12	50	7	2	1,2 x 10 ^{11 f}	2,7 x 10 ^{7 b}	6,1 x 10 ^{8 ab}	4,0 x 10 ^{5 cd}	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹

a, b, c, d, e, f, g Médias em uma coluna com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p < 0,01).

X₁ = Teor de soro (%); X₂ = Teor de sacarose (%); X₃ = Teor de oligofrutose (%).

Tabela 14 – Caracterização físico-química das bebidas lácteas do bloco 2 (médias e desvios-padrão).

Tratamentos	X ₁	X ₂	X ₃	Tempo de fermentação (minutos)	pH	Acidez Titulável (°D)	Teor de gordura (%)	Teor de proteínas (%)	Teor de cinzas (%)	Sólidos Totais (%)
01	45	6	1	350	4,64 ± 0,01 ^a	53,0 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,0 ^b	2,18 ± 0,02 ^{ab}	0,58 ± 0,01 ^{ab}	14,44 ± 0,07 ^f
02	55	6	1	310	4,62 ± 0,01 ^b	53,0 ± 0,0 ^a	0,5 ± 0,0 ^a	1,93 ± 0,03 ^{de}	0,57 ± 0,04 ^b	14,37 ± 0,04 ^f
03	45	8	1	275	4,63 ± 0,00 ^{ab}	52,0 ± 0,0 ^b	0,3 ± 0,0 ^b	2,16 ± 0,05 ^{ab}	0,68 ± 0,03 ^a	16,03 ± 0,07 ^{de}
04	55	8	1	270	4,63 ± 0,01 ^{ab}	52,0 ± 0,0 ^b	0,3 ± 0,0 ^b	1,96 ± 0,00 ^{cde}	0,62 ± 0,03 ^{ab}	15,82 ± 0,03 ^e
05	45	6	3	315	4,63 ± 0,00 ^{ab}	52,0 ± 0,0 ^b	0,5 ± 0,0 ^a	2,28 ± 0,15 ^a	0,57 ± 0,05 ^b	16,07 ± 0,03 ^{cd}
06	55	6	3	295	4,62 ± 0,00 ^b	53,0 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,0 ^b	1,83 ± 0,09 ^e	0,58 ± 0,03 ^{ab}	15,82 ± 0,09 ^e
07	45	8	3	290	4,63 ± 0,01 ^{ab}	52,0 ± 0,0 ^b	0,3 ± 0,0 ^b	2,08 ± 0,05 ^{bcd}	0,59 ± 0,07 ^{ab}	17,53 ± 0,13 ^a
08	55	8	3	280	4,63 ± 0,00 ^{ab}	52,0 ± 0,0 ^b	0,3 ± 0,0 ^b	2,09 ± 0,03 ^{abcd}	0,60 ± 0,03 ^{ab}	17,75 ± 0,09 ^a
09	50	7	2	280	4,63 ± 0,01 ^{ab}	53,0 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,0 ^b	1,99 ± 0,01 ^{bcde}	0,58 ± 0,04 ^{ab}	16,17 ± 0,01 ^{cd}
10	50	7	2	275	4,63 ± 0,01 ^{ab}	53,0 ± 0,0 ^a	0,3 ± 0,0 ^b	2,14 ± 0,02 ^{abc}	0,64 ± 0,01 ^{ab}	16,29 ± 0,19 ^c
11	50	7	2	280	4,63 ± 0,00 ^{ab}	52,0 ± 0,0 ^b	0,5 ± 0,0 ^a	2,10 ± 0,09 ^{abcd}	0,56 ± 0,02 ^b	16,55 ± 0,04 ^b
12	50	7	2	285	4,63 ± 0,00 ^{ab}	52,0 ± 0,0 ^b	0,3 ± 0,0 ^b	2,15 ± 0,07 ^{ab}	0,66 ± 0,02 ^{ab}	16,13 ± 0,02 ^{cd}

^{a, b, c, d, e, f.} Médias em uma coluna com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p < 0,01).

X₁ = Teor de soro (%); X₂ = Teor de sacarose (%); X₃ = Teor de oligofrutose (%).

Tabela 15 – Caracterização microbiológica das bebidas lácteas do bloco 2 (médias).

Tratamentos	X ₁	X ₂	X ₃	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium</i> spp.	Coliformes totais e fecais	Bolores e leveduras
				(UFC/mL)	(UFC/mL)	(UFC/mL)	(UFC/mL)	(UFC/mL)	(UFC/mL)
01	45	6	1	2,6 x 10 ¹¹ bc	2,2 x 10 ¹⁰ ab	2,4 x 10 ¹⁰ bc	3,5 x 10 ⁷ c	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
02	55	6	1	3,6 x 10 ⁹ e	1,3 x 10 ⁹ b	3,5 x 10 ⁹ c	5,2 x 10 ⁸ a	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
03	45	8	1	2,1 x 10 ¹¹ cd	1,9 x 10 ⁸ b	2,1 x 10 ⁸ c	2,2 x 10 ⁵ c	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
04	55	8	1	1,1 x 10 ¹¹ de	1,8 x 10 ⁸ b	1,6 x 10 ⁸ c	2,3 x 10 ⁶ c	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
05	45	6	3	7,1 x 10 ⁹ e	2,6 x 10 ⁷ b	2,2 x 10 ⁸ c	3,4 x 10 ⁶ c	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
06	55	6	3	3,4 x 10 ¹¹ b	6,1 x 10 ¹⁰ a	1,1 x 10 ¹¹ a	4,2 x 10 ⁷ c	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
07	45	8	3	1,1 x 10 ⁹ e	5,0 x 10 ⁷ b	4,0 x 10 ⁷ c	1,4 x 10 ⁵ c	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
08	55	8	3	9,5 x 10 ¹¹ a	2,7 x 10 ¹⁰ ab	3,9 x 10 ⁹ c	1,7 x 10 ⁶ c	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
09	50	7	2	3,2 x 10 ¹¹ e	2,9 x 10 ⁸ b	1,0 x 10 ⁹ c	3,4 x 10 ⁸ ab	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
10	50	7	2	3,7 x 10 ¹⁰ e	5,8 x 10 ¹⁰ a	6,4 x 10 ⁸ c	1,3 x 10 ⁸ bc	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
11	50	7	2	1,1 x 10 ¹⁰ e	6,9 x 10 ¹⁰ a	5,3 x 10 ¹⁰ b	3,1 x 10 ⁶ c	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹
12	50	7	2	5,8 x 10 ¹⁰ e	1,5 x 10 ⁸ b	1,5 x 10 ⁸ c	4,0 x 10 ⁵ c	< 1,0 x 10 ¹	< 1,0 x 10 ¹

a, b, c, d, e Médias em uma coluna com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p < 0,01).

X₁ = Teor de soro (%); X₂ = Teor de sacarose (%); X₃ = Teor de oligofrutose (%).

5.3.1 Tempo de fermentação

O tempo de fermentação foi definido como o tempo necessário para que a bebida láctea atingisse o pH de 4,7, para então, se dar início ao resfriamento até 20°C.

A Tabela 14 e a Figura 13 apresentam os tempos de fermentação obtidos nos 12 tratamentos do bloco 2. O tempo médio necessário para a cultura MY BIO 6 (Danisco Cultor) atingir o valor de pH de 4,6, é de aproximadamente 300 minutos. O valor médio encontrado para os tratamentos foi de 292 minutos, com variações entre 270 e 350 minutos, semelhante ao obtido por Almeida et al. (2001), 300 minutos, na fabricação de bebidas lácteas fermentadas com cultura probiótica e preparadas com soro de queijo Minas Frescal.

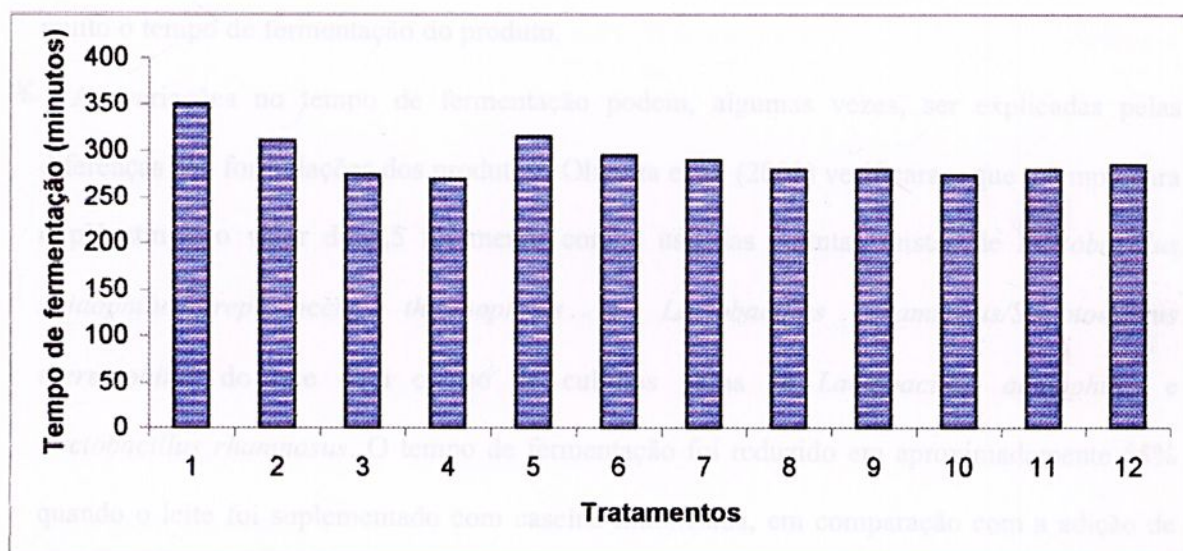


Figura 13 – Tempos de fermentação obtidos nos processos de fabricação das bebidas lácteas.

Pinheiro (2003), utilizando a cultura MY BIO 6, obteve um valor médio de 315 minutos na elaboração de iogurtes probióticos com edulcorantes. Entretanto, Tamime e Robinson (1991) consideram que, na faixa de 40-45°C, o período de incubação pode variar de 2,5 a 5 horas.

Dave e Shah (1997) obtiveram tempos de fermentação que variaram de 3,5 a 6,0 horas utilizando culturas lácteas mistas compostas de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* na fabricação de iogurtes. Os produtos fabricados com *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* apresentaram tempos de fermentação maiores (6,5 a 11 horas). Provavelmente, a ausência do *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* neste caso, tenha acarretado o aumento do tempo de fermentação destes produtos, uma vez que a sua relação simbiótica com o *Streptococcus thermophilus* e sua alta atividade proteolítica são muito importantes durante a fermentação.

Shihata e Shah (2000) demonstraram que as bactérias do iogurte são mais proteolíticas do que as probióticas (*L. acidophilus* e *Bifidobacterium*) e Shah (2001) verificou que elas possuem maior atividade de β -galactosidase. Por isso, o uso associado destas bactérias reduz muito o tempo de fermentação do produto.

* As variações no tempo de fermentação podem, algumas vezes, ser explicadas pelas diferenças nas formulações dos produtos. Oliveira et al. (2001) verificaram que o tempo para o pH atingir o valor de 4,5 foi menor com o uso das culturas mistas de *Lactobacillus acidophilus*/*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus rhamnosus*/*Streptococcus thermophilus* do que com o uso de culturas puras de *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus rhamnosus*. O tempo de fermentação foi reduzido em aproximadamente 55% quando o leite foi suplementado com caseína hidrolisada, em comparação com a adição de soro em pó e proteínas do leite.

Para se estudar o efeito dos diferentes teores de soro líquido, sacarose e oligofrutose sobre o tempo de fermentação, a partir dos resultados obtidos nos tratamentos, procedeu-se a regressão múltipla para a obtenção de uma equação polinomial completa. Entretanto, a análise



de variância deste modelo demonstrou que ele não era significativo estatisticamente ($R^2 = 0,5589$, $p = 0,1532$) e por isso a equação não está sendo apresentada.

Desta forma não foi possível comprovar a influência da formulação nos diferentes tempos de fermentação obtidos. Provavelmente, outros fatores, além destes testados tenham influenciado este parâmetro.

O tempo de fermentação foi maior quando usadas as menores concentrações de soro e sacarose.

5.3.2 Valor de pH

Apesar da fermentação ter sido encerrada e iniciado o resfriamento em pH 4,7, e das condições de tempo e temperatura de resfriamento terem sido as mesmas, houve uma variação de 4,62 a 4,64 entre os 12 tratamentos, com resultado médio de $4,63 \pm 0,01$, conforme apresentado na Tabela 14.

A análise de variância, demonstrou que esta diferença foi significativa ($p < 0,01$), como mostram os resultados do teste de Tukey na Tabela 14 e o Apêndice 1.

A partir dos resultados médios dos tratamentos procedeu-se à regressão múltipla para a obtenção de uma equação polinomial completa. Os coeficientes obtidos estão apresentados na Tabela 16. Eliminaram-se os coeficientes não significativos ($p > 0,05$), obtendo-se um modelo ajustado, como mostra a Equação 1.

$$\hat{Y}_1 = 4,63 - 0,003.X_1 + 0,003.X_1.X_2 \text{ (Equação 1)}$$

Tabela 16 - Estimativa dos coeficientes do polinômio de segundo grau, ajustado para os dados experimentais do pH, através da regressão múltipla.

Variáveis independentes	Coeficientes	Erro padrão	Nível de significância
Constante	4,6281	0,0005	0,0000
X ₁	-0,0029	0,0006	0,0080
X ₂	0,0004	0,0006	0,5153
X ₃	-0,0013	0,0006	0,1040
X ₁ .X ₂	0,0029	0,0006	0,0080
X ₁ .X ₃	0,0013	0,0006	0,1040
X ₂ .X ₃	0,0013	0,0006	0,1040
X ₁ .X ₂ .X ₃	0,0004	0,0006	0,5390

Nível de significância 5%.

X₁ = Teor de soro (%); X₂ = Teor de sacarose (%); X₃ = Teor de oligofrutose (%).

A análise de variância do modelo polinomial pH encontra-se na Tabela 17, mostrando que o coeficiente de determinação para o modelo foi de 93,97% e o erro padrão de 0,0017.

Apesar da pequena variação, o valor de pH é dependente da variável X₁ (soro) e da interação X₁.X₂ (soro e sacarose). Isto demonstra, que além da temperatura e do tempo de incubação, do tipo de cultura usada e da temperatura e do tempo de refrigeração, os teores de soro e sacarose também influenciaram o pH da bebida láctea.

Tabela 17 - Análise de variância do polinômio de segundo grau, para os dados experimentais do pH.

Causas de variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F	Nível de significância p
pH	7	0,0002	0,0000	8,9001	0,0259
Resíduo	4	0,0000	0,0000		
Total	11	0,0002			
Erro padrão					0,0017
Coeficiente de determinação (R ²)					0,9397

A Figura 14 mostra a representação das linhas de contorno da superfície de resposta, da relação entre os teores de soro e sacarose com o pH. Quanto maior a adição de soro na formulação da bebida láctea, menor o pH obtido. O aumento no teor de sacarose causa um aumento no valor de pH, provavelmente por tornar mais lenta a fermentação.

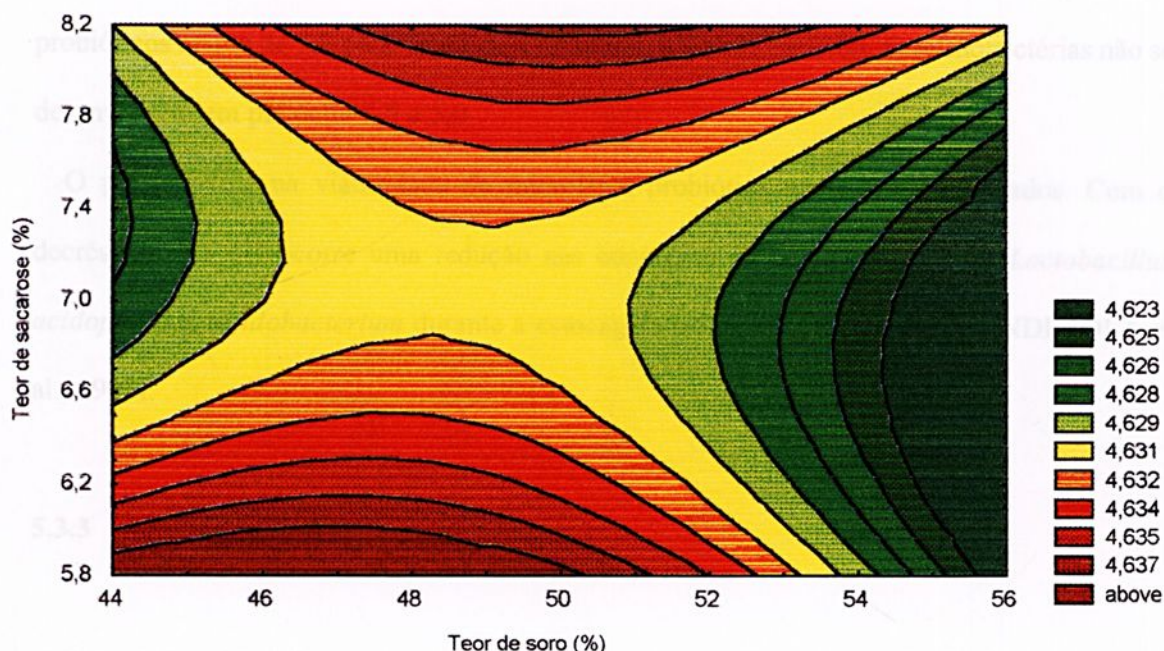


Figura 14 – Efeito dos teores de soro de queijo Minas Frescal e de sacarose sobre o pH das bebidas lácteas.

Sivieri e Oliveira (2002) encontraram valores de pH que variaram de 4,0 a 4,6 para bebidas lácteas fermentadas logo após a fabricação. Santos e Ferreira (2001) obtiveram o valor de 4,25 para uma bebida láctea fermentada por *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* adicionada de soro de queijo e com aroma de cravo e canela.

Em um outro estudo, foi elaborada uma bebida láctea probiótica utilizando-se o soro do queijo Minas Frescal e leite acidófilo, sendo de 4,2 o pH obtido logo após a fabricação (MARTINS et al., 2003).

Em todas as pesquisas mencionadas, os valores médios de pH obtidos foram inferiores ao deste estudo, devido a utilização neste trabalho de uma cultura láctea mista de bactérias probióticas com os microrganismos tradicionais do iogurte. Por isso, optou-se por parar o processo de fermentação em um pH mais alto (4,7) para evitar a perda de viabilidade dos probióticos durante a vida de prateleira.

Almeida et al. (2001) manteve o pH das bebidas lácteas fermentadas por microrganismos probióticos acima de 5,0 pois, segundo a literatura, algumas espécies de bifidobactérias não se desenvolvem em pH entre 4,5 e 5,0.

O pH interfere na viabilidade da microflora probiótica em leites fermentados. Com o decréscimo do pH ocorre uma redução nas contagens de células viáveis de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* durante a estocagem refrigerada de iogurtes (VINDEROLA et al., 1999).

5.3.3 Acidez titulável

A produção de ácido láctico durante a fabricação de leites fermentados é muito importante, pois contribui para a desestabilização das micelas de caseína e conseqüentemente para a formação do gel, além de proporcionar o seu sabor ácido característico, podendo também acentuar o aroma do produto.

Os valores encontrados para a acidez titulável dos 12 tratamentos variaram de 52,0 a 53,0 °Dornic, com média de $52,38 \pm 0,06^\circ\text{D}$, conforme apresentados na Tabela 14 e na Figura 15.

Este valor médio foi inferior ao obtido por MARTINS et al. (2003) após a fabricação de uma bebida láctea com leite acidófilo e por Santos e Ferreira (2001) para uma bebida láctea fermentada formulada com 30% de soro, 64 e 70°D, respectivamente. Entretanto, foi semelhante à faixa encontrada por Seibel e Cansian (2000), 50 a 60°D, para bebidas lácteas



formuladas com o teor de soro variando de 60, 65 e 70% e fermentadas com cultura tradicional de iogurte.

A análise de variância demonstrou que a diferença entre os tratamentos foi significativa, como mostram os resultados do teste de Tukey na Tabela 14 e o Apêndice 2.

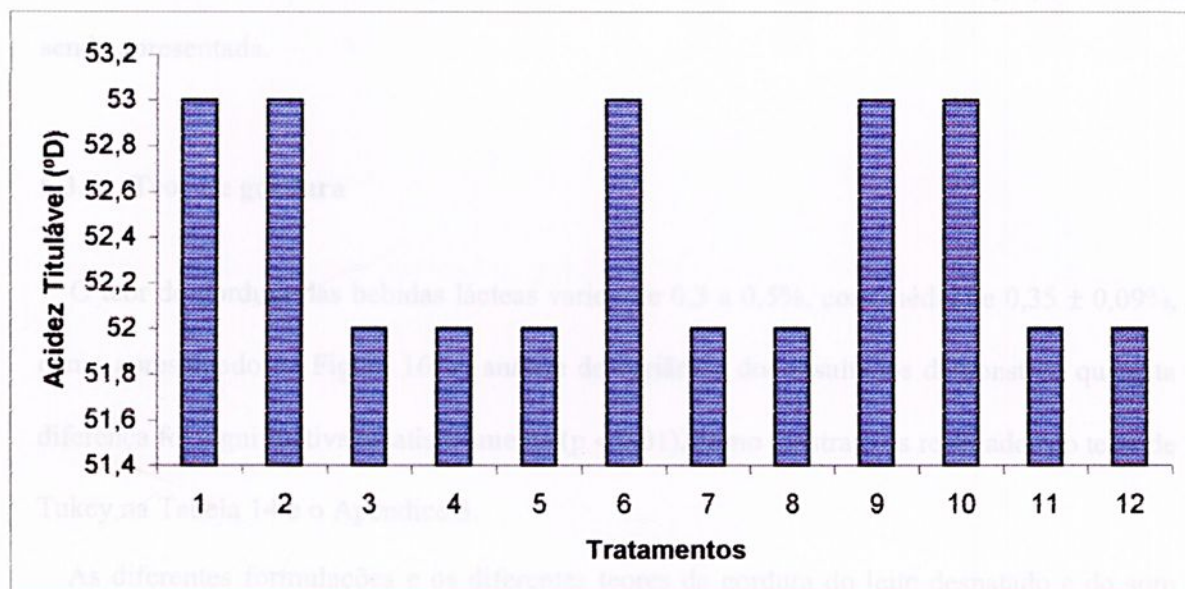


Figura 15 – Valores médios de acidez titulável das bebidas lácteas.

Pombo et al. (1983) estudaram a influência de diferentes teores de sólidos totais (12, 15 e 17 %) sobre a acidez, o pH, a viscosidade e as alterações sofridas por iogurtes durante a estocagem. O aumento do teor de sólidos totais resultou em aumento na acidez titulável de 0,83 a 1,20% de ácido láctico em um período de 7 dias.

A atividade acidificante também é influenciada pelo tipo de cultura e de suplementação usadas. Oliveira et al. (2001) verificaram maior atividade para culturas mistas de *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus rhamnosus* com *Streptococcus thermophilus* do que para cepas puras dos dois primeiros microrganismos e quando o leite foi suplementado com caseína hidrolisada.

Conforme apresentado na Tabela 14, os tempos necessários para que as bebidas alcançassem 52,0-53,0°D variaram bastante.

Foi feita uma regressão múltipla com os dados experimentais médios da acidez titulável para tentar relacionar este parâmetro com a variação na composição das bebidas. Os resultados da análise de variância para este modelo, mostraram não ser significativa estatisticamente ($R^2 = 0,6428$, $p = 0,5208$) a regressão obtida. Por isso, a equação não está sendo apresentada.

5.3.4 Teor de gordura

O teor de gordura das bebidas lácteas variou de 0,3 a 0,5%, com média de $0,35 \pm 0,09\%$, como apresentado na Figura 16. A análise de variância dos resultados demonstrou que esta diferença foi significativa estatisticamente ($p < 0,01$), como mostram os resultados do teste de Tukey na Tabela 14 e o Apêndice 3.

As diferentes formulações e os diferentes teores de gordura do leite desnatado e do soro líquido utilizados na elaboração dos tratamentos 1, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10 e 12, não foram suficientes para afetar o teor de gordura final destas bebidas lácteas, que foi de 0,3%.

O leite e o soro utilizados na elaboração dos tratamentos 2, 5 e 11 apresentaram teor de gordura mais elevado dos que os demais lotes, provocando um aumento no teor de matéria gorda do produto final, para 0,5%.

