



CENTRO UNIVERSITÁRIO UNIVATES  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*  
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA

**APLICAÇÃO DE SORO DE RICOTA NA ELABORAÇÃO DE BEBIDA  
LÁCTEA FERMENTADA FUNCIONAL**

Cláudia Schlabit

Lajeado, março de 2014

Cláudia Schlabit

## **APLICAÇÃO DE SORO DE RICOTA NA ELABORAÇÃO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA FUNCIONAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, do Centro Universitário UNIVATES, como parte da exigência para a obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia, na linha de pesquisa Biotecnologia na Produção Industrial de Alimentos.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lucélia Hoehne

Co-orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cláudia F. V. de Souza

Lajeado, março de 2014

## **AGRADECIMENTOS**

Quero agradecer a todos aqueles que acreditaram em mim sempre, mesmo quando eu mesma já não acreditava.

Aos meus pais Reinhard e Neusa, por sempre se mostrarem dispostos a apoiar e incentivar meu crescimento profissional e que sempre trabalharam pensando no meu futuro antes de pensar no seu.

Ao meu companheiro Mauricio, que soube entender minhas dificuldades e ausências, que passou noites e madrugadas comigo no laboratório e que sempre motivou a continuar.

Às minhas orientadoras, professoras Lucélia Hoehne e Cláucia F. V. de Souza, pela orientação, valorização do trabalho, confiança, paciência e atenção dedicada durante a realização deste trabalho.

À professora Dr.<sup>a</sup> Márcia I. Goetttert, pelo auxílio e atenção durante a realização deste trabalho.

À professora Dr.<sup>a</sup> Simone Stülp, pelo auxílio nas análises voltamétricas.

André e Carla por todo o auxílio, compartilhamento de experiências e oportunidade de trabalho conjunto.

Aos bolsistas Adriano, Júlio, Laís, Maira, Jordana e Taciélen pela amizade, auxílio nas análises laboratoriais, empenho, interesse e eficiência na execução de suas atividades.

Aos laboratoristas Amanda, Bruna, Gabriel, Marina e Raquel pelo atencioso tratamento dispensado.

Aos professores e colegas do PPGBiotec pelas oportunidades de aprendizado e troca de experiências.

E a todos que contribuíram direta ou indiretamente neste trabalho.

## RESUMO

As indústrias de laticínios geram grande quantidade de resíduos, principalmente o soro de queijo e de ricota, que são altamente poluentes. A utilização do soro de ricota para a produção de bebidas lácteas transforma este resíduo em matéria-prima, agregando valor e diminuindo custos de tratamento do efluente gerado. A adição de substâncias que venham a atribuir características funcionais pode tornar a bebida láctea mais atrativa ao consumidor. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi elaborar uma bebida láctea fermentada funcional com incorporação de soro de ricota, prebióticos(s), probióticos(s) e antioxidante(s), possibilitando a redução da quantidade de soro incorporado às águas residuárias dos laticínios da região. Para isso, foram produzidas bebidas lácteas conforme delineamento fatorial completo  $2^2$ , com 2 variáveis independentes em dois níveis equidistantes (-1 e +1), três repetições no ponto central (nível 0) acrescido de 4 pontos axiais ( $-\alpha$  e  $+\alpha$ ), onde  $\alpha = \pm (2^n)^{1/4}$ , sendo  $n$  o número de variáveis independentes. As concentrações de soro de ricota e leite em pó foram as duas variáveis avaliadas em 5 níveis (-1,41, -1, 0, +1, +1,41) resultando em 11 amostras. As formulações foram submetidas a análises de pH, acidez, proteína, gordura, açúcares redutores, cinzas e minerais, perfil reológico, avaliação sensorial e contagem de coliformes a 36° e a 45°C e dos grupos específicos de bactérias lácticas (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. *lactis* e *Streptococcus thermophilus*). Após a análise sensorial, a formulação mais aceita foi determinada por metodologia de superfície de resposta para preparo das formulações com antioxidantes. Nesta segunda etapa do estudo, foram preparadas 5 formulações contendo vitamina C, E e/ou resveratrol e estas foram avaliadas durante 45 dias para determinação da atividade antioxidante. Os resultados obtidos na primeira etapa mostram ser possível a elaboração de bebida láctea fermentada prebiótica e probiótica com até 70% de soro de ricota, atendendo a legislação vigente (IN nº 16 de 23 de agosto de 2005) e com resultados satisfatórios na análise sensorial, com índice de aceitabilidade superior a 70% em todas as formulações produzidas conforme planejamento experimental. Desta forma, a bebida láctea se mostrou uma forma viável para a utilização de soro de ricota como matéria-prima, diminuindo o efluente gerado em laticínios e, conseqüentemente, reduzindo gastos com seu tratamento e o impacto ambiental gerado pelo seu descarte inadequado. Ainda, na segunda etapa do estudo, a elaboração de bebida láctea com adição de substâncias antioxidantes mostrou que a vitamina C possui maior capacidade antioxidante, além de manter-se mais estável em relação ao resveratrol, à vitamina E e sua combinação. Os testes realizados através de voltametria cíclica não possibilitaram que a melhor condição fosse obtida. Nas duas metodologias utilizadas, a complexidade da matriz dificultou a análise dos resultados. Desta forma, mais estudos são necessários para verificar a atividade antioxidante deste tipo de amostra.

**Palavras-chave:** bebida láctea fermentada, análises físico-químicas, análises microbiológicas, análise sensorial, atividade antioxidante.

## ABSTRACT

The dairy industries generate a large quantities of waste, especially cheese whey and ricotta cheese whey, which are very pollutants. The use of ricotta cheese whey for the fermented dairy beverages production turns this waste into raw material adding value and decreasing cost of wastewater treatment. The addition of substances with functional features can make fermented milk beverages more attractive to consumers. Thus, the objective of this work was preparing a functional fermented dairy beverage with functional incorporation of ricotta cheese whey, prebiotic(s), probiotic(s) and antioxidant(s), enabling the reduction of the amount of whey incorporated into the dairy wastewater. For this, fermented milk beverages were produced by a full  $2^2$  factorial design with 2 independent variables in two equidistant levels (-1 and +1), three replicates at the center point (level 0) and 4 axial points ( $-\alpha$  +  $\alpha$ ), being  $\alpha = \pm (2n)^{1/4}$  and  $n$  the number of independent variables. Ricotta cheese whey concentrations and powder milk were the two variables evaluated in 5 levels (-1.41, -1, 0, +1, +1.41) resulting in 11 samples. The formulations were subjected to analysis of pH, acidity, protein, fat, reducing sugars, ash and minerals, rheological profile, sensory analysis and enumeration of coliforms at 36° and 45° C and specific groups of lactic acid bacteria (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* and *Streptococcus thermophilus*). After the sensory analysis, the best formulation was determined by response surface methodology for preparation of formulations with antioxidants. In the second 5 formulations containing vitamin C, vitamin E and/or resveratrol were prepared and the antioxidant was evaluated for 45 days. The results obtained in the first stage of the study show that is possible a preparation of a prebiotic and probiotic fermented dairy beverage prebiotic and probiotic containing up to 70 % ricotta cheese whey, according to current legislation (IN No. 16 of August 23, 2005) and with satisfactory results in the sensory analysis, with acceptability index over 70% in all formulations produced as experimental design. Thus, the milk drink proved to be a viable way to use ricotta cheese whey, reducing the effluent generated at dairy industries, consequently, reducing spending on his treatment and environmental impact generated by inappropriate disposal. Also, in the second stage of the study, the dairy drink with antioxidants showed that vitamin C has greater antioxidant capacity and remain more stable compared to resveratrol, vitamin E and their combination. Tests conducted by cyclic voltammetry did not allow that the best condition was reached. The complexity of the matrix difficult to analyze the results in the two experimental methodologies. Thus, further studies are needed to verify the antioxidant activity of this type of sample.

**Keywords:** fermented dairy beverage, physico-chemical analysis, microbiological analysis, sensory analysis, antioxidant activity.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 – Fluxograma de fabricação de bebida láctea fermentada.....                                                                                     | 24 |
| Figura 2 – Formas radicalar (1) e não radicalar (2) do DPPH.....                                                                                         | 37 |
| Figura 3 – Planejamento dos experimentos.....                                                                                                            | 41 |
| Figura 4 – Fluxograma do processo de elaboração das 11 amostras de bebida láctea.....                                                                    | 44 |
| Figura 5 – Pesagem dos componentes sólidos.....                                                                                                          | 44 |
| Figura 6 – Pasteurização da mistura.....                                                                                                                 | 45 |
| Figura 7 – Curva de crescimento da cultura BioRich.....                                                                                                  | 58 |
| Figura 8 – Resultados da determinação de açúcares redutores.....                                                                                         | 67 |
| Figura 9 - Variação da acidez nas 11 formulações produzidas.....                                                                                         | 71 |
| Figura 10 – Resultados das análises de índice de sedimentação das bebidas lácteas fermentadas durante o armazenamento.....                               | 79 |
| Figura 11 – Resultados das análises de índice de sinerese das bebidas lácteas fermentadas durante o armazenamento.....                                   | 80 |
| Figura 12 – Gráfico das contagens das bactérias lácticas no primeiro dia de estocagem.....                                                               | 85 |
| Figura 13 – Gráfico das contagens das bactérias lácticas no 7º dia de estocagem.....                                                                     | 86 |
| Figura 14 – Gráfico das contagens das bactérias lácticas no 14º dia de estocagem.....                                                                    | 86 |
| Figura 15 – Gráfico das contagens das bactérias lácticas no 28º dia de estocagem.....                                                                    | 86 |
| Figura 16 – Gráfico das contagens das bactérias lácticas no 45º dia de estocagem.....                                                                    | 87 |
| Figura 17 – Reograma da formulação K nos 3 períodos analisados.....                                                                                      | 92 |
| Figura 18 – Índice de aceitabilidade (%)* das formulações.....                                                                                           | 96 |
| Figura 19 – Superfície de contorno mostrando a melhor condição das variáveis soro de ricota e leite em pó com base na avaliação da aceitação global..... | 98 |

|                                                                                                          |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 20 – Porcentagem de atividade antioxidante da formulação Controle durante o armazenamento.....    | 99  |
| Figura 21 – Porcentagem de atividade antioxidante da formulação AA durante o armazenamento*.....         | 100 |
| Figura 22 – Porcentagem de atividade antioxidante da formulação AB durante o armazenamento*.....         | 100 |
| Figura 23 – Porcentagem de atividade antioxidante da formulação AC durante o armazenamento*.....         | 101 |
| Figura 24 – Porcentagem de atividade antioxidante da formulação AD durante o armazenamento*.....         | 101 |
| Figura 25 – Porcentagem de atividade antioxidante da formulação AE durante o armazenamento*.....         | 102 |
| Figura 26 – Capacidade de Inibição (CI <sub>50</sub> ) das formulações adicionadas de antioxidantes..... | 103 |
| Figura 27 - Gráfico de viscosidade aparente <i>versus</i> taxa de cisalhamento da formulação A.....      | 129 |
| Figura 28 - Gráfico de viscosidade aparente <i>versus</i> taxa de cisalhamento da formulação B.....      | 129 |
| Figura 29 - Gráfico de viscosidade aparente <i>versus</i> taxa de cisalhamento da formulação C.....      | 130 |
| Figura 30 - Gráfico de viscosidade aparente <i>versus</i> taxa de cisalhamento da formulação D.....      | 130 |
| Figura 31 - Gráfico de viscosidade aparente <i>versus</i> taxa de cisalhamento da formulação E.....      | 131 |
| Figura 32 - Gráfico de viscosidade aparente <i>versus</i> taxa de cisalhamento da formulação F.....      | 131 |
| Figura 33 - Gráfico de viscosidade aparente <i>versus</i> taxa de cisalhamento da formulação G.....      | 132 |
| Figura 34 - Gráfico de viscosidade aparente <i>versus</i> taxa de cisalhamento da formulação H.....      | 132 |
| Figura 35 - Gráfico de viscosidade aparente <i>versus</i> taxa de cisalhamento da formulação I.....      | 133 |

|                                                                                                                                                                             |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 36 - Gráfico de viscosidade aparente <i>versus</i> taxa de cisalhamento da formulação J.....                                                                         | 133 |
| Figura 37 - Gráfico de viscosidade aparente <i>versus</i> taxa de cisalhamento da formulação K.....                                                                         | 134 |
| Figura 38 - Reograma da formulação A nos 3 períodos analisados.....                                                                                                         | 135 |
| Figura 39 - Reograma da formulação B nos 3 períodos analisados.....                                                                                                         | 135 |
| Figura 40 - Reograma da formulação C nos 3 períodos analisados.....                                                                                                         | 136 |
| Figura 41 - Reograma da formulação D nos 3 períodos analisados.....                                                                                                         | 136 |
| Figura 42 - Reograma da formulação E nos 3 períodos analisados.....                                                                                                         | 137 |
| Figura 44 - Reograma da formulação F nos 3 períodos analisados.....                                                                                                         | 137 |
| Figura 45 - Reograma da formulação G nos 3 períodos analisados.....                                                                                                         | 138 |
| Figura 46 - Reograma da formulação H nos 3 períodos analisados.....                                                                                                         | 138 |
| Figura 47 - Reograma da formulação I nos 3 períodos analisados.....                                                                                                         | 139 |
| Figura 48 - Reograma da formulação J nos 3 períodos analisados.....                                                                                                         | 139 |
| Figura 49 - Reograma da formulação K nos 3 períodos analisados.....                                                                                                         | 140 |
| Figura 50 – Voltamograma cíclico do eletrodo de carbono vítreo em bebida láctea tamponada (pH 4) com e sem adição de resveratrol 12 mg/L.....                               | 142 |
| Figura 51 – Voltamograma cíclico do eletrodo de carbono vítreo em bebida láctea tamponada (pH 4) com e sem adição de resveratrol 30 mg/L.....                               | 142 |
| Figura 52 – Voltamograma cíclico do eletrodo de carbono vítreo em bebida láctea tamponada (pH 4) com e sem adição de vitamina E 75 mg/L.....                                | 143 |
| Figura 53 – Voltamograma cíclico do eletrodo de carbono vítreo em bebida láctea tamponada (pH 4) com e sem adição de resveratrol 30 mg/L e/ou vitamina E 75 mg/L.....       | 143 |
| Figura 54 – Voltamograma cíclico do eletrodo de carbono vítreo em bebida láctea tamponada (pH 4) com e sem adição de vitamina C 450 mg/L e/ou vitamina E 75 mg/L.....       | 144 |
| Figura 55 – Voltamograma cíclico do eletrodo de carbono vítreo em bebida láctea tamponada (pH 4) com e sem adição de resveratrol 12 mg/L diluída em tampão pH 4 (1:10)..... | 144 |

## **LISTA DE QUADROS**

|                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------|----|
| Quadro 1 – Critérios microbiológicos de bebidas lácteas fermentadas..... | 23 |
| Quadro 2 – Periodicidade das análises realizadas.....                    | 45 |
| Quadro 3 – Metodologias utilizadas nas análises.....                     | 46 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 – Composição química do soro de ricota.....                                                                      | 21 |
| Tabela 2 – Delineamento experimental das amostras com as concentrações de soro de ricota e leite em pó.....               | 42 |
| Tabela 3 – Composição das 11 formulações.....                                                                             | 43 |
| Tabela 4 – Formulações de bebida láctea preparadas com antioxidantes.....                                                 | 56 |
| Tabela 5 – Resultados da composição centesimal das bebidas lácteas fermentadas.....                                       | 59 |
| Tabela 6 – Resultados das análises de acidez das bebidas lácteas fermentadas durante o armazenamento.....                 | 69 |
| Tabela 7 – Resultados das análises de pH das bebidas lácteas fermentadas durante o armazenamento.....                     | 73 |
| Tabela 8 – Resultados das análises de atividade de água (Aw) das bebidas lácteas fermentadas durante o armazenamento..... | 77 |
| Tabela 9 – Resultados das quantificações de minerais nas 11 formulações elaboradas.....                                   | 82 |
| Tabela 10 – Resultados das análises microbiológicas de <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....                             | 84 |
| Tabela 11 – Resultados das análises microbiológicas de <i>Streptococcus thermophilus</i> .....                            | 84 |
| Tabela 12 – Resultados das análises microbiológicas de <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> .....                      | 85 |
| Tabela 13 – Viscosidade aparente das formulações obtidas em viscosímetro de Brookfield.....                               | 90 |
| Tabela 14 – Resultados médios das análises sensoriais das bebidas lácteas fermentadas nos diferentes atributos.....       | 94 |
| Tabela 15 – Distribuição de frequência (em %) da intenção de compra das bebidas lácteas fermentadas.....                  | 96 |

|                                                                                                                                         |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 16 – Formulação de acordo com a melhor condição para soro de ricota e leite em pó com base na avaliação da aceitação global..... | 99  |
| Tabela 17 – Capacidade de Inibição (CI <sub>50</sub> ) das formulações adicionadas de antioxidantes.....                                | 103 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                          |                                                     |
|--------------------------|-----------------------------------------------------|
| <i>S. thermophilus</i> – | <i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i> |
| Ag –                     | Prata                                               |
| AgCl                     | Cloreto de prata                                    |
| ATP –                    | Adenosina trifosfato                                |
| <i>B. lactis</i> –       | <i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i>       |
| Brila –                  | Caldo Bile Verde Brilhante                          |
| CI <sub>50</sub> –       | Capacidade de inibição                              |
| DBO –                    | Demanda bioquímica de oxigênio                      |
| DPPH –                   | 2,2-difenil-1-picril-hidrazil                       |
| DQO –                    | Demanda química de oxigênio                         |
| <i>EC</i> –              | <i>Escherichia coli</i>                             |
| FOS –                    | Fruto-oligossacarídeo                               |
| IA –                     | Índice de Aceitabilidade                            |
| KCl –                    | Cloreto de potássio                                 |
| <i>L. acidophilus</i> –  | <i>Lactobacillus acidophilus</i>                    |
| <i>L. bulgaricus</i> –   | <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>  |
| M –                      | Molar                                               |
| MRS –                    | Man, Rogosa and Sharpe                              |
| NADH –                   | Dinucleotídeo de adenina nicotinamida               |
| pH –                     | Potencial hidrogeniônico                            |
| TCLE –                   | Termo de Consentimento Livre e Esclarecido          |
| UFC –                    | Unidades formadoras de colônia                      |
| VRBA –                   | Violet Red Bile Agar                                |

## SUMÁRIO

|                                                                                      |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO.....</b>                                                             | <b>15</b> |
| <b>2 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>                                                    | <b>18</b> |
| <b>2.1 A indústria de laticínios e a geração de efluentes.....</b>                   | <b>18</b> |
| <b>3.2 Soro de queijo e soro de ricota .....</b>                                     | <b>19</b> |
| 2.2.1 Soro de queijo.....                                                            | 19        |
| 2.2.2 Soro de ricota.....                                                            | 20        |
| 2.2.3 O soro de queijo e de ricota como subproduto.....                              | 21        |
| <b>2.3 Bebidas lácteas fermentadas.....</b>                                          | <b>22</b> |
| <b>2.4 Fermentação láctica e as bactérias lácticas.....</b>                          | <b>27</b> |
| 2.4.1 Cultivos iniciadores.....                                                      | 28        |
| <b>2.5 Alimentos funcionais.....</b>                                                 | <b>29</b> |
| 2.5.1 Prebióticos.....                                                               | 31        |
| 2.5.2 Probióticos.....                                                               | 31        |
| 2.5.3 Simbióticos.....                                                               | 33        |
| 2.5.4 Antioxidantes.....                                                             | 34        |
| 2.5.4.1 Determinação da atividade antioxidante.....                                  | 36        |
| <b>2.6 A importância da avaliação do <i>shelf life</i>.....</b>                      | <b>39</b> |
| <b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                                                     | <b>40</b> |
| <b>3.1 Equipamentos para desenvolvimento do produto e controle de qualidade.....</b> | <b>40</b> |
| <b>3.2 Obtenção do soro de ricota.....</b>                                           | <b>40</b> |
| <b>3.3 Desenvolvimento da bebida láctea fermentada.....</b>                          | <b>40</b> |
| <b>3.4 Avaliação da vida de prateleira.....</b>                                      | <b>45</b> |
| 3.4.1 Determinação do pH.....                                                        | 47        |

|                                                                                                                  |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.4.2 Atividade de água.....                                                                                     | 47        |
| 3.4.3 Acidez.....                                                                                                | 47        |
| 3.4.4 Proteínas.....                                                                                             | 47        |
| 3.4.5 Lipídios.....                                                                                              | 48        |
| 3.4.6 Extrato seco e resíduo mineral.....                                                                        | 50        |
| 3.4.7 Carboidratos totais.....                                                                                   | 51        |
| 3.4.8 Açúcares redutores.....                                                                                    | 51        |
| 3.4.9 Sinerese.....                                                                                              | 51        |
| 3.4.10 Sedimentação.....                                                                                         | 52        |
| 3.4.11 Minerais.....                                                                                             | 52        |
| 3.4.12 Determinações reológicas.....                                                                             | 53        |
| 3.4.13 Parâmetros microbiológicos.....                                                                           | 53        |
| <b>3.5 Análise sensorial.....</b>                                                                                | <b>54</b> |
| <b>3.6 Atividade antioxidante.....</b>                                                                           | <b>56</b> |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                                                                             | <b>58</b> |
| <b>4.1 Escolha da cultura láctica e determinação do tempo de incubação do inóculo.....</b>                       | <b>58</b> |
| <b>4.2 Determinações do <i>shelf-life</i> das formulações preparadas conforme planejamento experimental.....</b> | <b>59</b> |
| 4.2.1 Extrato seco.....                                                                                          | 61        |
| 4.2.2 Teor de cinzas.....                                                                                        | 62        |
| 4.2.3 Proteínas.....                                                                                             | 63        |
| 4.2.4 Lipídios.....                                                                                              | 65        |
| 4.2.5 Carboidratos.....                                                                                          | 67        |
| 4.2.6 Acidez.....                                                                                                | 68        |
| 4.2.7 pH.....                                                                                                    | 71        |
| 4.2.8 Atividade de água.....                                                                                     | 76        |
| 4.2.9 Sedimentação e sinerese.....                                                                               | 78        |
| 4.2.10 Quantificação de minerais.....                                                                            | 82        |
| 4.2.11 Contagem de micro-organismos.....                                                                         | 83        |
| 4.2.11.1 Contagem de coliformes.....                                                                             | 83        |
| 4.2.12.2 Contagem de bactérias lácticas.....                                                                     | 83        |
| 4.2.12 Viscosidade.....                                                                                          | 89        |
| 4.2.13 Análise sensorial.....                                                                                    | 93        |

|                                                                                   |            |
|-----------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>4.3 Avaliação da atividade antioxidante.....</b>                               | <b>98</b>  |
| 4.3.1 Atividade antioxidante avaliada através do método do sequestro do DPPH..... | 98         |
| 4.3.2 Atividade antioxidante avaliada através da voltametria cíclica.....         | 104        |
| <b>5 CONCLUSÃO.....</b>                                                           | <b>105</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                                           | <b>108</b> |
| <b>APÊNDICES.....</b>                                                             | <b>126</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A atividade das indústrias de laticínios pode causar impactos ambientais em função da geração de efluentes líquidos com elevada carga orgânica, principalmente o soro de queijo. Há alguns anos este era considerado inaproveitável, sendo utilizado na alimentação animal ou, simplesmente, eliminado através de esgotos. Em busca de redução dos custos de tratamento deste efluente, foram criados produtos que possibilitassem a utilização do soro de queijo, transformando-o em matéria-prima (TEIXEIRA, 2002).