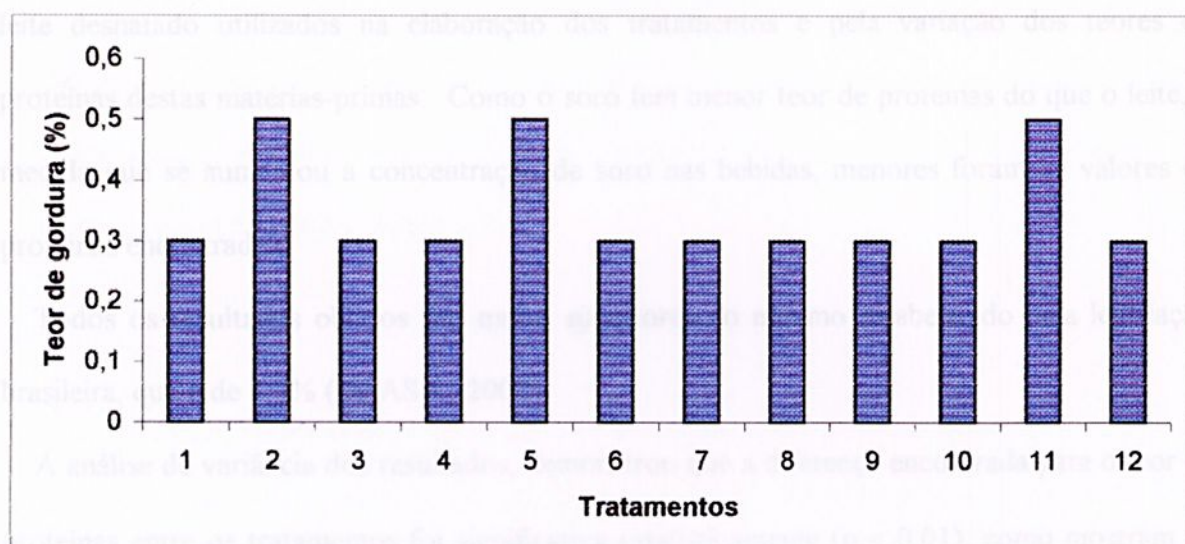


Figura 16 – Valores médios do teor de gordura das bebidas lácteas.

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2000), estabelece para as bebidas lácteas desnatadas um valor máximo de 0,5% de matéria gorda. Sendo assim, todos os tratamentos analisados atendem a este requisito.

Foi feita a regressão múltipla dos dados experimentais médios do teor de gordura para verificar a relação entre este parâmetro com as variáveis testadas. Os resultados da análise de variância para este modelo mostraram não ser significativa estatisticamente a regressão obtida ($R^2 = 0,6669$, $p = 0,4754$). Por isso, a equação não está sendo apresentada.

5.3.5 Teor de proteínas

A Tabela 14 e a Figura 17 mostram que o teor de proteínas das bebidas lácteas variou de 1,83 a 2,28%, com média de $2,07 \pm 0,13\%$, semelhante aos valores obtidos por Almeida et al. (2001) quando variaram as quantidades de soro adicionadas (30, 40 e 50%) na elaboração de bebidas lácteas fermentadas. Os teores encontrados foram de 1,94 a 2,14 %, com média de $2,04 \pm 0,08 \%$. Esta variação pode ser explicada pelas diferentes quantidades de soro e de



leite desnatado utilizados na elaboração dos tratamentos e pela variação dos teores de proteínas destas matérias-primas. Como o soro tem menor teor de proteínas do que o leite, à medida que se aumentou a concentração de soro nas bebidas, menores foram os valores de proteínas encontrados.

Todos os resultados obtidos são muito superiores ao mínimo estabelecido pela legislação brasileira, que é de 1,2% (BRASIL, 2000).

A análise de variância dos resultados, demonstrou que a diferença encontrada para o teor de proteínas entre os tratamentos foi significativa estatisticamente ($p < 0,01$), como mostram os resultados do teste de Tukey na Tabela 14 e o Apêndice 4.

Como não foram analisados os teores de proteínas do leite e do soro usados nas formulações das bebidas, para avaliar a variação do teor de proteínas do leite recebido dos diversos produtores que deram origem à bebida, foram coletadas 12 amostras de leite cru oriundo de diferentes regiões da comarca de Penápolis-SP, no período de 10/09/2003 a 12/09/2003, para serem submetidas à análise de proteínas. Os resultados encontrados variaram de 2,78 a 3,31%, com média de $3,02 \pm 0,14$ %.

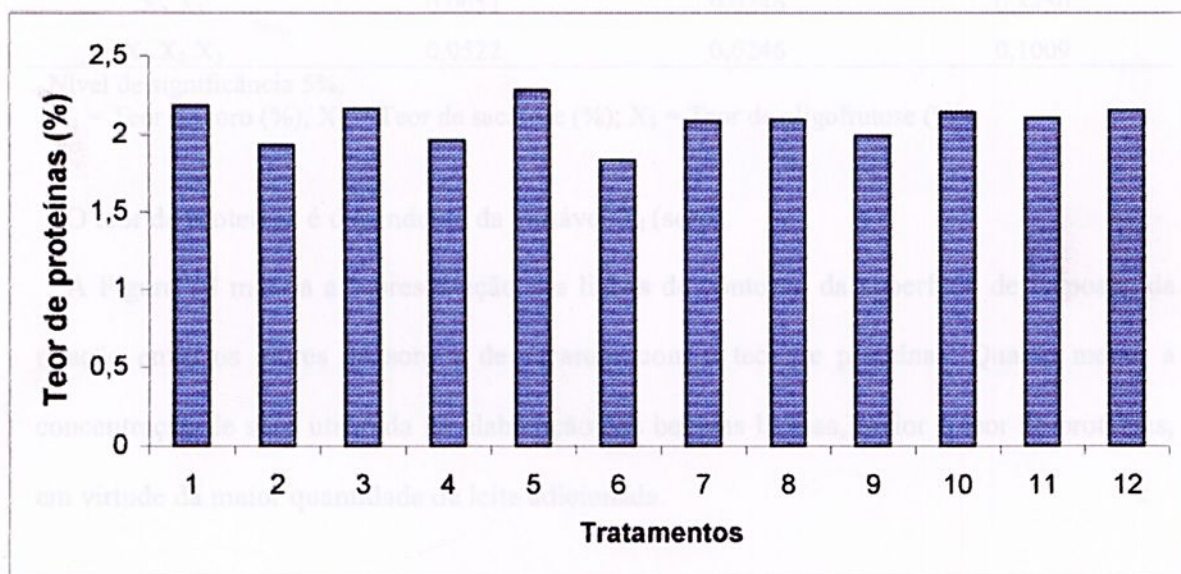


Figura 17 - Valores médios do teor de proteínas das bebidas lácteas.

A partir dos resultados médios dos tratamentos procedeu-se a regressão múltipla para a obtenção de uma equação polinomial completa, cujos coeficientes estão apresentados na Tabela 18. Eliminaram-se os coeficientes não significativos ($p > 0,05$), obtendo-se um modelo ajustado, como mostra a Equação 2.

$$\hat{Y}_2 = 2,07 - 0,11.X_1 \quad (\text{Equação 2})$$

A análise de variância do modelo polinomial teor de proteínas encontra-se na Tabela 19, mostrando que o coeficiente de determinação para o modelo foi de 88,87% e o erro padrão de 0,695.

Tabela 18 - Estimativa dos coeficientes do polinômio de segundo grau, ajustado para os dados experimentais do teor de proteínas, através da regressão múltipla.

Variáveis independentes	Coeficientes	Erro padrão	Nível de significância
Constante	2,0735	0,0201	0,0000
X_1	-0,1109	0,0246	0,0107
X_2	0,0088	0,0246	0,7391
X_3	0,0074	0,0246	0,7784
$X_1.X_2$	0,0641	0,0246	0,0595
$X_1.X_3$	0,0025	0,0246	0,9246
$X_2.X_3$	0,0051	0,0246	0,8450
$X_1.X_2.X_3$	0,0522	0,0246	0,1009

Nível de significância 5%.

X_1 = Teor de soro (%); X_2 = Teor de sacarose (%); X_3 = Teor de oligofrutose (%).

O teor de proteínas é dependente da variável X_1 (soro).

A Figura 18 mostra a representação das linhas de contorno da superfície de resposta, da relação entre os teores de soro e de sacarose com o teor de proteínas. Quanto menor a concentração de soro utilizada na elaboração das bebidas lácteas, maior o teor de proteínas, em virtude da maior quantidade de leite adicionada.

Tabela 19 – Análise de variância do polinômio de segundo grau, para os dados experimentais do teor de proteínas.

Causas de variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F	Nível de significância p
Teor de proteínas	7	0,1543	0,0220	4,5619	0,0800
Resíduo	4	0,0193	0,0048		
Total	11	0,1736			
Erro padrão					0,0695
Coefficiente de determinação (R²)					0,8887

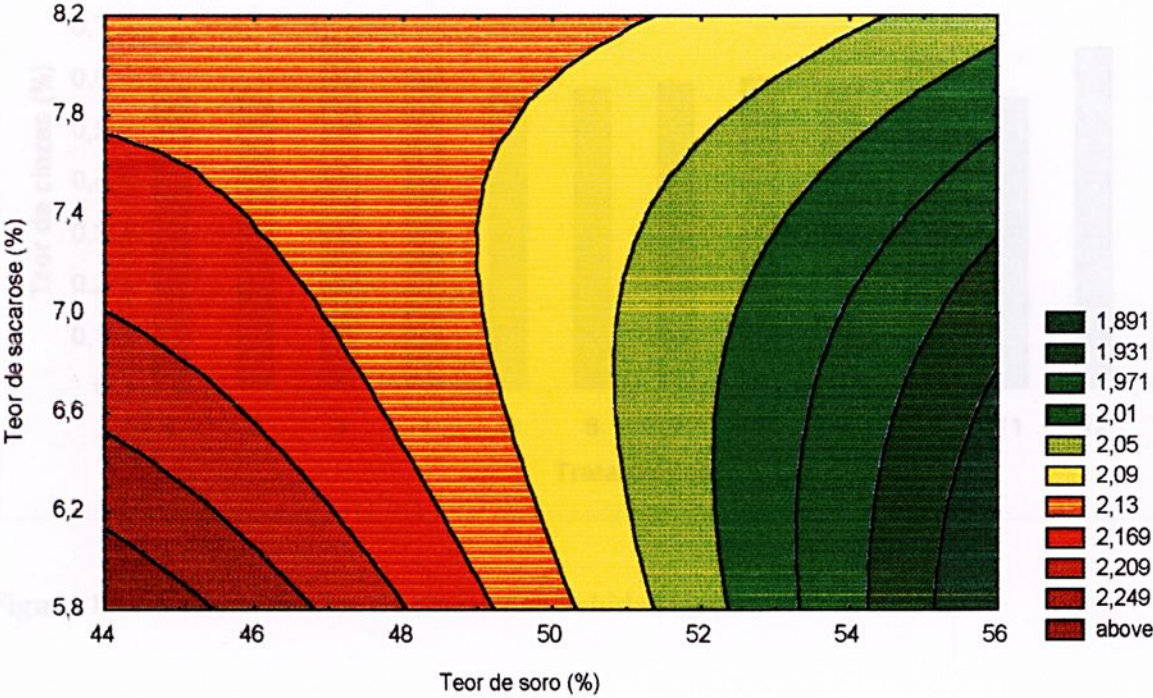


Figura 18 – Efeito dos teores de soro de queijo Minas Frescal e de sacarose sobre o teor de proteínas das bebidas lácteas.

5.3.6 Teor de cinzas

O teor de cinzas das bebidas lácteas variou de 0,56 a 0,68 %, com média de $0,60 \pm 0,04$ %, como apresentado na Figura 19. A análise de variância dos resultados demonstrou que a diferença encontrada entre os tratamentos foi significativa estatisticamente ($p < 0,01$), como mostram os resultados do teste de Tukey na Tabela 14 e o Apêndice 5.

Esta variação está diretamente relacionada com os teores de sais minerais do soro e do leite utilizados na elaboração das bebidas.

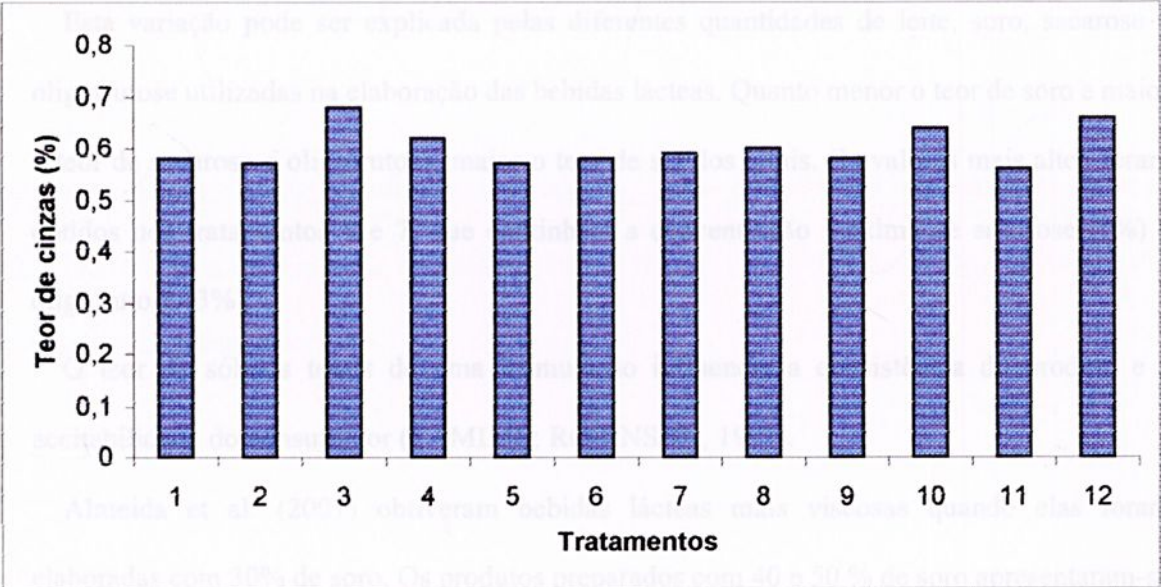


Figura 19 – Valores médios de cinzas das bebidas lácteas.

Foi feita a regressão múltipla dos dados experimentais médios do teor de cinzas para verificar a relação entre este parâmetro e as variáveis estudadas. Os resultados da análise de variância para o modelo teor de cinzas, mostraram não ser significativa estatisticamente ($R^2 = 0,5530$, $p = 0,6775$) a regressão obtida. Por isso, a equação não está sendo apresentada.

5.3.7 Sólidos Totais

Os teores de sólidos totais das bebidas lácteas variaram entre 14,37 e 17,75% como mostram a Tabela 14 e a Figura 20, semelhantes aos encontrados por outros autores. Penna (2000) obteve valores de sólidos totais entre 15,25 e 17,96 % para bebidas lácteas elaboradas com carragena; 15,03 e 18,58 % para as preparadas com goma-guar e 15,50 e 17,60 % para bebidas lácteas com goma xantana.

A análise de variância dos resultados demonstrou que a diferença encontrada para o teor de sólidos entre os tratamentos foi significativa estatisticamente ($p < 0,01$), como mostram os resultados do teste de Tukey na Tabela 14 e o Apêndice 6.

Esta variação pode ser explicada pelas diferentes quantidades de leite, soro, sacarose e oligofrutose utilizadas na elaboração das bebidas lácteas. Quanto menor o teor de soro e maior o teor de sacarose e oligofrutose, maior o teor de sólidos totais. Os valores mais altos foram obtidos nos tratamentos 8 e 7, que continham a concentração máxima de sacarose (8%) e oligofrutose (3%).

O teor de sólidos totais de uma formulação influencia a consistência do produto e a aceitabilidade do consumidor (TAMIME; ROBINSON, 1991).

Almeida et al. (2001) obtiveram bebidas lácteas mais viscosas quando elas foram elaboradas com 30% de soro. Os produtos preparados com 40 e 50 % de soro apresentaram-se menos viscosos.



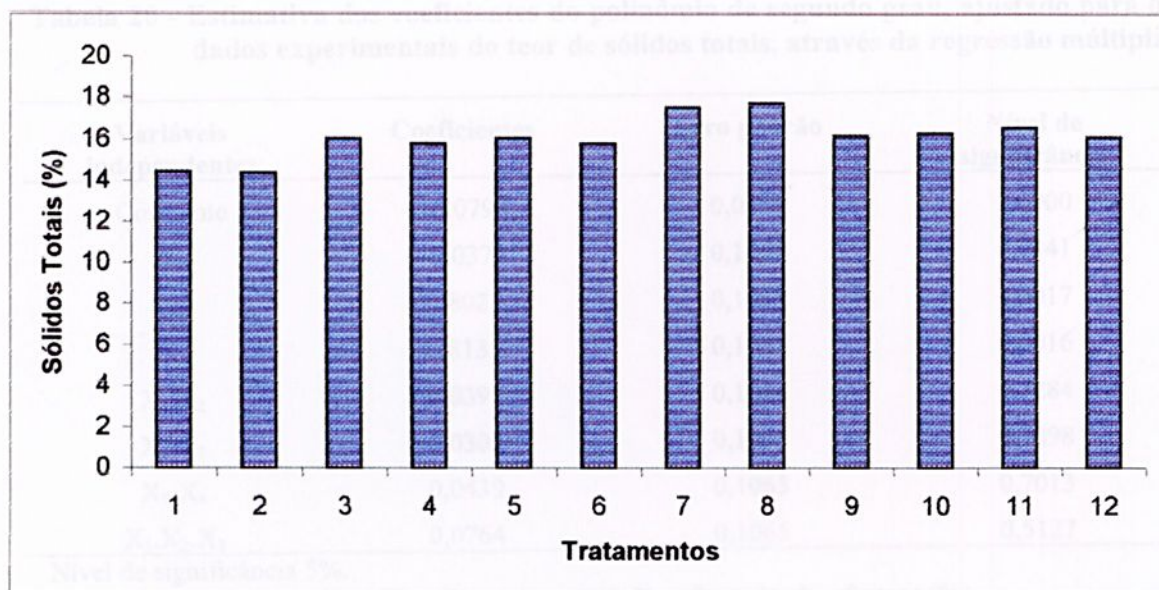


Figura 20 – Valores médios de sólidos totais das bebidas lácteas.

A partir dos resultados médios dos tratamentos procedeu-se a regressão múltipla para a obtenção de uma equação polinomial completa, cujos coeficientes aparecem na Tabela 20. Eliminaram-se os coeficientes não significativos ($p > 0,05$), obtendo-se um modelo ajustado, como mostra a Equação 3.

$$\hat{Y}_3 = 16,08 + 0,80.X_2 + 0,81.X_3 \text{ (Equação 3)}$$

A análise de variância do modelo polinomial teor de sólidos totais encontra-se na Tabela 21, mostrando que o coeficiente de determinação para o modelo foi de 96,67% e o erro padrão de 0,3011.

Tabela 20 - Estimativa dos coeficientes do polinômio de segundo grau, ajustado para os dados experimentais do teor de sólidos totais, através da regressão múltipla.

Variáveis independentes	Coeficientes	Erro padrão	Nível de significância
Constante	16,0793	0,0869	0,0000
X ₁	-0,0372	0,1065	0,7441
X ₂	0,8027	0,1065	0,0017
X ₃	0,8131	0,1065	0,0016
X ₁ .X ₂	0,0397	0,1065	0,7284
X ₁ .X ₃	0,0303	0,1065	0,7898
X ₂ .X ₃	0,0439	0,1065	0,7013
X ₁ .X ₂ .X ₃	0,0764	0,1065	0,5127

Nível de significância 5%.
X₁ = Teor de soro (%); X₂ = Teor de sacarose (%); X₃ = Teor de oligofrutose (%).

Tabela 21 – Análise de variância do polinômio de segundo grau, para os dados experimentais do teor de sólidos totais.

Causas de variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F	Nível de significância
					p
Sólidos totais	7	10,5368	1,5053	16,6018	0,0082
Resíduo	4	0,3627	0,0907		
Total	11	10,8995			
Erro padrão					0,3011
Coeficiente de determinação (R ²)					0,9667

O teor de sólidos é influenciado pelas variáveis X₂ (sacarose) e X₃ (oligofrutose).

A Figura 21 mostra a representação das linhas de contorno da superfície de resposta, da relação entre os teores de oligofrutose e de sacarose com o teor de sólidos totais. Quanto maior os teores de açúcar e oligofrutose, maior o teor de sólidos totais. A variação no teor de soro não foi significativa.

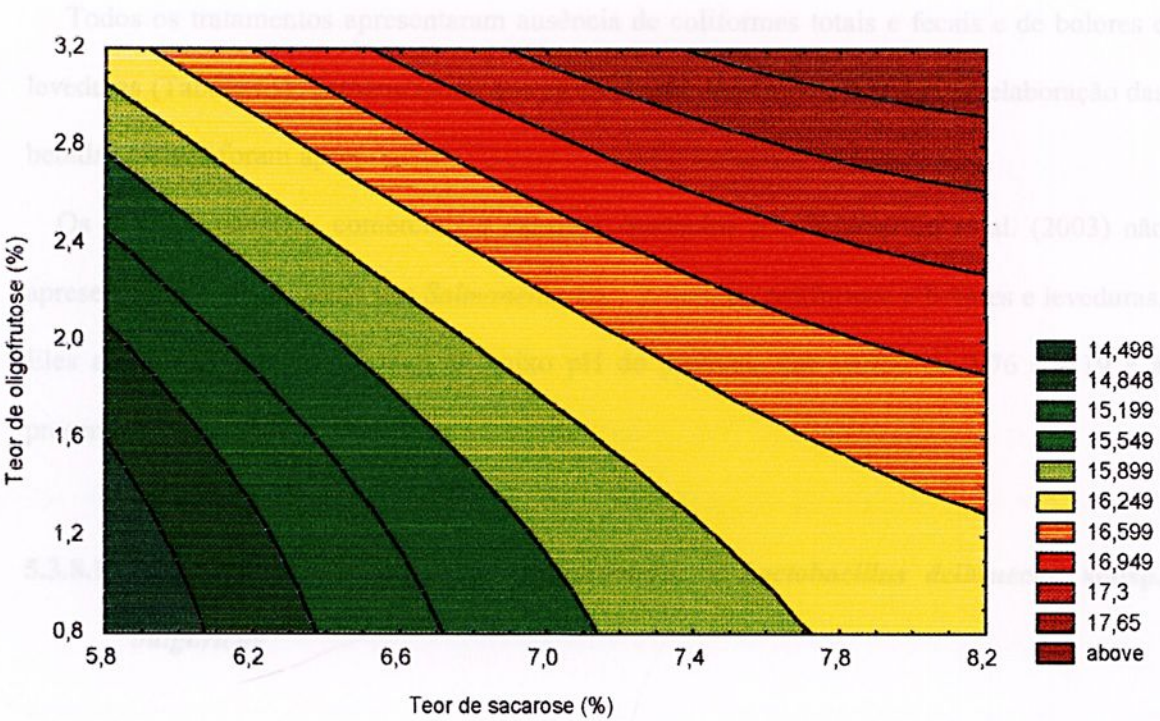


Figura 21 - Efeito dos teores de oligofrutose e sacarose sobre o teor de sólidos totais das bebidas lácteas.

5.3.8 Contagens microbiológicas

A existência de bactérias lácticas viáveis em leites fermentados, tais como iogurtes e bebidas lácteas tem efeito benéfico na saúde do hospedeiro. Entretanto, os efeitos só são possíveis se elas atingirem um número mínimo por mililitro do produto. França e Espanha exigem a presença mínima de $5,0 \times 10^8$ UFC/mL, Suíça e Itália estabeleceram 10^6 UFC/mL, Japão e Argentina 10^7 e Portugal 10^8 (SIVIERI, 2002). A legislação brasileira estabeleceu como 10^6 UFC/mL o número de bactérias lácticas viáveis em leites fermentados durante toda a validade do produto (BRASIL, 2001). Infelizmente, as legislações não diferenciam os diversos tipos de leites fermentados existentes.

Todos os tratamentos apresentaram ausência de coliformes totais e fecais e de bolores e leveduras (Tabela 15), demonstrando que as condições higiênico-sanitárias de elaboração das bebidas lácteas foram apropriadas.

Os iogurtes naturais, comerciais e caseiros, avaliados por Schabarum et al. (2003) não apresentaram contaminação por *Salmonella* spp., *S. aureus*, coliformes e bolores e leveduras. Eles atribuíram estes resultados ao baixo pH do produto, que variou de 3,76 a 4,19 e à presença de bactérias lácticas.

5.3.8.1 Contagens de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

As contagens de *Streptococcus thermophilus* variaram de $1,1 \times 10^9$ a $9,5 \times 10^{11}$ UFC/mL e as de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ficaram entre $2,6 \times 10^7$ e $6,9 \times 10^{10}$ UFC/mL, como mostra a Tabela 15.

Em todos os tratamentos houve predominância do *Streptococcus thermophilus* em relação aos demais microrganismos utilizados, possivelmente em virtude de sua maior população na cultura e de condições favoráveis ao seu desenvolvimento durante a produção da bebida.

A cultura láctea continha inicialmente: $3,9 \times 10^9$ UFC/mL de *S. thermophilus* e $1,8 \times 10^8$ UFC/mL de *L. bulgaricus*.

Menores contagens de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* no produto final diminuem a pós-acidificação do iogurte durante sua vida-de-prateleira. Isto é importante tanto para garantir ao produto final um sabor suave (PEREIRA, 2002), quanto para evitar os efeitos adversos do pH baixo sobre as bactérias probióticas (DAVE; SHAH, 1997). Atualmente a relação entre *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* em iogurtes e leites fermentados pode variar de 7:1 a 10:1 (PEREIRA, 2002).



Oliveira e Damin (2002) também obtiveram maiores contagens de *S. thermophilus* em relação a *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* e *L. rhamnosus* quando avaliaram a viabilidade destes microrganismos em leites fermentados com diferentes teores de sólidos e açúcar.

Dave e Shah (1997) estudaram a viabilidade de *S. thermophilus* e de *L. bulgaricus* em iogurtes produzidos com quatro tipos de culturas comerciais mistas e obtiveram contagens de $5,3 \times 10^8$ a $2,3 \times 10^9$ UFC/mL para *S. thermophilus* e $1,2$ a $3,0 \times 10^7$ UFC/mL para *L. bulgaricus*, no dia da fabricação dos iogurtes. Esta variação ocorreu possivelmente em virtude das diferenças entre as cepas e dos diferentes tempos de incubação necessários para alcançar o pH 4,5.