Segundo dados divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2013), em 2012 foram captados pelas indústrias 22,338 bilhões de litros em todo o país, sendo o estado do Rio Grande do Sul o segundo maior captador. Conforme a Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ, 2013), a produção de queijos inspecionados cresceu 245 mil toneladas de 2000 a 2010 e, conseqüentemente, a produção de soro de queijo, uma vez que para cada quilograma de queijo produzido são gerados em média 9 litros de soro de queijo (ANTUNES, 2003). Esta quantidade expressiva leva à busca por uma melhor utilização do soro de queijo.

A produção de ricota, uma das alternativas encontradas para melhor aproveitamento do soro de queijo, tem como subproduto o soro de ricota, cuja carga poluente ainda é elevada em função da grande concentração de lactose (cerca de 30.000 a 50.000 ppm de demanda bioquímica de oxigênio – DBO – e 80.000 mg/L de demanda química de oxigênio – DQO). A utilização deste resíduo como ingrediente em outros produtos, assim como é feito com o soro de queijo, é uma solução viável para a diminuição do resíduo gerado e, conseqüentemente, redução do custo de produção.

O aproveitamento do soro de queijo para produção de bebida láctea vem se tornando cada vez mais comum, fato que se comprova nos balcões dos supermercados, onde existe uma grande variedade deste tipo de produto. Por possuir alto teor de lactose, o soro de ricota pode ser facilmente fermentado, constituindo-se assim uma matéria-prima acessível para elaboração de bebidas fermentadas. Apesar de vários autores brasileiros terem estudado formas de utilização biotecnológica do soro de queijo (ALMEIDA et al. 2001; THAMER e PENNA, 2006; KRÜGER et al. 2008; MADRONA et al. 2009; MENESES, 2011; CASTRO, 2012), a avaliação de possibilidades de aproveitamento do soro de ricota é escassa.

A bebida láctea tem uma imagem saudável, sendo considerada um produto nutritivo e de baixo custo. Os produtos lácteos fermentados tem ampla aceitação devido às suas propriedades organolépticas e um baixo custo de produção para o fabricante, o que resulta em um menor preço final para o consumidor (LUIZ, 2008). Desta forma, justifica-se o estudo de sua produção também com soro de ricota.

Os alimentos simbióticos – que contêm prebióticos e probióticos – já são bastante difundidos; o consumidor conhece seus benefícios e busca produtos com esta propriedade. Já os antioxidantes, como vitamina C e vitamina E, utilizados anteriormente como auxiliares na conservação de determinados produtos, estão entrando neste mercado devido a sua capacidade de auxiliar na prevenção de doenças e no rejuvenescimento celular. A capacidade de inativação de radicais livres destes e outros antioxidantes em estudos mais recentes, como o resveratrol – presente em algumas plantas, na casca da uva, amendoim, castanhas, etc. –, tem atraído o interesse de estudiosos devido a seu potencial antioxidante, anti-inflamatório, antiagregante plaquetário, antimutagênico, anticancerígeno, cardioprotetor e fortalecedor do sistema imunitário e efeitos antienvhecimento. Consideram-se, assim, alimentos funcionais também aqueles que possuem antioxidantes (VELEZ-MARIN et al. 2012; OOMEN et al. 2009; MATOS et al. 2012; FERNANDES, 2006).

Ainda, diversos micro-organismos são utilizados na fabricação de bebidas lácteas, entre eles, os *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* (*S. thermophilus*) e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (*L. bulgaricus*). Sua produção é relativamente simples e a substituição do soro de queijo por soro de ricota pode ser feita utilizando o mesmo processo de fabricação. O consumidor, cada vez mais, procura adquirir alimentos saudáveis em busca de uma melhor qualidade de vida. Desta forma, a utilização de probióticos, prebióticos, compostos com função antioxidante, vitaminas e minerais, aumenta o interesse do

consumidor pelo produto, sendo uma boa opção para agregar valor à bebida láctea produzida com soro de ricota.

Desta forma, o objetivo geral deste trabalho foi desenvolver uma bebida láctea fermentada com propriedades funcionais utilizando soro de ricota *in natura*, a fim de viabilizar a utilização deste resíduo produzido em laticínios da região do Vale do Taquari, RS.

Os objetivos específicos foram:

- Elaborar uma bebida láctea fermentada com incorporação de soro de ricota, prebióticos(s), probióticos(s) e antioxidante(s);
- Possibilitar a utilização do soro de ricota em formulações lácteas, como alternativa para a redução da quantidade de soro incorporado às águas residuárias dos laticínios da região;
- Avaliar o produto elaborado através de análises físico-químicas, reológicas, microbiológicas e sensoriais;
- Avaliar a vida de prateleira da formulação produzida através de análises;
- Estudar a atividade antioxidante da bebida láctea adicionada de substâncias conhecidas por possuir esta propriedade, particularmente resveratrol, vitamina C e vitamina E.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 A indústria de laticínios e a geração de efluentes**

A indústria de alimentos sempre desempenhou um importante papel na economia brasileira, representando uma das mais tradicionais estruturas produtivas existentes no país. Dentre os diversos setores da indústria alimentícia, o setor de laticínios é um dos mais importantes, tanto no aspecto econômico quanto no social, destacando-se entre os quatro principais. Neste segmento encontram-se empresas de laticínios de diversos portes, desde beneficiadoras de volumes reduzidos de leite até grandes multinacionais e cooperativas centrais capazes de processar diariamente centenas de milhares de litros de leite (CARVALHO, 2010; JERÔNIMO, 2012).

Estima-se que a participação dos laticínios no faturamento total da indústria de alimentos seja de aproximadamente 10%. Entre 2000 e 2008, enquanto a produção mundial de leite de vaca cresceu em média 2,1% ao ano, no Brasil esse crescimento foi de 4,0% ao ano. O aumento da produção láctea brasileira nos últimos anos deve-se ao aumento do subsídio dado a esse setor e os altos custos de produção em países membros da União Europeia (CARVALHO et al., 2006).

No país, foram produzidos 32,3 bilhões de litros de leite em 2012. No Estado, a produção de leite apresentou crescimento de 4,4% na produção leiteira em 2012. No Vale do Taquari o crescimento foi de 12% na comparação entre 2011/2013 e, ao todo, a produção acumulou 364,4 milhões de litros de leite. (CARVALHO, 2010).

Dentre as indústrias alimentícias, a contribuição dos laticínios na poluição dos corpos hídricos é muito expressiva, visto que o beneficiamento do leite gera considerável carga poluidora decorrente da presença de grande quantidade de compostos orgânicos em suspensão nas águas residuárias (MATOS, 2010). Uma fábrica com produção média de 10.000 litros de soro de leite por dia polui o equivalente a uma população de 5.000 habitantes (ROHLFES et al., 2011).

As características do efluente podem variar, dependendo do produto elaborado, da tecnologia de fabricação empregada, da aplicação adequada de boas práticas de fabricação, entre outros. O beneficiamento do leite gera efluente com demanda química de oxigênio (DQO) em torno de 3.000 mg/L; já em indústrias com produção de queijo sem aproveitamento do soro, este valor pode chegar a 50.000 mg/L com teor de lipídios de 1.500 mg/L (VALENTE, 2012). Baldasso (2008) sugere que a carga poluente representada pela demanda bioquímica de oxigênio (DBO) pode chegar a 60.000 mg/mL, o que é cerca de 100 vezes maior do que a DBO do esgoto doméstico.

Levando em consideração que a água residuária gerada na atividade dos laticínios pode variar de 1 a 5 vezes o volume de leite processado, o tratamento inadequado pode gerar grandes impactos ambientais se elas não forem adequadamente tratadas e dispostas no ambiente. Existem inúmeras opções de sistemas de tratamento de efluentes, muitas delas onerosas e complexas e outras de baixo custo e simples (MATOS, 2010). Seja qual for o sistema de tratamento escolhido, o custo impactará nos preços dos produtos fabricados.

## **2.2 Soro de queijo e soro de ricota**

### **2.2.1 Soro de queijo**

Conforme Jerônimo et al. (2012) são três os efluentes gerados pelas indústrias de laticínios: o soro, o leiteiro e o leite ácido. Destes, o primeiro é o de maior importância, tanto pelo volume produzido e pela própria característica de matéria-prima de qualidade e de amplo espectro de possibilidades de reutilização, quanto pelo seu enorme poder poluente (JERÔNIMO, 2012).

O soro de queijo é um subproduto da indústria de queijo e da caseína resultante da separação das caseínas e da gordura do leite, contendo mais da metade dos sólidos presentes

no leite original (incluindo a maioria da lactose, minerais e vitaminas hidrossolúveis e 20% das proteínas do leite). Sua composição varia de acordo com a variedade do queijo produzido, sendo classificado de acordo com os níveis de acidez em soro doce – com pH de aproximadamente 6,4 – e soro ácido – com pH em torno de 4,5 (ORDOÑEZ, 2005).

A quantidade de soro gerada no processo de fabricação de queijo depende do tipo de queijo produzido e da quantidade de água adicionada no processo (SGARBIERI, 1996). Em geral, para cada quilograma de queijo produzido são gerados 9 litros de soro (ANTUNES, 2003).

O soro ainda é pouco aproveitado no setor tecnológico alimentício, representando um grande desperdício nutricional e financeiro. Grandes volumes são enviados para alimentação de suínos ou para sistemas de tratamento de efluentes com baixa eficiência ou altos custos. Este desperdício, aliado ao valor nutritivo do soro de queijo, direciona a atenção do meio científico ao seu estudo, para a criação de alternativas economicamente viáveis com o aproveitamento das proteínas (alto valor nutricional e comercial), gordura residual e, principalmente, a lactose, principal responsável pelo impacto causado nos mananciais (JERÔNIMO, 2012).

### **2.2.2 Soro de ricota**

A produção de ricota é uma das alternativas para melhor utilização de soro de queijo. Ela pode ser produzida de diversas maneiras. A base para todos os métodos é a desestabilização da albumina do soro através do aumento da acidez, pela utilização de ácido acético ou láctico em concentrações adequadas, em conjunto com o aquecimento (FOSCHIERA, 2004). O soro resultante deste processo é ácido, apresenta menor teor de lactose e maior teor de cálcio e ácido láctico que o soro doce (OLIVEIRA, 2009).

A composição química do soro de ricota está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição química do soro de ricota

| <b>Componentes</b> | <b>Composição (%)</b> |
|--------------------|-----------------------|
| Gordura            | 0,00                  |
| Proteína           | 0,45                  |
| Lactose            | 4,75                  |
| Extrato seco       | 5,68                  |

Fonte: Teixeira, 2002.

Na produção da ricota, o processo de fabricação extrai a maioria das proteínas, porém ainda permanece em grandes quantidades a lactose, que é o sólido mais abundante no soro (VENTURINI FILHO, 2010; ORDOÑEZ, 2005; PORTO et al. 2005). O soro de ricota é considerado um grande poluente devido à alta DBO e demanda química de oxigênio (DQO), com valores de 50 g.L<sup>-1</sup> e 80 g.L<sup>-1</sup>, respectivamente (SANSONETTI et al., 2009). Teixeira (2002) sugere que a lactose que permanece no soro de ricota contribui com cerca de 30.000 a 50.000 ppm de DBO, causando um enorme impacto ambiental quando descartado inadequadamente.

### 2.2.3 O soro de queijo e de ricota como subproduto

O aproveitamento dos subprodutos da indústria de laticínios, em especial do soro de queijo e de ricota, apresenta como principal dificuldade o fato do soro ser visto como resíduo e não como matéria-prima. Dessa forma, não há uma preocupação em se buscar uma maior conservação e estabilidade do mesmo, com a aplicação de baixas temperaturas ou concentração para garantir sua qualidade (ROHLFES et al., 2011).

O uso de soro de queijo traz redução de custos com ingredientes, mas os principais benefícios são as características sensoriais e nutricionais favoráveis que conferem ao produto, além da amenização do problema da poluição ambiental. O soro de queijo vem sendo utilizado na elaboração de formulações de doce de leite, iogurtes, bebidas lácteas, etc. (RAMOS, 2010). Também é necessário encontrar alternativas para a utilização do soro remanescente da produção de ricota, evitando o problema de poluição ambiental que o descarte inadequado causa. Além do ponto de vista ambiental, a utilização do soro de ricota torna-se importante do ponto de vista econômico e nutricional (VENTURINI FILHO, 2010; ORDOÑEZ, 2005; PORTO et al. 2005).

A utilização do soro de ricota pela conversão da lactose tem sido estudada, eliminando seu caráter poluidor e valorizando-o (SANSONETTI, 2010). Assim, a utilização deste resíduo como um ingrediente em outro subproduto, pode ser uma solução viável para reduzir os resíduos gerados e, conseqüentemente, reduzir o custo de produção.

A utilização do soro de ricota em bebidas fermentadas ou não, é uma opção muito atrativa para utilização do soro na alimentação humana, devido ao menor custo de produção e o aumento do valor nutricional do produto (VENTURINI FILHO, 2010). Por possuir alto teor de lactose, o soro de ricota pode ser facilmente fermentado, constituindo-se assim uma matéria-prima acessível para elaboração de bebidas fermentadas (TEBALDI, 2005). Apesar de vários autores brasileiros terem estudado maneiras de utilizar biotecnologicamente o soro de queijo (ALMEIDA et al., 2001; THAMER e PENA, 2006; KRÜGER et al., 2008; MADRONA et al., 2009; MENESES, 2011; CASTRO, 2012) a avaliação do potencial de uso de soro de ricota é escassa (TEIXEIRA, 2002; TEBALDI, 2005; GERHARDT et al., 2013).

Teixeira (2002) obteve melhor aceitação sensorial em bebidas lácteas fermentadas probióticas contendo *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* com 50% de soro de ricota. Tebaldi (2005) produziu bebidas lácteas com soro de ricota adicionadas de extrato hidrossolúvel de soja em várias concentrações e fermentadas com *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* (EZAL – MYE 96, Rhodia Food) que se mantiveram com boa qualidade microbiana até o 28º dia de experimento, obtendo melhor aceitação a bebida contendo 70% de soro.

Gerhardt et al. (2013) produziram bebidas lácteas probióticas com colágeno hidrolisado e diferentes concentrações de soro de ricota, obtendo índice de aceitação superior a 70% em 7 das 11 amostras produzidas. A concentração do soro de ricota variou de 44,36% a 70% nas amostras aceitas, o que indica que a quantidade de soro não interferiu no aspecto sensorial.

### **2.3 Bebidas lácteas fermentadas**

Conforme a Instrução Normativa nº 16 de 23 de agosto de 2005 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a bebida láctea fermentada é um produto lácteo obtido através da mistura de leite e soro de queijo, adicionado ou não de outras substâncias alimentícias, e fermentado por micro-organismos ou adicionado de leite fermentado. Este produto deve ter base láctea mínima de 51% e contagem total de bactérias lácticas viáveis de

10<sup>6</sup> unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g) durante todo o prazo de validade e não deve ser tratada termicamente após a fermentação (BRASIL, 2005).

Os ingredientes obrigatórios das bebidas lácteas fermentadas são: leite, soro de queijo e cultivo de bactérias lácteas ou leite fermentado. Opcionalmente podem ser utilizados creme de leite, sólidos de origem láctea, manteiga, gordura anidra do leite, caseinatos alimentícios, proteínas lácteas, leiteiro e outros produtos de origem láctea; açúcares e/ou glicídios, maltodextrina, edulcorantes, frutas, mel, cereais, gorduras vegetais, chocolate, amidos, gelatina ou outras substâncias alimentícias (BRASIL, 2005).

As bebidas lácteas fermentadas com adição devem conter, no mínimo, 1 g/100 g de proteínas de origem láctea (BRASIL, 2005) quando analisadas conforme a Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006). Os critérios microbiológicos são apresentados no Quadro 1. Estes resultados referem-se a análises realizadas conforme a Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003).

Quadro 1 – Critérios microbiológicos de bebidas lácteas fermentadas

| <b>Micro-organismo</b>   | <b>n<sup>1</sup></b> | <b>c<sup>2</sup></b> | <b>m<sup>3</sup></b> | <b>M<sup>4</sup></b> | <b>Tolerância para amostra indicativa<sup>5</sup></b> |
|--------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-------------------------------------------------------|
| Coliformes a 35° (UFC/g) | 5                    | 2                    | 10                   | 100                  | 4                                                     |
| Coliformes a 45° (UFC/g) | 5                    | 2                    | <3                   | 10                   | 4                                                     |

<sup>1</sup>n - número de unidades aleatórias em cada lote e analisadas individualmente.

<sup>2</sup>c - número máximo aceitável de amostras com resultados situados entre m e M

<sup>3</sup>m - limite entre lote aceitável e lote com qualidade intermediária aceitável

<sup>4</sup>M - limite entre o lote de qualidade intermediária aceitável e inaceitável

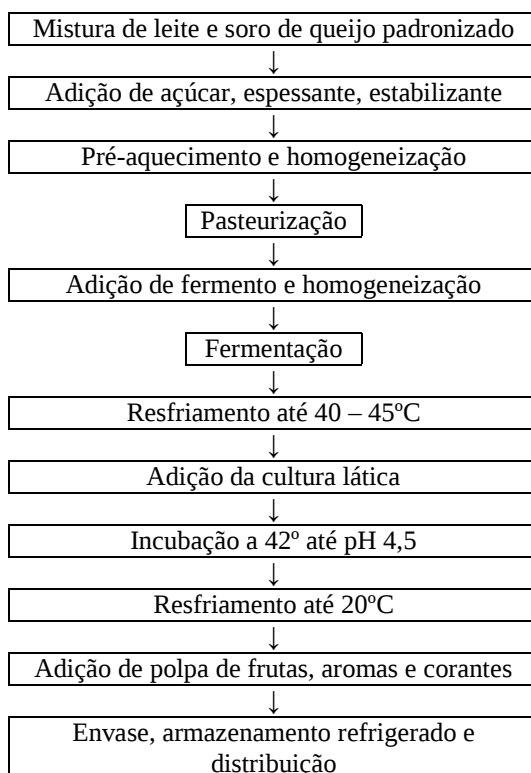
<sup>5</sup>Amostra indicativa – única amostra analisada

Fonte: Brasil, 2005.

Atualmente a elaboração de bebidas fermentadas tem sido uma ótima opção para a utilização de soro de queijo, pois o produto pode ser utilizado de forma integral.

O fluxograma de fabricação da bebida láctea fermentada é mostrado na Figura 1.

Figura 1 – Fluxograma de fabricação de bebida láctea fermentada



Fonte: OLIVEIRA, 2009.

Conforme EPAMIG, [s.d.], o preparo da bebida láctea deve ser feito, preferencialmente, logo após a fabricação do queijo e o soro deve ser coado para remoção de resíduos da massa de queijo. Para a produção de 100 litros de bebida láctea fermentada, utilizam-se 42,2 litros de soro de queijo. Doze quilogramas de açúcar e 300 g de gelatina ou 700 g a 1 kg de amido são adicionados ao soro e aquecidos a 65°C, para total inativação do coalho. Após, adiciona-se 42,2 litros de leite fresco e aquece-se a 85°C por 15 a 30 minutos ou a 90°C por 5 minutos. O resfriamento deve ser feito até a temperatura de fermentação, que pode ser rápida (43°C, aproximadamente 5 horas) ou lenta (35°C a 38°C, de 12 a 24 horas). Adiciona-se o fermento termofílico para iogurte (composto de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus*) em dose recomendada pelo fabricante e procede-se a fermentação até pH 4,6 ou acidez de 60 a 65°D, resfriamento, quebra do coágulo e adição da polpa e corantes. A bebida preparada desta forma e armazenada entre 5°C e 10°C é válida por 30 dias (EPAMIG, s.d.).

Diversos estudos utilizaram diferentes formas de preparo da bebida láctea para avaliar efeitos da concentração de soro de queijo, espessantes, açúcar, diferentes polpas de frutas, etc. (LIMA, 2011; DIAS, 2008; SANTOS et al., 2006; MENEZES, 2011; CUNHA et al., 2008; TEIXEIRA, 2002).

Lima (2011) avaliou bebidas lácteas adicionadas de polpa de abacaxi e graviola elaboradas com soro de leite nas concentrações de 20%, 30% e 40%, além de amostras comerciais de mesmo sabor. As bebidas formuladas continham leite (40% a 60%) e soro de queijo minas frescal (20% a 40%) pasteurizados, açúcar cristal (8%), cultura láctica mista composta por *S. thermophilus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* (0,3%) e polpa de abacaxi ou graviola (12%). A mistura leite, soro de queijo e açúcar cristal foi tratada termicamente a 90°C por 10 minutos e resfriada a 45°C para adição da cultura láctica. A fermentação foi conduzida a 45°C por 4-5 horas até atingimento de pH 4,6. Após resfriamento a 4°C por um dia, foi feita a quebra do coágulo e adição da polpa. Neste estudo as bebidas foram avaliadas microbiologicamente antes da análise sensorial e, as formulações mais aceitas foram submetidas a análises físico-químicas. A bebida formulada com 30% e soro de queijo e sabor abacaxi obteve aceitação sensorial similar à bebida comercial. No produto formulado com polpa de graviola, a formulação com 40% de soro obteve o melhor desempenho, inclusive com maior aceitação do que os produtos comerciais. Todas as amostras foram consideradas de acordo com a legislação vigente em relação aos padrões físico-químicos e microbiológicos (LIMA, 2011).

Dias (2008) estudou a influência da base láctea e da cultura láctica na velocidade de produção de ácido láctico e crescimento das bactérias lácticas, produzindo quatro formulações. A um substrato composto de leite desnatado em pó e soro de queijo em pó reconstituídos a 60% e 40%, adicionou a cultura “A”, composta por *L. bulgaricus* e *S. thermophilus*, e cultura “B”, composta por *L. acidophilus*, *S. thermophilus* e *Bifidobacterium* denominadas, respectivamente, de Tratamento 1 e Tratamento 3. Para o tratamento 2 e 4 adicionou as culturas “A” e “B” a um substrato composto de leite desnatado em pó, soro de queijo em pó e extrato solúvel de soja reconstituídos a 60%, 20% e 20%, respectivamente. As culturas e bases lácteas empregadas influenciaram no resultado final do processo. O Tratamento 4 atingiu o pH 4,6, estabelecido como fim da fermentação, em menor tempo (2h30min). O Tratamento 1 necessitou de mais tempo para atingir o mesmo pH 3h30min. O extrato solúvel de soja contém substâncias como rafinose, estaquiase, aminoácidos e proteínas que estimulam o crescimento das bactérias. Os Tratamentos 3 e 4 (cultura probiótica) apresentaram a maior velocidade de produção de ácido láctico em relação à cultura tradicional. Desta forma, percebe-se que a cultura contendo *L. acidophilus*, *S. thermophilus* e *Bifidobacterium* tem maior capacidade de acidificação que a cultura tradicional. Aliada à utilização de extrato de soja, apresentou o melhor desempenho no que se refere ao tempo de fermentação (Dias, 2008).