Através da análise de variância ficou demonstrado que as diferenças encontradas entre os tratamentos para as contagens dos dois microrganismos foram significativas estatisticamente ($p < 0,01$), como demonstrado através do teste de Tukey na Tabela 15 e nos Apêndices 7 e 8.

A partir dos resultados médios obtidos nas contagens de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*, procedeu-se à regressão múltipla para a obtenção de uma equação polinomial completa, na tentativa de relacionar os valores encontrados com as diferentes formulações da bebida láctea. No entanto, os resultados da análise de variância para os dois modelos mostraram não ser significativas estatisticamente as regressões obtidas ($R^2 = 0,5970$ e $p = 0,1312$, $R^2 = 0,4070$ e $p = 0,8677$, respectivamente). Por isso, as equações não estão sendo apresentadas.

Apesar de Oliveira e Damin (2002) observarem que altas concentrações de sacarose adicionadas ao leite antes da fermentação podem inibir as bactérias do iogurte, levando a longos tempos de fermentação e baixo desenvolvimento de acidez, devido aos efeitos osmóticos dos solutos no leite e à baixa atividade de água, o mesmo não ocorreu neste estudo.

Outros fatores, além da variação dos teores de soro, sacarose e oligofrutose provavelmente influenciaram os resultados encontrados. Entre eles, podemos citar o tratamento térmico do leite, algum componente presente no leite em uma determinada época do ano e a presença de

resíduo de antibiótico que não seja do grupo dos β -lactâmicos. O tempo de estocagem da cultura não influenciou os resultados, uma vez que as maiores contagens de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* foram obtidas nas bebidas fabricadas com a cultura que estava estocada a quatro e duas semanas, respectivamente.

Reis et al. (2002) avaliaram a qualidade de 20 bebidas lácteas de diferentes marcas comercializadas no município de Lavras – MG e verificaram que cerca de 60% das amostras analisadas apresentaram contagem total de bactérias lácticas viáveis abaixo do padrão mínimo exigido pela legislação, os outros 40% tiveram resultados entre $1,3 \times 10^7$ e $3,7 \times 10^{12}$ UFC/mL.

Neste estudo entretanto, as contagens de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* de todos os tratamentos estão acima do valor mínimo requerido pela legislação brasileira.

5.3.8.2 Contagens de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp.

A crescente demanda por alimentos com alegações funcionais no Brasil atraiu investimentos em pesquisas e tecnologias para o desenvolvimento de novos produtos. Os leites fermentados probióticos têm se destacado pois sua tecnologia está disponível e a indústria não requer grandes investimentos no mercado.

Uma vez que a viabilidade na hora do consumo é essencial para os benefícios advindos de produtos fermentados, a presença dos microrganismos deve ser passível de comprovação.

Nas avaliações das bebidas lácteas deste estudo, as contagens de *Lactobacillus acidophilus* variaram de $4,0 \times 10^7$ a $1,1 \times 10^{11}$ UFC/mL e as de *Bifidobacterium* spp. entre $1,4 \times 10^5$ e $5,2 \times 10^8$ UFC/mL, como apresentado na Tabela 15.

Para que um produto seja considerado probiótico e tenha efeito benéfico, o número mínimo de bactérias viáveis por mililitro deve ser 10^6 UFC durante todo o período de validade (SHAH, 2001). Logo, as contagens de *Lactobacillus acidophilus* de todos os tratamentos



atenderam a este requisito. Em relação à *Bifidobacterium* spp., com exceção dos tratamentos 3, 7 e 12 que apresentaram contagens de $2,2 \times 10^5$, $1,4 \times 10^5$ e $4,0 \times 10^5$ UFC/mL, respectivamente, todos os demais apresentaram valores dentro da faixa estabelecida.

Verificou-se, ainda, que houve predominância dos *Lactobacillus acidophilus* em relação às *Bifidobacterium* spp. em todos os tratamentos. A cultura láctea usada apresentou $1,7 \times 10^9$ UFC/mL para *L. acidophilus* e $9,9 \times 10^7$ UFC/mL para as bifidobactérias, demonstrando que esta predominância ocorreu desde o início da inoculação.

O baixo desenvolvimento das bifidobactérias pode ser devido ao fato de que estes microrganismos são muito exigentes no que diz respeito às condições necessárias para seu crescimento. Seu pH ótimo está na faixa de 6,5-7,0, mas não toleram pH $< 5,1$ e $> 8,0$ (ARUNACHALAM, 1999). Como as bebidas apresentaram pH médio de $4,63 \pm 0,01$, este pode ter sido um dos fatores de inibição.

Maiores populações de *Bifidobacterium* são observadas quando se utilizam culturas mistas deste microrganismo com *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* e *L. acidophilus* na fabricação de iogurtes. Contagens menores são observadas na ausência de *L. bulgaricus*. Devido a sua natureza proteolítica, o *L. bulgaricus* produz aminoácidos livres que possivelmente são usados como promotores do crescimento das *Bifidobacterium* (DAVE; SHAH, 1997). A atividade proteolítica das culturas tradicionais de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* são maiores do que as de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium*, como visto anteriormente, devido às necessidades das bactérias do iogurte serem maiores com relação a aminoácidos livres (SHIHATA; SHAH, 2000).

Outro fator importante é que as bifidobactérias necessitam de condições anaeróbicas para seu desenvolvimento. Durante a fabricação das bebidas lácteas em laboratório e a sua estocagem refrigerada dentro de garrafas de polietileno, esta condição pode não ter sido alcançada satisfatoriamente. Arunachalam (1999) verificou que a utilização de embalagens de



vidro no lugar das de polietileno e poliestireno é preferível, já que estas últimas não são barreiras ao oxigênio.

O uso de equipamentos de desaeração e de culturas de mistas com *S. thermophilus* na produção de iogurtes favorece o atendimento desta condição. O *S. thermophilus* tem uma maior habilidade em utilizar o oxigênio. Além disso, a seleção de espécies de *Bifidobacterium* tolerantes ao oxigênio pode ser também uma solução para minimizar o efeito adverso deste gás em bioprodutos fermentados contendo este microrganismo e *L. acidophilus* (ARUNACHALAM, 1999).

O crescimento das *Bifidobacterium* pode também ser estimulado pela presença de carboidratos complexos, conhecidos como oligossacarídeos. Certos oligossacarídeos são considerados prebióticos e são usados para maximizar o efeito dos produtos bífidos. Eles servem como fonte de carbono e energia e são referidos como fatores bifidogênicos (SHAH, 2001). Dentre eles, a oligofrutose tem sido amplamente utilizada como prebiótico.

Apesar da análise de variância dos resultados encontrados nas contagens de bifidobactérias mostrar que houve diferença significativa entre os tratamentos (resultados do teste de Tukey na Tabela 15 e o Apêndice 9), a análise de regressão múltipla para a obtenção de uma equação polinomial completa e os resultados da análise de variância para este modelo, mostraram não ser significativa estatisticamente a regressão obtida ($R^2 = 0,2786$ e $p = 0,3387$). Por isso, a equação não está sendo apresentada. Desta forma, não foi possível correlacionar os diferentes níveis de oligofrutose testados com os resultados obtidos. Diferentemente dos dados encontrados na literatura, não foi observado crescimento significativo das *Bifidobacterium* spp. com o aumento da oligofrutose.

Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Castro et al. (2002a), em que a adição de oligofrutose em níveis de 1 e 3% não alteraram de maneira significativa o desenvolvimento de bifidobactérias em iogurtes. Como nos dois estudos a oligofrutose foi adicionada ao leite



antes do tratamento térmico, seu efeito prebiótico pode ter sido prejudicado pelo tratamento térmico prolongado usado na elaboração das bebidas lácteas. Freitas e Jackix (2002), quando avaliaram a estabilidade da oligofrutose diante da pasteurização e armazenamento de suco misto de cenoura e laranja através da análise de cromatografia líquida, observaram uma perda da oligofrutose após a pasteurização do suco, variando de 42-64%. Este oligossacarídeo foi hidrolisado em frutose devido aos efeitos da pasteurização e do pH, sendo a estocagem um fator de menor significância.

As contagens de *L. acidophilus* foram superiores às obtidas por Martins et al. (2003), quando avaliaram uma bebida láctea probiótica elaborada com leite acidófilo. Os autores obtiveram contagem média de *L. acidophilus* no dia da fabricação e após sete dias de $4,0 \times 10^7$ UFC/mL e $1,5 \times 10^7$ UFC/mL, respectivamente.

No trabalho de Oliveira et al. (2001) verificou-se que a contagem dos *Lactobacillus acidophilus* e sua estabilidade em leites fermentados foram influenciadas pela composição da cultura e pelo tipo de suplementação do leite. Quando *Lactobacillus acidophilus* foram usados em conjunto com o *Streptococcus thermophilus*, menores contagens foram obtidas ($4,8 \times 10^7$ a $4,4 \times 10^8$ UFC/mL) do que quando utilizada cultura pura do primeiro microrganismo ($8,1 \times 10^8$ a $2,9 \times 10^9$ UFC/mL), provavelmente em virtude do mecanismo de competição nutricional. As contagens de *Lactobacillus acidophilus*, quando cultura pura, diminuíram em até um ciclo logarítimo dependendo do tipo de suplementação, sendo que as maiores reduções ocorreram quando o leite foi adicionado de caseína hidrolisada e proteínas do leite. A caseína hidrolisada estimulou fortemente a produção de ácido láctico.

Neste estudo, entretanto, observou-se que houve um ligeiro aumento no crescimento do *L. acidophilus* quando foram aumentados os teores de soro e oligofrutose e diminuído o de sacarose.



Outro fator importante a ser considerado é o meio de cultura utilizado para a contagem dos microrganismos probióticos. Ao estudar a viabilidade de *Lactobacillus* spp. em leites fermentados comercializados no Brasil na data limite de validade, Pinto et al. (2003) verificaram, utilizando o meio de cultura MRS, que uma das nove amostras analisadas não atingiu a contagem mínima prevista na legislação. Esta amostra continha $6,1 \times 10^4$ UFC/mL e as demais tiveram contagens variando de $1,1 \times 10^6$ a $3,7 \times 10^7$ UFC/mL. Com a utilização do meio de cultura LAMVAB quatro marcas estariam fora dos padrões estabelecidos.

Assim, fica claro também que é de extrema importância que os órgãos competentes indiquem meios de cultura específicos para que as indústrias se orientem favorecendo-as no controle e garantia de seus produtos.

Apesar da análise de variância dos resultados encontrados nas contagens de *Lactobacillus acidophilus* mostrar que houve diferença significativa entre os tratamentos (resultados do teste de Tukey na Tabela 15 e o Apêndice 10), a análise de regressão múltipla para a obtenção de uma equação polinomial completa e os resultados da análise de variância para este modelo, mostraram não ser significativa estatisticamente a regressão obtida ($R^2 = 0,4968$ e $p = 0,1913$). Por isso, a equação não está sendo apresentada. Provavelmente, outros fatores, além dos estudados influenciaram os resultados obtidos.



5.4 ANÁLISE SENSORIAL

Os resultados das avaliações sensoriais dos tratamentos, para os atributos aparência e cor, consistência, sabor e aroma e aceitabilidade geral estão mostrados na Tabela 22 e na Figura 22.

Tabela 22 – Atributos sensoriais das bebidas lácteas funcionais (médias).

Tratamentos	Aparência e cor	Consistência	Sabor e aroma	Aceitabilidade geral
1	3,74 ^{bcd}	3,68 ^{cde}	3,64 ^{cd}	3,68 ^{cde}
2	3,56 ^d	3,60 ^e	3,50 ^d	3,44 ^e
3	4,02 ^{bcd}	3,96 ^{bcde}	3,94 ^{bcd}	3,94 ^{bcde}
4	4,24 ^{ab}	4,16 ^{abc}	4,12 ^{abc}	4,10 ^{abcd}
5	4,10 ^{abc}	4,12 ^{abcd}	4,12 ^{abc}	4,08 ^{abcd}
6	3,88 ^{bcd}	3,90 ^{bcde}	3,86 ^{bcd}	3,86 ^{bcde}
7	4,18 ^{ab}	4,18 ^{abc}	4,16 ^{ab}	4,16 ^{abc}
8	4,58 ^a	4,60 ^a	4,56 ^a	4,56 ^a
9	4,24 ^{ab}	4,28 ^{ab}	4,28 ^{ab}	4,28 ^{ab}
10	3,66 ^{cd}	3,64 ^{de}	3,64 ^{cd}	3,62 ^{de}
11	4,54 ^a	4,56 ^a	4,52 ^a	4,48 ^a
12	3,60 ^{cd}	3,50 ^e	3,56 ^d	3,52 ^e

^{a, b, c, d, e} Médias em uma coluna com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p < 0,01).

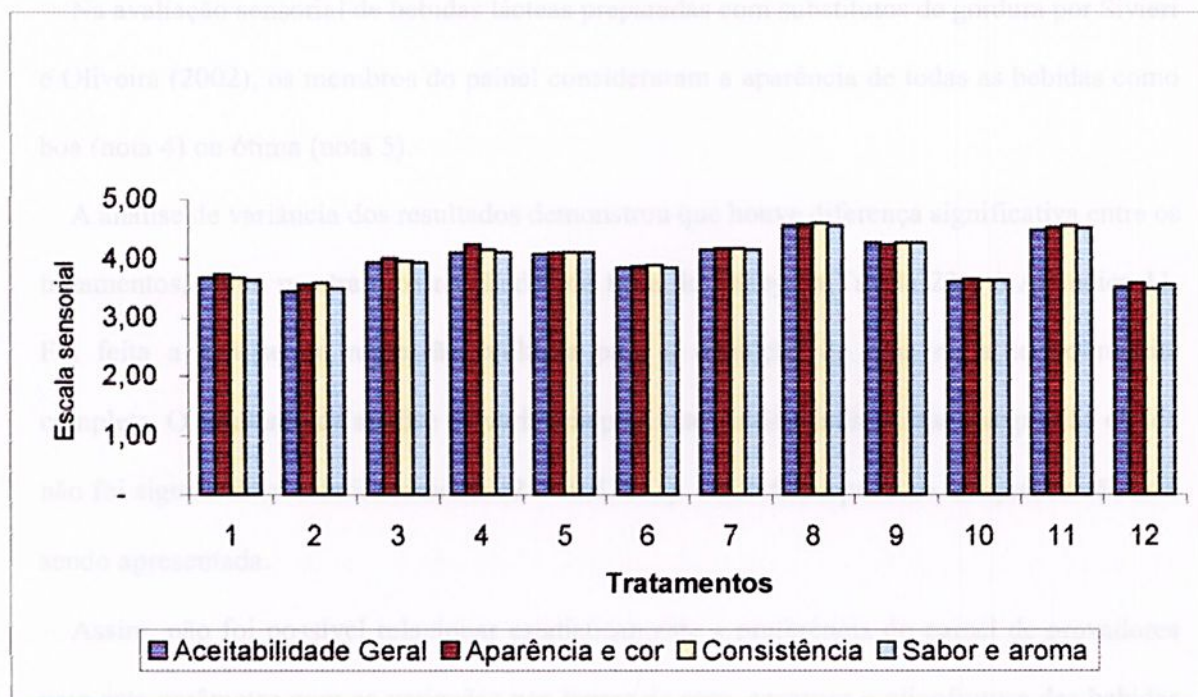


Figura 22 – Avaliação sensorial das bebidas lácteas funcionais.

5.4.1 Aparência e cor

A avaliação da aparência e da cor está baseada no aspecto visual do produto, como a presença ou não de soro na superfície, produção de gás (GUEDES NETO et al., 2003), cor característica, ausência de grumos e homogeneidade do produto (PINHEIRO, 2003).

Os resultados obtidos na análise da aparência e cor variaram de 3,56 a 4,58, isto é, de regular (nota 3) a bom (nota 4). A maior nota foi obtida pelo tratamento 8, cuja formulação continha 55% de soro, 8% de sacarose e 3% de oligofrutose, que por sua vez não diferiu estatisticamente ($p > 0,01$) dos tratamentos 4, 5, 7, 9 e 11, como apresentado na Tabela 22.

Todas as bebidas apresentaram aspecto homogêneo, sem a presença de grumos, gás, soro na superfície e cor característica de produto natural (branca).

Na avaliação sensorial de bebidas lácteas preparadas com substitutos de gordura por Sivieri e Oliveira (2002), os membros do painel consideraram a aparência de todas as bebidas como boa (nota 4) ou ótima (nota 5).

A análise de variância dos resultados demonstrou que houve diferença significativa entre os tratamentos, como mostram os resultados do teste de Tukey da Tabela 22 e o Apêndice 11. Foi feita a análise de regressão múltipla para a obtenção de uma equação polinomial completa. O resultado da análise de variância para este modelo indicou que a regressão obtida não foi significativa estatisticamente ($R^2 = 0,5281$, $p = 0,7163$) e por isso, a equação não está sendo apresentada.

Assim, não foi possível relacionar estatisticamente a preferência do painel de provadores para este parâmetro com as variações nos teores de soro, sacarose e oligofrutose das bebidas lácteas.

5.4.2 Consistência

Na avaliação da consistência, deve se levar em conta o corpo do produto quando consumido. Coágulo com grumos, corpo fraco e problemas com a viscosidade são defeitos que podem levar à rejeição por parte dos consumidores (GUEDES NETO et al., 2003). A granulação pode ser causada pelo baixo desenvolvimento de acidez (PINHEIRO, 2003) e por problemas com a dissolução dos sólidos que farão parte da composição da bebida. A baixa viscosidade pode ser causada pela menor concentração de sólidos totais, tratamento térmico e homogeneização insuficientes, agitação incorreta, destruição do gel durante a acidificação, tipo de fermento e temperatura de incubação muito baixa (GUEDES NETO et al., 2003).



Todas as bebidas apresentavam-se cremosas, encorpadas e sem grumos. As notas obtidas nas análises de consistência dos tratamentos variaram de 3,50 (regular) a 4,60 (boa) e o tratamento 8 foi o que obteve a maior avaliação pelos provadores.

Isso demonstra a preferência do consumidor por produtos mais encorpados, já que esta bebida apresentou a maior média de sólidos totais ($17,74 \pm 0,09\%$). Entretanto, ele não diferiu estatisticamente ($p > 0,01$) dos tratamentos 4, 5, 7, 9 e 11, como apresentado na Tabela 22.

A preocupação com a textura de produtos com baixo teor de gordura é uma realidade. A solução pode estar ligada à escolha de uma cultura láctea composta por bactérias que produzam substâncias que melhorem a viscosidade e a cremosidade do produto final e também à utilização de sólidos de origem láctea, como os concentrados protéicos e/ou misturas de hidrocolóides (FIORAVANTE, 2001).

Nas avaliações de bebidas lácteas elaboradas com os substitutos de gordura litesse e dairy-lo, os julgadores consideraram os produtos como razoáveis (nota 3) e bons (nota 4) em relação a sua consistência. O uso destes ingredientes torna possível a redução da gordura, com a manutenção da textura e do sabor dos produtos similares com teor de gordura normal (SIVIERI; OLIVEIRA, 2002).

A análise de variância dos resultados demonstrou que houve diferença significativa entre os tratamentos, como mostram os resultados do teste de Tukey da Tabela 22 e o Apêndice 12. A partir destes resultados procedeu-se à regressão múltipla para a obtenção de uma equação polinomial completa. O resultado da análise de variância para este modelo, entretanto, mostrou não ser significativa estatisticamente a regressão obtida ($R^2 = 0,4754$, $p = 0,7899$). Por isso, a equação não está sendo apresentada. Assim, não foi possível relacionar estatisticamente a consistência avaliada pelo painel de provadores com as variações nos teores de soro, sacarose e oligofrutose das bebidas lácteas.

5.4.3 Sabor e aroma

O sabor dos produtos fermentados deve ser ligeiramente ácido e o maior componente do aroma deve ser o acetaldeído. Portanto, o sabor e o aroma dependem inteiramente dos microrganismos da cultura e de seu metabolismo durante a fermentação. Sabores e odores estranhos são geralmente causados por subprodutos da fermentação inadequada. Dentre eles pode-se citar o sabor amargo, de levedura, de malte, insípido e excessivamente ácido. Problemas relacionados com a qualidade do leite podem conferir um sabor rançoso ao produto, o uso incorreto de aromas confere um sabor excessivamente artificial e o uso demasiado de açúcar pode ocasionar um sabor muito doce (GUEDES NETO et al., 2003).

O crescimento excessivo de *Bifidobacterium* pode conferir ao produto gosto e aroma de vinagre, causando sua rejeição por parte dos consumidores (ARUNACHALAM, 1999). Não foi detectado pelos provadores deste estudo aroma relativo ao ácido acético produzido pelas *Bifidobacterium* spp. As análises microbiológicas das bebidas também comprovaram que este desequilíbrio não ocorreu no desenvolvimento destas bactérias.

Os resultados obtidos nas avaliações do sabor e aroma dos tratamentos variaram de 3,50 (regular) a 4,56 (bom), sendo a bebida láctea elaborada conforme o tratamento 8 a de maior nota (4,56), como mostra a Tabela 22. Isto demonstra a preferência do consumidor por produtos mais suaves no que diz respeito à acidez e com maior dulçor. Este produto apresentou acidez média de 52°D e foi elaborado com 8% de sacarose.

Uma recente pesquisa verificou que o morango é o sabor preferido dos brasileiros e que produtos mais adocicados são mais atrativos para os consumidores de menor poder aquisitivo e do Nordeste, ao contrário dos compradores do Sul e Sudeste (BORGES, 2003).

Pinheiro et al. (2002) avaliaram sensorialmente iogurtes probióticos preparados com 5% de açúcar e edulcorantes e demonstraram que apesar do produto elaborado com açúcar ter obtido



as maiores notas, o uso de edulcorantes não afetou negativamente a qualidade sensorial dos produtos.

A análise de variância dos resultados demonstrou que houve diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,01$), como mostram os resultados do teste de Tukey na Tabela 22 e o Apêndice 13. Foi feita a regressão múltipla dos resultados para a obtenção de uma equação polinomial completa. O resultado da análise de variância para este modelo, entretanto, mostrou não ser significativa estatisticamente a regressão obtida ($R^2 = 0,5337$, $p = 0,7077$). Por isso, a equação não está sendo apresentada.

Não foi possível relacionar estatisticamente a preferência do painel de provadores com as variações nos teores de soro, sacarose e oligofrutose das bebidas lácteas.

5.4.4 Aceitabilidade geral

A aceitabilidade geral é traduzida pelo conjunto, relativo à primeira impressão causada pelo produto como um todo.

Os valores obtidos para este atributo ficaram entre 3,44 (regular) e 4,56 (boa). A maior nota foi obtida pela bebida láctea elaborada conforme o tratamento 8, que por sua vez não diferiu estatisticamente ($p > 0,01$) dos tratamentos 4, 5, 7, 9 e 11, como apresentado na Tabela 22.

A análise de variância dos resultados mostrou que houve diferença significativa entre os tratamentos, como mostram os resultados do teste de Tukey na Tabela 22 e o Apêndice 14.

A partir destes resultados procedeu-se a regressão múltipla para a obtenção de uma equação polinomial completa. O resultado da análise de variância para este modelo, entretanto, mostrou não ser significativa estatisticamente a regressão obtida ($R^2 = 0,5372$, $p = 0,7023$). Por isso, a equação não está sendo apresentada.



Não foi possível relacionar estatisticamente a preferência do painel de provadores com as variações nos teores de soro, sacarose e oligofructose nas bebidas lácteas. É importante frisar que os provadores não tiveram preferência por um determinado teor de soro, isto é, gostaram das bebidas independentemente da concentração de soro utilizada.

5.5 CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DAS BEBIDAS LÁCTEAS

A reologia é o estudo do comportamento das substâncias quando submetidas a esforços mecânicos sob diversas condições externas. Esta ciência ganhou significativo espaço nos últimos anos tanto no desenvolvimento de novos produtos, como no controle de qualidade. Através dela é possível conhecer ainda durante a fase de desenvolvimento as características dos produtos, do processo de fabricação até a sua utilização pelo consumidor.

Os parâmetros reológicos das bebidas lácteas obtidos pelo modelo da Lei da Potência a partir da regressão não linear dos dados de taxa de deformação e tensão de cisalhamento, estão apresentados na Tabela 23. As Figuras de 23 a 34 apresentam os reogramas com o comportamento das bebidas lácteas.

Tratamento	K	n	K	n	K	R ²
n° amostra	(Pa.s)		(Pa.s)			
1	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
2	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
3	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
4	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
5	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
6	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
7	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
8	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
9	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
10	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
11	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
12	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
13	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
14	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
15	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
16	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
17	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
18	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
19	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
20	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
21	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
22	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
23	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
24	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
25	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
26	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
27	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
28	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
29	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
30	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
31	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
32	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
33	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	
34	1,2111 ^a	0,405 ^a	0,982 ^a	0,399 ^a	0,9967	

Médias e n° em uma coluna com diferentes subscritos diferem significativamente ($p < 0,01$).

K= Índice de consistência; n= Índice de comportamento de fluxo; R²= Coeficiente de determinação

Tabela 23 – Parâmetros reológicos das bebidas lácteas do bloco 2, obtidos pelo Modelo da Lei da Potência ($\tau = K \gamma^n$).