Santos et al. (2006) desenvolveram uma bebida láctea fermentada à base de soro de queijo mussarela e polpa de umbu. Utilizou-se leite pasteurizado com teor de gordura padronizado a 3% em quantidade suficiente para se obter um mínimo de proteínas lácteas igual a 1,5% misturado ao soro de queijo a 20%, 30% ou 40%. Esta mistura foi fermentada com cultura termofílica para iogurte a 43°C até acidez de 0,7% em ácido lático (aproximadamente 4,5 horas). Foram adicionados 12% de açúcar e 12% de polpa de umbu às misturas fermentadas. Todas as amostras apresentaram aceitação sensorial considerada igual estatisticamente ( $P \leq 0,05$ ), porém a amostra com 60% obteve a maior nota e, considerando a maior utilização de soro, foi selecionada como a melhor formulação neste estudo (SANTOS et al., 2006).

Menezes (2011) preparou uma bebida láctea fermentada probiótica com soro de queijo e polpa de cajá. Em seu estudo, a cultura probiótica, composta por fermento comercial BioRich (*L. acidophilus* LA-5®; *Bifidobacterium* BB-12® e *S. thermophilus*) adicionado ao leite desnatado previamente pasteurizado, foi incubada previamente por 4 horas em estufa a 42°C. Para o preparo da bebida, o açúcar, o leite e o soro de queijo foram homogeneizados e pasteurizados em banho-maria a 65°C por 30 minutos, sendo mistura resfriada a 40°C para adição do inóculo. A fermentação ocorreu em estufa a 42°C por 4 a 5 horas. Após este período, as amostras foram resfriadas a 4°C e foi feita a adição da polpa de cajá.

Cunha et al. (2008) pasteurizaram a mistura de leite e açúcar a 95 °C por 5 minutos e o soro a 65°C por 30 minutos. Após abaixamento da temperatura a 40°C, prepararam a bebida láctea fermentada como 30% de soro de queijo com utilização de cultura láctica composta por *S. thermophilus*, *L. acidophilus* (LA-5) e *Bifidobacterium* (Bb-12) com fermentação a 40°C até pH 4,6. Após, as bebidas foram resfriadas a 4°C, batidas lentamente e armazenadas a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Santos et al. (2008) elaboraram bebidas lácteas fermentadas com leite pasteurizado comercial com teor de gordura padronizado a 3% e soro de queijo desengordurado obtido pela produção de queijo mussarela pasteurizado a 65°C por 30 minutos. Foram avaliados quatro níveis de substituição de leite por soro de queijo: 20%, 40%, 60% e 80% (m/m), respectivamente, nas formulações A, B, C e D. A base láctea foi aquecida a 90°C por 10 minutos, resfriada a 43°C e adicionada de 2% de inóculo (iogurte comercial integral sem açúcar ativado em leite em pó desnatado reconstituído a 11% m/v e esterilizado em autoclave a 121°C/15min). A fermentação ocorreu a 43°C até que a acidez da mistura chegasse a 0,7%

m/m, expresso em ácido láctico). Após a quebra e homogeneização da massa as bebidas foram resfriadas até temperatura ambiente, adicionadas de polpa de manga, engarrafadas e armazenadas a 5°C.

Teixeira (2002) preparou bebidas com 50, 60 e 70% de soro de ricota fabricada com soro de queijo minas frescal. O estabilizante Dairymix-1 (composto de uma mistura de hidrocolóides com função estabilizante-espessante da marca Germinal) e o açúcar cristal foram adicionados em concentração de 0,3% e 9%, respectivamente, antes da pasteurização. As misturas foram pasteurizadas a 90°C por 3 minutos, resfriadas a 43°C e adicionadas da cultura láctica composta por *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *Bifidobacteria* e *S. thermophilus*. A incubação ocorreu a 43°C por 4 a 5 horas, até acidez de 0,50% de ácido láctico e pH 4,50. Após resfriamento a 18°C, foi feita a quebra da massa, acondicionamento em potes plásticos e refrigeração ( $7 \pm 1$  °C).

A bebida láctea tem uma imagem saudável e é considerado um produto nutritivo e barato. Produtos lácteos fermentados têm ampla aceitação devido às suas propriedades organolépticas e um baixo custo de produção para o fabricante, o que resulta em um preço final inferior ao consumidor (LUIZ, 2008).

## 2.4 Fermentação láctica e as bactérias lácticas

A fermentação láctica é um importante método de conservação dos alimentos utilizado na produção de subprodutos do leite, na fermentação de vegetais e conservação de forragens. Consiste na oxidação anaeróbica parcial de carboidratos, produzindo ácido láctico, principalmente, e outras substâncias orgânicas (GAVA et al., 2008). As bactérias lácticas, responsáveis pela fermentação láctica, são divididas em cinco gêneros: *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* e *Lactobacillus* (OLIVEIRA, 2009). As bactérias citadas atuam sobre substratos que contenham glicídios, como, por exemplo, o leite e o soro de queijo, que contêm lactose (EVANGELISTA, 2008).

As bactérias lácticas são classificadas de acordo com a via metabólica utilizada na fermentação da glicose e concentração dos produtos formados, conforme segue:

- Homofermentativas: utilizam a rota mais comum, a via de Embden-Meyerhof, oxidando a glicose e gerando adenosina trifosfato (ATP) e energia contida em dinucleotídeo de adenina

nicotinamida (NADH). Estas espécies convertem 90 a 95% da glicose em ácido láctico (OLIVEIRA, 2009).

- Heterofermentativas: utilizam a via das pentoses, formando menos de 1,8 mols de ácido láctico/mol de glicose e quantidades significativas de etanol, acetato e dióxido de carbono (OLIVEIRA, 2009).

- Via das bifidobactérias: a quebra da glicose resulta em 1 mol de lactato e 1,5 mol de acetato, podendo algumas linhagens produzir ácido fórmico ou succínico (OLIVEIRA, 2009).

As bactérias lácticas são encontradas em diversos ambientes, inclusive na microbiota natural de humanos e animais, porém têm exigência nutricional complexa e bastante variável de aminoácidos, peptídeos, vitamina, minerais, ácidos graxos e açúcares fermentescíveis. Em sua maioria são consideradas benéficas, fornecendo proteção contra infecções intestinais, além da propriedade de conservação dos alimentos já mencionada (OLIVEIRA, 2009).

Desta forma, a principal função das bactérias lácticas nos alimentos é a acidificação do produto até um pH próximo de 4, impedindo o desenvolvimento de bactérias indesejáveis pela produção de ácidos orgânicos. Além disso, as bactérias lácticas conferem características sensoriais específicas no alimento, modificando sabor, textura, e aroma (PIARD et al., 2011).

#### **2.4.1 Cultivos iniciadores**

As culturas utilizadas podem ser classificadas em culturas tecnológicas ou terapêuticas. As tecnológicas têm apenas a função de transformar e conservar o produto lácteo, não resistindo ao ambiente ácido do estômago ou à bile; as terapêuticas conseguem sobreviver e chegar aos intestinos, trazendo benefícios ao indivíduo (OLIVEIRA, 2009).

A seleção de bactérias utilizadas em produtos lácteos como iogurte, bebida láctea e leites fermentados é feita a partir de sua capacidade de produzir ácido láctico a partir da lactose (além de outros metabólitos responsáveis por sabor e aroma no produto), além do tipo de produto desejado. No iogurte costuma-se utilizar *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* em conjunto, pois crescem simbioticamente, o que acelera o metabolismo e, consequentemente, a produção de ácido láctico. O *L. bulgaricus* produz diversos aminoácidos a partir das proteínas lácticas, entre eles, valina, ácido glutâmico, triptofano, e metionina, e alguns peptídeos, que estimulam

o crescimento do *S. thermophilus*. O crescimento do *L. bulgaricus* é estimulado pela produção de formiato, produzido pela *S. thermophilus* (ORDÓÑEZ, 2005).

*Bifidobacterium* produzem pouco ácido, prolongando o tempo de fermentação, assim outras culturas devem ser utilizadas para atingir o nível de acidez desejável para conservação do produto. Porém, esta bactéria tem pouca tolerância à acidez, desta forma não se desenvolve em pH ácido. Algumas alternativas, como a adição de outra cultura com maior capacidade acidificante somente após o crescimento desejado da *Bifidobacterium* e a microencapsulação, devem ser utilizadas para que a bactéria se encontre em quantidade suficiente para ser considerada funcional (OLIVEIRA, 2009).

Krüger et al. (2008), utilizaram culturas mistas de *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) e *Bifidobacterium* no desenvolvimento de bebida láctea probiótica com soro de queijo e extrato hidrossolúvel de soja. Durante o tempo de estocagem estas bebidas apresentaram decréscimo considerável de pH, que foi atribuído ao *L. acidophilus*, que possui grande capacidade de produção de ácido láctico.

Zacarchenco e Massaguer-roig (2004) desenvolveram quatro formulações de leites fermentados: C1, contendo *S. thermophilus*; C2, contendo *Bifidobacterium longum*; e C3, com *L. acidophilus*; e C4, a partir da mistura de C1, C2 e C3. Em relação ao pH, a formulação C1 obteve os menores valores e a formulação C2, os maiores. Isso se deve à limitada capacidade de produção de ácidos orgânicos pelas bifidobactérias, principalmente sob refrigeração. Em C1, o pH diminuiu ao longo do tempo de armazenamento (21 dias). Neste estudo, *S. thermophilus* apresentou a melhor capacidade de acidificação, que se manteve durante o tempo de estocagem sob refrigeração.

## 2.5 Alimentos funcionais

O consumidor atual busca a prevenção de doenças ao invés da cura e tem maior ciência sobre a relação entre saúde e nutrição. Aliado a isso, os altos custos com tratamento médico e o envelhecimento da população, têm, conseqüentemente, aumentado o consumo de alimentos funcionais, o que causa um crescimento deste mercado (SANDERS, 1998).

Alimentos funcionais são aqueles que promovem o crescimento, desenvolvimento ou manutenção das funções normais do organismo humano, podendo ser naturalmente funcionais

ou modificados de forma a tornarem-se funcionais pela adição de substâncias funcionais (OLIVEIRA, 2009). Probióticos, prebióticos, fibras, ferro, selênio, ácidos graxos  $\omega$ -3 e  $\omega$ -6, óleo vegetal, oligossacarídeos, poliois, fotoquímicos, antioxidantes, vitaminas A, C, D e E, contidos em alimentos convencionais, fortificados, enriquecidos, são considerados funcionais (PALERMO, 2008).

Costuma-se classificar o alimento funcional de acordo com os componentes bioativos nele presentes, a exemplo dos probióticos, fibras, vitaminas, minerais, peptídeos e proteínas. Os recentes desenvolvimentos na área de probióticos, prebióticos e simbióticos é resultado do interesse na saúde intestinal, no que se refere à microbiota responsável pelo funcionamento adequado do intestino (SAAD et al. 2011).

Padilha e Pinheiro (2004) citam os alimentos funcionais como possíveis instrumentos na prevenção e controle do câncer de mama, afirmando que fatores dietéticos tem papel importante como causadores ou facilitadores deste tipo de doença, apesar dos mecanismos não estarem completamente esclarecidos. Além disso, mencionam propriedades anticarcinogênicas, antioxidantes e anti-inflamatórias.

A respeito dos alimentos funcionais, Barroso e Rubert (2011) afirmam:

O uso dos alimentos como veículo de promoção do 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. Os produtos lácteos estão inseridos neste contexto, pois além de serem considerados nutritivos, saudáveis e de grande aproveitamento a nível mundial podem ser utilizados em pesquisas para o desenvolvimento de novos produtos devido sua ampla utilidade e funcionalidade de aplicação.

Os produtos lácteos representam o maior segmento deste tipo de alimentos, incluindo produtos como leites fermentados, bebidas lácteas fermentadas ou não, sobremesas lácteas. Produtos lácteos são considerados funcionais naturalmente pela sua alta concentração de cálcio, sendo os fermentados contendo probióticos e/ou prebióticos amplamente estudados por ampliarem esta característica. Estes produtos foram responsáveis por 60% do mercado de alimentos funcionais da Europa em 2009 e representam um mercado crescente no Brasil (OLIVEIRA, 2009).

### 2.5.1 Prebióticos

Os prebióticos são ingredientes alimentares não digeridos por enzimas digestivas normais. Assim, chegam até o intestino, onde são utilizados como alimento de bactérias benéficas, e, conseqüentemente, auxiliam no crescimento destes micro-organismos e melhoram a saúde do hospedeiro. Além destas características, têm a capacidade de alterar a microbiota intestinal de forma benéfica ao hospedeiro. Oligossacarídeos de cadeia curta são os mais estudados por serem mais resistentes no trato gastrointestinal superior e à fermentação no intestino grosso (FERREIRA, 2012). A polidextrose, uma fibra muito solúvel em água e com baixo valor calórico, é um exemplo de prebiótico. Por ser um agente de volume, é utilizada também na substituição de açúcares e gorduras (BUENO, 2012).

Prebióticos têm sido utilizados em combinação com bifidobactérias, a exemplo de fruto-oligossacarídeos (FOS) e inulina. Estas fibras contribuem para o equilíbrio intestinal e não são aproveitadas pelo organismo, desta forma não alteram o valor calórico do alimento e não aumentam o nível de açúcar no sangue, além de poder aumentar a absorção de cálcio (GALLINA et al., 2011). Búrigo et al. (2007) perceberam o aumento do conteúdo de bifidobactérias devido à suplementação com FOS, durante o estudo sobre ação de prebióticos sobre proteínas em pacientes com neoplasia hematológica (leucemias, linfomas e mielomas). Além dos citados, existem resultados *in vitro* e *in vivo* demonstrando a atividade prebiótica de transgalacto-oligossacarídeos, lactulose, isomalto-oligossacarídeo, xilo-oligossacarídeo, glico-oligossacarídeo e oligossacarídeos de soja (GIBSON e FULLER, 2000).

Estudos mostram efeitos positivos na suplementação galato-oligossacarídeos e fruto-oligossacarídeos em crianças com risco de atopia, como alterações da flora intestinal promovendo efeito bifidogênico, redução da incidência de doenças alérgicas (eczema atópico, broncoespasmo de repetição e urticária) (SCHOLTENS et al., 2008; ARSLANOGLU et al., 2008; MORO, 2006).

### 2.5.2 Probióticos

Probióticos são micro-organismos vivos que, ingeridos em quantidades adequadas, trazem benefícios à saúde do hospedeiro. Para serem classificados como probióticos, estes

micro-organismos necessitam possuir algumas características (O'MAY e MACFARLANE, 2005):

- ausência de toxicidade ou patogenicidade;
- propriedades adequadas a fim de que sejam produzidos e incorporados em alimentos sem perder sua viabilidade e funcionalidade;
- viabilidade durante a vida útil do produto;
- habilidade de sobreviver às defesas inatas do corpo no trato gastrointestinal superior, incluindo a sobrevivência a exposição à acidez gástrica e aos sais biliares;
- habilidade de colonizar a mucosa intestinal e capacidade de exercer um efeito de melhoria da saúde do hospedeiro.

Micro-organismos que têm sido usados como probióticos em humanos incluem leveduras, – particularmente *Saccharomyces boulardii* –, bacilos, enterococos, bifidobactérias e bactérias lácticas (O'MAY e MACFARLANE, 2005).

Estudos demonstram que as bactérias lácticas auxiliam no controle de patógenos, na modulação da constipação intestinal e de diarreias, na diminuição dos sintomas de intolerância à lactose, no fortalecimento do sistema imune e em controle de câncer. *L. acidophilus* e várias espécies do gênero *Bifidobacterium*, micro-organismos probióticos, estão presentes na flora normal dos seres humanos, vivendo simbioticamente (OLIVEIRA, 2009).

*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* proporcionam balanceamento das instabilidades temporárias na microbiota intestinal, além de inibir a invasão e a colonização de microrganismos patogênicos indesejados; aumentam a concentração de ácidos orgânicos de cadeia curta, diminuindo o valor do pH; e diminuem a concentração de amônia, de indóis e de outras substâncias putrefativas no intestino; propiciam o aumento da produção de anticorpos e têm efeito anticarcinogênico (produção de substâncias que inibem a divisão e o crescimento das células do tumor) e antiolesterolêmico (desconjugação de sais biliares) (BALLUS et al., 2010). Contudo, diversos autores afirmam que a necessidade da ingestão regular de células viáveis de bactérias probióticas é de, no mínimo,  $10^6$  UFC/g do produto para a obtenção dos efeitos benéficos (SHAH, 2000; VINDEROLA et al., 2000; ZACARCHENCO e MASSAGUER-ROIG, 2004; THAMER e PENNA, 2006). Já a Agência

Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2008) define que a concentração de probióticos deve estar situada entre  $10^8$  e  $10^9$  UFC na recomendação diária do produto pronto para o consumo.

Os micro-organismos probióticos têm sido largamente utilizados em alimentos inovadores. Macedo (2005) produziu um embutido fermentado análogo ao salame utilizando *Lactobacillus paracasei*, que se manteve estável durante 150 dias de armazenamento, com número de células viáveis acima de  $10^8$  UFC/g. Gaino et al. (2012) produziram um requeijão cremoso utilizando *Lactobacillus casei* que se manteve com contagem em torno de  $10^7$  durante 28 dias de armazenamento.

Teixeira (2002), em seu estudo sobre a utilização de soro de ricota em bebidas lácteas, utilizou a cultura de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium*, porém não atingiu a quantidade mínima de unidades formadoras de colônia para ser considerada funcional. Cunha (2008) produziu bebidas lácteas e leites fermentados com *S. thermophilus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium*, atingindo o limite mínimo de  $10^6$  UFC/g. Ramos (2013) produziu bebidas lácteas com 15, 20 e 25% de polpa de cajá e 40% de soro de queijo fermentadas por *Lactobacillus acidophilus* que mantiveram por 28 dias a contagem mínima de bactérias lácticas exigida na legislação.

Conforma a ANVISA, “a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada na faixa de  $10^8$  a  $10^9$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC) na recomendação diária do produto pronto para o consumo, conforme indicação do fabricante” (ANVISA, 2008).

### 2.5.3 Simbióticos

A combinação entre prebióticos e probióticos resulta no conceito de simbióticos (PALERMO, 2008, 151). Os prebióticos servem de alimento aos probióticos, promovendo um maior crescimento destes micro-organismos no intestino e trazendo benefícios ao hospedeiro. A esse respeito, Palermo (2008), considera:

O mercado nacional tem sentido uma maior demanda por esses produtos e a indústria de alimentos tem contribuído para atender as exigências cada vez maiores, da população, nutricionistas, nutrólogos e médicos interessados em ter uma alimentação mais saudável (PALERMO, 2008, 151).

Thamer e Penna (2005) utilizaram um composto de fruto-oligossacarídeos e inulina na produção de bebidas lácteas probióticas, obtendo maior crescimento de *Streptococcus thermophilus* em maiores concentrações de soro e prebióticos, não tendo estas concentrações influenciado na população de bifidobactérias.

Matta et al. (2012) produziram bebidas à base de arroz com potencial como um novo alimento simbiótico não láctico. Os componentes utilizados foram farinha de arroz, citrato trissódico, enzima alfa-amilase e cultura láctica probiótica adicionando diferentes concentrações de goma acácia, fruto-oligossacarídeo e farinha integral de aveia de acordo com o planejamento fatorial  $2^3$  com 4 réplicas no ponto central. Ao final de 22 dias de estocagem, as bebidas apresentaram entre  $10^9$  a  $10^{10}$  UFC de micro-organismos probióticos por porção diária de 100mL. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (*B. lactis*) adaptou-se melhor ao produto, apresentando população maior que a de *L. acidophilus*. As formulações com teores reduzidos de goma acácia (1,4%) e de farinha de aveia (0,8%) obtiveram contagem de *L. acidophilus* inferior a  $10^6$  UFC/mL. A bebida à base de arroz apresenta potencial como um novo alimento simbiótico não láctico.

Estudos têm enfatizado o curto período de vida dos probióticos e a contribuição dos prebióticos no aumento da viabilidade dos micro-organismos presentes no cólon (FUCHS et al., 2005; GIBSON, 2004).

#### 2.5.4 Antioxidantes

Antioxidantes são substâncias capazes de impedir ou inibir a oxidação. Em baixa concentração, podem prevenir ou reduzir o dano oxidativo. Entre os mais estudados, estão os antioxidantes enzimáticos - superóxido dismutase, catalase e as glutational peroxidase – e os antioxidantes químicos – vitaminas A, C e E, flavonoides, carotenoides, etc. - e alguns produtos sintéticos - Ebselen, N-acetilcisteína e Trolox (TEOFILO et al. 2011).

Quando há desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio, nitrogênio e enxofre e a remoção destas pelo sistema de antioxidante do organismo, ocorre estresse redox. As espécies reativas incluem não só radicais, mas também intermediários neutros e carregados e outros capazes de formar radicais livres no organismo (OLIVEIRA, 2009).

As vitaminas são compostos com capacidade antioxidante que, comparadas a outras substâncias presentes no organismo, são muito pequenos e simples. Elas intervêm em quase todos os processos no corpo humano, portanto, são indispensáveis para o metabolismo das células. As vitaminas hidrossolúveis – C e complexo B – são constituintes das moléculas proteicas funcionais – frequentemente enzimas -, atuando como coenzimas em reações catalisadas. As vitaminas lipossolúveis – A, D, E e K – não são facilmente absorvidas a partir dos alimentos, desta forma são armazenadas nos tecidos gordurosos e no fígado (PALERMO, 2008).

A vitamina C, conhecida como ácido ascórbico, é encontrada, principalmente, em frutas cítricas e vegetais como brócolis, couve, repolho, entre outros. É uma molécula hidrossolúvel que reage com os radicais livres formando ácido dehidroascórbico pela enzima dehidroascorbato redutase (VELEZ-MARIN et al. 2012). Por não ser estocada no organismo, é importante sua ingestão diária. O mecanismo do ácido ascórbico em diversas de suas atividades ainda não foi completamente desvendado. Na maioria das vias ele se liga aos principais metais ou cofatores em seu menor estado de valência. A vitamina C participa da biossíntese do colágeno, síntese da adrenalina, formação de ácidos biliares, absorção do ferro, entre outras vias. Seu papel como antioxidante tem recebido atenção especial, pois se presume que esta vitamina esteja envolvida na prevenção de aterosclerose, nas coronariopatias e na prevenção e tratamento do câncer (PALERMO, 2008; BAYNES; DOMINICZAK, 2000).

A vitamina E – ou tocoferol – está presente em óleos vegetais, nozes, gema de ovo, vegetais folhosos e legumes e exerce a importante função de proteger as demais substâncias contra oxidação. Seu efeito antioxidante ocorre particularmente nas membranas, portanto, está associada a sua estrutura lipídica (PALERMO, 2008; BAYNES e DOMINICZAK, 2000).

Polifenóis são antioxidantes químicos, possuindo um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. São encontrados em plantas, podendo sua concentração variar devido a fatores genéticos e ambientais. A uva é rica nestes compostos, entre eles flavonoides, estilbenos, ácidos fenólicos e taninos (VELEZ-MARIN et al. 2012).

O resveratrol, um estilbeno presente na uva, tem sido alvo de interesse em estudos sobre sua atividade antioxidante desde a correlação de consumo de vinho tinto e menor

incidência de doenças cardiovasculares. A partir disso, outras atividades biológicas lhe foram atribuídas, como a propriedade anticancerígena, anti-inflamatória e antiviral (VELEZ-MARIN et al. 2012). Oomen et al. (2009) realizaram estudos *in vitro* e *in vivo*, que comprovaram efeitos neuroprotetores do resveratrol, que possui a capacidade de promover o envelhecimento saudável do cérebro devido à sua atividade antioxidante.

Matos et al. (2012) obtiveram efeitos antiaterogênicos e anti-inflamatórios utilizando resveratrol em coelhos, cuja atividade foi observada pela comparação entre um grupo de coelhos alimentados normalmente e um grupo alimentado com dieta hipercolesterolêmica. Fernandes (2006) concluiu que a ingestão de resveratrol por *Drosophila melanogaster* aumentou sua longevidade em relação aos grupos controle.

Dias (2009) adicionou 0,12 mg.mL<sup>-1</sup> resveratrol a leites fermentados probióticos e prebióticos obtendo bons resultados nas análises sensoriais. Pereira et al. (2012) realizaram a incorporação de frutas a iogurte como forma de atribuir atividade antioxidante. Neste estudo foi detectada a presença de tocoferol em todas as amostras através de cromatografia líquida de alta eficiência e a atividade antioxidante através do método espectrofotométrico utilizando DPPH.

Além do resveratrol, os polifenóis catequina, quercetina e epiquercetina tem efeitos cardioprotetores, provavelmente devido à diminuição da agregação plaquetária e dificultando a formação de coágulo (PASTEN e GRENETT, 2006).

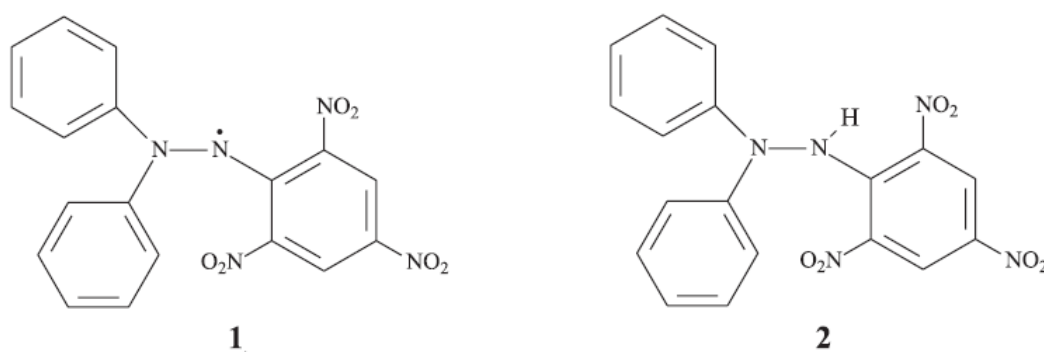
Zeraik et al. (2008) determinaram a atividade antioxidante de suco de maracujá, garapa e chá mate através do método de DDPH, bem como diversos outros autores (ROESLER et al. 2007; VILA et al. 2008; JARAMILLO et al. 2011; SILVA et al. 2012) já o fizeram em outro alimentos.

#### **2.5.4.1 Determinação da atividade antioxidante**

Com base nos estudos citados, percebe-se que a determinação da atividade antioxidante é realizada, com maior frequência, através do método indireto de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH). O DPPH é um radical livre estável em função da deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula. A solução deste composto tem coloração violeta e banda de absorção de cerca de 520 nm. A molécula pode ser reduzida a

hidrazina – quando sequestrado por um antioxidante – cuja detecção é feita pela mudança de cor para amarelo pálido. O radical pode ser visto na Figura 2 (ALVES et al. 2010).

Figura 2 – Formas radicalar (1) e não radicalar (2) do DPPH



Fonte: ALVES et al. 2010.

O decaimento da absorbância entre 515 e 528 nm, quando uma solução do antioxidante é misturada a uma solução alcoólica de DPPH, é medida em espectrofotômetro, podendo ser o potencial calculado através das leituras obtidas (ALVES et al. 2010).

A atividade antioxidante pode ser analisada através de métodos eletroanalíticos, uma vez que estes se baseiam nas propriedades elétricas de uma solução do analito em uma célula eletroquímica, podendo fornecer diversas informações que caracterizam determinados sistemas com baixos limites de detecção (SKOOG, 2002).

A voltametria cíclica é uma técnica muito utilizada para obter informação qualitativa de uma reação eletroquímica, através do diagnóstico de mecanismos de reação eletroquímicos, identificação de espécies eletroativas presentes em solução ou análise semi-quantitativa da cinética das reações (MALTOS et al. 2010).

A voltametria cíclica é uma ferramenta para a avaliação e quantificação do potencial de oxidação de compostos antioxidantes, através da medida de oxidação por aplicação de um potencial, sendo possível quantificar os valores de resposta de corrente. A avaliação do comportamento da solução eletrolítica (eletrólito e analito a ser analisado) é feita pela análise

dos picos de corrente presentes no intervalo de varredura de potenciais frente ao eletrodo de trabalho utilizado. Esses picos de corrente são associados às reações eletroquímicas de oxidação e redução do sistema (MALTOS et al. 2010).

A voltametria envolve o uso de uma célula com três eletrodos: eletrodo de trabalho, eletrodo de referência e eletrodo auxiliar. Após a primeira varredura, a direção do potencial é invertida, assim é possível avaliar novamente o produto da reação redox (MALTOS et al. 2010).

Conforme Reis et al. (2009), a exatidão e a seletividade dos métodos convencionais podem ser comprometidas em função dos diferentes mecanismos de ação antioxidante de um composto (poder redutor, quelação e/ou capacidade de estabilizar radicais livres). Ensaios combinados e métodos alternativos podem ser necessários e os métodos eletroquímicos são uma excelente alternativa.

A respeito da utilização de voltametria cíclica para determinação da atividade antioxidante em alimentos, Maltos et al. (2010) afirmam:

La voltametría cíclica es una herramienta muy útil para la evaluación y cuantificación del potencial de oxidación de compuestos antioxidantes, ya que se fundamenta en la medición de la oxidación mediante la aplicación de un barrido de potencial, siendo posible cuantificar la respuesta dada en valores de corriente.

Existem poucos estudos que utilizem a voltametria cíclica na avaliação da atividade antioxidante em alimentos, o que justifica o estudo da eficácia deste método (MALTOS et al. 2010; NOH et al. 2011; SIA et al. 2010).

Noh et al. (2011) analisaram a atividade antioxidante de carne através de voltametria cíclica em 0, 3, 6 e 9 dias. Em seu estudo, os autores homogeneizaram 10 g de carne moída com água deionizada. Após centrifugação por 3 minutos, filtraram através de papel filtro Whatmann nº 1 e aplicaram 250 µL do filtrado em um eletrodo interdigitado. A voltametria cíclica foi realizada e o potencial redox foi variado entre 0,075 V e 0,703 V com taxa de varredura de 0,3 V.s<sup>-1</sup>. O sistema detectou muitos sinais electroquímicos na carne, não ficando claro como as diversas substâncias existentes na matriz afetaram a análise, pois as reacções eletroquímicas na carne são complexas.

## 2.6 A importância da avaliação do *shelf life*

A vida de prateleira ou *shelf-life* é o período em que um produto apresenta condições sensoriais e microbiológicas de ser consumido. O controle de qualidade possibilita, desta forma, avaliar se os métodos de conservação do alimento estão sendo eficientes, permitindo a determinação do *shelf-life* do produto e assegurando a obtenção de um alimento estável e seguro (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998).

Evangelista (2008) afirma que o controle de qualidade deve ser visto como um investimento, pois traz maior índice de rentabilidade comercial. Segundo o mesmo autor, o controle de qualidade propicia “o reconhecimento e a remoção de falhas surgidas em qualquer das etapas de fabricação”, garantindo “a elaboração de um produto alimentício de agradável categoria”, que apresenta sempre um mesmo padrão e transmite ao consumidor maior confiança. Esta prática garante ainda economia com perda de matéria-prima (EVANGELISTA, 2008).

O ar, a luz, as reações químicas e os micro-organismos são fatores responsáveis pela alteração ou deterioração dos alimentos. O ar promove a oxidação de gorduras, pigmentos e vitaminas. A luz tem papel importante na formação de radicais livres, os quais aceleram reações de decomposição (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998). Micro-organismos ocasionam alterações nos alimentos como fermentações, decomposição de hidratos de carbono com desprendimento ou não de gases, formando produtos não-tóxicos; putrefações, decomposição anaeróbia de substâncias nitrogenadas com desprendimento de gases de mau cheiro e algumas vezes com produção de toxinas; e alterações de aparência, modificação do ponto de vista visual (CAMARGO, 1986).

Os micro-organismos nos alimentos podem ser causadores de alterações químicas que resultam no que é chamado de “deterioração microbiana”, que são alterações de cor, odor, sabor, textura e aspecto dos alimentos. Alguns podem representar risco à saúde (micro-organismos patogênicos), podendo chegar ao alimento por diversas vias e refletindo condições inadequadas de higiene durante a produção, armazenamento, distribuição e manuseio doméstico (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Equipamentos para desenvolvimento do produto e controle de qualidade**

Este estudo foi desenvolvido nos Laboratórios de Química, Controle de Qualidade, Análise Sensorial e Biotecnologia do Centro Universitário UNIVATES.

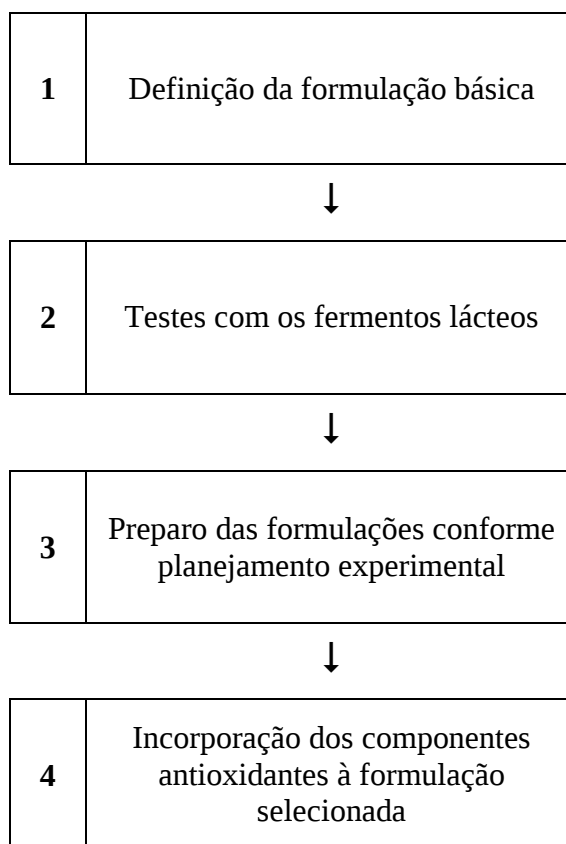
### **3.2 Obtenção do soro de ricota**

O soro de ricota foi obtido no laticínio da empresa Comercial Lacmax. Utilizou-se soro de ricota na forma líquida proveniente de soro de queijo lanche. O lote obtido foi congelado a -18° C em frascos de polietileno até a utilização.

### **3.3 Desenvolvimento da bebida láctea fermentada**

Inicialmente determinou-se que a bebida láctea seria composta por açúcar cristal (sacarose, Caiano), leite em pó integral (Elegê), povidexose (Sabormax), soro de ricota, sorbato de potássio (Synth), polpa de morango (Borsato), preparado sabor morango e fermento lácteo (BioRich) e que os componentes antioxidantes seriam adicionados à formulação que apresentasse melhor aceitação sensorial. O fluxograma apresentado na Figura 3 mostra o planejamento inicial dos experimentos.

Figura 3 – Planejamento dos experimentos



Foram realizados experimentos preliminares para determinação das quantidades de açúcar, polpa de morango e preparado sabor morango de forma a atingir aroma, sabor e cor agradáveis e próximos às bebidas lácteas comercializadas na região. Neste teste preliminar utilizou-se a cultura láctica comercial BioRich composto por *Lactobacillus acidophilus* LA-5®, *Bifidobacterium* BB-12® (*B. lactis*) e *S. termophilus*, em função da facilidade de aquisição e de utilização, visto que é fabricada para uso doméstico e ainda possui bactérias lácticas probióticas. Nesta etapa foi determinado o procedimento para elaboração de todas as bebidas.

Após a definição da formulação básica, estas foram preparadas com a cultura BioRich e cultura nu-trish® L. Casei-01, da Chr. Hansen, contendo *Lactobacillus casei* subsp. *paracasei* para definição da cultura a ser utilizada nos experimentos seguintes.

Devido ao tempo de incubação para atingimento do pH desejado ser relativamente longo quando da utilização da cultura pura diretamente na base láctea, realizou-se a ativação prévia dos micro-organismos em leite a 12% de sólidos para posterior incorporação deste

inóculo nas formulações. Para determinação do tempo de incubação do inóculo (determinação do pico de crescimento das bactérias) foi feita previamente a curva de crescimento do fermento lácteo. A ativação dos micro-organismos (cultura BioRich e cultura nu-trish® ) foi realizada em leite em pó integral reconstituído a 12% de sólidos e incubação a 37°C. O plaqueamento em placas de ágar MRS (Man, Rogosa & Sharpe), a 35°C por 72 horas, conforme ZACARCHENCO e MASSAGUER-ROIG (2004), nos tempos de 0, 1, 2, 3, 5 e 7 horas, forneceu a quantidade de microrganismos em cada período e o pico de crescimento para determinação o tempo de incubação.

Após definição das concentrações de açúcar, polpa de morango e preparado sabor morango, formulações foram produzidas variando a concentração de leite em pó e soro de ricota, de acordo com delineamento experimental (TABELA 2).

Através do planejamento experimental do tipo 2<sup>n</sup>, onde n é o número de variáveis independentes estudadas, as duas variáveis concentração de soro de ricota e leite em pó foram avaliadas em 5 níveis (- 1,41; - 1, 0; + 1; + 1,41) resultando em 11 amostras elaboradas nas mesmas condições de processamento.

Tabela 2 – Delineamento experimental das amostras com as concentrações de soro de ricota e leite em pó

| Formulação | Variável codificada |                | Variável real   |                    |
|------------|---------------------|----------------|-----------------|--------------------|
|            | Leite em pó         | Soro de ricota | Leite em pó (%) | Soro de ricota (%) |
| <b>A</b>   | -1                  | -1             | 7               | 35,8               |
| <b>B</b>   | -1                  | 1              | 7               | 64,2               |
| <b>C</b>   | 1                   | -1             | 9,5             | 35,8               |
| <b>D</b>   | 1                   | 1              | 9,5             | 64,2               |
| <b>E</b>   | -1,41               | 0              | 6,5             | 50                 |
| <b>F</b>   | 1,41                | 0              | 10              | 50                 |
| <b>G</b>   | 0                   | -1,41          | 8,25            | 30                 |
| <b>H</b>   | 0                   | 1,41           | 8,25            | 70                 |
| <b>I</b>   | 0                   | 0              | 8,25            | 50                 |
| <b>J</b>   | 0                   | 0              | 8,25            | 50                 |
| <b>K</b>   | 0                   | 0              | 8,25            | 50                 |

A característica prebiótica foi atribuída mediante a adição de polidextrose, em concentração mínima de 1,5%, conforme exigência da ANVISA para alimentos líquidos (ANVISA, 2008). O leite em pó foi adicionado como forma de conseguir atingir a composição exigida na legislação (BRASIL, 2005). A Tabela 3 contém a composição completa das 11 formulações do planejamento experimental.

Tabela 3 – Composição das 11 formulações

| <b>Formulação</b>                                     | <b>A</b> | <b>B</b> | <b>C</b> | <b>D</b> | <b>E</b> | <b>F</b> | <b>G</b> | <b>H</b> | <b>I</b> | <b>J</b> | <b>K</b> |
|-------------------------------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| <b>Sacarose<sup>1</sup> (%)</b>                       | 5        | 5        | 5        | 5        | 5        | 5        | 5        | 5        | 5        | 5        | 5        |
| <b>Leite em pó (%)</b>                                | 7        | 7        | 9,5      | 9,5      | 6,5      | 10       | 8,25     | 8,25     | 8,25     | 8,25     | 8,25     |
| <b>Polidextrose (%)</b>                               | 4,5      | 4,5      | 2        | 2        | 5        | 1,5      | 3,25     | 3,25     | 3,25     | 3,25     | 3,25     |
| <b>Água (%)</b>                                       | 34,2     | 5,8      | 34,2     | 5,8      | 20       | 20       | 40       | 0        | 20       | 20       | 20       |
| <b>Soro de ricota (%)</b>                             | 35,8     | 64,2     | 35,8     | 64,2     | 50       | 50       | 30       | 70       | 50       | 50       | 50       |
| <b>Inóculo cultura láctica (%)</b>                    | 3        | 3        | 3        | 3        | 3        | 3        | 3        | 3        | 3        | 3        | 3        |
| <b>Solução de sorbato de potássio<sup>2</sup> (%)</b> | 0,5      | 0,5      | 0,5      | 0,5      | 0,5      | 0,5      | 0,5      | 0,5      | 0,5      | 0,5      | 0,5      |
| <b>Polpa de morango<sup>3</sup> (%)</b>               | 2,5      | 2,5      | 2,5      | 2,5      | 2,5      | 2,5      | 2,5      | 2,5      | 2,5      | 2,5      | 2,5      |
| <b>Preparado sabor morango<sup>4</sup> (%)</b>        | 7,5      | 7,5      | 7,5      | 7,5      | 7,5      | 7,5      | 7,5      | 7,5      | 7,5      | 7,5      | 7,5      |

<sup>1</sup>Sacarose utilizada na forma de açúcar cristal

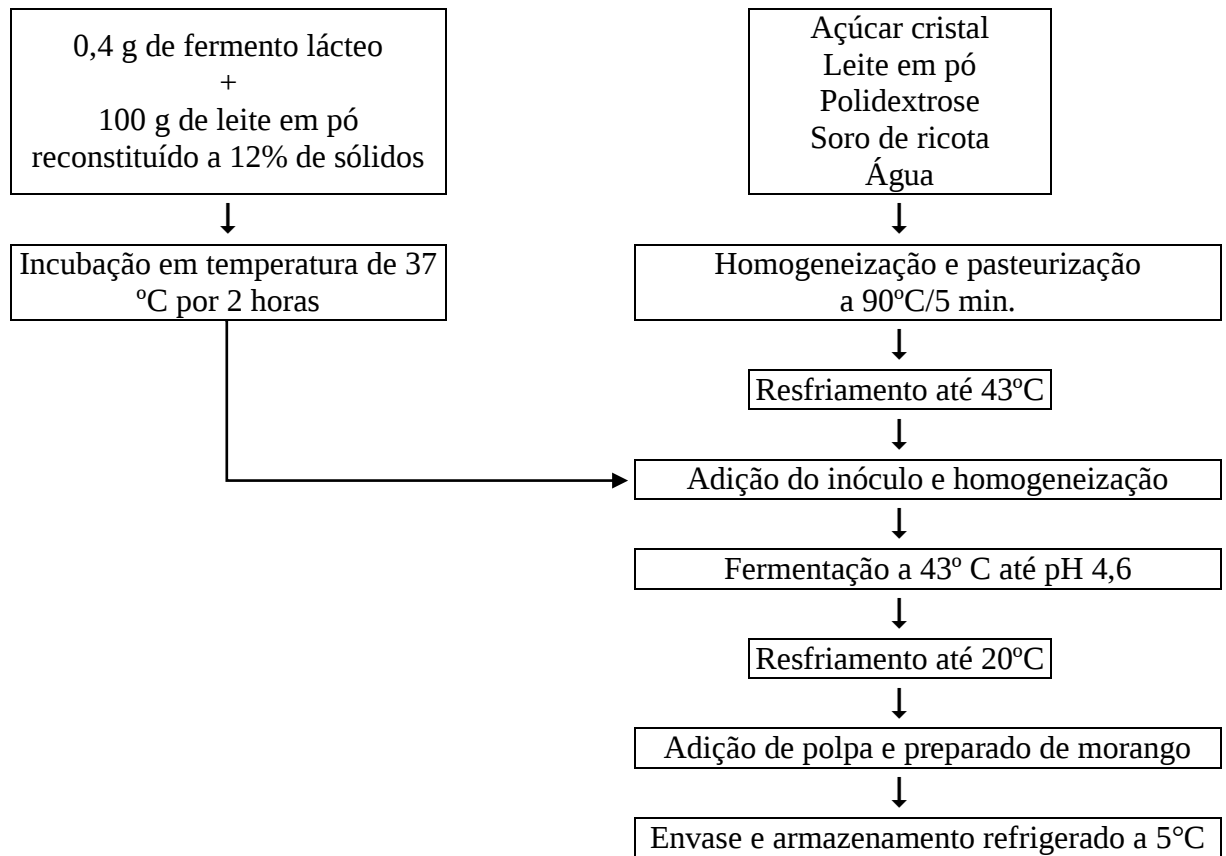
<sup>2</sup>Solução de sorbato de potássio 0,06g/mL

<sup>3</sup>Polpa de morango comercial congelada adicionada de 1% de pectina

<sup>4</sup>Preparado comercial sabor morango

O preparo das amostras foi feito da seguinte forma: homogeneização e pasteurização da mistura de açúcar cristal (sacarose) em proporção de 5% em todas as amostras, leite em pó (6,5% a 10%), a polidextrose (1,5% a 5%), o soro de ricota (30% a 70%) e a água (0% a 40%) a 90°C por 5 minutos; resfriamento das formulações até a temperatura de 43 °C para a adição do inóculo e incubação a 43 °C até atingimento de pH 4,6. Após resfriamento rápido até 20°C, foram adicionados o conservante sorbato de potássio (solução 0,06 g/mL), a polpa de morango (2,5%) e o preparado sabor morango (7,5%). As amostras foram armazenadas em frascos hermeticamente fechados sob refrigeração a 5 °C até o momento das análises. O fluxograma do processo pode ser visto da Figura 4.

Figura 4 – Fluxograma do processo de elaboração das 11 amostras de bebida láctea



As Figuras 5 e 6 ilustram o procedimento de pesagem e pasteurização para o preparo das 11 formulações.

Figura 5 – Pesagem dos componentes sólidos



Figura 6 – Pasteurização da mistura



### 3.4 Avaliação da vida de prateleira

As amostras foram armazenadas durante um período de 45 dias para a avaliação de sua vida de prateleira através de análises físico-químicas e microbiológicas realizadas conforme mostrado no Quadro 2.