Tratamentos/ nº amostra	Curva ascendente			Curva descendente		
	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²
✓ 1/1	1,1845 ^c	0,4128 ^c	0,9681	0,0583 ^c	0,8003 ^{ab}	0,9967
✓ 1/2	1,2321 ^c	0,4087 ^c	0,9662	0,0538 ^c	0,8090 ^{ab}	0,9962
2/1	0,6878 ^{ef}	0,4692 ^b	0,9820	0,0993 ^{cde}	0,7311 ^{bc}	0,9957
2/2	0,5893 ^{ef}	0,4927 ^b	0,9789	0,0706 ^{cde}	0,7785 ^{bc}	0,9967
3/1	1,9005 ^a	0,3562 ^d	0,9424	0,0448 ^c	0,8389 ^a	0,9973
3/2	1,8617 ^a	0,3576 ^d	0,9487	0,0427 ^c	0,8363 ^a	0,9979
4/1	0,3525 ^f	0,5761 ^a	0,9876	0,1157 ^b	0,7121 ^c	0,9925
4/2	0,3708 ^f	0,5682 ^a	0,9758	0,1445 ^b	0,7050 ^c	0,9720
5/1	0,7609 ^{def}	0,4665 ^b	0,9863	0,0834 ^{de}	0,7598 ^{abc}	0,9979
5/2	0,6430 ^{def}	0,4883 ^b	0,9890	0,0776 ^{de}	0,7702 ^{abc}	0,9967
6/1	0,6585 ^{ef}	0,4814 ^b	0,9670	0,0392 ^c	0,8403 ^{ab}	0,9981
6/2	0,6061 ^{ef}	0,4933 ^b	0,9857	0,0545 ^c	0,8012 ^{ab}	0,9966
7/1	0,7077 ^{def}	0,4801 ^b	0,9940	0,0595 ^c	0,7952 ^{ab}	0,9981
7/2	0,7101 ^{def}	0,4806 ^b	0,9916	0,0409 ^c	0,8525 ^{ab}	0,9980
✓ 8/1	1,5820 ^{bc}	0,3851 ^{cd}	0,9338	0,2758 ^a	0,6103 ^d	0,9905
✓ 8/2	1,1613 ^{bc}	0,4271 ^{cd}	0,9349	0,2678 ^a	0,6141 ^d	0,9914
9/1	1,6724 ^{ab}	0,3707 ^d	0,9637	0,0885 ^{cde}	0,7539 ^{bc}	0,9945
9/2	1,9808 ^{ab}	0,3465 ^d	0,9788	0,0799 ^{cde}	0,7640 ^{bc}	0,9942
10/1	1,2665 ^{cd}	0,4143 ^c	0,9490	0,0501 ^c	0,8280 ^{ab}	0,9979
10/2	1,0315 ^{cd}	0,4362 ^c	0,9697	0,0596 ^c	0,7915 ^{ab}	0,9970
11/1	1,0010 ^{cde}	0,4408 ^{bc}	0,9697	0,1261 ^{bcd}	0,7026 ^c	0,9930
11/2	0,9744 ^{cde}	0,4420 ^{bc}	0,9822	0,1108 ^{bcd}	0,7192 ^c	0,9899
✓ 12/1	1,1045 ^{cde}	0,4251 ^c	0,9823	0,1334 ^{bc}	0,6905 ^c	0,9949
✓ 12/2	1,1111 ^{cde}	0,4247 ^c	0,9816	0,1218 ^{bc}	0,7077 ^c	0,9931

a, b, c, d, e, f Médias em uma coluna com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p < 0,01).
K= Índice de consistência; n= Índice de comportamento de fluxo; R²= Coeficiente de determinação.

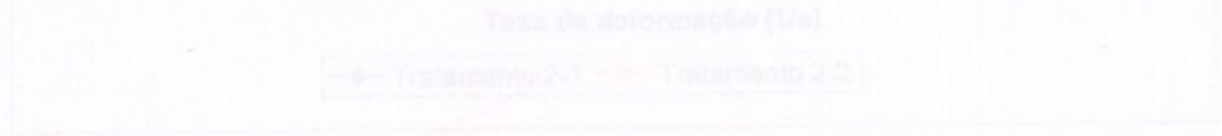


Figura 24 – Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 2.

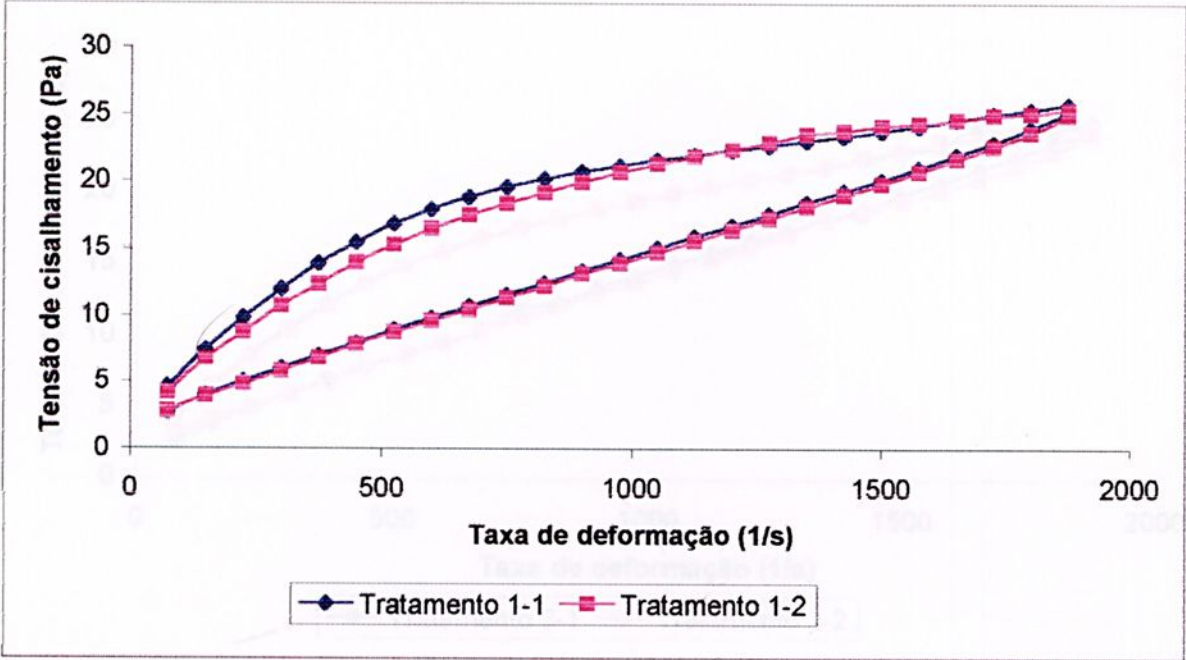


Figura 23 – Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 1.

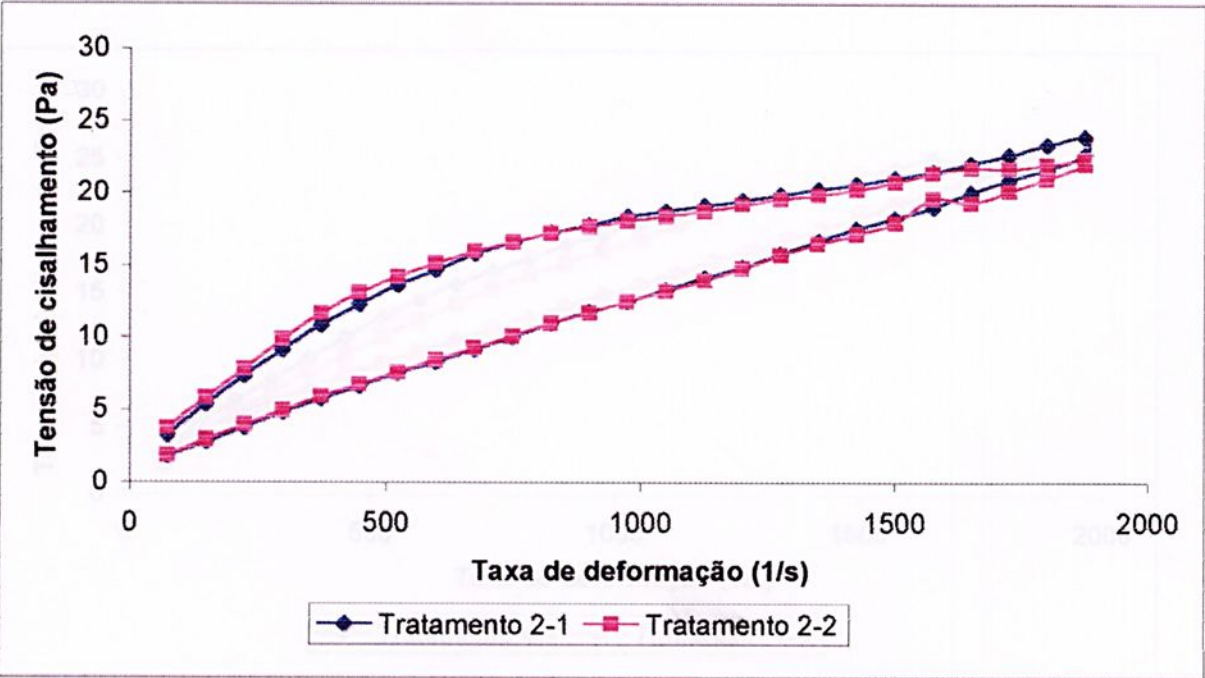


Figura 24 – Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 2.

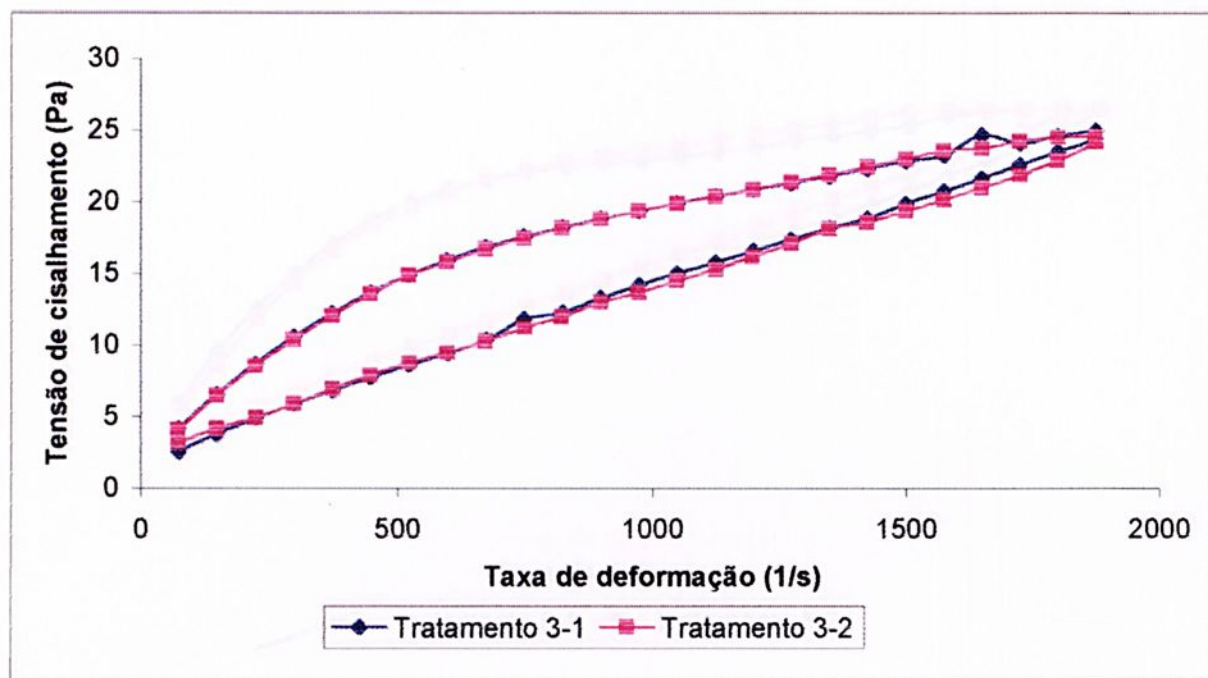


Figura 25 – Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 3.

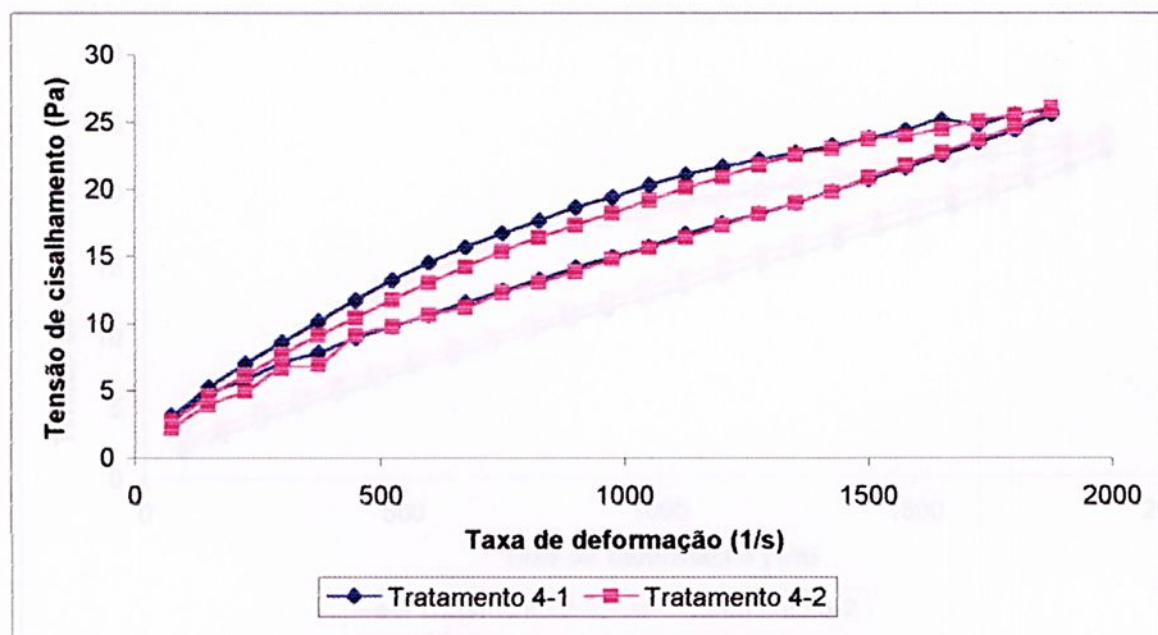


Figura 26 – Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 4.

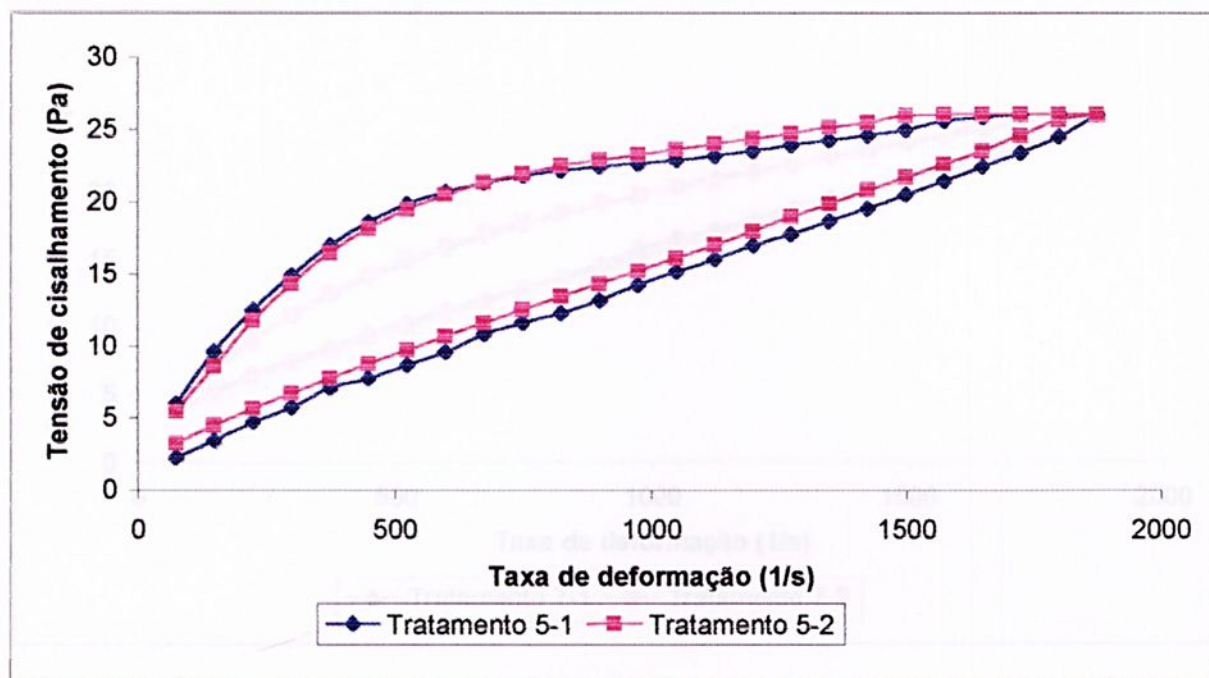


Figura 27 – Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 5.

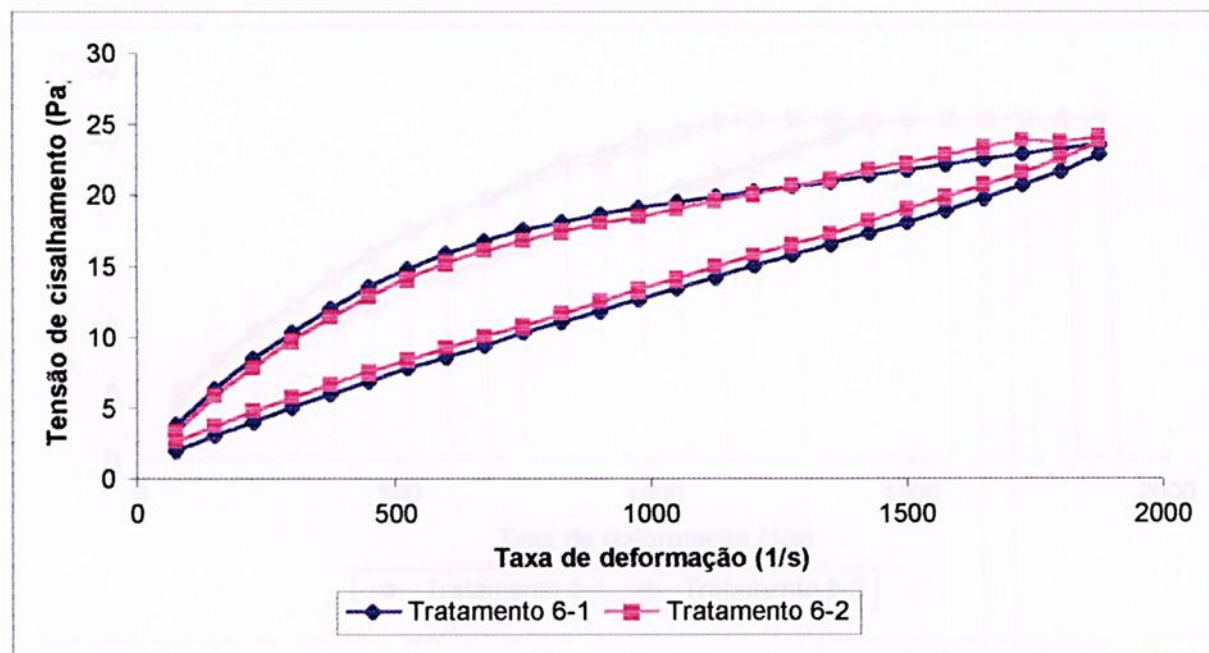


Figura 28 – Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 6.

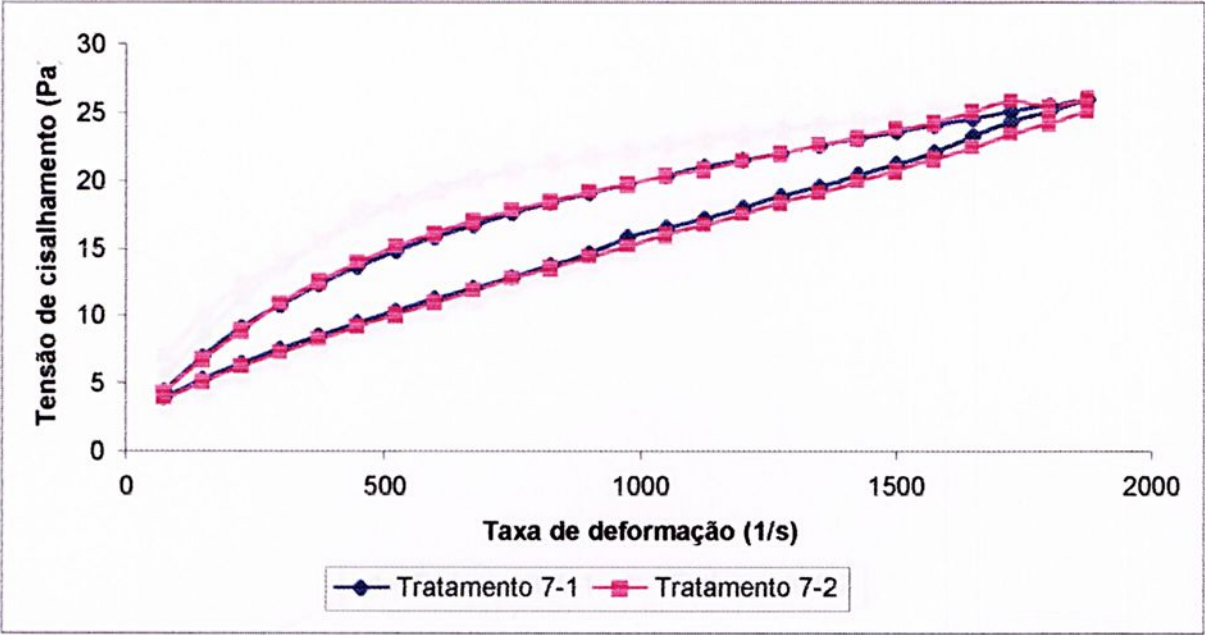


Figura 29 – Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 7.

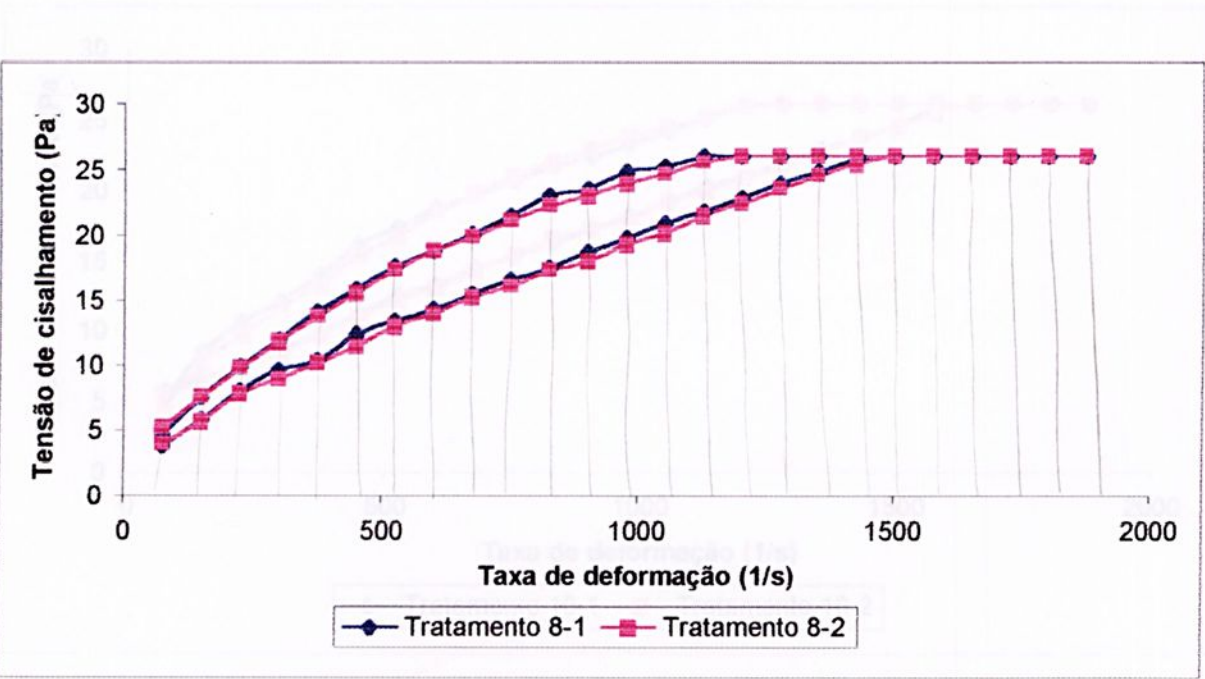


Figura 30 – Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 8.