Quadro 2 – Periodicidade das análises realizadas

| Análise            | 1 dia de fabricação | 7 dias de fabricação | 14 dias de fabricação | 21 dias de fabricação | 28 dias de fabricação | 35 dias de fabricação | 45 dias de fabricação |
|--------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Cinzas             | X                   |                      |                       |                       |                       |                       | X                     |
| Extrato seco       | X                   |                      |                       |                       |                       |                       | X                     |
| Lipídios           | X                   |                      |                       |                       |                       |                       | X                     |
| Proteínas          | X                   |                      |                       |                       |                       |                       | X                     |
| Lactose            | X                   | X                    | X                     |                       | X                     |                       | X                     |
| Sedimentação       | X                   | X                    | X                     |                       | X                     |                       | X                     |
| Sinerese           | X                   | X                    | X                     |                       | X                     |                       | X                     |
| Acidez             | X                   | X                    | X                     | X                     | X                     | X                     | X                     |
| pH                 | X                   | X                    | X                     | X                     | X                     | X                     | X                     |
| Atividade de água  | X                   | X                    | X                     | X                     | X                     | X                     | X                     |
| Viscosidade        | X                   |                      |                       | X                     |                       |                       | X                     |
| Minerais           |                     |                      |                       |                       |                       |                       | X                     |
| Coliformes         | X                   |                      |                       |                       |                       |                       | X                     |
| Bactérias lácticas | X                   | X                    | X                     |                       | X                     |                       | X                     |
| Análise sensorial  | X                   |                      |                       |                       |                       |                       | X                     |

Realizou-se análises físico-químicas de pH, acidez, proteína, gordura, lactose, extrato seco, matéria mineral e minerais (cálcio, sódio e potássio); análises microbiológicas de coliformes a 36° e a 45°C; contagem dos grupos específicos de bactérias lácticas utilizadas (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium*, *S. termophilus*) e perfil reológico conforme as metodologias constantes no Quadro 3.

Quadro 3 – Metodologias utilizadas nas análises

| <b>Análise</b>         | <b>Metodologia</b>                                                                                                            |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| pH                     | Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006)                                                           |
| Atividade de água      | Conforme instruções do manual do equipamento Aqualab Lite®                                                                    |
| Acidez                 | Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006)                                                           |
| Proteínas              | Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006)                                                           |
| Lipídios               | Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006)                                                           |
| Extrato seco           | Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006)                                                           |
| Cinzas                 | Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006)                                                           |
| Carboidratos totais    | Cálculo da diferença de 100 gramas de amostra e a soma total dos valores encontrados de proteínas, lipídeos, cinzas e umidade |
| Lactose                | Metodologia adaptada de Miller (1959)                                                                                         |
| Sinerese               | Amaya-Llano et al. (2008)                                                                                                     |
| Sedimentação           | White <i>et al.</i> (2008)                                                                                                    |
| Minerais               | Manual de métodos físico-químicos para análise de alimentos (BRASIL, 2008) através de fotometria de chama                     |
| Bactérias lácticas     | Vinderola e Reinheimer (1999)                                                                                                 |
| Coliformes a 36 e 45°C | IN nº 62 de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003)                                                                               |
| Viscosidade            | Viscosímetro rotacional Brookfield modelo DV-I+, série RV conforme instruções do manual do equipamento                        |

### 3.4.1 Determinação do pH

A determinação do pH (medida da concentração de íons hidrogênio na amostra) foi realizada pelo método eletrométrico com utilização de pHmetro digital Digimed DM-20 conforme a Instrução Normativa N° 68, de 2 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006).

### 3.4.2 Atividade de água

A atividade de água ( $A_w$ ) foi determinada utilizando o equipamento Aqualab Lite® (BrasEQ Brasileira de Equipamentos Ltda., SP, Brasil) conforme instruções do manual do equipamento.

### 3.4.3 Acidez

A acidez foi quantificada em g de ácido láctico/ 100 g por titulometria com solução de hidróxido de sódio 0,1M até pH 8,3 – conforme a Instrução Normativa N° 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006).

Pesaram-se 10 gramas da amostra em um béquer de 100 mL, em triplicata, adicionando em seguida 50 mL de água. Titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,1 M até pH 8,3. Para o cálculo da acidez das amostras, utilizou-se a equação a seguir (2):

$$V \times f \times 0,9 / P = \text{g de ácido láctico por cento m/v} \quad (2)$$

onde:

$V$  = n° de mL de solução de hidróxido de sódio 0,1 M gasto na titulação

$P$  = n° g ou mL da amostra

0,9 = fator de conversão para o ácido láctico

$f$  = fator da solução de hidróxido de sódio 0,1 M

### 3.4.4 Proteínas

Para as análises de proteínas foi utilizado o método de Kjeldahl modificado, com digestão da amostra em ácido sulfúrico para transformação do nitrogênio em sulfato de amônio, e posterior destilação para liberação da amônia, fixada em solução de ácido bórico e

titulada com ácido clorídrico, conforme a Instrução Normativa Nº 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006).

Pesaram-se 2 gramas da amostra, em triplicata, em papel filtro e transferiu-se para o tubo de digestão. Preparou-se o “branco” utilizando somente o papel filtro. Adicionaram-se a todos os tubos 25 mL de ácido sulfúrico concentrado e 6 gramas da mistura catalítica. Os tubos foram aquecidos a 400°C, permanecendo por uma hora após a solução tornar-se azul-esverdeada e livre de pontos pretos. Após o resfriamento, conectou-se o tubo ao conjunto de destilação e mergulhou-se a extremidade afilada do refrigerante em 25 mL de ácido bórico 4% contido em um frasco de erlenmeyer, servindo este como suporte para adsorção da amônia. Por meio do funil com torneira, adicionaram-se 40 mL de solução de hidróxido de sódio 40%. Aqueceu-se a ebulição e destilou-se até obter cerca de 250 mL de destilado. Titulou-se o material contido nos erlenmeyers com solução de ácido clorídrico 0,01 M utilizando solução mista de vermelho de metila e verde de bromocresol 0,1% como indicador. O cálculo para determinação da concentração de proteínas foi feito utilizando-se a seguinte equação (3):

$$\text{Proteínas por cento m/m} = (V \times 0,14 \times 6,38) / P \quad (3)$$

onde:

V = volume de ácido clorídrico 0,1 M gasto na titulação

P = nº de g da amostra

### 3.4.5 Lipídios

A determinação de lipídios foi realizada pelo método de Roese-Gottlieb, conforme a Instrução Normativa Nº 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006). Neste método, a solubilização da caseína e a neutralização da acidez ocorrem pela adição de hidróxido de amônio, seguida da quebra da emulsão gordura-caseína pelo álcool etílico e extração da gordura pela mistura éter etílico/éter de petróleo para extrair a gordura, que é determinada gravimetricamente.

Pesou-se cerca de 5 gramas de amostra homogeneizada diretamente no frasco de extração e adicionou-se 10 mL de água a  $65 \pm 2^\circ\text{C}$ , com auxílio de uma pipeta Pasteur, lavando a amostra para o bulbo menor do frasco, e misturando completamente. Adicionou-se 2 mL da solução de amônia contendo aproximadamente 25 % (m/m) de  $\text{NH}_3$  ao frasco de Mojonier e homogeneizou-se. Aqueceu-se o frasco a  $65 \pm 2^\circ\text{C}$  em banho-maria por 15

minutos agitando ocasionalmente. Após resfriamento acrescentou-se 10 mL de álcool etílico, efetuou-se homogeneização cuidadosa, sem agitação forte, mas deixando o líquido fluir entre os dois bulbos, inclinando o frasco de extração sem que o líquido atinja a tampa. Adicionou-se 25 mL de éter etílico, fechou-se o tubo com uma tampa de silicone e agitou-se vigorosamente o frasco de extração por 1 minuto, com o frasco na posição horizontal e o bulbo menor voltado para cima. Adicionou-se 25 mL de éter de petróleo, reumidecendo a tampa e agitando por 30 segundos com o frasco na posição horizontal e o bulbo menor voltado para cima. Lavou-se a tampa com a mistura de éteres, tendo cuidado para que a solução de lavagem caia no interior do tubo. Aguardou-se 30 minutos mantendo o tubo em repouso. Transferiu-se o sobrenadante para um tubo de destilador de lipídios, já seco e pesado. Lavou-se a saída do frasco com a mistura de éteres, recolhendo o material no tubo de lipídios. Adicionou-se 5 mL de álcool etílico ao frasco de Mojonnier, 15 mL de éter etílico e agitou-se vigorosamente o frasco de extração. Adicionou-se 15 mL de éter de petróleo, reumidecendo a tampa e agitando por 30 segundos com o frasco na posição horizontal e o bulbo menor voltado para cima. O sobrenadante foi adicionado ao material já extraído. Adicionou-se ao frasco de Mojonnier 15 mL de éter etílico e agitou-se vigorosamente o frasco de extração. Adicionou-se 15 mL de éter de petróleo, reumidecendo a tampa e agitando por 30 segundos com o frasco na posição horizontal e o bulbo menor voltado para cima. O sobrenadante foi adicionado ao material já extraído. O solvente foi removido por destilação. Os tubos do destilador de lipídios foram transferidos para estufa a  $102 \pm 2^\circ\text{C}$  por 1 hora. Após resfriamento em dessecador, o tubo foi pesado e o procedimento de secagem repetido até obtenção de massa constante. A porcentagem de gordura na amostra foi calculada através da seguinte equação (4):

$$\% \text{ de gordura} = [(m_1 - m_2) - (m_3 - m_4) \times 100] / m_0 \quad (4)$$

onde:

$m_0$  = massa da amostra, em gramas;

$m_1$  = massa do béquer com gordura, em gramas;

$m_2$  = massa inicial do béquer, em gramas;

$m_3$  = massa do béquer usado no teste em branco, em gramas;

$m_4$  = massa inicial do béquer usado no teste em.

### 3.4.6 Extrato seco e resíduo mineral

O extrato seco e o resíduo mineral fixo foram determinados por gravimetria, respectivamente através de estufa a vácuo a 70°C e calcinação em mufla a 550°C, conforme a Instrução Normativa N° 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006).

O extrato seco consiste na perda da umidade e voláteis por dessecação e pesagem do resíduo assim obtido. Pesaram-se 10 gramas da amostra, em triplicata, em cápsulas de porcelana previamente secas e com massa conhecida. Secou-se o material durante 24 horas em estufa a vácuo a 70°C. Após resfriamento em dessecador, a cápsula foi pesada e o procedimento de secagem repetido até obtenção de massa constante. A porcentagem de gordura na amostra foi calculada através da seguinte equação (5):

$$100 - [(MC + MA - MF) / MA] \times 100 = \text{extrato seco \% ou g/100 g} \quad (5)$$

onde:

MF = massa da cápsula + amostra após secagem

MC = massa da cápsula

MA – massa da amostra

Na quantificação de resíduo mineral fixo (cinzas), a matéria orgânica é eliminada a temperatura de 550 °C e a massa de cinzas é pesada. Pesaram-se 10 gramas da amostra, em triplicata, em cadinhos de porcelana previamente calcinados e pesados. Após queima em chapa de aquecimento, este material foi levado à mufla a 550°C até a obtenção de cinzas sem pontos pretos. Após resfriamento em dessecador, pesaram-se as amostras e calculou-se a quantidade de cinzas através da equação (6) a seguir:

$$\text{Cinzas por cento m/m} = (100 \times n) / P \quad (6)$$

onde:

n = n° de gramas de cinzas (perda de massa em g);

P = n° de gramas da amostra.

### 3.4.7 Carboidratos totais

O teor de carboidratos totais foi determinado pelo cálculo da diferença de 100 gramas de amostra e a soma total dos valores encontrados de proteínas, lipídeos, cinzas e umidade (7).

$$\text{Carboidratos por cento m/m} = 100 - P - L - C - U \quad (7)$$

onde:

P = concentração de proteínas (%);

L = concentração de lipídios (%)

C = teor de cinzas (%)

U = teor de umidade (%)

### 3.4.8 Açúcares redutores

A partir de uma solução padrão de lactose 5 mg/mL, prepararam-se, em triplicata, soluções de lactose a 1, 2, 3, 4 e 5 mg/mL. Em paralelo, efetuou-se a diluição necessárias das amostras. Transferiu-se 100 µL de cada solução (padrão e bebidas lácteas diluídas) para tubos Falcon e acrescentou-se 1 mL de solução de ácido dinitrossalicílico (DNS). Após agitação efetuou-se o aquecimento em banho-maria 100°C por 10 min. Após resfriamento, procedeu-se a leitura a 570 nm. As concentrações de açúcares nas amostras foram calculadas após construção do gráfico das leituras de absorbâncias dos padrões e cálculo da equação da reta para a curva de calibração (8):

$$y = ax + b \quad (8)$$

onde:

y = leitura de absorbância da amostra diluída;

x = concentração a ser calculada;

a e b = valores dados pela equação após construção do gráfico.

### 3.4.9 Sinerese

O índice de sinerese foi determinado através do método descrito por Amaya-Llano et al. (2008) com modificações. Índice de sinerese é a proporção entre a massa do sobrenadante e a massa total da amostra após a centrifugação a 1300 rpm por 10 minutos a 5 °C triplicata.

Centrifugaram-se aproximadamente 10 g da amostra (em triplicata) a 1300 rpm por 10 minutos, em centrífuga refrigerada a 5 °C. Pesou-se o sobrenadante e calculou-se o índice de sinérese expresso em %, através da seguinte equação (9):

$$\text{Índice de sinérese (\%)} = (M_s / M_t) \times 100 \quad (9)$$

onde:

$M_s$  = massa do sobrenadante;

$M_t$  = massa total da amostra.

#### 3.4.10 Sedimentação

A sedimentação (%) foi determinada pela proporção entre a altura do líquido sobrenadante e a altura total da amostra após a refrigeração em tubos de vidro cilíndricos a  $5 \pm 1$  °C por 72 h. Foi empregado o método descrito por White et al. (2008).

Transferiu-se aproximadamente 15 g de amostra para tubos de vidro cilíndricos (diâmetro interno 15 mm, altura 120 mm) em triplicata. Os tubos foram mantidos fechados sob refrigeração  $5 \pm 1$  °C por 72 h. Determinou-se a sedimentação (%) através da equação (10):

$$\text{Sedimentação (\%)} = (A_s / A_t) \times 100 \quad (10)$$

onde:

$A_s$  = altura do sobrenadante

$A_t$  = altura total da amostra

#### 3.4.11 Minerais

Para a determinação de cálcio, sódio, potássio foi utilizada metodologia disponível no Manual de Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2008). As cinzas das amostras foram diluídas em 2,5 mL ácido clorídrico concentrado e avolumadas em balão volumétrico de 25 mL com água purificada. Para as determinações foram feitas mais diluições, de acordo com a necessidade, com adição de

supressor cloreto de lantânio para determinação de cálcio e cloreto de cézio para a determinação de sódio e potássio, sendo quantificados os minerais por emissão atômica em fotômetro de chama Digimed DM 61 aferido com soluções padrão a 20 ppm.

Fósforo foi quantificado por método espectrofotométrico conforme a Instrução Normativa Nº 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006) utilizando-se espectrofotômetro Genesys 10S UV/VIS. Transferiu-se 1, 2, 5, 8 e 10 mL da solução 0,1 mg de fósforo por mL para balões volumétricos de 50 mL. Adicionou-se 10 mL de reagente vanado-molibdato de amônio a cada balão e também a um sexto balão para leitura do branco. Completou-se o volume com água purificada, homogeneizaram-se os balões e efetuaram-se as leituras a 420 nm após 10 minutos. Cinzas preparadas a partir de 10 g da amostra foram dissolvidas em 10 mL de ácido clorídrico e 2 mL de ácido nítrico, levadas à ebulição por cerca de 5 minutos e, após o resfriamento, avolumadas a 50 mL com água purificada. Transferiu-se quantidade adequada das amostras digeridas para balões volumétricos de 50 mL e adicionaram-se 10 mL de reagente vanado-molibdato de amônio a cada balão. Completou-se o volume com água purificada, homogeneizaram-se os balões e efetuaram-se as leituras a 420 nm após 10 minutos. Calculou-se a concentração de fósforo nas amostras conforme mostrado na equação (8). Nesta análise, o ortofosfato, presente na amostra reage, em meio ácido, com solução de vanadato e molibdato de amônio, formando um complexo estável de coloração amarela, que é medida a 420 nm.

#### **3.4.12 Determinações reológicas**

A viscosidade foi determinada através do viscosímetro rotacional (Modelo DV-I+, série RV, Marca Brookfield) utilizando o spindle 2 que foi inserido na amostra homogeneizada, em temperatura estável de 25° e sem bolhas conforme procedimento operacional do aparelho. O reograma foi elaborado iniciando da menor rotação para a maior (0,5; 1,0; 2,0; 2,5; 4,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0 e 100,0 rpm), repetindo em sentido inverso, com 30 segundos de espera entre as medidas.

#### **3.4.13 Parâmetros microbiológicos**

Para avaliação microbiológica foram realizadas diluições em solução peptonada estéril 0,1%. As amostras foram avaliadas quanto à presença de coliformes a 36°C e 45°C, de acordo com a Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2003), utilizando meio de cultivo *Violet*

*Red Bile Agar* (VRBA) com plaqueamento em profundidade e aplicação de sobrecamada, seguido de incubação a 36°C por 24 a 48 horas. Em seguida, foi feita a confirmação de presença de coliformes a 36°C em caldo Bile Verde Brilhante (Brila) e de coliformes a 45°C em caldo *Escherichia coli* (EC).

Para enumeração das bactérias lácticas presentes foram utilizadas metodologias adaptadas de Vinderola e Reinheimer (1999). *Lactobacillus acidophilus* foi enumerado por plaqueamento em ágar Bile-MRS e incubação a 37°C por 72 horas. *Bifidobacterium* foi quantificado em ágar LP-MRS, através do plaqueamento com aplicação de sobrecamada e incubação anaeróbia a 37°C por 72 horas. *S. thermophilus* foi plaqueado em ágar M17 e incubado a 37°C por 48 horas. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias por grama de produto (UFC/g).

### 3.5 Análise sensorial

As amostras foram produzidas conforme as normas de Boas Práticas de Fabricação e de Higiene e somente foram encaminhadas para avaliação após a realização de análises microbiológicas de coliformes para confirmar que estariam próprias para o consumo, conforme Instrução Normativa N° 62, de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003).

A análise sensorial das 11 amostras foi realizada conforme o Manual de Métodos físico-químicos para análise de alimentos (BRASIL, 2008) no Laboratório de Análise Sensorial da Univates, Lajeado – RS, Brasil, por uma equipe de 53 provadores não treinados, composta por funcionários e estudantes do Centro Universitário UNIVATES, no 1º e no 45º dia de fabricação.

Os provadores foram convidados a participar pela própria pesquisadora e encaminhados a local adequado, onde receberam instruções sobre a pesquisa, seus objetivos, desconfortos, benefícios e forma de degustação do produto, além do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (APÊNDICE A). A participação na avaliação não envolveu qualquer custo ao participante e ocorreu de forma espontânea. Considerou-se que todos os voluntários apreciavam e eram consumidores de bebidas lácteas, maiores de 18 anos de idade e não apresentavam alguma afecção bucal nem suspeitavam de intolerância a lactose.

No Laboratório de Análise Sensorial, em cabines individuais, climatizadas e com luz branca, os provadores receberam as amostras identificadas com três dígitos aleatórios e acondicionadas em copos descartáveis, um copo com água mineral para lavagem da cavidade oral, uma caneta e a ficha de análise sensorial. Os atributos avaliados foram aparência, odor, sabor, textura e impressão global do produto através de uma escala estruturada de nove pontos, variando de 1 – “desgostei muitíssimo” – à 9 – “gostei muitíssimo” – nos aspectos: aparência, odor, sabor, textura e impressão global. Ainda, foi avaliada a intenção de compra, variando de “certamente compraria” a “certamente não compraria”. A ficha de análise sensorial pode ser vista no Apêndice B.

A coleta dos dados junto aos participantes da pesquisa foi realizada pela própria pesquisadora, sendo mantida a confidencialidade do provador. O armazenamento dos dados da avaliação sensorial será realizado pela orientadora sob sigilo pelo período de 5 anos em local reservado, de acesso à equipe de pesquisa somente e, após, serão incinerados.

Para o cálculo do Índice de Aceitabilidade (IA), foi adotada a seguinte equação (11), conforme metodologia utilizada por Dessimoni-Pinto et al. (2010).

$$IA\% = A \times 100/B \quad (11)$$

onde:

A = nota média obtida para o produto

B = nota máxima dada ao produto

O IA com boa repercussão é considerado o igual ou superior a 70% (DESSIMONI-PINTO et al., 2010).

### 3.6 Atividade antioxidante

Através de metodologia de superfície de resposta foi determinada a melhor condição das variáveis concentração de leite em pó e concentração de soro de ricota para o atributo Aceitação Global 1d. Foi preparada quantidade suficiente desta formulação para posterior adição dos componentes antioxidantes (resveratrol, vitamina C e vitamina E) conforme mostrado na Tabela 4. A concentração destes compostos foi determinada com base na Ingestão Diária Recomendada das vitaminas (RDA, 2006) e na concentração de resveratrol em sucos de uva (FREITAS et al., 2010), bem como a dosagem usual diária para suplementação com

resveratrol fornecida pela Distribuidora de Insumos Farmacêuticos DEG (DEG, 2011) sendo estes adicionados de forma que uma porção de 200 mL fornecesse a quantidade diária recomendada.

Tabela 4 – Formulações de bebida láctea preparadas com antioxidantes

| <b>Amostra</b>  | <b>Quant. Bebida (mL)*</b> | <b>Resveratrol (g)</b> | <b>Vitamina C (g)</b> | <b>Vitamina E 50% (g)</b> |
|-----------------|----------------------------|------------------------|-----------------------|---------------------------|
| <b>AA</b>       | qsp 500                    | 0,075                  |                       |                           |
| <b>AB</b>       | qsp 500                    | 0,075                  |                       | 0,0750                    |
| <b>AC</b>       | qsp 500                    |                        | 0,2250                |                           |
| <b>AD</b>       | qsp 500                    |                        | 0,2250                | 0,0750                    |
| <b>AE</b>       | qsp 500                    |                        |                       | 0,0750                    |
| <b>CONTROLE</b> | qsp 500                    |                        |                       |                           |

\*qsp – quantidade suficiente para

As determinações foram conduzidas no tempo de estocagem 0, 7, 14, 21, 28, 36 e 45 dias a fim de avaliar o comportamento da atividade antioxidante durante o prazo de validade.

Para extração dos compostos antioxidantes das bebidas lácteas, utilizou-se metodologia adaptada de Salvador (2011), sendo 10 mL da amostra adicionadas de 10 mL de metanol. Após centrifugação a 12.000 g por 5 minutos, o sobrenadante foi utilizado para as determinações da atividade antioxidante através do método de sequestro do DPPH conforme Mensor et al. (2001).

A cada conjunto de análises foi realizada a curva da vitamina C em metanol, utilizada como padrão e verificação da solução de DPPH, e as curvas dos antioxidantes nas mesmas concentrações utilizadas nas bebidas, como comparativo ao efeito esperado no produto. A solução de DPPH foi preparada a 0,004% em metanol e utilizada na proporção 2:1 de solução de extrato ou de extrato diluído. A curva padrão da vitamina C foi realizada nas concentrações de 50; 25; 12,5; 6,25 e 3,125 µg/mL em metanol.

A atividade antioxidante de cada amostra foi calculada através da seguinte equação (12):

$$\%AA = 100 - [(Aa - Ab) / Ac] \times 100 \quad (12)$$

onde:

Aa = absorbância da amostra

Ab = absorbância do branco

Ac = absorbância do controle negativo

Para a determinação da atividade antioxidante por voltametria cíclica utilizou-se uma célula eletroquímica de três eletrodos (eletrodo de trabalho de carbono vítreo, eletrodo de referência de Ag/AgCl e contra-eletrodo de platina) e potenciostato Autolab / Ecochemie 128 N, conforme metodologia adaptada de Golcua et al. (2005).