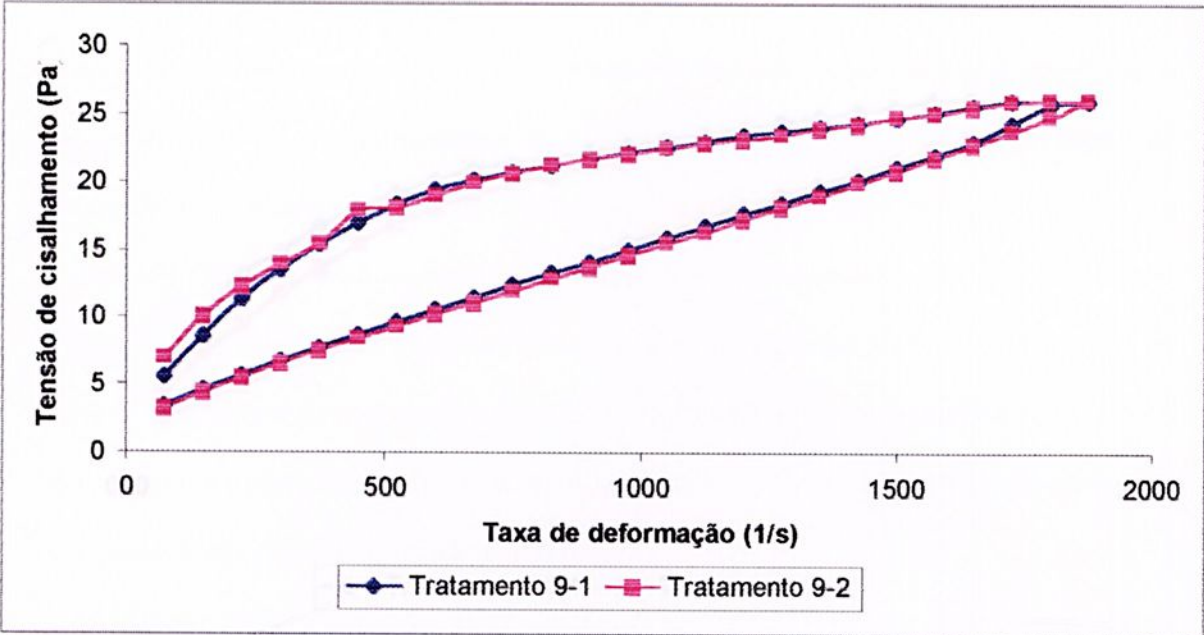


Figura 31 – Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 9.

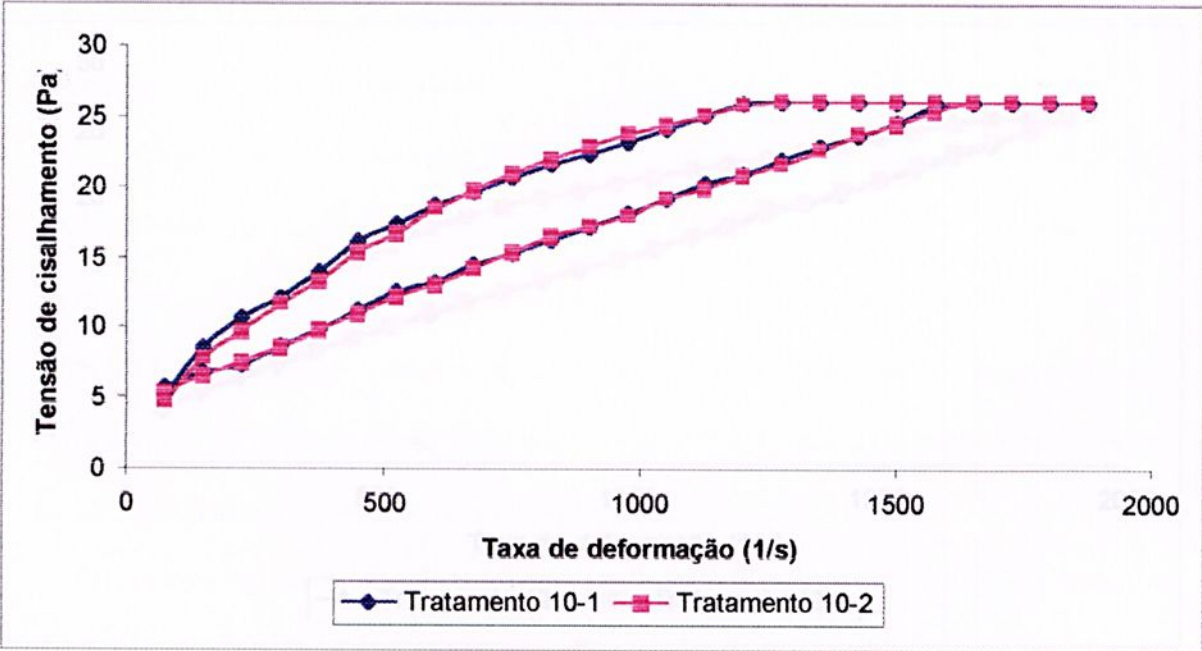


Figura 32 – Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 10.

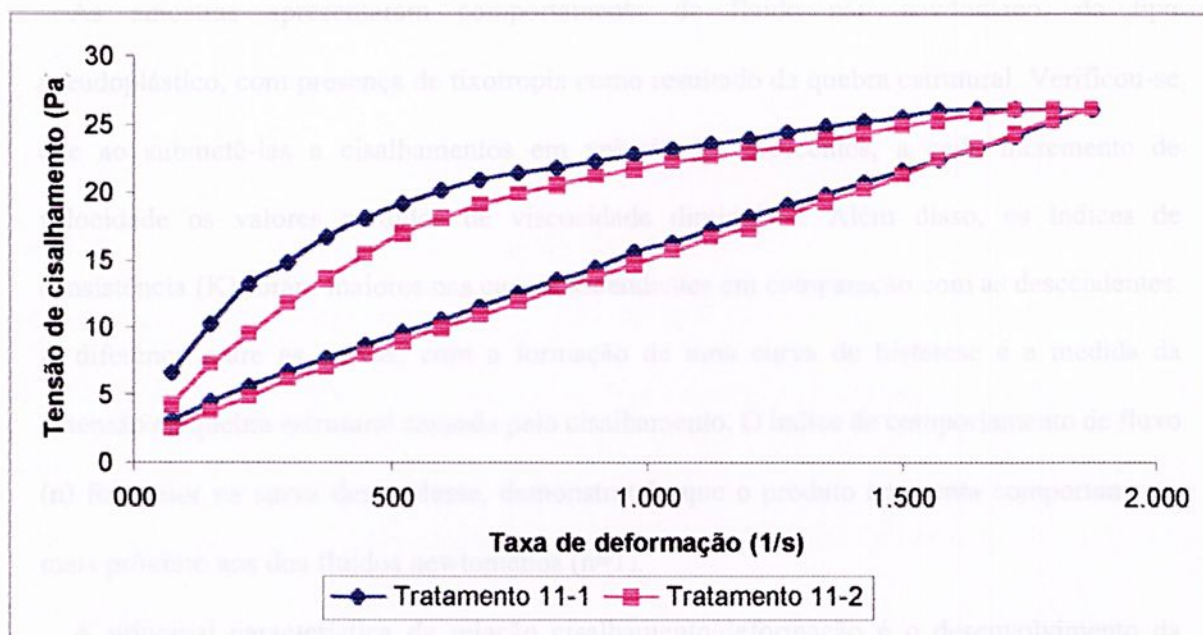


Figura 33 – Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 11.

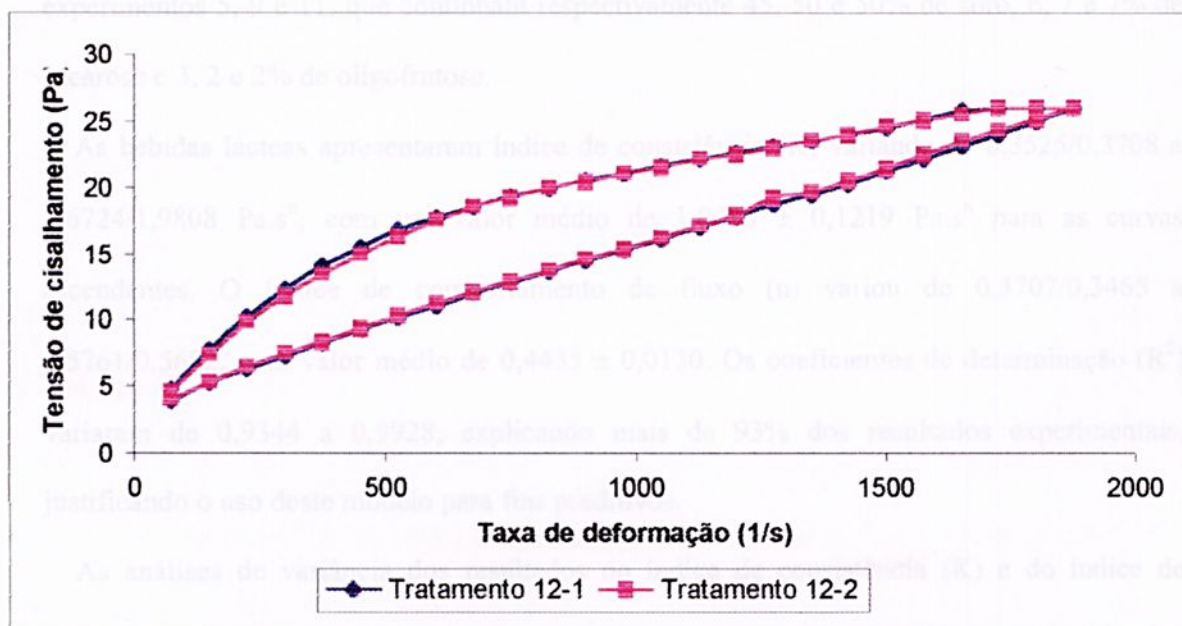


Figura 34 – Reograma das bebidas lácteas produzidas conforme o tratamento 12.

As amostras apresentaram comportamento de fluido não newtoniano, do tipo pseudoplástico, com presença de tixotropia como resultado da quebra estrutural. Verificou-se que ao submetê-las a cisalhamentos em velocidades crescentes, a cada incremento de velocidade os valores medidos de viscosidade diminuíam. Além disso, os índices de consistência (K) foram maiores nas curvas ascendentes em comparação com as descendentes. A diferença entre as curvas, com a formação de uma curva de histerese é a medida da extensão de quebra estrutural causada pelo cisalhamento. O índice de comportamento de fluxo (n) foi maior na curva descendente, demonstrando que o produto apresenta comportamento mais próximo aos dos fluidos newtonianos ($n=1$).

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 (HOLDSWORTH, 1971).

O tixotropismo pode ser atribuído à presença de ligações de hidrogênio presentes entre as micelas coloidais e que rompidas pela agitação, voltam a se formar no sistema em repouso (BOBBIO; BOBBIO, 1992). O maior efeito tixotrópico foi observado nas bebidas lácteas dos experimentos 5, 9 e 11, que continham respectivamente 45, 50 e 50% de soro, 6, 7 e 7% de sacarose e 3, 2 e 2% de oligofrutose.

As bebidas lácteas apresentaram índice de consistência (K) variando de 0,3525/0,3708 a 1,6724/1,9808 Pa.s^n , com um valor médio de $1,0480 \pm 0,1219 \text{ Pa.s}^n$ para as curvas ascendentes. O índice de comportamento de fluxo (n) variou de 0,3707/0,3465 a 0,5761/0,5682, com valor médio de $0,4435 \pm 0,0130$. Os coeficientes de determinação (R^2) variaram de 0,9344 a 0,9928, explicando mais de 93% dos resultados experimentais, justificando o uso deste modelo para fins preditivos.

As análises de variância dos resultados do índice de consistência (K) e do índice de comportamento de fluxo (n) ascendentes demonstraram que houve diferença significativa



entre os tratamentos, conforme mostram os resultados do teste de Tukey na Tabela 23 e os Apêndices 15 e 16.

A partir destes resultados procedeu-se a regressão múltipla destes dois parâmetros para a obtenção de uma equação polinomial completa, na tentativa de relacionar estatisticamente o índice de consistência (K) e o índice de comportamento de fluxo (n) (curvas ascendentes) com as variações nos teores de soro, sacarose e oligofrutose. Entretanto, as regressões obtidas apresentaram coeficientes de determinação $R^2 = 0,1934$ para o índice de consistência e $R^2 = 0,3144$ para o índice de comportamento de fluxo, e por isso, as equações não estão sendo apresentadas.

As bebidas que apresentaram os maiores índices de consistência (K) foram as elaboradas conforme os tratamentos 3 e 9, apesar dos produtos elaborados conforme os tratamentos 8 e 7 apresentarem os maiores teores de sólidos totais, 17,74 e 17,53%, respectivamente. Conseqüentemente, mostraram também os menores índices de comportamento de fluxo (n).

Isto demonstra que outros fatores, além da variação da formulação, tiveram influência sobre estes parâmetros, entre eles o tratamento térmico, a atividade da cultura, a temperatura de incubação, o tempo de fermentação, a produção de ácido, a quebra do gel, a temperatura de estocagem e o manuseio.

Hess et al. (1997) verificaram que a concentração da cultura, o estabilizante e o extrato seco desengordurado têm efeito significativo no índice de consistência na região de baixa taxa de deformação.

Oliveira et al. (2001) verificaram que o conteúdo de proteína e o tipo de proteína do leite tiveram um marcante efeito sobre a viscoelasticidade de leites fermentados probióticos. A viscosidade foi muito menor para os leites fermentados suplementados com soro em pó (7,4 a 25,4 Pa.s) quando comparada com os valores obtidos com os produtos suplementados com

caseína hidrolisada (47,0 a 94,5 Pa.s) e proteínas do leite (65,9 a 120,0 Pa.s). Estes valores foram obtidos usando uma tensão de cisalhamento de 0,14 Pa e frequência oscilatória de 1Hz.

Diferenças no comportamento reológico podem ser atribuídas a fenômenos estruturais. Estudos da microestrutura mostram que polissacarídeos produzidos pelas culturas lácteas se ligam através de filamentos à matriz de caseína (SCHELLHAASS; MORRIS, 1985).

Rohm e Kovac (1994) sugerem que estes filamentos reforçam o comportamento viscoso dos iogurtes com culturas filantes através de ligações entre polissacarídeos e proteínas que relaxam em tempos mais curtos dos que as ligações proteína-proteína de iogurtes não filantes. Entretanto, o excesso de carboidratos pode interferir no desenvolvimento da estrutura pela prevenção parcial da formação de interações proteína-proteína, reduzindo então a firmeza do produto final (RAWSON; MARSHALL, 1997). Isto sugere que a rede protéica é mais importante para a estrutura do que os polissacarídeos.

As características reológicas também são afetadas pelas condições de fermentação. Aumentando a temperatura de fermentação (de 37 a 46°C) há um progressivo aumento na taxa de redução do pH e formação da estrutura, na firmeza do gel e viscosidade do iogurte batido. O aumento na taxa de fermentação é atribuído ao aumento da atividade metabólica das bactérias lácticas. A formação do gel e a acentuada reologia do iogurte são atribuídas ao progressivo aumento na extensão e força das ligações hidrofílicas quando a temperatura de fermentação é alcançada (HAQUE et al., 2001).

Para as curvas descendentes, os valores de índices de consistência (K) encontrados foram 0,0392/0,0545 a 0,2758/0,2678 Pa.sⁿ, com valor médio de $0,0958 \pm 0,0110$ Pa.sⁿ. Os índices de comportamento de fluxo (n) variaram de 0,6103/0,6141 a 0,7952/0,8525, com valor médio de $0,7588 \pm 0,0197$. Os valores dos coeficientes de determinação (R²) demonstraram que o modelo pode ser utilizado para descrever os resultados experimentais, uma vez que oscilaram de 0,9823 a 0,9985.



As análises de variância dos resultados do índice de consistência (K) e do índice de comportamento de fluxo (n) descendentes demonstraram que houve diferença significativa entre os tratamentos, conforme mostram os resultados do teste de Tukey na Tabela 23 e os Apêndices 17 e 18.

A partir dos resultados do índice de consistência (K) (curva descendente) dos tratamentos procedeu-se a regressão múltipla para a obtenção de uma equação polinomial completa, cujos coeficientes aparecem na Tabela 24. Eliminaram-se os coeficientes não significativos ($p > 0,05$), obtendo-se um modelo ajustado, como mostra a Equação 4.

$$\hat{Y}_4 = 0,10 + 0,04.X_1 + 0,03.X_2 + 0,04.X_1.X_2 + 0,02.X_1.X_2.X_3 \text{ (Equação 4)}$$

A análise de variância do modelo polinomial índice de consistência (K) descendente encontra-se na Tabela 25, mostrando que o coeficiente de determinação para o modelo foi de 92,59% e o erro padrão de 0,0281.

O índice de consistência é dependente das variáveis soro (X_1), sacarose (X_2) e das interações entre soro e sacarose ($X_1.X_2$) e soro, sacarose e oligofrutose ($X_1.X_2.X_3$).

As Figuras 35, 36 e 37 mostram a representação das linhas de contorno da superfície de resposta da relação entre o teor de soro e de sacarose com o índice de consistência, nos três níveis de variação do teor de oligofrutose.

Quanto maior o teor de oligofrutose, maior o índice de consistência na curva descendente, provavelmente devido ao maior teor de sólidos da bebida láctea obtida. Apesar da bebida láctea ter sofrido o cisalhamento contínuo, ela apresentou consistência proporcional ao aumento do teor de oligofrutose.

Tabela 24 - Estimativa dos coeficientes do polinômio de segundo grau, ajustado para os dados experimentais do índice de consistência (K) descendente, através da regressão múltipla.

Variáveis independentes	Coeficientes	Erro padrão	Nível de significância
Constante	0,0958	0,0081	0,0003
X ₁	0,0404	0,0100	0,0154
X ₂	0,0281	0,0100	0,0477
X ₃	0,0162	0,0100	0,1787
X ₁ .X ₂	0,0352	0,0100	0,0242
X ₁ .X ₃	0,0125	0,0100	0,2779
X ₂ .X ₃	0,0207	0,0100	0,1060
X ₁ .X ₂ .X ₃	0,0213	0,0100	0,0999

Nível de significância 5%.
X₁ = Teor de soro (%); X₂ = Teor de sacarose (%); X₃ = Teor de oligofrutose (%).

Tabela 25 – Análise de variância do polinômio de segundo grau, para os dados experimentais do índice de consistência (K) descendente.

Causas de variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F	Nível de significância p
Índice de consistência (K)	7	0,0397	0,0057	7,1434	0,0383
Resíduo	4	0,0032	0,0008		
Total	11	0,0429			
Erro padrão					0,0281
Coeficiente de determinação (R ²)					0,9259

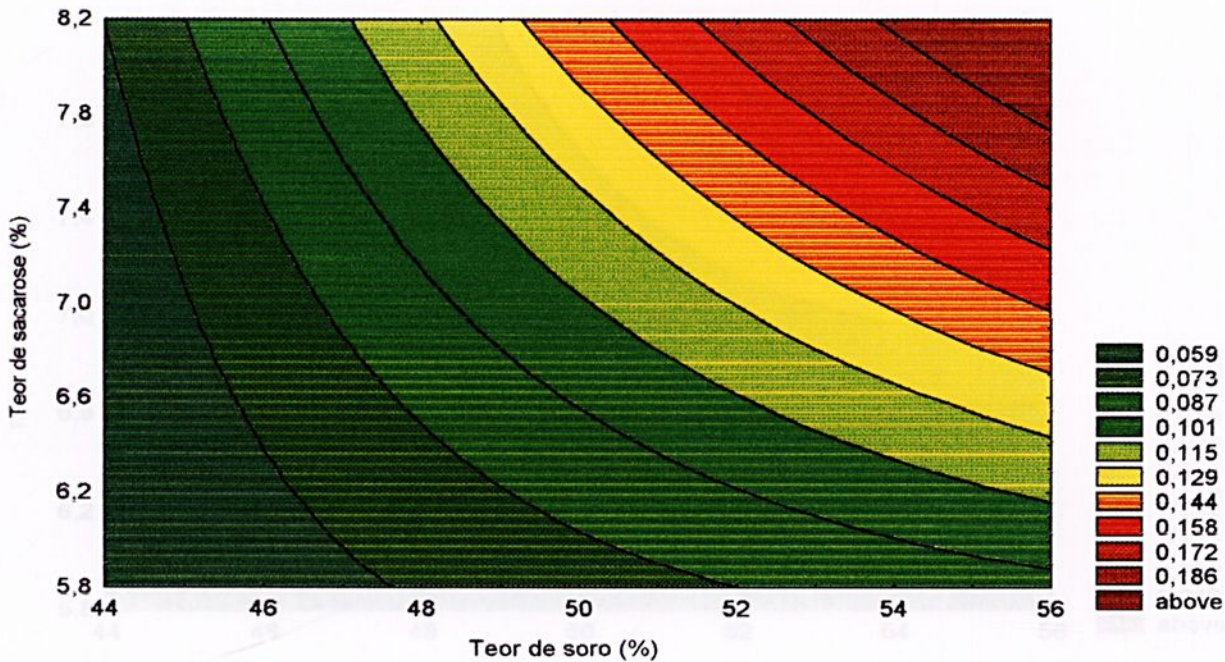


Figura 35 – Efeito dos teores de soro de queijo Minas Frescal e sacarose sobre o índice de consistência (curva descendente) com o teor de oligofrutose fixado em 1%.

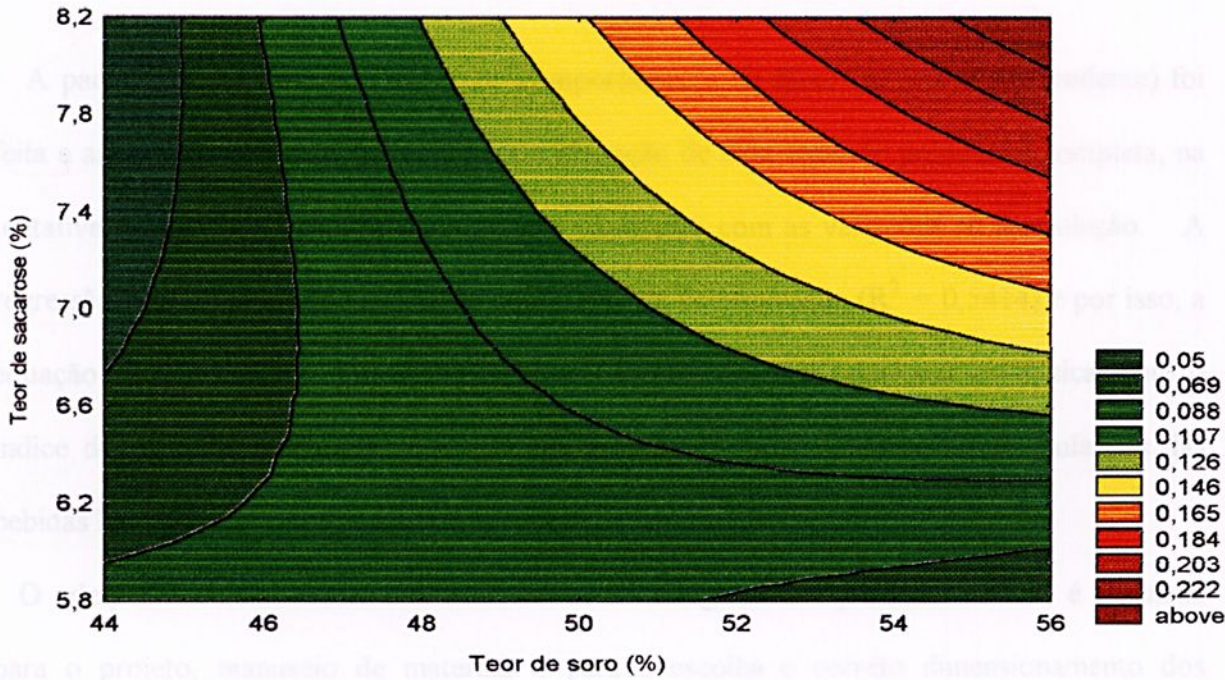


Figura 36 – Efeito dos teores de soro de queijo Minas Frescal e sacarose sobre o índice de consistência (curva descendente) com o teor de oligofrutose fixado em 2%.

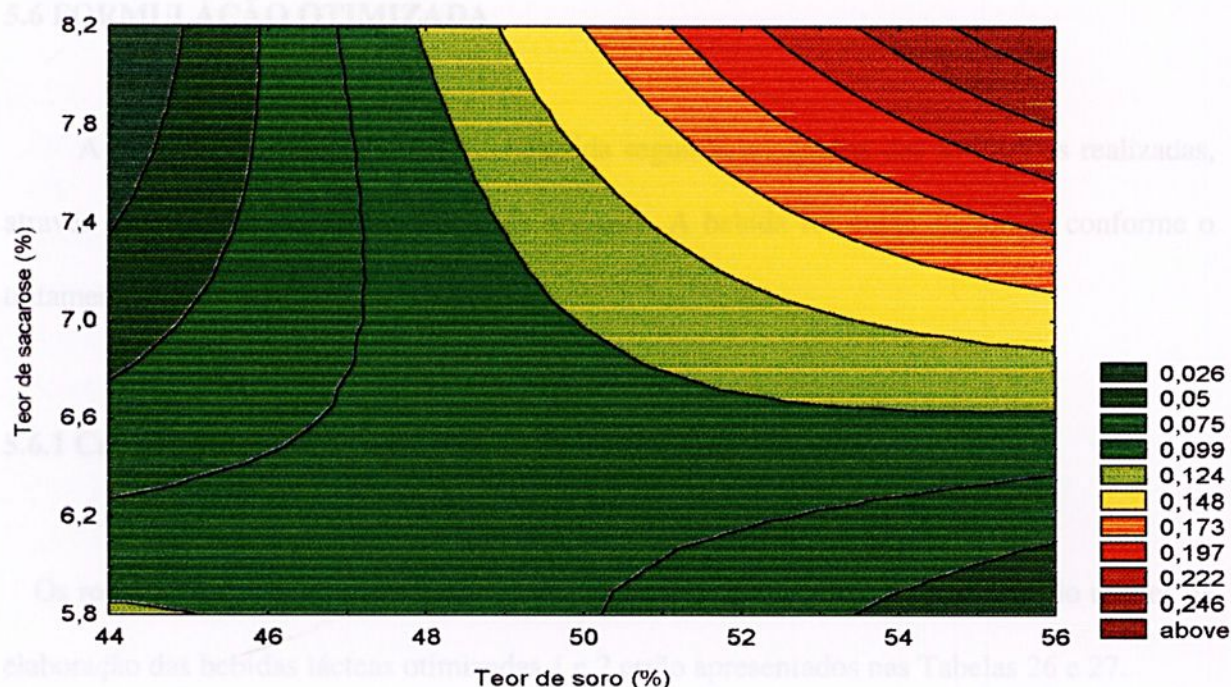


Figura 37 – Efeito dos teores de soro de queijo Minas Frescal e sacarose sobre o índice de consistência (curva descendente) com o teor de oligofrutose fixado em 3%.