A condutividade foi ajustada pela adição de solução de KCl 0,1N até no mínimo, 600  $\mu\text{S.cm}^{-1}$ . Utilizou-se 30 mL da bebida láctea em uma célula de vidro com os eletrodos acoplados em uma gaiola de Faraday. Foram efetuados testes com varreduras até 1 V com velocidade de varredura 0,1  $\text{V.s}^{-1}$ . Os experimentos foram realizados em triplicata, com leitura direta da amostra com condutividade mínima de 600  $\mu\text{S.cm}^{-1}$ , com tamponamento em pH 4,0 e com mistura de tampão pH 4,0 e bebida láctea 10:1 para avaliar qual seria a melhor condição.

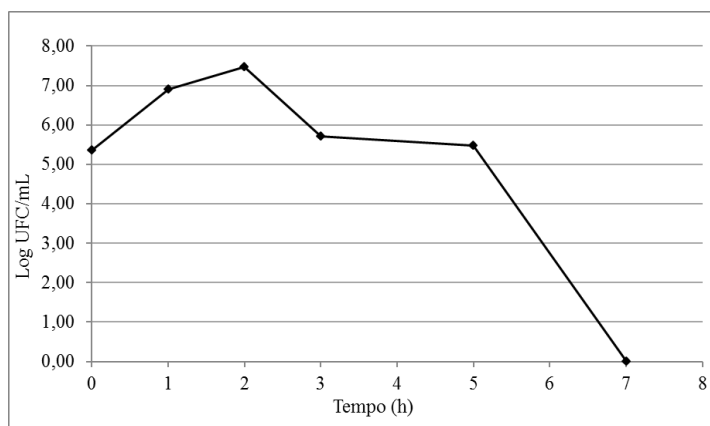
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Escolha da cultura lática e determinação do tempo de incubação do inóculo

No experimento preliminar de determinação da cultura lática a ser utilizada, percebeu-se que, além do maior tempo de fermentação, a cultura nu-trish® não atribuiu características organolépticas satisfatórias na formulação, desta forma optou-se por continuar os experimentos com a cultura BioRich. É válido ressaltar que, sob o ponto de vista industrial, aumentos no tempo de fermentação se refletem no custo final dos produtos (MANZANO et al., 2008).

A curva de crescimento do fermento BioRich em leite integral 12% de sólidos pode ser vista na Figura 7.

Figura 7 – Curva de crescimento da cultura BioRich



De acordo com os resultados, pode ser visto que após 2 horas ocorre decréscimo de micro-organismos viáveis. Desta forma estabeleceu-se o tempo de 2 horas para ativação da cultura.

#### **4.2 Determinação do *shelf-life* das formulações preparadas conforme planejamento experimental**

A Tabela 5 mostra a composição centesimal das 11 formulações produzidas.

Tabela 5 – Resultados da composição centesimal das bebidas lácteas fermentadas

| Amostra | Extrato seco (g/100 g)       |                              | Cinzas (g/100 g)            |                             | Proteínas (g/100 g)         |                             | Lipídios (g/100 g)          |                             | Carboidratos totais (g/100 g) |              |
|---------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|--------------|
|         | 1 dia                        | 45 dias                      | 1 dia                       | 45 dias                     | 1 dia                       | 45 dias                     | 1 dia                       | 45 dias                     | 1 dia                         | 45 dias      |
| A       | 19,99 ± 0,08 <sup>Afg</sup>  | 20,34 ± 0,09 <sup>Af</sup>   | 0,67 ± 0,02 <sup>Af</sup>   | 0,67 ± 0,00 <sup>Ac</sup>   | 2,14 ± 0,22 <sup>Ad</sup>   | 1,88 ± 0,11 <sup>Ad</sup>   | 0,49 ± 0,01 <sup>Ade</sup>  | 0,47 ± 0,02 <sup>Ade</sup>  | 15,86 ± 0,24                  | 17,98 ± 0,19 |
| B       | 22,37 ± 0,35 <sup>Ab</sup>   | 22,88 ± 0,13 <sup>Aa</sup>   | 0,82 ± 0,00 <sup>Abe</sup>  | 0,84 ± 0,01 <sup>Aabc</sup> | 2,65 ± 0,12 <sup>Abc</sup>  | 2,24 ± 0,07 <sup>Acdf</sup> | 0,54 ± 0,02 <sup>Acdf</sup> | 0,50 ± 0,04 <sup>Acde</sup> | 19,18 ± 0,25                  | 20,14 ± 0,20 |
| C       | 21,39 ± 0,06 <sup>Bcd</sup>  | 22,14 ± 0,12 <sup>Ab</sup>   | 0,89 ± 0,01 <sup>Bab</sup>  | 0,93 ± 0,01 <sup>Aa</sup>   | 2,72 ± 0,20 <sup>Abc</sup>  | 2,30 ± 0,07 <sup>Abc</sup>  | 0,41 ± 0,02 <sup>Aef</sup>  | 0,39 ± 0,01 <sup>Ae</sup>   | 18,26 ± 0,23                  | 19,29 ± 0,08 |
| D       | 20,94 ± 0,20 <sup>Bce</sup>  | 21,57 ± 0,25 <sup>Ac</sup>   | 0,97 ± 0,10 <sup>Aa</sup>   | 0,89 ± 0,00 <sup>Babc</sup> | 2,88 ± 0,24 <sup>Aab</sup>  | 2,63 ± 0,12 <sup>Ab</sup>   | 0,61 ± 0,03 <sup>Abcd</sup> | 0,65 ± 0,07 <sup>Ab</sup>   | 17,45 ± 0,20                  | 18,28 ± 0,31 |
| E       | 21,32 ± 0,61 <sup>Accl</sup> | 21,19 ± 0,10 <sup>Acde</sup> | 0,69 ± 0,01 <sup>Bdf</sup>  | 0,70 ± 0,01 <sup>Abc</sup>  | 2,44 ± 0,05 <sup>Accl</sup> | 2,03 ± 0,13 <sup>Accl</sup> | 0,65 ± 0,04 <sup>Abc</sup>  | 0,63 ± 0,04 <sup>Abc</sup>  | 18,23 ± 0,69                  | 18,40 ± 0,35 |
| F       | 20,66 ± 0,08 <sup>Adef</sup> | 21,06 ± 0,12 <sup>Ade</sup>  | 0,90 ± 0,01 <sup>Aab</sup>  | 0,93 ± 0,01 <sup>Aa</sup>   | 3,26 ± 0,28 <sup>Aa</sup>   | 3,06 ± 0,06 <sup>Aa</sup>   | 0,86 ± 0,08 <sup>Aa</sup>   | 0,84 ± 0,02 <sup>Aa</sup>   | 15,54 ± 0,39                  | 17,26 ± 0,36 |
| G       | 23,92 ± 0,14 <sup>Aa</sup>   | 20,73 ± 0,22 <sup>Bef</sup>  | 0,81 ± 0,00 <sup>Abc</sup>  | 0,72 ± 0,00 <sup>Aabc</sup> | 2,72 ± 0,15 <sup>Abc</sup>  | 2,23 ± 0,04 <sup>Accl</sup> | 0,64 ± 0,02 <sup>Abc</sup>  | 0,54 ± 0,03 <sup>Bbd</sup>  | 20,56 ± 0,29                  | 17,97 ± 0,24 |
| H       | 21,75 ± 0,46 <sup>Abc</sup>  | 22,08 ± 0,17 <sup>Ab</sup>   | 0,89 ± 0,00 <sup>Bab</sup>  | 0,92 ± 0,01 <sup>Aab</sup>  | 2,95 ± 0,02 <sup>Aab</sup>  | 2,40 ± 0,06 <sup>Bbc</sup>  | 0,80 ± 0,05 <sup>Aa</sup>   | 0,82 ± 0,05 <sup>Aa</sup>   | 18,00 ± 0,43                  | 18,64 ± 0,23 |
| I       | 19,29 ± 0,14 <sup>Bg</sup>   | 21,02 ± 0,19 <sup>Ade</sup>  | 0,69 ± 0,01 <sup>Bdf</sup>  | 0,80 ± 0,00 <sup>Aabc</sup> | 2,60 ± 0,13 <sup>Abc</sup>  | 2,23 ± 0,13 <sup>Accl</sup> | 0,49 ± 0,04 <sup>Ade</sup>  | 0,47 ± 0,02 <sup>Ade</sup>  | 16,20 ± 0,29                  | 18,32 ± 0,26 |
| J       | 21,01 ± 0,23 <sup>Ace</sup>  | 21,30 ± 0,30 <sup>Accl</sup> | 0,78 ± 0,00 <sup>Acde</sup> | 0,93 ± 0,25 <sup>Aa</sup>   | 2,86 ± 0,03 <sup>Ab</sup>   | 2,36 ± 0,07 <sup>Bbc</sup>  | 0,36 ± 0,02 <sup>Ae</sup>   | 0,40 ± 0,03 <sup>Ae</sup>   | 17,78 ± 0,18                  | 18,53 ± 0,38 |
| K       | 20,34 ± 0,07 <sup>Aef</sup>  | 20,74 ± 0,06 <sup>Aef</sup>  | 0,78 ± 0,00 <sup>Bcde</sup> | 0,81 ± 0,01 <sup>Aabc</sup> | 2,85 ± 0,08 <sup>Ab</sup>   | 2,24 ± 0,06 <sup>Bbcd</sup> | 0,74 ± 0,05 <sup>Aab</sup>  | 0,79 ± 0,04 <sup>Aa</sup>   | 16,75 ± 0,01                  | 17,6 ± 0,11  |

Abc – Médias seguidas por letras maiúsculas iguais, na mesma linha e parâmetro, não diferem estatisticamente; médias seguidas por letras minúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem estatisticamente conforme Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ )

#### 4.2.1 Extrato seco

Conforme a Tabela 5, os resultados de extrato seco variaram entre 19,29% e 23,92% no 1º dia de fabricação e 20,34% a 22,88% aos 45 dias de armazenamento.

Em relação à variação deste parâmetro nos dois períodos analisados, somente as amostras C, G e I apresentaram resultados diferentes ( $P \leq 0,05$ ) no 1º e 45º dia. Desta forma, as demais amostras (A, C, D, E, F, H, J e K) têm resultados considerados iguais conforme análise estatística ( $P \leq 0,05$ ).

Na análise estatística realizada para comparação das 11 formulações no mesmo período, percebe-se grande variação nos resultados. Após um dia de fabricação, os resultados de extrato seco mostram que: a formulação A apresenta resultados estatisticamente iguais as formulações F, I e K; o resultado da formulação B é igual a H; a formulação C tem resultado igual a D, E, F, H, J e K; a amostra D é igual a C, E, F, G e J; a formulação E é igual a C, D, F, H, J e K; a formulação F é igual a A, C, D, E, J e K; a amostra G tem resultado é diferentes de todas as demais formulações; a amostra H é igual a B, C, D, E, F, H e J; o resultado da formulação I é igual a A; J é igual a C, D, E, F e K; e a formulação K é igual a A, D, F e J. Aos 45 dias de fabricação, a formulação A é estatisticamente igual a G e K; a amostra B é diferente de todas as demais; a amostra C é igual a H; a formulação D é igual a E, F, G, I e K; a formulação E é igual a D, F, G, I, J e K; a amostra F é igual a E, G, I, J e K; a amostra G tem resultados iguais a A, E, F, I e K; a formulação H é igual a C; a formulação I é igual a E, F, G, J e K; J é estatisticamente igual a D, E, F e J; e K é igual a A, E, G e I. Todos estes resultados são referentes a um intervalo de confiança de 95% para o teste de Tukey.

Conforme estudos realizados, bebidas lácteas comerciais apresentam entre 16% e 26,90% de extrato seco (RODAS et al., 2001; SILVEIRA et al., 2011; ULSENHEIMER et al., 2012), valores semelhantes aos encontrados neste estudo. Concentrações mais baixas foram encontradas por Cunha et al. (2008) – 18,08% – em bebida láctea com 70% de leite e 30% de soro de queijo.

Almeida et al. (2001) produziram bebidas lácteas com soro de queijo minas frescal a 30, 40 e 50%, leite, sendo que a utilização de leite fluido resultou em valores de extrato seco bem inferiores aos encontrados neste estudo: 7,78 a 8,89%. Conforme o autor, a diferença encontrada em seu trabalho se deve ao fato da utilização de diferentes teores de soro nas

misturas, pois o teor de extrato seco do leite foi duas vezes maior que o do soro de queijo. Esta diferença influenciou o teor de extrato seco encontrado em cada bebida láctea elaborada com os diferentes teores de soro. As bebidas com 30% de soro apresentaram maiores valores de extrato seco em função da maior quantidade de leite utilizada.

Thamer e Penna (2006) produziram 12 formulações de bebidas lácteas fermentadas funcionais com teores de extrato seco entre 15,68 e 18,97%, inferiores aos encontrados neste estudo, e afirmam que a quantidade de sólidos totais da bebida láctea dependente da quantidade de sólidos totais encontradas na matéria-prima, assim como foi mencionado por Almeida et al. (2001).

Em seu estudo Cunha (2007) percebeu que, até o 14º dia de armazenamento, menores proporções de soro de queijo resultaram em bebidas com maiores teores de sólidos totais. Após o 14º dia, a concentração de sólidos aumentou. Em uma segunda etapa do estudo, o autor preparou bebida láctea fermentada composta por 70% de leite e 30% de soro de queijo e leite fermentado com *S. thermophilus*, *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* BB-12 e relatou que a adição de soro resultou em uma bebida com menores teores de sólidos totais ( $P \leq 0,05$ ). O extrato seco do soro de ricota é aproximadamente 5,68% (Teixeira, 2002), enquanto do leite é, no mínimo, 11,4% (BRASIL, 2011), o que confirma o que foi relatado pelos autores. Os valores superiores encontrados neste estudo provavelmente ocorreram em função da utilização de leite em pó, aumentando o teor de sólidos na bebida.

#### 4.2.2 Teor de cinzas

Conforme mostrado na Tabela 5, o teor de cinzas variou de 0,67% a 0,97% no primeiro dia de fabricação e 0,67% a 0,93% aos 45 dias de armazenamento.

A análise estatística realizada demonstrou que as amostras C, D, E, H, I e K apresentaram resultados diferentes ( $P \leq 0,05$ ) no 1º e 45º dia. Na comparação entre as diferentes amostras em cada período, assim como para extrato seco, as amostras apresentaram grande variação. No primeiro dia de fabricação, A teve resultado igual a E e I; B apresentou-se igual a C, F, H, J e K; a formulação C foi igual a B, D, F, G e H; a amostra D teve resultado igual a C, F e H; a amostra E foi igual a A, B, E, I J e K; a formulação F apresentou resultado igual a B, C, D, G e H; G apresentou os mesmos resultados que B, C, F, H, J e K; a

amostra H teve resultados iguais a B, C, D, F e G; a formulação I apresentou os mesmos resultados de A, E, J e K; e as amostras J e K tiveram os mesmos resultados que B, E, G, I e K. Já aos 45 dias de armazenamento, a formulação A apresentou resultados estatisticamente iguais às formulações B, D, E, G, I, e K; os resultados das formulações B, D, G, I e K são iguais a todas as demais formulações; as formulações C, F, e J somente diferem de A e E; a formulação E é igual a A, B, D, G, H, I e K; e H somente difere de A. Estes resultados são decorrentes de avaliação conforme teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Conforme Ulsenheimer et al. (2012) bebidas lácteas sabor morango comercializadas na região do Vale do Taquari apresentaram entre 0,41 e 0,60% de cinzas, resultados inferiores aos encontrados no presente trabalho. Rodas et al. (2001) analisou 136 amostras de iogurtes de frutas de 8 marcas adquiridas em supermercados da cidade de São Paulo cujo conteúdo de cinzas variou entre 0,50 a 0,92%.

Cunha (2007) preparou bebida láctea fermentada composta por 70% de leite e 30% de soro de queijo e leite fermentado com *S. thermophilus*, *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* BB-12, obtendo valores de matéria mineral estatisticamente iguais ( $P \leq 0,05$ ), indicando que a adição de 30% de soro não afetou este parâmetro. Thammer e Penna (2006) obtiveram variação de 0,53 a 0,61% neste parâmetro em bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico e elaboradas conforme 12 tratamentos.

Percebe-se que as formulações de bebidas lácteas produzidas no presente estudo possuem teor de cinzas relativamente maior que outros estudos, inclusive com iogurtes comerciais, o que indica que possui maior teor de minerais. Essa diferença possivelmente ocorre devido à utilização de leite em pó na formulação.

#### 4.2.3 Proteínas

Segundo a Tabela 5, as concentrações de proteínas variaram entre 2,14% a 3,26% no primeiro dia de fabricação e 1,88% a 3,06% aos 45 dias de armazenamento. Somente as amostras H, J e K apresentaram resultados diferentes ( $P \leq 0,05$ ) no 1º e 45º dia. Estas formulações eram idênticas à I, que apresentou também uma diminuição da concentração de proteínas do 1º para o 45º dia, porém que não foi considerada uma diferença estatística ( $P \leq 0,05$ ).

Comparando-se as diferentes amostras em um mesmo período de armazenamento, as diferenças foram menos evidenciadas do que para extrato seco e cinzas. Após um dia de armazenamento, a quantidade de proteínas de A apresentou-se igual somente a E; as amostras B, C, G e I apresentaram resultados iguais a D, E, H, J e K; as formulações D e H tiveram resultados iguais a B, C, E, G, J e K; E apresentou-se igual a A, B, C, G e I; F teve resultado igual a D e H; J e K somente diferiram de A, E e F. Aos 45 dias de armazenamento, a formulação A apresentou resultados iguais a E; as formulações B, E, G e I apresentaram resultados iguais a C, H, J e K; as amostras C, H e J tiveram resultados iguais a A, B, E, G, I e K; D apresentou resultados iguais a C, H, J e K; a amostra F, que continha a maior quantidade de leite em pó e quantidade intermediária de soro de ricota, apresentou a maior quantidade de proteínas, diferindo estatisticamente de todas as demais formulações. Todos estes resultados são referentes a um intervalo de confiança de 95% para o teste de Tukey.

Bebidas lácteas comercializadas na região do Vale do Taquari apresentam entre 0,68 e 1,17% de proteínas (ULSENHEIMER et al., 2012), valores inferiores aos encontrados neste estudo. Thamer e Penna (2006) caracterizaram bebidas lácteas fermentadas e também obtiveram teores médios de proteínas inferiores, entre 1,93 e 2,46%.

Cunha (2007) preparou bebida láctea fermentada composta por 70% de leite e 30% de soro de queijo e leite fermentado com *S. thermophilus*, *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* BB-12. Neste estudo a adição de soro resultou em uma bebida com menores teores de proteínas ( $P \leq 0,05$ ) em relação ao leite fermentado. Cunha et al. (2008) encontraram concentração de proteínas de 2,23% em bebida láctea com 70% de leite e 30% de soro de queijo. Almeida et al. (2001) encontraram valores de 1,94 a 2,14% em bebidas elaboradas com teores de soro entre 30 e 50% e verificaram a diminuição do teor de proteínas à medida que a quantidade de soro nas bebidas aumentou, porém esta diferença não foi estatística.

Teixeira (2002) desenvolveu bebidas lácteas fermentadas com adição de 50 a 70% de soro de ricota e encontrou valores entre 2,05-1,73%, mais baixos que a média deste trabalho. Isso se deve ao fato das formulações terem sido preparadas apenas com leite fluido e soro de ricota. Em seu estudo, Silva et al. (2010) também encontraram resultados inferiores em uma bebida láctea desenvolvida com adição de pólen e soro de queijo como única base láctea.

Gerhardt et al. (2013) encontraram concentrações de proteínas 2,99 a 4,44% em bebidas lácteas produzidas com soro de ricota e adicionadas de colágeno hidrolisado, responsável pelas concentrações mais elevadas do que as encontradas no presente estudo.

A utilização de leite em pó no presente trabalho possibilitou a preparação de bebidas lácteas com teor de proteínas próximo ao de iogurtes analisados por Rodas et al. (2001), que analisou 136 amostras de 8 marcas adquiridas em supermercados da cidade de São Paulo, encontrando conteúdo de proteína entre 2,51 e 3,40%.

Thamer e Penna (2006), afirmam que apesar de o teor de proteínas geralmente ser menor em bebidas lácteas, o valor nutricional do soro é indiscutível. O soro possui diversas proteínas ( $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbumina, soroalbumina, imunoglobulinas, proteose-peptonas, lactoferrina e transferrina), vitaminas (tiamina, riboflavina, ácido pantotênico, vitamina B6 e B12) e minerais (cálcio, magnésio, zinco e fósforo).

Ainda, levando em consideração que a origem das proteínas das bebidas formuladas neste estudo é, basicamente, o leite e o soro de ricota, este se caracteriza como uma fonte importante de aminoácidos essenciais (histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina). Aminoácidos essenciais são aqueles não sintetizados pelo corpo humano e o leite possui todos eles (SGARBIERI, 1996). Levando em consideração que em muitos estudos citados as concentrações encontradas foram inferiores, as bebidas preparadas neste estudo mostram-se uma fonte interessante de aminoácidos essenciais.

As concentrações de proteínas estão de acordo com a IN nº 16 de 23 de agosto de 2005, que institui o mínimo de 1% (m/m) de proteínas em bebidas lácteas fermentadas.

#### **4.2.4 Lipídios**

Conforme mostrado da Tabela 5, os lipídios variaram entre 0,41 e 0,80% no primeiro dia de fabricação e 0,39 a 0,84% aos 45 dias de fabricação. Quando comparados os resultados do 1º dia de fabricação com os resultados do 45º de fabricação, apenas a formulação G apresentou diferença significativa entre os períodos ( $P \leq 0,05$ ). Comprando as amostras entre si no mesmo período de armazenamento, encontram-se diferenças entre elas. No primeiro dia de fabricação, as formulações A e I apresentaram-se iguais a B, C, D e J; B teve resultados

iguais a D, E e G; a amostra C apresentou-se igual a A, B, I e J; a formulação D teve resultados iguais A, B, E, G e I; E e G mostraram-se iguais a B, D e K, as amostras F e H foram iguais a K; J apresentaram-se iguais a A, C e I; e a formulação K apresentou resultado igual a K D, E, F, G, H e I. Aos 45 dias de armazenamento, as amostras A e I apresentaram resultados iguais B, C e G; B apresentou resultado igual A, C, E, G, I e J; as formulações C e J mostraram-se iguais a A, B e I; D teve resultados iguais a E e G; a formulação E mostrou-se igual a B, D E G; F, H e K apresentaram resultados diferentes de todas as demais; e G teve resultados iguais a A, B, D, E e I, sendo todos avaliados mediante teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Cunha et al. (2008) encontraram concentração de lipídios de 1,91% em bebida láctea com 70% de leite e 30% de soro de queijo. Silveira et al. (2011) encontraram valores menores que 1,9% em bebidas lácteas fermentadas comerciais sabor morango. Rodas et al. (2001) analisou 136 amostras de iogurtes de frutas de 8 marcas adquiridas em supermercados da cidade de São Paulo cujas concentrações de lipídios variaram entre 1,14 e 3,82%. Os valores obtidos no presente estudo são inferiores aos encontrados na literatura citada, provavelmente devido à alta concentração de soro de ricota utilizada.