A partir dos resultados do índice de comportamento de fluxo (n) (curva descendente) foi feita a análise de regressão múltipla para a obtenção de uma equação polinomial completa, na tentativa de relacionar estatisticamente este parâmetro com as variações na formulação. A regressão obtida apresentou um baixo coeficiente de determinação ($R^2 = 0,5414$) e por isso, a equação não está sendo apresentada. Assim, não foi possível relacionar estatisticamente o índice de comportamento de fluxo (curva descendente) com as diferentes formulações das bebidas lácteas.

O adequado conhecimento das características reológicas dos produtos lácteos é essencial para o projeto, manuseio de materiais e para a escolha e correto dimensionamento dos equipamentos usados na indústria de laticínios para evitar a perda da qualidade do produto. Elas influenciam diretamente no tamanho e no custo da unidade industrial (CORRÊA, 2001).

5.6 FORMULAÇÃO OTIMIZADA

A formulação otimizada foi estabelecida segundo resultados das avaliações realizadas, através da metodologia de superfície de resposta. A bebida foi então elaborada conforme o tratamento 8.

5.6.1 Caracterização físico-química do leite desnatado e do soro

Os resultados das avaliações físico-químicas do leite desnatado e do soro líquido usados na elaboração das bebidas lácteas otimizadas 1 e 2 estão apresentados nas Tabelas 26 e 27.

Os valores médios encontrados para o leite desnatado são muito semelhantes aos resultados médios obtidos nos blocos 1 e 2 deste trabalho. Além disso, eles atendem aos requisitos estabelecidos pela Instrução Normativa nº 51, demonstrando ser esta matéria-prima adequada para a elaboração das bebidas lácteas (BRASIL, 2002).

A análise de variância dos resultados do leite desnatado demonstrou que não houve diferença significativa ($p > 0,01$) entre as bebidas 1 e 2 quanto aos parâmetros acidez titulável, densidade e gordura. No entanto, elas foram estatisticamente diferentes ($p < 0,01$) com relação ao pH, sólidos totais e índice crioscópico, como mostram os resultados do teste de Tukey na Tabela 26.

Esta variação pode ser explicada em função de alterações na composição do leite, como discutido anteriormente.



Tabela 26 – Caracterização físico-química do leite desnatado usado na fabricação das bebidas lácteas otimizadas 1 e 2 (médias e desvios-padrão).

Parâmetros analisados	Bebida 1	Bebida 2
pH	6,77 ± 0,01 ^a	6,73 ± 0,01 ^b
Acidez titulável (°D)	16,0 ± 0,0 ^a	16,0 ± 0,0 ^a
Densidade (g/cm ³)	1,034 ± 0,000 ^a	1,034 ± 0,000 ^a
Gordura (%)	0,1 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,0 ^a
Sólidos totais (%)	8,82 ± 0,00 ^a	8,77 ± 0,00 ^b
Índice crioscópico (°H)	-0,533 ± 0,001 ^a	-0,530 ± 0,001 ^b
Antibiótico	Negativo	Negativo

^{a, b} Médias em uma linha com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p < 0,01).

As médias dos resultados médios obtidos nas análises do soro usado nas duas bebidas foram: 6,57 ± 0,08 para o pH, 11,00 ± 0,00°D para a acidez titulável, 1,026 ± 0,001 g/cm³ para a densidade, 0,45 ± 0,07% para a gordura, 6,97 ± 0,08% para os sólidos totais e -0,553 ± 0,001°H para o índice crioscópico. Estes valores são semelhantes aos encontrados nas análises do soro usado nos blocos 1 e 2 e atendem perfeitamente à caracterização do soro doce estabelecida na literatura.

A análise de variância dos resultados do soro demonstrou que não houve diferença significativa (p > 0,01) entre as bebidas 1 e 2 com relação a acidez titulável e o índice crioscópico. Entretanto elas diferiram estatisticamente (p < 0,01) com relação ao pH, densidade, gordura e sólidos totais, como mostra a Tabela 27.

Alterações na composição do leite e no processo de fabricação do queijo para obtenção do soro podem explicar as diferenças encontradas. Quanto menor a variação da matéria-prima, menor a influência destes fatores sobre os parâmetros das bebidas lácteas que serão avaliados.



Tabela 27 – Caracterização físico-química do soro usado na fabricação das bebidas lácteas otimizadas 1 e 2 (médias e desvios-padrão).

Parâmetros analisados	Bebida 1	Bebida 2
pH	6,51 ± 0,00 ^a	6,62 ± 0,00 ^b
Acidez titulável (°D)	11,0 ± 0,00 ^a	11,0 ± 0,00 ^a
Densidade (g/cm ³)	1,027 ± 0,000 ^a	1,025 ± 0,001 ^b
Gordura (%)	0,4 ± 0,0 ^a	0,5 ± 0,0 ^b
Sólidos totais (%)	6,91 ± 0,01 ^a	7,02 ± 0,02 ^b
Índice crioscópico (°H)	0,554 ± 0,001 ^a	0,552 ± 0,001 ^a

^{a, b} Médias em uma linha com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p < 0,01).

5.6.2 Caracterização físico-química e microbiológica das bebidas lácteas

Para a caracterização físico-química das bebidas lácteas otimizadas 1 e 2 foram monitorados o tempo de fermentação, o pH, a acidez titulável e os teores de gordura, proteínas, cinzas e sólidos totais no decorrer de 35 dias de estocagem. Para a caracterização microbiológica foram realizadas as contagens (UFC/mL) de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp. Os resultados médios obtidos estão apresentados nas Tabelas 28 e 29, respectivamente.

Tabela 28 - Caracterização físico-química das bebidas lácteas otimizadas das avaliações 1 e 2 (médias e desvios-padrão).

Parâmetro analisado	Bebida	1º dia	3º dia	10º dia	17º dia	24º dia	35º dia
Tempo de fermentação (minutos)	1	300	-	-	-	-	-
	2	290	-	-	-	-	-
pH	1	4,68 ± 0,01 ^a	4,39 ± 0,02 ^b	4,39 ± 0,01 ^b	4,39 ± 0,01 ^b	4,40 ± 0,01 ^b	4,38 ± 0,01 ^b
	2	4,67 ± 0,01 ^a	4,45 ± 0,01 ^b	4,41 ± 0,01 ^c	4,40 ± 0,01 ^{cd}	4,39 ± 0,01 ^{cd}	4,39 ± 0,01 ^{cd}
Acidez titulável (°D)	1	52,67 ± 0,58 ^a	59,00 ± 0,00 ^a	63,33 ± 0,29 ^b	64,17 ± 0,29 ^b	66,00 ± 0,00 ^c	66,67 ± 0,29 ^d
	2	53,67 ± 0,29 ^a	57,67 ± 0,58 ^{ab}	62,00 ± 0,00 ^b	63,67 ± 0,58 ^c	63,50 ± 0,50 ^d	64,67 ± 0,29 ^e
Gordura (%)	1	-	0,20 ± 0,00 ^A	-	-	-	-
	2	-	0,20 ± 0,00 ^A	-	-	-	-
Proteínas (%)	1	-	1,82 ± 0,07 ^A	-	-	-	-
	2	-	1,87 ± 0,01 ^A	-	-	-	-
Cinzas (%)	1	-	0,54 ± 0,03 ^A	-	-	-	-
	2	-	0,59 ± 0,00 ^B	-	-	-	-
Sólidos totais (%)	1	-	17,36 ± 0,04 ^A	-	-	-	-
	2	-	17,29 ± 0,03 ^A	-	-	-	-

^{a, b, c, d, e} Médias em uma linha com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p < 0,01).

^{A, B} Médias em uma coluna com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p < 0,01).

Tabela 29 - Caracterização microbiológica das bebidas lácteas otimizadas das avaliações 1 e 2 (médias).

Parâmetro analisado	Bebida	5º dia	15º dia	25º dia	35º dia
<i>S. thermophilus</i>	1	$2,6 \times 10^{11} \text{ a}$	$2,9 \times 10^{11} \text{ a}$	-	$4,0 \times 10^9 \text{ b}$
(UFC/mL)	2	$2,3 \times 10^{11} \text{ a}$	$2,6 \times 10^{11} \text{ a}$	$2,4 \times 10^{11} \text{ a}$	$2,5 \times 10^7 \text{ b}$
<i>L. delbrueckii</i> subsp.	1	$1,5 \times 10^{10} \text{ a}$	$8,0 \times 10^9 \text{ b}$	-	$1,5 \times 10^6 \text{ c}$
<i>bulgaricus</i>	2	$3,5 \times 10^{10} \text{ a}$	$1,3 \times 10^{10} \text{ a}$	$6,2 \times 10^6 \text{ b}$	$3,1 \times 10^6 \text{ b}$
(UFC/mL)					
<i>L. acidophilus</i>	1	$7,0 \times 10^9 \text{ a}$	$7,0 \times 10^9 \text{ a}$	-	$1,6 \times 10^6 \text{ b}$
(UFC/mL)	2	$3,1 \times 10^{10} \text{ a}$	$1,6 \times 10^{10} \text{ ab}$	$6,0 \times 10^9 \text{ b}$	$4,9 \times 10^6 \text{ b}$
<i>Bifidobacterium</i> spp.	1	$2,9 \times 10^6 \text{ a}$	$2,0 \times 10^5 \text{ b}$	-	$2,3 \times 10^4 \text{ b}$
(UFC/mL)	2	$1,7 \times 10^6 \text{ a}$	$6,5 \times 10^5 \text{ b}$	$9,5 \times 10^4 \text{ b}$	$8,8 \times 10^4 \text{ b}$

^{a, b} Médias em uma linha com diferentes sobrescritos diferem significativamente ($p < 0,01$).



O tempo de fermentação foi de 300 minutos na bebida 1 e de 290 minutos na bebida 2. Estes valores são superiores ao obtido no bloco 2 (280 minutos), provavelmente devido ao maior período de estocagem da cultura láctea congelada e conseqüentemente à redução na atividade das bactérias, porém dentro da faixa estabelecida pelo fornecedor da cultura.

Com relação ao pH, a análise de variância dos resultados obtidos com a bebida 1 demonstrou que houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre o 1º e 3º dia de estocagem ($4,68 \pm 0,01$ e $4,39 \pm 0,02$ respectivamente). Após esta redução inicial, o pH manteve-se praticamente constante até o 35º dia de estocagem, não sendo constatada nenhuma diferença estatística ($p > 0,01$) entre os valores, como mostram os resultados do teste de Tukey na Tabela 28.

O pH da bebida 2 decresceu até o 3º dia, de forma menos acentuada que o da bebida 1. A análise estatística dos resultados demonstrou que houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre os valores encontrados no 1º, 3º e 10º dia, $4,67 \pm 0,01$, $4,45 \pm 0,01$, $4,41 \pm 0,01$, respectivamente. Após este período, o pH manteve-se praticamente constante até o 35º dia de estocagem, como apresentado na Tabela 28.

A Figura 38 mostra a curva do pH durante os 35 dias de estocagem para as duas avaliações testadas.

Esta diminuição do pH nos dez primeiros dias de estocagem está relacionada à pós-acidificação da bebida láctea. Segundo Beal et al. (1999), a queda do pH nos sete primeiros dias de armazenamento está relacionada com o consumo de lactose e produção de ácido láctico e galactose, mostrando a existência de atividade metabólica das bactérias lácticas durante a estocagem refrigerada.

Oliveira e Damin (2002) também observaram ligeira diminuição do pH (de 4,12 e 4,55 para 4,03 e 4,43 após 1 e 7 dias a 4°C), quando estudaram a viabilidade de bactérias do iogurte e das probióticas em leites fermentados.



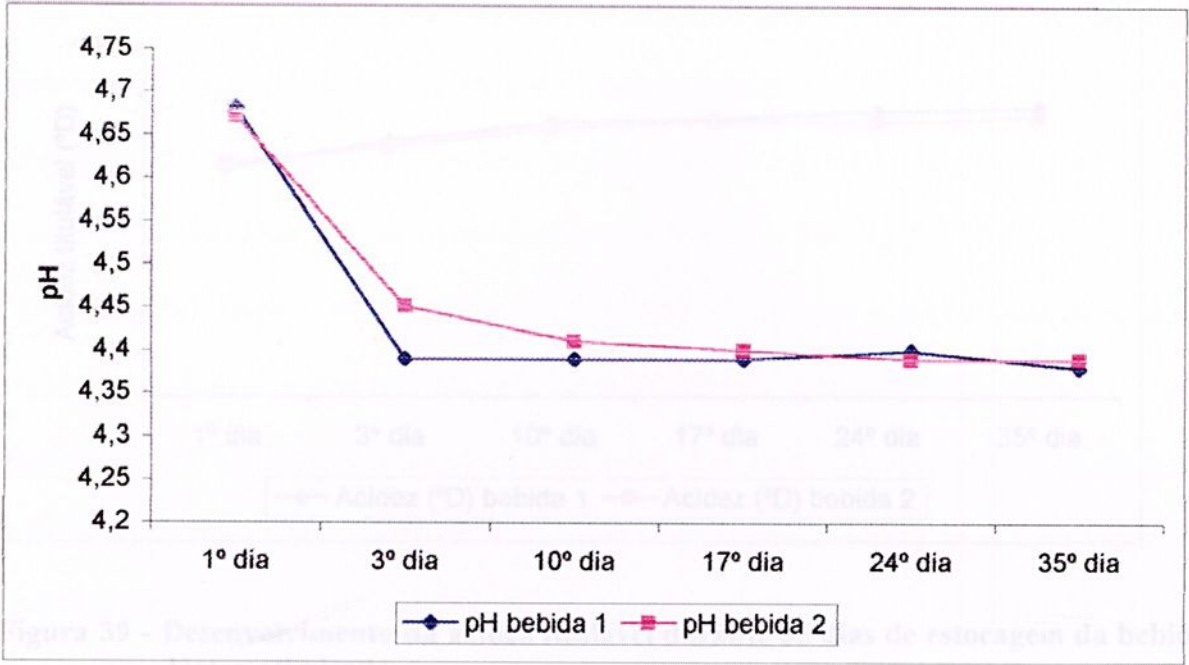


Figura 38 – Comportamento do pH durante 35 dias de estocagem da bebida láctea otimizada.

Quanto à acidez titulável, verificou-se nas duas bebidas uma produção mais acentuada de ácido láctico entre o 1º e 10º dia. Após este período, a acidificação continuou de forma menos intensa. Entretanto, a bebida 1 apresentou maior teor de ácido láctico do que a bebida 2, provavelmente devido ao seu maior tempo de fermentação.

A análise de variância dos resultados das duas bebidas mostrou diferença significativa ($p < 0,01$) entre os períodos de estocagem, como mostram os resultados do teste de Tukey na Tabela 28. A Figura 39 mostra a evolução da acidez titulável nas duas avaliações testadas.

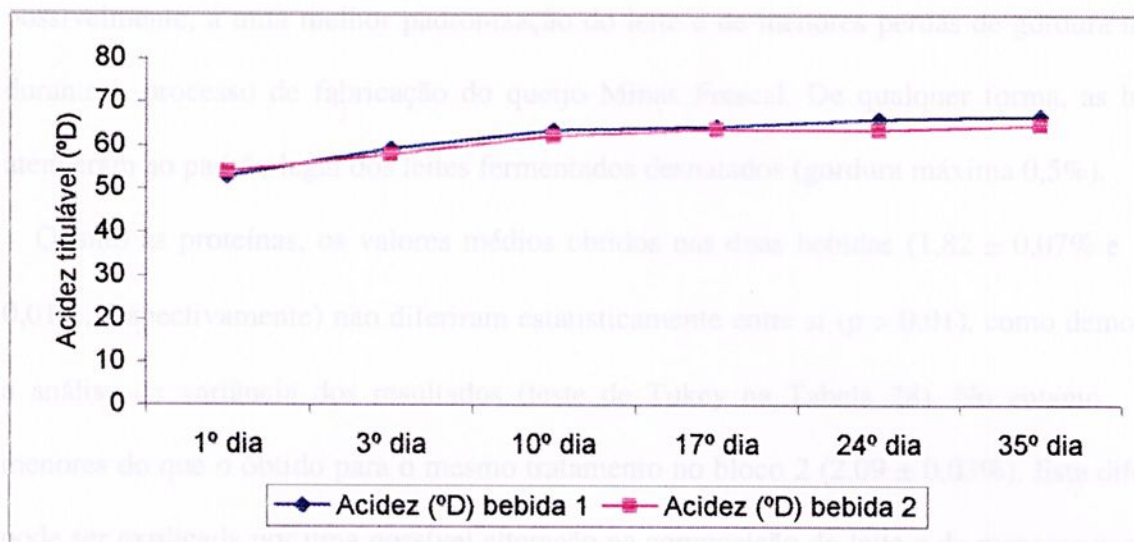


Figura 39 - Desenvolvimento da acidez titulável durante 35 dias de estocagem da bebida láctea otimizada.

Estes valores também demonstram a pós-acidificação durante o armazenamento. Almeida et al. (2001) verificaram que durante os sete primeiros dias de estocagem de bebidas lácteas preparadas com dois tipos de cultura (tradicionais e mistas com probióticas), a acidez aumentou de maneira mais acentuada que nos períodos subseqüentes, provavelmente devido a entrada da cultura na fase de declínio por causa da acidez do meio.

Um aumento na acidez de um iogurte elaborado com culturas tradicionais e probióticas depois de 5 dias de estocagem a 4°C, de 0,76-0,77% para 0,82-0,84% foi observado por Dave e Shah (1997). Depois deste período, a acidez se manteve praticamente constante até o 35º dia de estocagem.

As análises dos teores de gordura, proteínas, cinzas e sólidos totais foram realizadas apenas no 3º dia, uma vez que estes parâmetros não sofrem variação com o período de estocagem.

Os teores de gordura das duas bebidas não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,01$), como demonstrou a análise de variância dos resultados (teste de Tukey na Tabela 28). O valor médio encontrado para as duas bebidas, $0,2 \pm 0,0\%$, foi menor quando comparado com o obtido no bloco 2 para o mesmo tratamento ($0,3 \pm 0,0\%$). Esta redução está relacionada,

possivelmente, a uma melhor padronização do leite e de menores perdas de gordura no soro durante o processo de fabricação do queijo Minas Frescal. De qualquer forma, as bebidas atenderam ao padrão legal dos leites fermentados desnatados (gordura máxima 0,5%).

Quanto às proteínas, os valores médios obtidos nas duas bebidas ($1,82 \pm 0,07\%$ e $1,87 \pm 0,01\%$, respectivamente) não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,01$), como demonstrou a análise de variância dos resultados (teste de Tukey na Tabela 28). No entanto, foram menores do que o obtido para o mesmo tratamento no bloco 2 ($2,09 \pm 0,03\%$). Esta diferença pode ser explicada por uma possível alteração na composição do leite e de menores perdas de proteínas no soro, em virtude de uma melhor padronização do processo de fabricação. Apesar desta redução, o teor médio de proteína encontrado foi muito superior ao mínimo exigido pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade das Bebidas Lácteas (BRASIL, 2000), que é de 1,20%.

A análise de variância dos resultados obtidos para o teor de cinzas das duas bebidas demonstrou que eles diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,01$), como mostra os resultados do teste de Tukey na Tabela 28. O teor de cinzas encontrado na bebida 1 ($0,54 \pm 0,03\%$) foi menor quando comparado aos obtidos na bebida 2 ($0,59 \pm 0,00\%$) e na análise do tratamento 8 do bloco 2 ($0,60 \pm 0,03\%$).

Os teor de sólidos totais das duas bebidas, $17,36 \pm 0,04\%$ da bebida 1 e $17,29 \pm 0,03\%$ da bebida 2, não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,01$), como ficou demonstrado na análise de variância dos resultados (teste de Tukey na Tabela 28). Quando comparados com o valor médio obtido no tratamento 8 do bloco 2 ($17,74 \pm 0,09\%$) foram inferiores, provavelmente em virtude dos teores de gordura e de proteínas também terem sido menores nas bebidas otimizadas 1 e 2.

As contagens microbiológicas da bebida 1 foram realizadas no 5º, 15º e 35º dias após a fabricação. As análises de variância (teste de Tukey na Tabela 29) dos resultados obtidos demonstraram que:

- houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre as contagens de *S. thermophilus*, que se mantiveram constantes até o 15º dia e depois disso sofreram uma redução de aproximadamente 2 ciclos logarítmicos, constatada no 35º dia;
- houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre as contagens de *L. bulgaricus*. A população deste microrganismo sofreu redução de um ciclo logarítmico entre o 5º e o 15º dia e de mais 3 até o 35º dia;
- houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre as contagens de *L. acidophilus*, que se mantiveram constantes até o 15º dia e depois disso, reduziram 3 ciclos logarítmicos, como observado no 35º dia;
- quanto a *Bifidobacterium* spp., houve diferença significativa entre as contagens ($p < 0,01$), sendo observada uma redução de um ciclo logarítmico no 15º dia e de mais um, até o 35º dia.

Em virtude das grandes reduções nas populações microbianas observadas entre o 15º e o 35º dia de estocagem, foi realizada uma contagem microbiológica adicional no 25º dia na bebida 2.

As análises de variância dos resultados obtidos na bebida 2, demonstraram que:

- houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre as contagens de *S. thermophilus*. Elas se mantiveram constantes até o 25º dia e depois disso sofreram uma redução de aproximadamente 4 ciclos logarítmicos, constatada no 35º dia;
- as contagens de *L. bulgaricus* se mantiveram constantes até o 15º dia, após o que sofreram uma redução de 4 ciclos logarítmicos, observada no 25º dia, e se mantiveram constantes até o 35º dia. Esta diferença foi significativa estatisticamente ($p < 0,01$);



- houve diferença significativa ($p < 0,01$) também entre as contagens de *L. acidophilus*. Elas se mantiveram constantes até o 15º dia e depois disso, reduziram 1 ciclo logarítmico até o 25º dia e mais 3 ciclos como observado no 35º dia;
- quanto a *Bifidobacterium* spp., houve uma redução de um ciclo logarítmico no 15º dia e outra no 25º dia, sendo que a partir daí as contagens se mantiveram constantes até o 35º dia. Esta diferença foi significativa estatisticamente ($p < 0,01$).

Os resultados do teste de Tukey estão apresentados na Tabela 29.

Pinheiro (2003) observou um decréscimo de 4 ciclos logarítmicos para *Bifidobacterium* e *L. acidophilus* durante 30 dias de armazenamento refrigerado e de 2 ciclos para o *S. thermophilus*. Entretanto, para *L. bulgaricus*, verificou um aumento da contagem, provavelmente devido a sua maior tolerância à acidez.

Após 4 semanas de estocagem a 5°C, Vinderola et al. (1999) verificaram que as contagens de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* foram menores do que o nível estabelecido (10^6 UFC/g), indicando que os iogurtes argentinos analisados não consistiam em bons veículos para estas bactérias.

A análise dos resultados microbiológicos das bebidas otimizadas 1 e 2 demonstrou que com relação às bactérias tradicionais, o produto atendeu à legislação vigente quanto ao número mínimo de células viáveis durante os 35 dias de estocagem a 5°C. Entretanto, neste mesmo período, ele só poderia ser considerado fonte de probióticos e apresentar efeito benéfico para a saúde do consumidor com relação ao *L. acidophilus*. As contagens de bifidobactérias estavam no nível mínimo no 5º dia de estocagem, não sendo portanto, viável o uso desta cultura pela indústria, que necessita de um tempo maior entre a produção, a comercialização e o consumo.

A sobrevivência das bactérias probióticas em produtos lácteos fermentados depende de vários fatores, tais como 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), conteúdo de oxigênio dissolvido, quantidade inoculada, temperatura de incubação, tempo e temperatura de estocagem (KALAISAPATHY; RYBKA, 1997; HATTINGH; VILJOEN, 2001; SHAH, 2001).

Ao estudarem a viabilidade das bactérias probióticas em iogurtes, Dave e Shah (1997) verificaram que a associação de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* com as bactérias do iogurte acarretou em uma redução de 3 ciclos logarítmicos de *L. acidophilus*, possivelmente em virtude do antagonismo com os microrganismos do iogurte e/ou do aumento da concentração de peróxido de hidrogênio produzido pelo *L. bulgaricus*. Entretanto, as *Bifidobacterium* não são afetadas pelo peróxido de hidrogênio. Arunachalam (1999) atribui esta resistência à presença das enzimas superóxido dismutase e catalase, que ajudam a *Bifidobacterium* a se defender dos efeitos tóxicos do superóxido e do peróxido de hidrogênio.

Cuidados com a seleção da cepa de *Bifidobacterium* empregada (como exemplo, espécies oxigênio-tolerantes) e um bom monitoramento durante a fabricação são importantes na produção de bio-produtos contendo *Bifidobacterium* (ARUNACHALAN, 1999).

Os resultados mostraram que, para as bebidas lácteas fermentadas testadas a cultura utilizada não apresentou a viabilidade requerida, sendo necessários estudos complementares para verificação das condições ideais de processamento para que elas possam ser veículo de bifidobactérias.

5.6.3 Caracterização reológica das bebidas lácteas otimizadas

A Tabela 30 mostra os parâmetros reológicos das bebidas lácteas, obtidos da relação entre a taxa de deformação e a tensão de cisalhamento, pelo modelo da Lei da Potência.



Tabela 30 – Parâmetros reológicos das bebidas lácteas otimizadas 1 e 2 (médias das duplicatas) obtidos pelo Modelo da Lei da Potência ($\tau = K \gamma^n$).

Dias de armazenamento / bebida	Curva ascendente			Curva descendente		
	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²	K (Pa.s ⁿ)	n	R ²
3/1	0,8825 ^a	0,4393 ^c	0,9834	0,0369 ^c	0,8551 ^a	0,9991
3/2	0,9203 ^a	0,4326 ^c	0,9851	0,0363 ^c	0,8573 ^a	0,9989
18/1	0,7015 ^b	0,4748 ^b	0,9898	0,0922 ^b	0,7367 ^b	0,9976
18/2	0,6732 ^b	0,4855 ^b	0,9891	0,0845 ^b	0,7517 ^b	0,9962
34/1	0,4591 ^c	0,5291 ^a	0,9896	0,0982 ^a	0,7236 ^c	0,9968
34/2	0,4578 ^c	0,5280 ^a	0,9890	0,0970 ^a	0,7252 ^c	0,9971

^{a, b, c} Médias em uma coluna com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p < 0,01).
K = Índice de consistência; n = Índice de comportamento de fluxo; R² = Coeficiente de determinação.

As Figuras 40, 41 e 42 mostram os reogramas das bebidas lácteas após 3, 18 e 34 dias de armazenamento.

As bebidas apresentaram comportamento de fluido não newtoniano, do tipo pseudoplástico, com presença de tixotropia como resultado da quebra estrutural. Verificou-se que, ao submetê-las a cisalhamentos em velocidades crescentes, a cada incremento de velocidade os valores medidos de viscosidade diminuíam. Além disso, os índices de consistência (K) foram maiores nas curvas ascendentes em comparação com as descendentes. A diferença entre as curvas, com a formação de uma curva de histerese é a medida da extensão de quebra estrutural causada pelo cisalhamento. O índice de comportamento de fluxo (n) foi maior na curva descendente, demonstrando que o produto apresenta comportamento mais próximo aos dos fluídos newtonianos (n=1).

Com o decorrer dos dias de estocagem, verificou-se que o índice de consistência (K) foi diminuindo e o índice de comportamento de fluxo (n) aumentando. Esta perda de consistência pode estar relacionada com a atividade proteolítica das culturas lácteas para manutenção do seu metabolismo. Como a proteólise afeta a estrutura da caseína, conseqüentemente as

propriedades reológicas são afetadas. Sivieri e Oliveira (2002) destacaram que o poder proteolítico das culturas lácteas é muito importante, pois uma proteólise muito forte pode causar defeitos como a diminuição da consistência do iogurte.

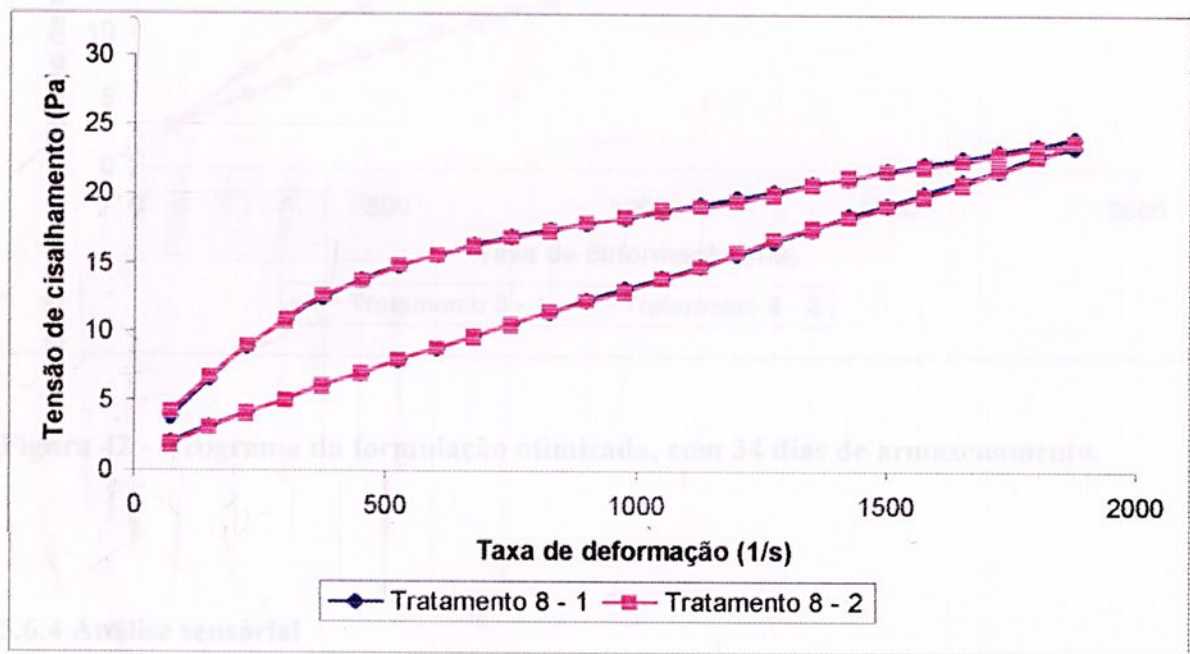


Figura 40 - Reograma da formulação otimizada, com 3 dias de armazenamento.

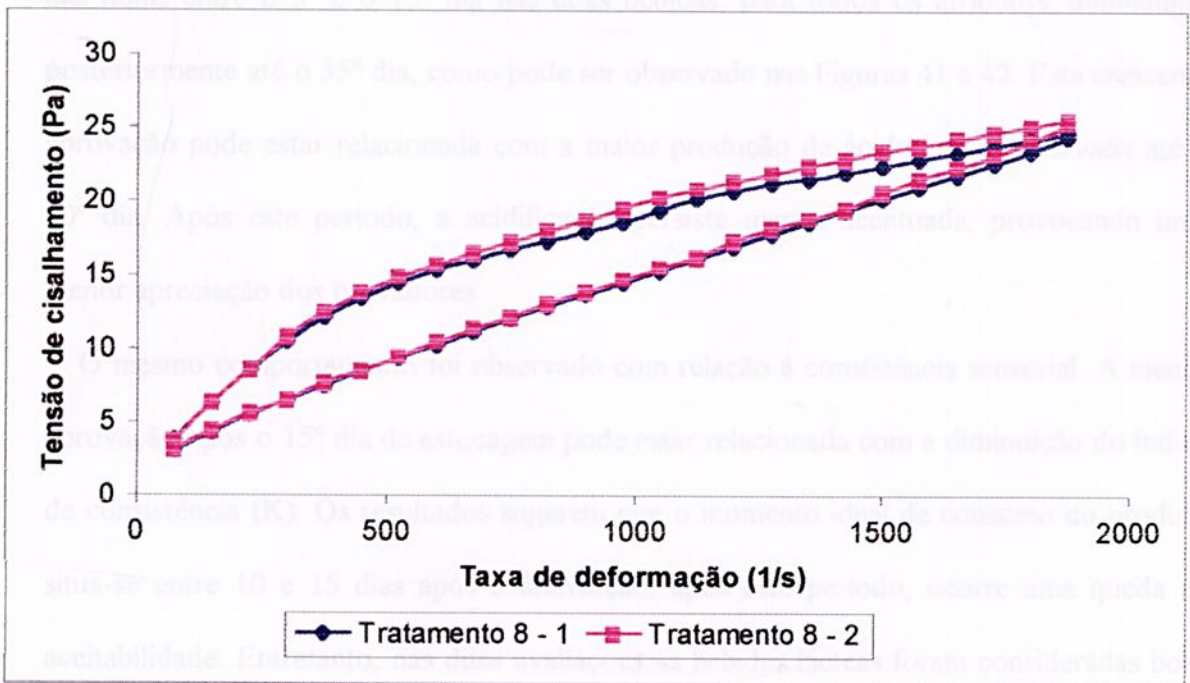


Figura 41 - Reograma da formulação otimizada, com 18 dias de armazenamento.

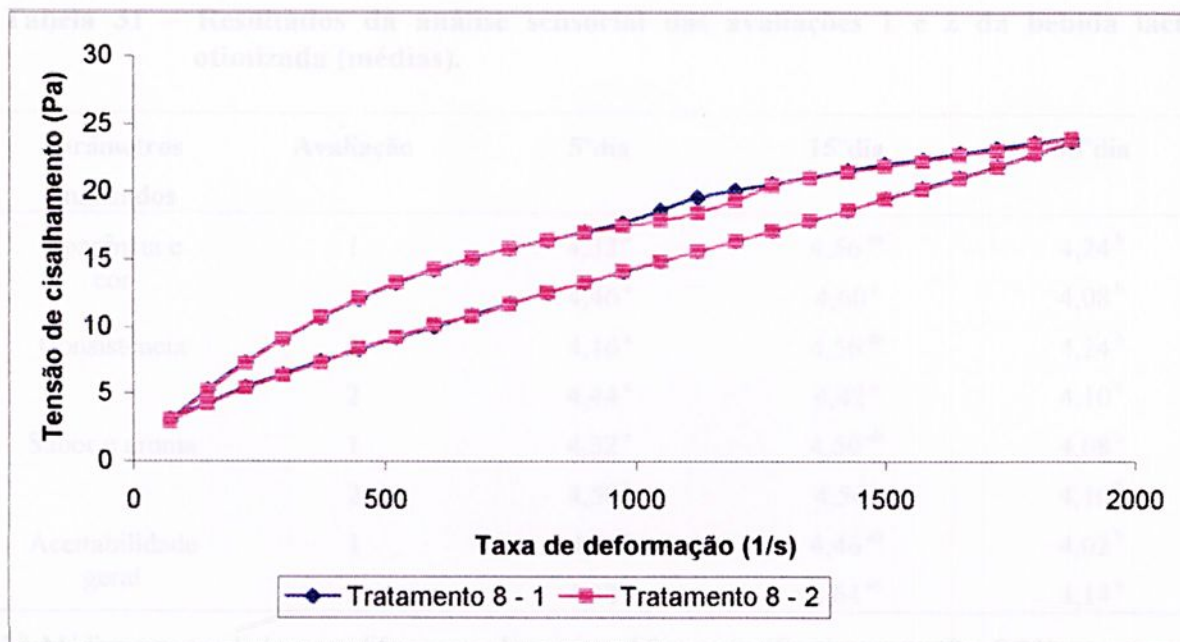


Figura 42 - Reograma da formulação otimizada, com 34 dias de armazenamento.

5.6.4 Análise sensorial

Os resultados da análise sensorial estão apresentados na Tabela 31. Houve um aumento das notas entre o 5º e o 15º dia nas duas bebidas, para todos os atributos, diminuindo posteriormente até o 35º dia, como pode ser observado nas Figuras 41 e 42. Esta crescente aprovação pode estar relacionada com a maior produção de ácido láctico observada até o 10º dia. Após este período, a acidificação persiste menos acentuada, provocando uma menor apreciação dos provadores.

O mesmo comportamento foi observado com relação à consistência sensorial. A menor aprovação após o 15º dia de estocagem pode estar relacionada com a diminuição do índice de consistência (K). Os resultados sugerem que o momento ideal de consumo do produto situa-se entre 10 e 15 dias após a fabricação, após este período, ocorre uma queda na aceitabilidade. Entretanto, nas duas avaliações as bebidas lácteas foram consideradas boas (nota 4) até o final do período de estocagem.

Tabela 31 – Resultados da análise sensorial das avaliações 1 e 2 da bebida láctea otimizada (médias).

Parâmetros analisados	Avaliação	5º dia	15º dia	35º dia
Aparência e cor	1	4,32 ^a	4,56 ^{ab}	4,24 ^b
	2	4,46 ^a	4,60 ^a	4,08 ^b
Consistência	1	4,16 ^a	4,56 ^{ab}	4,24 ^b
	2	4,44 ^a	4,42 ^a	4,10 ^b
Sabor e aroma	1	4,32 ^a	4,50 ^{ab}	4,08 ^b
	2	4,50 ^a	4,54 ^a	4,10 ^b
Aceitabilidade geral	1	4,28 ^a	4,46 ^{ab}	4,02 ^b
	2	4,38 ^a	4,64 ^{ab}	4,14 ^b

^{a, b} Médias em uma linha com diferentes sobrescritos diferem significativamente (P < 0,01).

Figura 44 – Análise sensorial da bebida láctea otimizada 2.

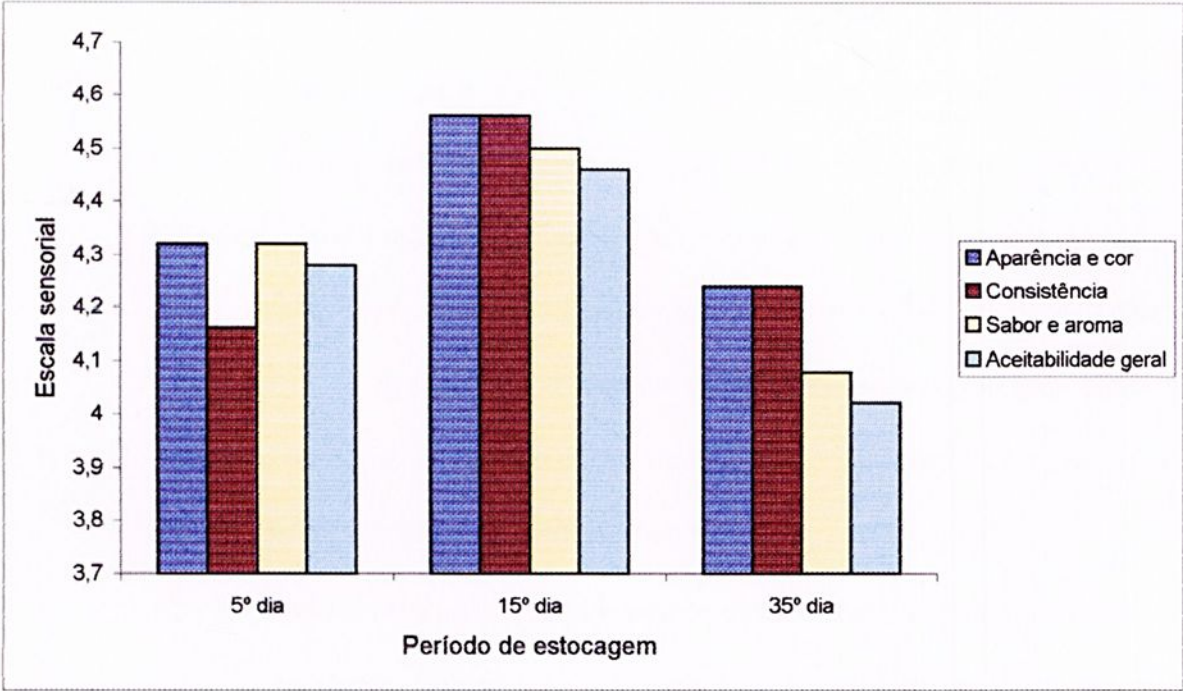


Figura 43 – Análise sensorial da bebida láctea otimizada 1.

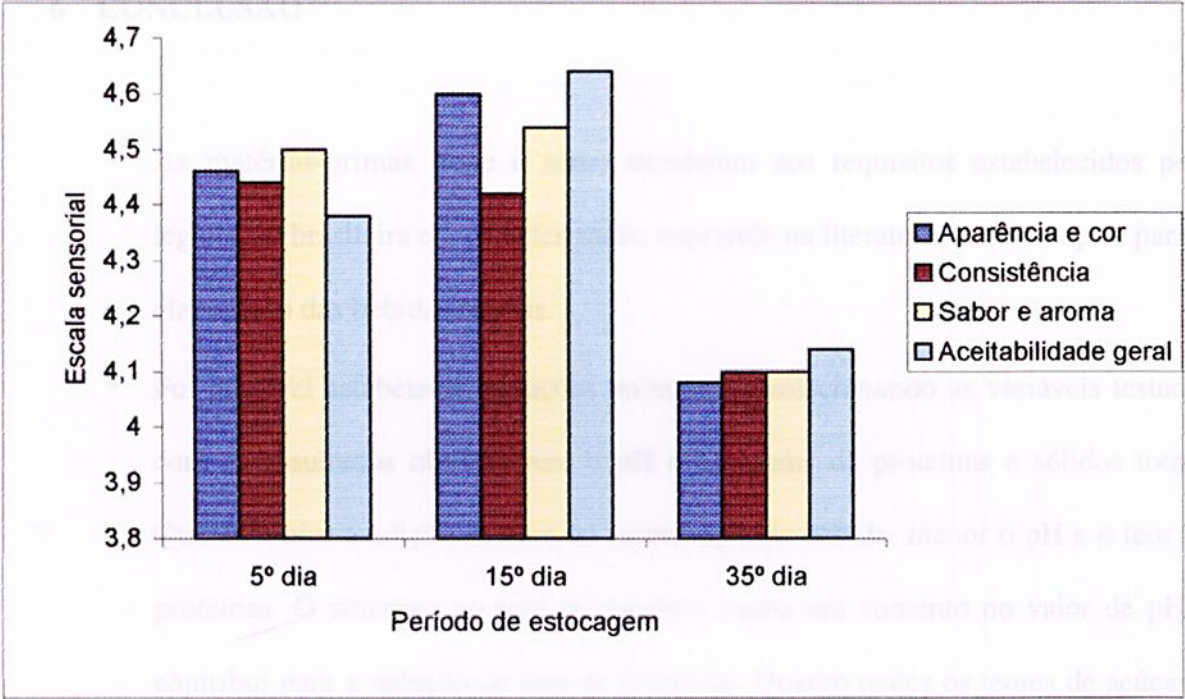


Figura 44 – Análise sensorial da bebida láctea otimizada 2.

Os teores de gordura e proteína de todas as formulações avaliadas atenderam ao Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas.

Nenhuma equação polinomial pôde ser estabelecida relacionando as variáveis testadas com as contagens microbiológicas obtidas. Houve predominância de *S. thermophilus* em relação aos demais microrganismos em todos os tratamentos e de *L. acidophilus* sobre *Bifidobacterium* spp. Em todas as formulações as contagens de *L. acidophilus* atenderam ao mínimo estabelecido pela legislação brasileira para que o produto fosse considerado fonte deste microrganismo, o mesmo não ocorreu com *Bifidobacterium* spp.

Não foi possível relacionar estatisticamente a preferência do painel de provadores com as variáveis testadas. O tratamento 2 foi escolhido como a melhor formulação.

Todas as tratamentos apresentaram comportamento de fluido não newtoniano, do tipo pseudoplástico, com presença de tixotropia. Somente foi possível estabelecer

6 CONCLUSÃO

- As matérias-primas (leite e soro) atenderam aos requisitos estabelecidos pela legislação brasileira e à caracterização requerida na literatura, estando aptas para a elaboração das bebidas lácteas.
- Foi possível estabelecer equações polinomiais relacionando as variáveis testadas com os resultados obtidos para o pH e os teores de proteínas e sólidos totais. Quanto maior a adição de soro na formulação da bebida, menor o pH e o teor de proteínas. O aumento no teor de sacarose causa um aumento no valor de pH e contribui para a redução do teor de proteínas. Quanto maior os teores de açúcar e oligofrutose, maior o teor de sólidos totais.
- Os teores de gordura e proteínas de todas as formulações avaliadas atenderam ao Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas.
- Nenhuma equação polinomial pôde ser estabelecida relacionando as variáveis testadas com as contagens microbiológicas obtidas. Houve predominância de *S. thermophilus* em relação aos demais microrganismos em todos os tratamentos e de *L. acidophilus* sobre *Bifidobacterium* spp. Em todas as formulações as contagens de *L. acidophilus* atenderam ao mínimo estabelecido pela legislação brasileira para que o produto fosse considerado fonte deste microrganismo, o mesmo não ocorreu com *Bifidobacterium* spp.
- Não foi possível relacionar estatisticamente a preferência do painel de provadores com as variáveis testadas. O tratamento 8 foi escolhido como a melhor formulação.

Todos os tratamentos apresentaram comportamento de fluido não newtoniano, do tipo pseudoplástico, com presença de tixotropia. Somente foi possível estabelecer

uma equação polinomial que relacionasse as variáveis testadas com o índice de consistência (curva descendente). Quanto maior o teor de oligofrutose, maior o índice de consistência na curva descendente, provavelmente devido ao maior teor de sólidos da bebida láctea obtida. Apesar da bebida láctea ter sofrido o cisalhamento contínuo, ela apresentou consistência proporcional ao aumento do teor de oligofrutose.

Formulação otimizada

- O pH diminuiu durante os dez primeiros dias de estocagem e a acidez aumentou. Depois disso, o pH se manteve praticamente constante e a produção de ácido láctico continuou de forma menos intensa.
- Durante todo o período de estocagem houve predominância de *S. thermophilus* sobre os demais microrganismos e a contagem de *L. acidophilus* manteve-se acima do mínimo estabelecido pela legislação brasileira. A contagem de *Bifidobacterium* spp no 15º dia estava abaixo deste limite.
- Entre 10 e 15 dias de estocagem houve um aumento na aceitabilidade do produto e após este período uma queda. A bebida láctea foi considerada boa (nota 4) pelos provadores durante os 35 dias.
- O índice de consistência diminuiu e o índice de comportamento de fluxo aumentou durante o período de estocagem. A bebida láctea apresentou comportamento de fluído não newtoniano, do tipo pseudoplástico, com presença de tixotropia.



REFERÊNCIAS

- ABREU, L.R. **Tecnologia de leite e derivados**. Curso de pós-graduação Lato Sensu em controle de qualidade em carne, leite, ovos e pescado. Lavras: FAEPE, 2000. 205p.
- ADAMS, M.R.; MOSS, M.O. **Microbiologia de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1997. 464p.
- AKOH, C.C. Fat replacers. **Food Technology**, v.52, n.3, p.47-53, 1998.
- ALIMENTOS. Alimentos funcionais: o maravilhoso mundo dos nutraceuticos. **Revista Aditivos e Ingredientes**, n.17, p.38-56, 2001.
- ALMEIDA, K.E.; BONASSI, I.A.; ROÇA, R.O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo Minas Frescal. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, v.21, n.2, p.187-192, 2001.
- ANTUNES, L.A.F. Microrganismos probióticos e alimentos funcionais. **Revista Indústria de Laticínios**, n.34, p.30-34, 2001.
- AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. Washington, 1995. v.1-2.
- ARUNACHALAM, K.D. Role of bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. **Nutrition Research**, v.19, n.10, p.1559-1597, 1999.
- BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.D. **Experimentação Agrícola**. Jaboticabal: FUNESP, 1995. 247p.
- BARBOSA, I.N.; PINTO, M.S.; CUNHA, L.R.; MARTINS, J.M.; FERREIRA, C.L.L.F. O aproveitamento do soro na elaboração de bebidas fermentadas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 58, n. 333, p. 194-198, 2003.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. Campinas: Ed. UNICAMP, 1995. 299p.
- PORTUGAL, I.A.B.; CASTRO, M.C.D.; SILVA, P.H.F.; SAVINO, A.C.; NEVES, B.S.; ARCURI, E.F. O Aproveitamento do Leite e os Alimentos Lácteos Funcionais. Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 2001. 204p.



BÉAL, C.; SKOKANOVA, J., LATRILLE, E., MARTÍN, N.; CORRIEU, G. 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.

BERTERRECHE, J. Prebióticos e probióticos em produtos lácteos. In.: SIMPÓSIO DE TECNOLOGIA DE PRODUTOS LÁCTEOS GERMINAL, 2, 2002, Angra dos Reis. **Anais...** Angra dos Reis: Germinal, 2002. p.1-6.

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. **Química do Processamento de Alimentos**. São Paulo: Varela, 1992. 143p.

BORGES, M. Gosto nacional. **Revista Leite e Derivados**, n.72, p. 42-46, 2003.

BRANDÃO, S.C.C. **Tecnologia da Produção Industrial de Iogurte: Semana do Laticinista** - Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 1997. 52p. [Apostila].

BRANDÃO, S.C.C. Tecnologia da produção industrial de iogurte. **Revista Leite e Derivados**, n.25, p.24-38, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite pasteurizado. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, D.F., 20 Set. 2002. Seção 1, p.13-22.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Padrões de identidade e qualidade de leites fermentados. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, D.F., 2 Jan. 2001. Seção 1, p.19-22.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebidas lácteas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, D.F., 8 Nov. 2000. Seção 1, p.22-23.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico de procedimento para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, D.F., 3 Mai. 1999. Seção 1, p.11.

BUCIONE, A. Alimentos funcionais: consumidor antecipa tendência de mercado. In.: PORTUGAL, J.A.B.; CASTRO, M.C.D.; SILVA, P.H.F.; SAVINO, A.C.; NEVES, B.S.; ARCURI, E.F. **O Agronegócio do Leite e os Alimentos Lácteos Funcionais**. Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 2001. 204p.

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.

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**, Washington, 1985. p.327-404.