Almeida et al. (2001) percebeu a diminuição do teor de gordura em bebidas lácteas à medida que se elevou a proporção de soro em relação ao leite. Isso se deve ao fato de que o soro possui um valor de gordura muito baixo. Cunha (2007) preparou bebida láctea fermentada composta por 70% de leite e 30% de soro de queijo, obtendo menores teores de lipídios na bebida preparada sem soro de queijo ( $P \leq 0,05$ ).

Thamer e Penna (2006) afirmam que, em geral, bebidas lácteas apresentam menores teores de lipídios do que iogurtes e leites fermentados. As gorduras desempenham diversas e importantes funções no organismo, entretanto, o consumo de altas quantidades de gordura está relacionado com o aumento do risco da obesidade e de alguns tipos de câncer (PINHEIRO e PENNA, 2004). Desta forma, os baixos teores de lipídios encontrados no presente estudo reforçam o consumo de bebidas lácteas.

A Instrução Normativa nº 16 (Brasil, 2005) não fixa valores de matéria gorda para bebidas lácteas fermentadas com adição que possua características organolépticas diferentes das sem adição.

#### 4.2.5 Carboidratos

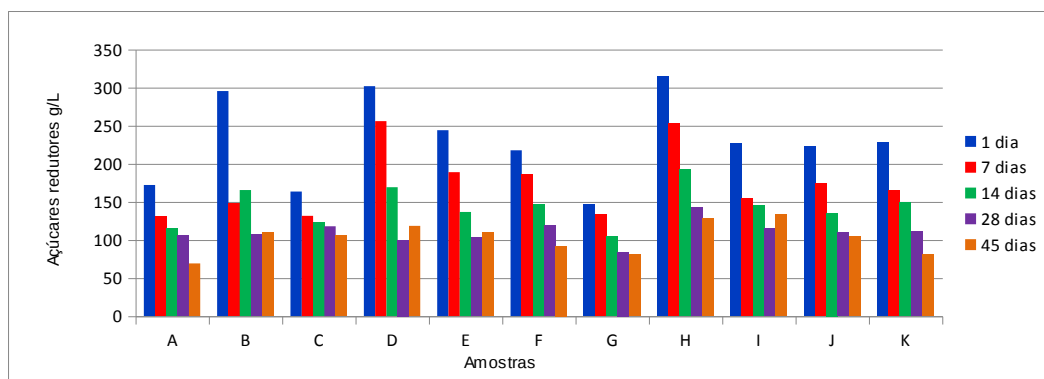
Carboidratos totais variaram entre 15,54% e 20,56% no primeiro dia de fabricação e entre 17,26% e 20,14% aos 45 dias de fabricação.

Ulsenheimer et al. (2012) encontraram carboidratos entre 11,68 a 16,06%, resultados próximos ao informado nos rótulos de 5 marcas de bebidas lácteas fermentadas sabor morango analisadas: entre 12,00 e 16,50 g/100 g. Silveira et al. (2011) encontraram o valor máximo de 11,8% nas 3 marcas comerciais de bebidas lácteas fermentadas analisadas. Rodas et al. (2001) analisou 136 amostras de iogurtes de frutas de 8 marcas adquiridas em supermercados da cidade de São Paulo. Os carboidratos totais variaram entre 12,41 e 20,84%.

Thammer e Penna (2006) obtiveram valores entre 12,93 e 16,27% para bebidas lácteas fermentadas funcionais. Cunha (2007) preparou bebida láctea fermentada composta por 70% de leite e 30% de soro de queijo e leite fermentado com *S. thermophilus*, *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* BB-12, obtendo valores iguais de carboidratos para as duas formulações ( $P \leq 0,05$ ). Cunha et al. (2008) encontraram concentração de carboidratos de 13,29% em bebida láctea com 70% de leite e 30% de soro de queijo. A quantidade de soro de queijo, leite, açúcar e fruto-oligossacarídeos adicionada à formulação varia nos produtos, o que influencia na concentração final dos carboidratos.

A Figura 8 apresenta os resultados das análises de açúcares redutores.

Figura 8 – Resultados da determinação de açúcares redutores



A Figura 8 demonstra a redução da quantidade de açúcares redutores nas 11 formulações de bebidas lácteas durante os 45 dias de armazenamento. Essa diminuição é

resultante da ação das bactérias lácticas, que tem açúcares redutores, principalmente a lactose, como principal substrato no seu metabolismo.

A quantidade de açúcares redutores em todos os períodos variou de 69,01 a 314,81 g/L. Nas amostras, eles são provenientes do leite e do soro de ricota (lactose), da polpa e preparado de morango (glicose e frutose) e da hidrólise da sacarose causada pela pasteurização feita no início do preparo das bebidas. Verificou-se que as quantidades de açúcares redutores para algumas amostras estão acima da quantidade de carboidratos totais, o que pode ser atribuído à complexidade da matriz, o que pode ter causado interferência na metodologia, que é muito sensível.

Almeida et al. (2001) não perceberam diferença entre os dois tipos de cultura utilizados (YC-180, contendo cepas mistas de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e ABY-1, contendo cepas mistas de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, Bifidobactéria e *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*) durante o período de armazenamento

#### 4.2.6 Acidez

Os resultados das análises de acidez podem ser vistos na Tabela 6.

Tabela 6 – Resultados das análises de acidez das bebidas lácteas fermentadas durante o armazenamento

| Acidez (g de ácido láctico/ 100g) |             |      |             |       |             |       |             |      |             |      |             |      |             |     |
|-----------------------------------|-------------|------|-------------|-------|-------------|-------|-------------|------|-------------|------|-------------|------|-------------|-----|
| Amostra                           | 1 dia       |      | 7 dias      |       | 14 dias     |       | 21 dias     |      | 28 dias     |      | 35 dias     |      | 45 dias     |     |
| A                                 | 0,80 ± 0,02 | Bcd  | 0,76 ± 0,01 | Cbd   | 0,76 ± 0,01 | Dcd   | 0,80 ± 0,01 | Bc   | 0,82 ± 0,00 | Acde | 0,70 ± 0,00 | Ede  | 0,70 ± 0,00 | Ed  |
| B                                 | 0,78 ± 0,03 | BDde | 0,74 ± 0,00 | Acđ   | 0,74 ± 0,00 | Adf   | 0,76 ± 0,01 | ABđ  | 0,79 ± 0,00 | CDe  | 0,77 ± 0,01 | ABCc | 0,76 ± 0,02 | ABc |
| C                                 | 0,81 ± 0,01 | BCcd | 0,85 ± 0,01 | Aa    | 0,85 ± 0,01 | Aa    | 0,85 ± 0,01 | ABab | 0,83 ± 0,00 | Bcde | 0,80 ± 0,01 | Cb   | 0,79 ± 0,01 | Cb  |
| D                                 | 0,87 ± 0,01 | ABb  | 0,82 ± 0,05 | Cab   | 0,83 ± 0,02 | BCab  | 0,87 ± 0,01 | Ba   | 0,92 ± 0,01 | Aa   | 0,85 ± 0,01 | BCa  | 0,84 ± 0,02 | BCa |
| E                                 | 0,77 ± 0,01 | Bde  | 0,70 ± 0,01 | Dđ    | 0,70 ± 0,01 | Df    | 0,73 ± 0,01 | Cde  | 0,81 ± 0,00 | Ade  | 0,69 ± 0,01 | De   | 0,69 ± 0,01 | Dđ  |
| F                                 | 0,97 ± 0,03 | Aa   | 0,84 ± 0,04 | Ca    | 0,86 ± 0,01 | BCa   | 0,88 ± 0,00 | BCa  | 0,90 ± 0,00 | Bab  | 0,86 ± 0,01 | BCa  | 0,85 ± 0,01 | BCa |
| G                                 | 0,71 ± 0,02 | Cf   | 0,72 ± 0,03 | Cđ    | 0,79 ± 0,04 | BbcC  | 0,82 ± 0,01 | ABbc | 0,86 ± 0,00 | Abc  | 0,73 ± 0,01 | Cđ   | 0,72 ± 0,02 | Cđ  |
| H                                 | 0,83 ± 0,00 | ABbc | 0,81 ± 0,01 | BCabc | 0,81 ± 0,01 | BCcde | 0,82 ± 0,00 | ABc  | 0,84 ± 0,02 | Acđ  | 0,78 ± 0,02 | Cbc  | 0,77 ± 0,02 | Cbc |
| I                                 | 0,71 ± 0,01 | Df   | 0,72 ± 0,02 | Dđ    | 0,75 ± 0,01 | Cef   | 0,80 ± 0,02 | Bc   | 0,85 ± 0,01 | Acđ  | 0,77 ± 0,01 | Cc   | 0,76 ± 0,01 | Cc  |
| J                                 | 0,73 ± 0,01 | BCef | 0,71 ± 0,01 | Cđ    | 0,71 ± 0,01 | Cdef  | 0,75 ± 0,02 | BCde | 0,81 ± 0,04 | Ade  | 0,77 ± 0,01 | ABc  | 0,76 ± 0,00 | Bc  |
| K                                 | 0,77 ± 0,02 | Ade  | 0,74 ± 0,01 | BCđ   | 0,74 ± 0,01 | BCdef | 0,72 ± 0,01 | Ce   | 0,72 ± 0,00 | CDf  | 0,76 ± 0,02 | ABc  | 0,75 ± 0,02 | Bcd |

Abc – Médias seguidas por letras maiúsculas iguais, na mesma linha e parâmetro, não diferem estatisticamente; médias seguidas por letras minúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem estatisticamente conforme Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Conforme mostra a Tabela 6, os valores de acidez das 11 formulações variaram entre 0,71% e 0,97% no primeiro dia de fabricação e entre 0,69% e 0,85% aos 45 dias de fabricação. Estes valores são superiores aos encontrados por Ulsenheimer et al. (2012), que analisaram bebidas lácteas comercializadas no Vale do Taquari. Os autores encontraram valores de acidez entre 0,49 a 0,65 g/100 g (ULSENHEIMER et al., 2012).

A amostra A apresentou resultados estatisticamente iguais no 1º e 21º de armazenamento e no 35º e 45º dia ( $P \leq 0,05$ ). Para formulação B, o resultado do 1º dia de estocagem apresentou-se igual ao 21º, 28º, 35º e 45º dia de estocagem; o 7º e o 14º dia de armazenamento só diferem do 1º e 28º dia; o 21º e 45º dia somente diferem do 28º dia; e o 28º dia é igual ao 1º e ao 35º dia ( $P \leq 0,05$ ). Na formulação C, a acidez do primeiro dia de armazenamento apresentou-se diferente do 7º e 14º dia; o 7º e o 14º apresentaram-se iguais somente ao 21º dia; o 21º dia teve resultados iguais ao 7º, ao 14º e ao 28º dia; o 28º dia de estocagem apresentou-se igual ao 1º e ao 21º dia; e o 35º e 45º dia somente apresentou-se igual ao 1º dia ( $P \leq 0,05$ ).

A formulação D apresentou resultado no 1º dia que somente diferiu do 7º dia; no 7º dia, o resultado foi igual ao 14º, 35º e 45º dia; os resultados do 14º, 35º e 45º dia diferem apenas do 28º; o 21º dia difere somente do 7º e 28º dia; e o 28º dia é somente igual ao 1º dia ( $P \leq 0,05$ ). Na formulação E, o 7º, o 14º, o 35º e o 45º dia apresentaram resultados estatisticamente iguais; no 1º, 21º e 28º os resultados foram diferentes dos demais períodos ( $P \leq 0,05$ ). A amostra F apresentou resultado diferente de todos os demais períodos no primeiro dia; o 7º dia apresentou resultados diferentes do 1º e 28º dia; e o 14º, 21º, 35º e 45º dia apresentaram resultados iguais ao 7º e 28º dia, porém estes apresentaram resultados diferentes entre si ( $P \leq 0,05$ ).

Os resultados da formulação G apresentaram-se iguais no 1º dia ao 7º, 35º e 45º dia; no 14º dia somente foi igual ao 21º dia, enquanto o 21º apresentou semelhança também com o 28º dia; já o 28º dia somente apresentou resultado igual ao 21º dia ( $P \leq 0,05$ ). Para a formulação H, o 1º dia apresentou-se igual ao 7º, 14º, 21º e 28º dia; o 7º e o 14º dia somente tiveram resultado diferente do 28º dia enquanto este apresentou resultados iguais ao 1º e 21º dia.

A formulação I apresentou resultado do 1º dia igual ao 7º dia; o 14º dia apresentou-se igual ao 35º e 45º dia; e o 21º e 28º dias são diferentes de todos os demais. J apresentou resultado do primeiro dia diferente somente do 28º dia; o 28º dia apresentou-se igual somente

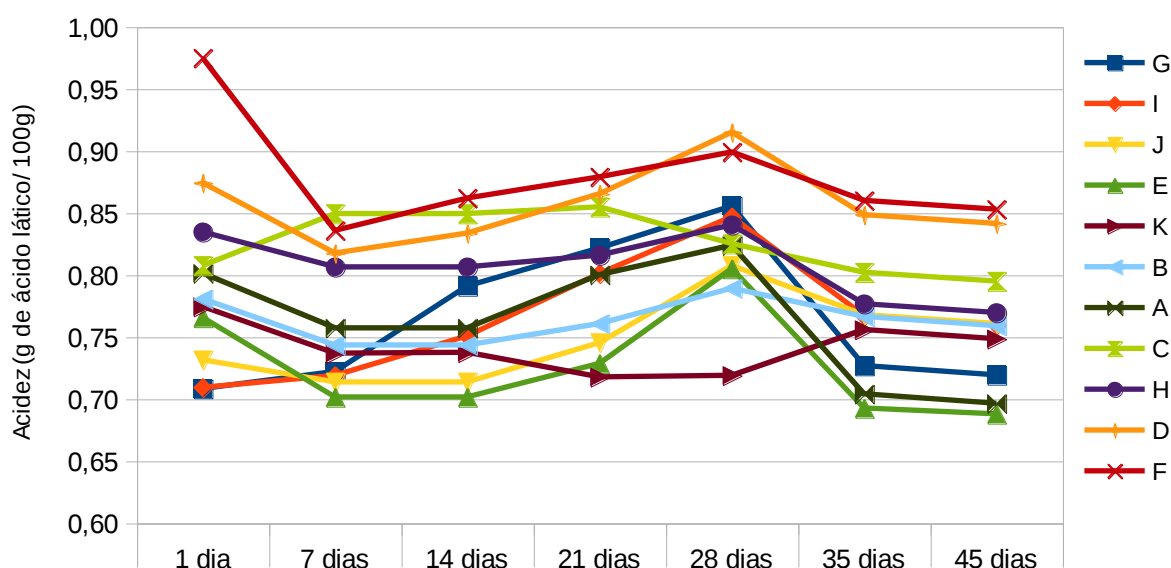
ao 35º dia; e o 45º dia apresentou-se diferente somente do 7º e do 14º dia. Na formulação K, os resultados de acidez mostram que o 1º dia somente é igual ao 35º dia; o 7º e 14º dia somente é diferente do 1º dia; o 21º e 28º dia tem resultados iguais somente ao 7º e 14º dia; o 35º dia somente é diferente do 21º dia; e o 45º dia é igual ao 7º, 14º e 35º dia ( $P \leq 0,05$ ).

No 1º dia de armazenamento, as formulações A e E apresentaram resultados estatisticamente iguais a B, C, D, E, H e J; B apresentou resultados iguais a A, C, D, E, H, J e I; C e J apresentaram resultados iguais a A, B, C, D, E, H, J e G; D e H somente mostraram diferença em relação a G e I; F e K foram iguais a D, H e K; G somente teve o mesmo resultado que C e J; e I apenas teve resultado igual a B ( $P \leq 0,05$ ).

Cunha et al. (2008) encontrou acidez de 0,72% de ácido láctico em bebida láctea com 70% de leite e 30% de soro de queijo.

Em seu estudo, Almeida et al. (2001) obtiveram aumento da acidez em média em todos os tratamentos durante 28 dias de armazenamento. De maneira geral, os sete primeiros dias apresentaram o maior aumento da acidez. Os autores supõem que a cultura tenha entrado em declínio por causa da acidez do meio. No presente estudo, foi observada a diminuição da acidez durante os 45 dias armazenamento, havendo alguns períodos em que determinadas amostras apresentaram o aumento da acidez. A Figura 9 ilustra este fato.

Figura 9 - Variação da acidez nas 11 formulações produzidas



No estudo de Gerhardt et al. (2013) a acidez de bebidas lácteas com soro de ricota e colágeno variou entre 0,72 e 0,91% de ácido láctico.

Cunha (2007) utilizou *S. thermophilus*, *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* BB-12 para preparar 3 diferentes formulações de bebidas lácteas, obtendo maiores valores de acidez nas bebidas produzidas com 40% e 30% de soro até 14 dias de armazenamento, enquanto a bebida formulada com 49% de soro obteve o menor resultado. Em uma segunda etapa do estudo, o autor preparou bebida láctea fermentada composta por 70% de leite e 30% de soro de queijo e leite fermentado com a mesma cultura láctica obtendo valores iguais de acidez ( $P \leq 0,05$ ). No presente trabalho não foi possível verificar a relação entre a quantidade de soro e variação da acidez.

Oliveira e Damin (2003) observaram que a acidez titulável aumenta em função do aumento de sólidos totais em leites fermentados produzidos com diferentes micro-organismos. No presente estudo não foi possível estabelecer relação entre sólidos totais e acidez.

Penna et al. (1997) utilizaram soro desmineralizado para otimizar a produção de iogurte e constataram o aumento da acidez a medida que adicionaram soro o que não foi possível evidenciar no presente estudo.

Segundo Thamer e Penna (2006), a acidez está relacionada com o tipo de sólido adicionado, à concentração de cultura láctea utilizada, à atividade desta cultura, ao valor estabelecido para finalizar a fermentação, à quantidade de soro de queijo utilizada na elaboração das bebidas lácteas, assim como ao tempo de armazenamento. A legislação não fixa valores para acidez, porém Souza (apud CASTRO, 2013) considera ideal a acidez entre 0,7 e 0,9%. Os resultados obtidos no presente estudo estão próximos a essa faixa e próximos à alguns resultados observados na literatura (Gerhardt et al., 2013), porém acima de valores de acidez encontrados para produtos similares analisados por Ulsenheimer et al. (2012) e Cunha et al. (2008).

#### 4.2.7 pH

Os resultados das análises de pH podem ser vistos nas Tabela 7.

Tabela 7 – Resultados das análises de pH das bebidas lácteas fermentadas durante o armazenamento

| Amostra | pH                         |                            |                               |                            |                            |                             |                              |  |  |  |  |  |
|---------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|--|--|--|--|--|
|         | 1 dia                      | 7 dias                     | 14 dias                       | 21 dias                    | 28 dias                    | 35 dias                     | 45 dias                      |  |  |  |  |  |
| A       | 3,88 ± 0,04 <sup>Be</sup>  | 4,09 ± 0,02 <sup>Acd</sup> | 4,05 ± 0,01 <sup>Ag</sup>     | 4,02 ± 0,01 <sup>Ac</sup>  | 4,00 ± 0,20 <sup>Aab</sup> | 4,03 ± 0,02 <sup>Ae</sup>   | 4,15 ± 0,03 <sup>Abcd</sup>  |  |  |  |  |  |
| B       | 3,98 ± 0,04 <sup>Bcd</sup> | 4,17 ± 0,02 <sup>Ab</sup>  | 4,19 ± 0,01 <sup>Aabc</sup>   | 4,14 ± 0,02 <sup>Aa</sup>  | 4,04 ± 0,06 <sup>Ba</sup>  | 4,17 ± 0,01 <sup>Acd</sup>  | 4,16 ± 0,02 <sup>Abcd</sup>  |  |  |  |  |  |
| C       | 4,20 ± 0,01 <sup>ABb</sup> | 4,18 ± 0,01 <sup>ABb</sup> | 4,17 ± 0,03 <sup>ABcde</sup>  | 4,13 ± 0,01 <sup>Ba</sup>  | 4,07 ± 0,05 <sup>Ca</sup>  | 4,24 ± 0,06 <sup>Aab</sup>  | 4,22 ± 0,01 <sup>Aab</sup>   |  |  |  |  |  |
| D       | 4,22 ± 0,02 <sup>Ab</sup>  | 4,18 ± 0,02 <sup>ABb</sup> | 4,12 ± 0,03 <sup>Cf</sup>     | 4,03 ± 0,02 <sup>Dc</sup>  | 3,69 ± 0,01 <sup>Ea</sup>  | 4,14 ± 0,01 <sup>BCcd</sup> | 4,16 ± 0,01 <sup>BCbcd</sup> |  |  |  |  |  |
| E       | 3,92 ± 0,07 <sup>Ade</sup> | 4,06 ± 0,01 <sup>Ad</sup>  | 4,12 ± 0,01 <sup>Aef</sup>    | 3,99 ± 0,01 <sup>Ac</sup>  | 3,81 ± 0,33 <sup>Aa</sup>  | 4,18 ± 0,01 <sup>Ac</sup>   | 4,24 ± 0,08 <sup>Bab</sup>   |  |  |  |  |  |
| F       | 4,05 ± 0,05 <sup>Ac</sup>  | 4,12 ± 0,01 <sup>Ac</sup>  | 4,18 ± 0,02 <sup>Abcd</sup>   | 4,16 ± 0,01 <sup>Aa</sup>  | 4,15 ± 0,26 <sup>Aa</sup>  | 4,24 ± 0,01 <sup>Aab</sup>  | 4,27 ± 0,03 <sup>Aa</sup>    |  |  |  |  |  |
| G       | 4,33 ± 0,03 <sup>Aa</sup>  | 4,27 ± 0,01 <sup>Aa</sup>  | 4,22 ± 0,03 <sup>Aab</sup>    | 4,07 ± 0,02 <sup>ABb</sup> | 3,77 ± 0,31 <sup>Bb</sup>  | 4,14 ± 0,01 <sup>Acd</sup>  | 4,15 ± 0,01 <sup>Abcd</sup>  |  |  |  |  |  |
| H       | 4,21 ± 0,02 <sup>Ab</sup>  | 4,26 ± 0,01 <sup>Aa</sup>  | 4,23 ± 0,01 <sup>Aa</sup>     | 4,16 ± 0,02 <sup>Aa</sup>  | 4,06 ± 0,21 <sup>Aa</sup>  | 4,25 ± 0,00 <sup>Aa</sup>   | 4,22 ± 0,04 <sup>Aabc</sup>  |  |  |  |  |  |
| I       | 4,05 ± 0,02 <sup>Cc</sup>  | 4,17 ± 0,01 <sup>Ab</sup>  | 4,14 ± 0,01 <sup>Adef</sup>   | 4,08 ± 0,01 <sup>ABb</sup> | 4,05 ± 0,07 <sup>Bb</sup>  | 4,12 ± 0,01 <sup>ABd</sup>  | 4,12 ± 0,03 <sup>ABd</sup>   |  |  |  |  |  |
| J       | 4,24 ± 0,01 <sup>Ab</sup>  | 4,26 ± 0,01 <sup>Aa</sup>  | 4,22 ± 0,01 <sup>Aa</sup>     | 4,15 ± 0,02 <sup>Aa</sup>  | 4,25 ± 0,12 <sup>Aa</sup>  | 4,19 ± 0,01 <sup>Abc</sup>  | 4,18 ± 0,01 <sup>Abcd</sup>  |  |  |  |  |  |
| K       | 4,28 ± 0,02 <sup>Aab</sup> | 4,24 ± 0,03 <sup>Aba</sup> | 4,15 ± 0,01 <sup>ABcdef</sup> | 4,13 ± 0,01 <sup>ABa</sup> | 4,11 ± 0,14 <sup>Ba</sup>  | 4,14 ± 0,00 <sup>ABcd</sup> | 4,13 ± 0,02 <sup>ABcd</sup>  |  |  |  |  |  |

Abc – Médias seguidas por letras maiúsculas iguais, na mesma linha e parâmetro, não diferem estatisticamente; médias seguidas por letras minúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem estatisticamente conforme Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Conforme mostrado na Tabela 7, os valores de pH variaram de 3,88 a 4,33 no 1º dia de armazenamento; de 4,06 a 4,27 no 7º de armazenamento; de 4,05 a 4,23 no 14º dia de estocagem; de 3,99 a 4,16 no 21º dia de armazenamento; de 3,69 a 4,29 no 28º dia; de 4,08 a 4,25 no 35º dia de estocagem; e de 4,12 a 4,27 no 45º dia de armazenamento.