CASTRO, L. P.; PINHEIRO, M.V.S.; HOFFMANN, F.L.; PENNA, A.L.B. Influência da oligofrutose no desenvolvimento de culturas lácticas probióticas do iogurte. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18, 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBCTA, 2002. p.2773-2776. a

CASTRO, L. P.; PINHEIRO, M.V.S.; HOFFMANN, F.L.; PENNA, A.L.B. Influência de substitutos de gordura nas características do iogurte probiótico. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 57, n. 327, p. 133-136, 2002. b

CHRISTIAN HANSEN. **Method for counting probiotic bacteria**. *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacteria* in milk products made with nu-trish cultures. 1999. 5p. [Procedimento Analítico].

CORREA, P.E.O. Viscosidade: desvendando o mito. **Revista Indústria de Laticínios**, n.33, p.59-62, 2001.

COSTA, A.P.; LIMA, H.A. Tecnologia de fabricação de iogurtes e bebidas lácteas. In.: SIMPÓSIO DE TECNOLOGIA DE PRODUTOS LÁCTEOS GERMINAL, 2, 2002, Angra dos Reis. **Anais...** Angra dos Reis: Germinal, 2002. p.5-7.

COULTATE, T.P. **Química de sus Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1990. 199p.

CRITTENDEN, R.G.; PLAYNE, M.J. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. **Trends Food Science & Technology**, v.7, n.11, p.353-361, 1996.

CUSTÓDIO, F.B.; THEODORO, K.H.; SANTOS, M.M.F.; SIQUEIRA, I.M.C.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; SOUZA, M.R.; GLÓRIA, M.B.A. Fatores limitantes do aproveitamento do soro de queijo. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.57, n.327, p.230-232, 2002.

DANISCO CULTOR. **Probiotic effect of *Lactobacillus acidophilus* 145**. 2000. 5p. [Catálogo Técnico].



DAVE, R.I.; SHAH, N.P. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. **International Dairy Journal**, v.7, n.1, p.31-41, 1997.

DERGAL, S.B. **Química de los Alimentos**. México: Alhambra Mexicana, 1981. 430p.

DIPLOCK, A.T.; AGGETT, P.J.; ASHWELL, M.; BORNET, F.; FERN, E.B.; ROBERFROID, M.B. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. **British Journal Nutrition**, v.81, n.4, p.S1-S27, 1999.

DJOUZI, Z., ANDRIEUX, C. Compared effects of three oligosaccharides on metabolism of intestinal microflora in rats inoculated with human faecal flora. **British Journal Nutrition**, v.78, n.2, p.313-324, 1997.

FENNEMA, O.R. **Introducción a la Ciencia de los Alimentos**. Barcelona: Reverté, 1982. 917p.

FERREIRA, A.C. Evolução e realidade da indústria de laticínios no Brasil. **Revista Leite e Derivados**, n.74, p.80-82, 2003.

FERREIRA, A.C. Breve história e perspectivas para a indústria de laticínios no Brasil. In.: SIMPÓSIO DE TECNOLOGIA DE PRODUTOS LÁCTEOS GERMINAL, 2, 2002, Angra dos Reis. **Anais...** Angra dos Reis: Germinal, 2002. p.23-30.

FERREIRA, C.L.L.F. Tecnologia para produtos lácteos funcionais: probióticos. In: PORTUGAL, J.A.B.; CASTRO, M.C.D.; SILVA, P.H.F.; SAVINO, A.C.; NEVES, B.S.; ARCURI, E.F. **O Agronegócio do Leite e os Alimentos Lácteos Funcionais**. Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 2001. 204p.

FERREIRA, C.L.L.F. Leite acidófilo: oito décadas de evolução. **Revista Leite e Derivados**, n.47, p.22-26, 1999.

FERREIRA, C.L.L.F. Valor nutritivo e bioterapêutico de leites fermentados. In: LERAYER, A.L.S.; SALVA, T.J.G., coords. **Leites Fermentados e Bebidas Lácteas**. Campinas: ITAL, 1997. p.1.1-1.7.

FIORAVANTE, P. Combinação de ingredientes em iogurtes. **Revista Flavors Magazine**, n.1, p.48-49, 2001.

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

FREITAS, D.D.G.C.; JACKIX, M.N.H. Estabilidade de fruto-oligossacarídeos adicionado em suco misto de laranja e cenoura. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18, 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBCTA, 2002. p.1.819-1.823.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **The Journal of Nutrition**, v.125, n.6, p.1401-1412, 1995.

GIBSON, G.R.; WANG, X. Bifidogenic properties of different types of fruto-oligosaccharides. **Food Microbiology**, v.11, n.6, p.491-498, 1994.

GILLILAND, S.E. Acidophilus milk products: a review of potencial benefits to consumers. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.10, p.2483-2495, 1989.

GIROTO, J.M.; PAWLOWSKY, U. Valorização de soro de leite em indústria de laticínios do Estado do Paraná. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18, 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBCTA, 2002. p.2933-2936.

GOLDIN, B.R. Health benefits of probiotics. **British Journal of Nutrition**, v.80, n.4, p.S203-S207, 1998.

GOMES A.M.P.; MALCATA, F.X. *Bifidobacterium spp.* and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends Food Science & Technology**, v.10, n.4-5, p.139-157, 1999.

GONZÁLEZ, S. Alimentos lácticos probióticos. In: LERAYER, A.L.S.; SALVA, T.J.G., coords. **Leites Fermentados e Bebidas Lácteas**. Campinas: ITAL, 1997. p.10.1-10.6.

GUEDES NETO, L.G.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; PENNA, C.F.A.M.; LEITE, M.O.; FONSECA, L.M.; SOUZA, M.R. Defeitos tecnológicos de leites fermentados. **Revista Leite e Derivados**, n.74, p.29-35, 2003.

HAQUE, A.; RICHARDSON, R.K.; MORRIS, E.R. Effect of fermentation temperature on the rheology of set and stirred yogurt. **Food Hydrocolloids**, v.15, p.593-602, 2001.



HATTINGH, A.L.; VILJOEN, B.C. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, v.11, n. 1-2, p.1-17, 2001.

HESS, S.J.; ROBERTS, R.F.; ZIEGLER, G.R. Rheological properties of nonfat yogurt stabilized using *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* producing exopolysaccharide or using commercial stabilizer systems. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.252-263, 1997.

HOLDSWORTH, S.D. Applicability of rheological models to the interpretation of flow and processing behavior of fluid food products. **Journal Texture Studies**, v.2, n.4, p.393-418, 1971.

HOPKINS, M.J.; CUMMINGS, J.H.; MACFARLANE, G.T. Inter-species differences in maximum specific growth rates and cell yields of bifidobacteria cultured on oligosaccharides and other simple carbohydrate sources. **Journal of Applied Microbiology**, v.85, n.2, p.381-386, 1998.

HUGUNIN, A. O uso de produtos de soro em iogurte e produtos lácteos fermentados. **Revista Leite e Derivados**, n.49, p.22-33, 1999.

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

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION - IDF STANDARD 306: 1995. **Detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus***: culture media. IDF/ISO Standard, 1995. 11p.

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

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

LAGRANGE, V.; DALLAS, P. Inovação de produto com concentrados de proteína de soro de leite dos USA. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.31, n.1, p.17-21, 1997.

LIMA, S.M.C.G.; MADUREIRA, F.C.P.; PENNA, A.L.B. Bebidas lácteas: nutritivas e refrescantes. **Revista Milkbuzz Tecnologia Temático Laticínios**, n.3, p.4 -11, 2002.



LEE, Y.K.; NOMOTO, K.; SALMINEN, S.; GORBACH, S.L. **Handbook of Probiotics**. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1999. 211p.

MAGALHÃES, F.A.R.; PORTO, M.A.C. **Análise Sensorial de Produtos Lácteos: Semana do Laticinista** – Instituto Cândido Tostes, Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 1997. 34p. [Apostila].

MARTINS, F.O.; MARTINS, C.A.O.; ANTUNES, V.C.; MOURA, C.J.R.; ROCHA, S.M.S.; FERREIRA, C.L.L.F. Elaboração de bebida láctea probiótica utilizando leite acidófilo. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.58, n.333, p.122-125, 2003.

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

MISTRY, V.V. Low fat fermented milk products. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18, 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBCTA, 2002. p.3918-3923.

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

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

MONTGOMERY, D.C. **Design and Analysis of Experiments**. New York.: John Wiley & sons, Inc., 2001. 684p.

MOSQUIM, M.C.A.V. Propriedades funcionais do soro de queijo. In.: ENCONTRO DIVITAL DE TECNOLOGIA DE LATICÍNIOS – APROVEITAMENTO TECNOLÓGICO/RACIONAL DE EFLUENTES DE LATICÍNIOS, 3, 1996, Viçosa. Viçosa: Ed. UFV, 1996. Não paginado.

NEVEN, E. Inulina e oligofrutose: ingredientes multifuncionais para o desenvolvimento de produtos lácteos. **Revista Leite e Derivados**, n.61, p.32-37, 2001.

NICOLAU, A.E.A.; OLSEN, S. Tendências e demandas tecnológicas em estabilização de fermentados. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.57, n.327, p.89-91, 2002.



ORAFTI. Orafti active ingredients: Application in fermented dairy products. 1999. p.1-10. [Catálogo Técnico].

OLIVEIRA, M.N.; DAMIN, M.R. Efeito 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, 18, 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBCTA, 2002. p.3015-3018.

OLIVEIRA, M.N.; SODINI, I.; REMEUF, F.; CORRIEU, G. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v.11, n.11-12, p.935-942, 2001.

PENNA, A.L.B. Probióticos e Saúde. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18, 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBCTA, 2002. p.4045-4047.

PENNA, A.L.B. **Efeito das gomas carragena, guar e xantana sobre as características reológicas e sensoriais de bebidas lácteas a base de iogurte e de soro.** 1999. 328f. Tese (doutorado em tecnologia bioquímico-farmacêutica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, São Paulo, 2000.

PENNA, A.L.B. **Parâmetros reológicos de gomas para a fabricação de bebidas lácteas à base de soro.** 1997. 128f. Monografia – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, São Paulo, 1997.

PEREIRA, M.A.G. **Efeito do teor de lactose e do tipo de cultura no processo de acidificação e pós-acidificação de iogurte.** 2002. 87f. Dissertação (mestrado em engenharia de alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas, 2002.

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

PINHEIRO, M.V.S. **Caracterização de iogurtes fabricados com edulcorantes, fermentados por cultura láctica probiótica.** 2003. 196f. Dissertação (mestrado em engenharia e ciência de alimentos) – IBILCE / UNESP, São José do Rio Preto, 2003.

PINHEIRO, M.V.S.; CASTRO, L.P.; HOFFMANN, F.L.; PENNA, A.L.B. Estudo comparativo de edulcorantes em iogurtes probióticos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.57, n.327, p.142-145, 2002.

PINTO, M.S.; MARTINS, J.M.; FERREIRA, C.L.L.F.; BARBOSA, I.N.; CUNHA, L.R.; PIRES, A.C.; SOUZA, J.G. Estudo da viabilidade de *Lactobacilli* em leites fermentados no mercado brasileiro. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.58, n.333, p.198-201, 2003.

PORTUGAL, J.A.B.; CASTRO, M.C.D.; SILVA, P.H.F. Introdução. In: PORTUGAL, J.A.B.; CASTRO, M.C.D.; SILVA, P.H.F.; SAVINO, A.C.; NEVES, B.S.; ARCURI, E.F. **O Agronegócio do Leite e os Alimentos Lácteos Funcionais**, Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 2001. 204p.

PUPIN, A.C. Legislação dos produtos lácteos funcionais. In: PORTUGAL, J.A.B.; CASTRO, M.C.D.; SILVA, P.H.F.; SAVINO, A.C.; NEVES, B.S.; ARCURI, E.F. **O Agronegócio do Leite e os Alimentos Lácteos Funcionais**. Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 2001. 204p.

RAO, V.A. The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. **Nutrition Research**, v.21, n.6, p.843-848, 2001.

RASIC, J.L.; KURMANN, J.A. **Yoghurt: Scientific Grounds, Technology, Manufacture and Preparations**. Switzerland: Staempfli & Cie AG, Berne, 1978. 423p.

RAWSON, H.L.; MARSHALL, V.M. Effect of ropy strains of *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* and *S. thermophilus* on rheology of stirred yogurt. **International Journal of Food Science and Technology**, v.32, p.213-220, 1997.

REIS, K.C.; CLEMENTE, M.G.; VALLE, R.H.P.; PEREIRA, J. Avaliação da qualidade de bebidas lácteas comercializadas no município de Lavras-MG. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18, 2002, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBCTA, 2002. p.3019-3022.

RICHARDS, N.S.P.S. Emprego racional do soro láctico. **Revista Indústria de Laticínios**, n.8, p.67-69, 1997.

ROHM, H.; KOVAC, A. Effects of starter cultures on linear viscoelastic and physical properties of yogurt gels. **Journal of Texture Studies**, v.25, p.311-329, 1994.

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

SANDERS, M.E. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v.8, n.5-6, p.341-347, 1998.

SANTOS, J.A. Tendências para iogurtes: ingredientes que dão um diferencial ao produto. **Revista Leite e Derivados**, n.63, p.48-53, 2002.

SANTOS, J.P.V.; FERREIRA, C.L.L.F. Alternativas para o aproveitamento de soro de queijo nos pequenos e médios laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.3, n., p.44-50, 2001.

SANTOS, W.C.; SOUZA, M.R.; CERQUEIRA, M.O.P.; GLÓRIA, M.B.A. Influência da temperatura na formação de amins bioativas por *Lactococcus lactis ssp. cremoris* e *Lactococcus lactis ssp. lactis*. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 57, n. 327, p.40-46, 2002.

SCHABARUM, V.; IMIANOVSKY, U.; VOLKMANN, H.; LOPEZ, M.C.; REITER, M.G.R. Análise físico-química, microbiológica e sensorial de iogurtes naturais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 58, n. 333, p.224-227, 2003.

SHELLHAASS, S.M.; MORRIS, H.A. Rheological and scanning electron microscopic examination of skim milk gels obtained by fermenting with ropy and non-ropy strains of lactic acid bacteria. **Food Microstructure**, v.4, p.279-287, 1985.

SEIBEL, N.F.; CANSIAN, R.L. Análise de diferentes concentrações de soro na produção de bebida Láctea. **Revista Leite e Derivados**, n.52, p.44-49, 2000.

SHAH, N.P. Functional foods from probiotics and prebiotics. **Food Technology**, v.55, n.11, p.46-53, 2001.

SHIHATA, A.; SHAH, N.P. Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v.10, n.5-6, p.401-408, 2000.

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

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

SILVA, P.H.F.; PEREIRA, D.B.C.; OLIVEIRA, L.L.; COSTA Jr.L.C.G. **Físico-Química do Leite e Derivados: Métodos Analíticos**. Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 1997. 190p.

SIQUEIRA, I.M.C.; SOUZA, M.R.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; GLÓRIA, M.B.A. Caracterização físico-química de quatro tipos de soro de queijo. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 57, n. 327, p.225-227, 2002.

SIVIERI, K. **Caracterização e otimização do uso de miméticos de gordura em bebidas lácteas**. 2002. 153f. Tese (doutorado em tecnologia bioquímico-farmacêutica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, São Paulo, 2002.

SIVIERI, K.; OLIVEIRA, M.N. Avaliação da vida de prateleira de bebidas lácteas preparadas com “fat replacers” (Litesse e Dairy-lo). **Ciência e Tecnologia Alimentar**, v.22, n.1, p.24-31, 2002.

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

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

TAMIME, A.Y. Qualidade de iogurte elaborado com substitutos de gordura. In: LERAYER, A.L.S.; SALVA, T.J.G., coords. **Leites Fermentados e Bebidas Lácteas**. Campinas: ITAL, 1997. p.11.1-11.32.

TEIXEIRA, N.M., FREITAS, A.F., BARRA, R.B. Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos no Estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2003, v.55, n.4, p.491-499.

TESHIMA, E.; FERREIRA, C.L.L.F.; SANTOS, F.L. Efeito do leite desnatado contendo *Bifidobacterium breve* na modulação da microbiota intestinal Murina. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 57, n. 327, p. 92-97, 2002.

TOMOMATSU, H. Health effects of oligosaccharides. **Food Technology**, v.48, n.10, p.61-65, 1994.

TRONCO, V.M. **Manual para Inspeção da Qualidade do Leite**. Santa Maria: Ed. UFSM, 1997. 166p.



USDEC – United States Dairy Export Council. **Manual de referência para produtos de soro dos E.U.A.** Arlington: USDEC, 1997. [Catálogo Técnico].

USHIJIMA, H.H. Oligossacarídeos e suas propriedades funcionais. **Revista Indústria de Laticínios**, n.34, p.23-25, 2001.

VARNAN, A.H.; SUTHERLAND, J.P. **Leche y Productos Lácteos. Tecnología, Química y Microbiología.** Zaragoza: Acribia, 1994. 476p.

VIEIRA, P. Legislação e mercado apressam a implantação de sistemas de gestão ambiental. **Revista Leite e Derivados**, n.52, p.26-36, 2000.

VILELA, S.C. Rendimento na fabricação de queijos. In.: SEMINÁRIO REGIONAL: TECNOLOGIA DE PRODUTOS LÁCTEOS, 2003, São José do Rio Preto. São José do Rio Preto: Chr. Hansen, 2003.

VINDEROLA, C.G.; BAILO, N.; REINHEIMER, J.A. Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurts during refrigerated storage. **Food Research International**, v.33, n.2, p.97-102, 1999.

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

ZUBILLAGA, M.; WEILL, R.; POSTAIRE, E.; GOLDMAN, C.; CARO, R.; BOCCIO, J. Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. **Nutrition Research**, v.21, n. 3, p.569-579, 2001.

Apêndice 3 – Análise de variância para os dados experimentais do teor de gordura das bebidas lácteas.

Desvio padrão	0,0058
Erro padrão da média	0,0053
Média geral	0,3497
Coefficiente de variação	1,67

Causas de Variação	Grau de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	0,2700	0,0245	736,36**
Resíduo	24	0,0008	0,0000	
Total	35	0,2708		

** Nível de significância 1%.

APÊNDICE

Apêndice 1 - Análise de variância para os dados experimentais de pH da bebidas lácteas.

Desvio padrão	0,0041
Erro padrão da média	0,0024
Média geral	4,6281
Coeficiente de variação	0,09

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	0,0006	0,0001	3,08**
Resíduo	24	0,0004	0,0000	
Total	35	0,0010		

** Nível de significância 1%.

Apêndice 2 – Análise de variância para os dados experimentais da acidez titulável das bebidas lácteas.

Desvio padrão	0,0577
Erro padrão da média	0,0333
Média geral	52,3833
Coeficiente de variação	0,11

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	8,7500	0,7955	238,64**
Resíduo	24	0,0800	0,0033	
Total	35	8,8300		

** Nível de significância 1%.

Apêndice 3 – Análise de variância para os dados experimentais do teor de gordura das bebidas lácteas.

Desvio padrão	0,0058
Erro padrão da média	0,0033
Média geral	0,3467
Coeficiente de variação	1,67

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	0,2700	0,0245	736,36**
Resíduo	24	0,0008	0,0000	
Total	35	0,2708		

** Nível de significância 1%.

Apêndice 4 – Análise de variância para os dados experimentais do teor de proteínas das bebidas lácteas.

Desvio padrão	0,0652
Erro padrão da média	0,0376
Média geral	2,0735
Coefficiente de variação	3,14

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	0,5208	0,0473	11,15**
Resíduo	24	0,1019	0,0042	
Total	35	0,6228		

** Nível de significância 1%.

Apêndice 5 – Análise de variância para os dados experimentais do teor de cinzas das bebidas lácteas.

Desvio padrão	0,0349
Erro padrão da média	0,0202
Média geral	0,6028
Coefficiente de variação	5,79

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	0,0488	0,0044	3,64**
Resíduo	24	0,0292	0,0012	
Total	35	0,0780		

** Nível de significância 1%.

Apêndice 6 – Análise de variância para os dados experimentais do teor de sólidos totais das bebidas lácteas.

Desvio padrão	0,0834
Erro padrão da média	0,0481
Média geral	16,0793
Coefficiente de variação	0,52

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	32,6987	2,9726	427,75**
Resíduo	24	0,1668	0,0069	
Total	35	32,8655		

** Nível de significância 1%.

Apêndice 7 – Análise de variância para os dados experimentais da contagem de *Streptococcus thermophilus* das bebidas lácteas.

Desvio padrão	$2,8 \times 10^{10}$
Erro padrão da média	$2,0 \times 10^{10}$
Média geral	$1,9 \times 10^{11}$
Coefficiente de variação	$1,5 \times 10^1$

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	$1,6 \times 10^{15}$	$1,5 \times 10^{14}$	182,78**
Resíduo	12	$9,5 \times 10^{12}$	$7,9 \times 10^{11}$	
Total	23	$1,6 \times 10^{15}$		

** Nível de significância 1%.

Apêndice 8 – Análise de variância para os dados experimentais da contagem de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* das bebidas lácteas.

Desvio padrão	$1,3 \times 10^{10}$
Erro padrão da média	$9,0 \times 10^9$
Média geral	$2,0 \times 10^{10}$
Coefficiente de variação	$6,4 \times 10^1$

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	$1,7 \times 10^{15}$	$1,5 \times 10^{14}$	9,28**
Resíduo	12	$2,0 \times 10^{14}$	$1,6 \times 10^{13}$	
Total	23	$1,9 \times 10^{15}$		

** Nível de significância 1%.

Apêndice 9 – Análise de variância para os dados experimentais da contagem de *Bifidobacterium* spp. das bebidas lácteas.

Desvio padrão	$7,3 \times 10^7$
Erro padrão da média	$5,1 \times 10^7$
Média geral	$8,9 \times 10^7$
Coefficiente de variação	$8,1 \times 10^1$

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	$6,2 \times 10^{12}$	$5,6 \times 10^{11}$	10,66**
Resíduo	12	$6,3 \times 10^{11}$	$5,3 \times 10^{10}$	
Total	23	$6,8 \times 10^{12}$		

** Nível de significância 1%.



Apêndice 10 – Análise de variância para os dados experimentais da contagem de *Lactobacillus acidophilus* das bebidas lácteas.

Desvio padrão	9,5 x 10 ⁹
Erro padrão da média	6,8 x 10 ⁹
Média geral	1,5 x 10 ¹⁰
Coefficiente de variação	6,2 x 10 ¹

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	2,2 x 10 ¹⁵	2,0 x 10 ¹⁴	22,26**
Resíduo	12	1,1 x 10 ¹⁴	9,1 x 10 ¹²	
Total	23	2,3 x 10 ¹⁵		

** Nível de significância 1%.

Apêndice 11 – Análise de variância para os dados experimentais do atributo aparência e cor das bebidas lácteas.

Desvio padrão	0,7739
Erro padrão da média	0,1094
Média geral	4,0283
Coefficiente de variação	19,21

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	66,3783	6,0344	10,08**
Resíduo	588	352,1400	0,5989	
Total	599	418,5183		

** Nível de significância 1%.

Apêndice 12 – Análise de variância para os dados experimentais do atributo consistência das bebidas lácteas.

Desvio padrão	0,7727
Erro padrão da média	0,1093
Média geral	4,0150
Coefficiente de variação	19,25

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	73,7650	6,7059	11,23**
Resíduo	588	351,1000	0,5971	
Total	599	424,8650		

** Nível de significância 1%.

Apêndice 13 – Análise de variância para os dados experimentais do atributo sabor e aroma das bebidas lácteas.

Desvio padrão	0,7769
Erro padrão da média	0,1099
Média geral	3,9917
Coefficiente de variação	19,46

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	72,0983	6,5544	10,86**
Resíduo	588	354,8600	0,6035	
Total	599	426,9583		

** Nível de significância 1%.

Apêndice 14 – Análise de variância para os dados experimentais do atributo aceitabilidade geral das bebidas lácteas.

Desvio padrão	0,7694
Erro padrão da média	0,1088
Média geral	3,9767
Coefficiente de variação	19,35

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	73,5933	6,6903	11,30**
Resíduo	588	348,0800	0,5920	
Total	599	421,6733		

** Nível de significância 1%.

Apêndice 15 – Análise de variância para os dados experimentais do índice de consistência (K) ascendente das bebidas lácteas.

Desvio padrão	0,1219
Erro padrão da média	0,0862
Média geral	1,0480
Coefficiente de variação	11,63

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	4,9902	0,4537	30,52**
Resíduo	12	0,1784	0,0149	
Total	23	5,1686		

** Nível de significância 1%.



Apêndice 16 – Análise de variância para os dados experimentais do índice de comportamento de fluxo (n) ascendente das bebidas lácteas.

Desvio padrão	0,0130
Erro padrão da média	0,0092
Média geral	0,4435
Coefficiente de variação	2,94

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	0,0805	0,0073	43,03**
Resíduo	12	0,0020	0,0002	
Total	23	0,0825		

** Nível de significância 1%.

Apêndice 17 – Análise de variância para os dados experimentais do índice de consistência (K) descendente das bebidas lácteas.

Desvio padrão	0,0110
Erro padrão da média	0,0078
Média geral	0,0958
Coefficiente de variação	11,45

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	0,0892	0,0081	67,39**
Resíduo	12	0,0014	0,0001	
Total	23	0,0907		

** Nível de significância 1%.

Apêndice 18 – Análise de variância para os dados experimentais do índice de comportamento de fluxo (n) descendente das bebidas lácteas.

Desvio padrão	0,0197
Erro padrão da média	0,0139
Média geral	0,7588
Coefficiente de variação	2,60

Causas de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	Fator F
Tratamentos	11	0,0978	0,0089	22,90**
Resíduo	12	0,0047	0,0004	
Total	23	0,1025		

** Nível de significância 1%.