Percebe-se que este parâmetro apresentou variação incomum durante o armazenamento. O esperado era uma acidificação constante ou, ao menos, a estabilidade do pH durante os 45 dias de experimento. Segundo Thamer e Penna (2006), mesmo após o encerramento da fermentação esta continua lentamente durante o resfriamento. De acordo com Cardarelli et al. (2007), é comum observar a redução do pH de produtos lácteos fermentados, causados pelo processo natural de produção de ácido lático e outros ácidos orgânicos a partir da fermentação da lactose pela cultura starter e probióticas (BURITI et al. 2005). Neste estudo o pH diminuiu após o ponto de corte até 24 horas de armazenamento e, para as amostras A, B e I, apresentou aumento ( $P \leq 0,05$ ) até os 7 dias de armazenamento. Conforme Franco e Landgraf (2008) a elevação do pH pode ser um indicador de biodegradação de proteínas, que resulta em geração de amônia. Os aminoácidos são a principal fonte de nitrogênio das bactérias, podendo um grande número de compostos nitrogenados ser utilizado com esta função por diferentes micro-organismos (JAY, 2005). A degradação de proteínas ocorre pela ação de enzimas que as hidrolisam a peptídeos e em seguida a aminoácidos, pois a estrutura da proteína intacta não é capaz de atravessar a membrana celular. Todas as amostras apresentaram redução das proteínas no período. Mesmo a diferença não sendo considerada estatística em todas as amostras, a degradação das proteínas pode ser um motivo para o aumento do pH.

Os aminoácidos são a principal fonte de nitrogênio das bactérias, podendo um grande número de compostos nitrogenados ser utilizado com esta função por diferentes micro-organismos (JAY, 2005). A degradação de proteínas ocorre pela ação de enzimas que as hidrolisam a peptídeos e em seguida a aminoácidos, pois a estrutura da proteína intacta não é capaz de atravessar a membrana celular. Um indicador de biodegradação de proteínas é a elevação do pH em decorrência da formação de amônia (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Desta forma, nos períodos em que ocorreu aumento do pH, pode ter ocorrido foi a proteólise com geração de aminas, o que elevaram este parâmetro. Algumas bactérias, dependendo da temperatura e do meio, podem utilizar as proteínas como fonte de energia, o que é comum em alimentos de origem animal. Esta hipótese vem de encontro com os resultados de proteínas, que tiveram um decréscimo durante a estocagem.

A análise estatística mostrou que em alguns períodos a diferença de pH não foi significativa. A amostra A apresentou resultado considerado diferente apenas no primeiro dia de armazenamento, tendo apresentado resultados iguais entre o 7º e o 45º dia. A formulação B apresentou resultados diferentes no 1º e 28º dia, sendo estes considerados iguais entre si. O mesmo ocorreu para a amostra C no 21º e 28º dia. A amostra D teve resultados iguais no primeiro e 7º dia; o 7º e o 14º dia apresentaram resultados iguais ao 35º e 45º dia; o 21º e o 28º dia apresentaram resultados diferentes de todos os demais. Na formulação E, apenas houve diferença no resultado do 45º dia. Todos os resultados de F, H e J apresentaram resultados iguais nos diferentes períodos analisados. G apresentou resultados diferentes nos dias 21 e 28, sendo estes iguais entre si. A amostra I apresentou resultado diferente de todos os demais no 1º dia; no 7º e 14º dia os resultados foram iguais ao 21º, 35º e 45º dia, tendo o mesmo ocorrido no 28º dia. Todos estes resultados são referentes a um intervalo de confiança de 95% para o teste de Tukey.

Conforme Rodas et al. (2001) o limite de pH no qual o crescimento das bactérias lácticas desenvolvem-se normalmente e sem prejuízo é entre 3,6 a 4,3. Apenas a amostra G, no primeiro dia de fabricação, apresentou valor de pH ligeiramente fora deste intervalo. Vale ressaltar que as bifidobactérias não toleram bem valores de pH abaixo de 5, desta forma, o pH das amostras não favorece o desenvolvimento e a manutenção deste tipo de micro-organismo no produto.

O valor do pH tem sua importância relacionada com o aspecto visual do produto final durante sua conservação em temperaturas baixas. É fundamental que haja controle rigoroso para que não ocorra separação de fases, acidificação elevada influenciada pelo tempo de fermentação, além de alterações nas características sensoriais que poderão tornar o produto indesejável (VINDEROLA et al., 2000).

A legislação não fixa valores para pH, porém Souza (apud CASTRO, 2013) considera ideal valores de pH entre 4,0 e 4,4.

Thammer e Penna (2006), encontraram valores de pH entre 4,72 e 4,83 ao analisarem bebidas lácteas fermentadas. Rodas et al. (2001) analisaram 136 amostras de iogurtes de frutas de 8 marcas adquiridas em supermercados da cidade de São Paulo. O pH das amostras variou de 3,60 a 4,30.

Cunha et al. (2008) encontrou pH de 4,53 em bebida láctea com 70% de leite e 30% de soro de queijo. Almeida et al. (2001) efetuou o corte da fermentação de bebidas lácteas

contendo *Lactobacillus delbrueckii* subesp. *lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* subesp. *bulgaricus* e *Streptococcus salivarius* subesp. *thermophilus* em pH em torno de 4,6. Já para as formulações contendo *Lactobacillus acidophilus*, Bifidobactéria, *Streptococcus salivarius* subesp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subesp. *bulgaricus* o término da fermentação foi feito em pH acima de 5,0 para não afetar o desenvolvimento das bifidobactérias, que não se adaptam bem em meios com pH inferior.

Gerhardt et al. (2013) obtiveram pH entre 4,43 a 4,78 em bebidas lácteas com soro de ricota adicionadas de colágeno utilizando os micro-organismos *L. acidophilus*, *B. lactis*, *L. bulgaricus* e *S. thermophilus*. Neste estudo o ponto de corte foi em pH 4,8.

Kailasapathy et al. (2008) obtiveram um declínio do pH durante o estudo com diferentes formulações de iogurte contendo *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*. Antunes et al. (2005) observaram uma pós-acidificação expressiva em iogurtes sem gordura adicionados de concentrado proteico de soro de queijo, a qual foi atribuída à presença de *L. bulgaricus* na formulação.

Cunha (2007) obteve diminuição do pH durante 28 dias de armazenamento de bebidas lácteas com até 49% de soro fermentadas por *S. thermophilus*, *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* BB-12. Em uma segunda etapa de seu estudo, realizou o comparativo entre a bebida láctea fermentada composta por 70% de leite e 30% de soro e leite fermentado com as mesmas bactérias lácticas, obtendo valores de pH que não diferiram entre si ( $P \leq 0,05$ ).

Além dos micro-organismos utilizados e da temperatura de armazenamento, o pH de “corte” da bebida láctea influencia o pH final do produto. Alguns estudos não citam o pH utilizado como parâmetro para finalizar a fermentação e existem variações entre os pHs quando são citados, o que gera resultados diversos nos estudos.

A acidez e o pH são fatores importantes a serem considerados durante o armazenamento de produtos lácteos fermentados. Valores de pH muito baixos ou acidez elevada podem diminuir a aceitação do produto em função das alterações sensoriais e estruturais indesejáveis, além da possibilidade da inviabilização de bactérias probióticas (THAMER; PENNA, 2006; VINDEROLA et al., 2000).

#### 4.2.8 Atividade de água

Os resultados das análises de atividade de água podem ser vistos na Tabela 8.

Tabela 8 – Resultados das análises de atividade de água (Aw) das bebidas lácteas fermentadas durante o armazenamento

| Atividade de água |               |    |               |       |               |      |               |      |               |      |               |      |               |      |
|-------------------|---------------|----|---------------|-------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|
| Amostra           | 1 dia         |    | 7 dias        |       | 14 dias       |      | 21 dias       |      | 28 dias       |      | 35 dias       |      | 45 dias       |      |
| A                 | 0,943 ± 0,008 | Ba | 0,957 ± 0,002 | ABab  | 0,960 ± 0,002 | ABab | 0,960 ± 0,004 | ABa  | 0,960 ± 0,010 | ABa  | 0,972 ± 0,002 | A    | 0,951 ± 0,008 | Bab  |
| B                 | 0,936 ± 0,005 | Ba | 0,949 ± 0,007 | Bbc   | 0,943 ± 0,029 | Bb   | 0,936 ± 0,004 | Bf   | 0,940 ± 0,005 | Bb   | 0,974 ± 0,001 | Acđ  | 0,941 ± 0,003 | Bb   |
| C                 | 0,938 ± 0,005 | Ca | 0,948 ± 0,007 | BCabc | 0,956 ± 0,003 | Bab  | 0,951 ± 0,006 | Bcd  | 0,949 ± 0,006 | Bab  | 0,976 ± 0,001 | Abcd | 0,945 ± 0,001 | Cab  |
| D                 | 0,939 ± 0,006 | Ca | 0,947 ± 0,002 | BCbc  | 0,955 ± 0,003 | Bab  | 0,951 ± 0,005 | Bcd  | 0,948 ± 0,004 | BCab | 0,975 ± 0,002 | Acđ  | 0,948 ± 0,003 | BCab |
| E                 | 0,940 ± 0,006 | Da | 0,954 ± 0,006 | Cabc  | 0,966 ± 0,002 | Ba   | 0,946 ± 0,005 | CDef | 0,941 ± 0,004 | Db   | 0,977 ± 0,004 | Abc  | 0,949 ± 0,005 | CDab |
| F                 | 0,940 ± 0,005 | Ba | 0,951 ± 0,008 | Babc  | 0,953 ± 0,001 | Bab  | 0,948 ± 0,005 | Bde  | 0,944 ± 0,007 | Bb   | 0,986 ± 0,003 | Aa   | 0,941 ± 0,003 | Bb   |
| G                 | 0,941 ± 0,006 | Ca | 0,951 ± 0,002 | BCabc | 0,957 ± 0,001 | Bab  | 0,952 ± 0,005 | BCc  | 0,944 ± 0,001 | Cb   | 0,973 ± 0,002 | Acđ  | 0,955 ± 0,007 | Ba   |
| H                 | 0,940 ± 0,005 | Ca | 0,944 ± 0,003 | Cc    | 0,952 ± 0,002 | Bab  | 0,952 ± 0,005 | Bcd  | 0,941 ± 0,001 | Cb   | 0,960 ± 0,001 | Ae   | 0,951 ± 0,001 | Bab  |
| I                 | 0,945 ± 0,005 | Ca | 0,964 ± 0,007 | ABa   | 0,969 ± 0,004 | Aa   | 0,956 ± 0,006 | BCb  | 0,945 ± 0,005 | Cab  | 0,974 ± 0,001 | Acđ  | 0,947 ± 0,003 | Cab  |
| J                 | 0,940 ± 0,004 | Ca | 0,949 ± 0,005 | Babc  | 0,954 ± 0,001 | Bab  | 0,949 ± 0,005 | Bcde | 0,947 ± 0,002 | BCab | 0,975 ± 0,001 | Acđ  | 0,946 ± 0,003 | BCab |
| K                 | 0,938 ± 0,001 | Ca | 0,946 ± 0,005 | BCabc | 0,954 ± 0,003 | Bab  | 0,950 ± 0,005 | Bcd  | 0,946 ± 0,005 | BCab | 0,980 ± 0,001 | Ab   | 0,951 ± 0,002 | Bab  |

Abc – Médias seguidas por letras maiúsculas iguais, na mesma linha e parâmetro, não diferem estatisticamente; médias seguidas por letras minúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem estatisticamente conforme Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Conforme a Tabela 8, a maior atividade de água em todas as formulações foi obtida aos 35 dias de estocagem, variando entre 0,936 e 0,945 no primeiro dia de fabricação. Segundo Oliveira e Damin (2003) a atividade de água do leite e outros produtos como o iogurte é alta, com valores acima de 0,98.

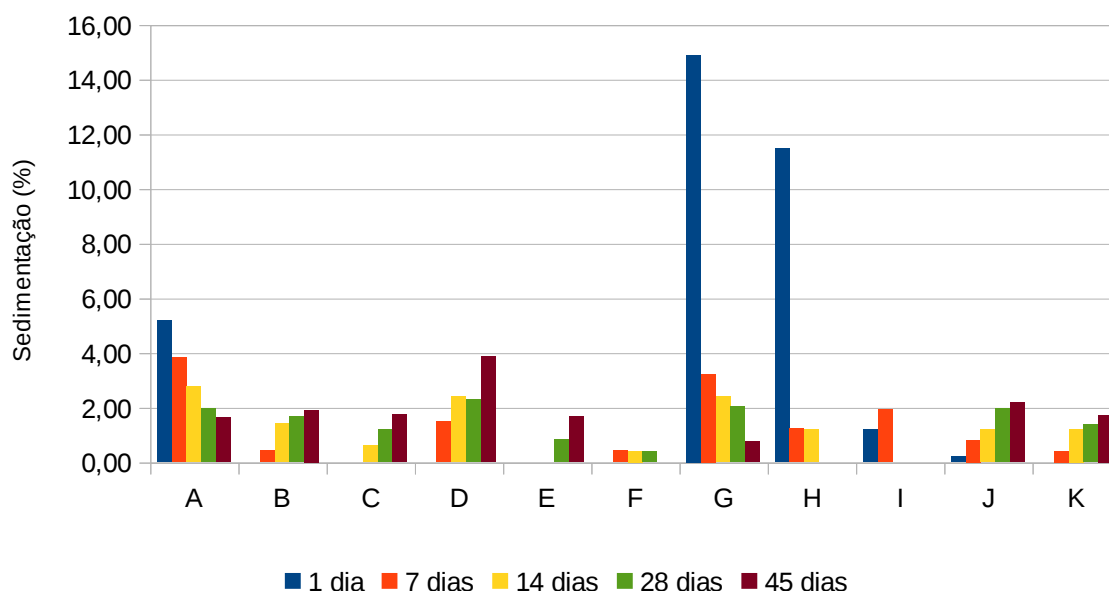
Oliveira e Damin (2003) obtiveram valores de atividade de água em iogurtes entre 0,980 e 0,988. Iogurtes de leite de cabra com 10, 15 e 20% de polpa de umbu apresentaram atividade de água entre 0,96 e 0,97 (MARINHO et al., 2012).

A atividade de água indica a intensidade das forças que unem a água a outros componentes não-aquosos e é o fator individual que mais influencia nas alterações dos alimentos. Quanto menor a atividade de água, menor a quantidade de água disponível para o crescimento dos micro-organismos e para que possam ocorrer diferentes reações químicas e bioquímicas. A maioria dos micro-organismos cresce otimamente em valores elevados de atividade de água (0,980 a 0,995) (OETTERER, 2006). Quando associado a um tratamento térmico e controle da atividade de água, a acidez se configura em um importante meio de inibição dos micro-organismos que sobreviveram ao tratamento térmico (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998). No caso das bebidas lácteas fermentadas, a alta atividade de água é compensada pela acidez elevada, pois valores de pH inferiores a 4,5 limitam o crescimento da maioria dos micro-organismos indesejados. Desta forma, muitos estudos não realizam esta análise em produtos lácteos fermentados.

#### **4.2.9 Sedimentação e sinerese**

As Figuras 10 e 11 apresentam os resultados de sedimentação e sinerese.

Figura 10 – Resultados das análises de índice de sedimentação das bebidas lácteas fermentadas durante o armazenamento

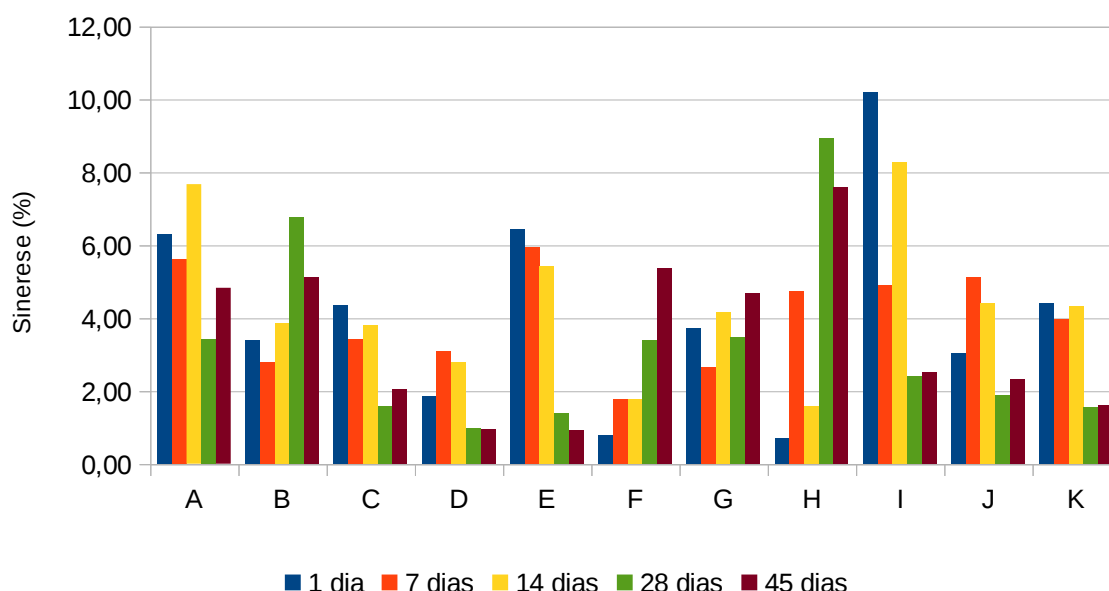


Os resultados de sedimentação nas amostras variaram de 0,00% a 14,89%. Os maiores resultados foram observados no primeiro dia, quando também foram obtidos os menores valores de pH. No entanto, no primeiro dia, as amostras B, C, D, E, F e K não apresentaram sedimentação.

As formulações A, G e I apresentaram um declínio da porcentagem de sedimentação, enquanto as amostras B, C, D, E, J e K apresentaram o aumento deste parâmetro durante os 45 dias de armazenamento. A amostra F apresentou aumento até o 21º dia seguido de declínio até o 45º dia.

Gerhardt et al. (2013) obtiveram sedimentação de aproximadamente de até 4,5% apenas em amostras com 0,5 e 0,65% de colágeno utilizando a mesma metodologia empregada neste estudo. Luiz (2008) avaliou este parâmetro em bebidas lácteas tratada termicamente após fermentação por 90 dias, as quais não apresentaram sedimentação até 28 dias de armazenamento. O presente estudo apresentou sedimentação em todas as amostras pelo menos em um período analisado.

Figura 11 – Resultados das análises de índice de sinerese das bebidas lácteas fermentadas durante o armazenamento



Os resultados de sinerese nas amostras variaram de 0,94% na formulação D aos 45 dias a 10,20% na formulação I no primeiro dia de fabricação.

Gerhardt et al. (2013) obtiveram sinerese de aproximadamente 3,5 a 6,7% apenas em amostras com 0,5 e 0,65% de colágeno utilizando a mesma metodologia empregada neste estudo. As demais formulações, que possuíam mais colágeno, não apresentaram sinerese. A maior sinerese foi obtida na bebida com maior proporção de soro de queijo (49%) por Cunha (2007). Manzano et al. (2008) obtiveram sinerese entre 0,00 e 19,26% em “iogurtes” de soja, sendo os melhores resultados obtidos com adição de 0,5% de gelatina (0,00%) e 0,25% de gelatina e 0,25% de amido modificado (Amidomax 4800®), que não apresentaram diferença significativa entre si. Este autor realizou a análise de sinerese pela separação de soro por papel filtro durante 4 h a 4°C em uma amostra com massa definida da amostra. Amaya-Llano et al (2008) trabalharam com diferentes tipos de amido na produção de iogurtes. A sinerese foi determinada por centrifugação a 1250 rpm/10 min a 4°C. Iogurte adicionado de amidos hidrolisados mostraram um aumento na percentagem de sinerese em comparação com o controle. Além disso, o autor sugere que a sinerese aumenta com o tempo de armazenamento do iogurte, o que pode ser aplicado também a bebidas lácteas.

A comparação entre valores de sinerese de diferentes amostras é dificultada pela utilização de diferentes métodos. Além disso, hidrocoloides são adicionados nos produtos lácteos, interagindo com as proteínas do leite e podendo resultar em alterações na estabilidade e consistência do produto final (VEIGA et al., 2000).

Dannenberg e Kessler (apud ANTUNES et al., 2004) afirmam que ligações intermoleculares adicionais podem ser formadas devido a rearranjos na rede produzidos por forças atrativas entre as moléculas de caseína ou micelas agrupadas. Assim, ocorre contração do gel e expulsão de líquido (sinerese). Brandão (apud SILVA, 2013) afirma que iogurtes com baixa acidez ( $\text{pH} > 4,6$ ) favorece a separação de soro porque o gel não foi suficientemente formado e pH menor do que 4,0 provoca a contração do coágulo devido à redução da hidratação das proteínas, também causando dessoramento. Percebe-se que diversos fatores afetam a estabilidade do coágulo, afetando a sinerese do produto e, conseqüentemente, a aceitação do produto. Lucey (2004) afirma que a temperatura de fermentação, muitas vezes alta, baixos teores de sólidos e armazenamento em temperaturas inadequadas contribuem para que produtos fermentados apresentem sinerese.

Silva (2013) sugere que o rompimento do gel de um iogurte deve ser feito na faixa de pH de 4,6 a 4,7, pois abaixo deste pH, ocorre o dessoramento e o produto perde a textura característica, além de perder a acidez, que cai bruscamente, comprometendo a vida útil do produto. É provável que seja um cuidado a ser tomado também para bebidas lácteas. Sugere-se que estudos com bebidas lácteas também observem este ponto de forma a diminuir a sinerese do produto final.

A adição de polissacarídeos ao leite pode resultar na separação de fases enriquecidas em polissacarídeos e fases enriquecidas em caseína se a concentração de polissacarídeos excede a certas concentrações (TUINIER et al., 2000). Nas formulações de bebidas lácteas produzidas no presente estudo, não foi possível perceber a relação entre a concentração de polidextrose e sinerese e sedimentação, pois não há somente uma variável envolvida.

#### 4.2.10 Quantificação de minerais

Os resultados da quantificação de minerais são mostrados na Tabela 9.

Tabela 9 – Resultados das quantificações de minerais nas 11 formulações elaboradas

| Formulação | Sódio (mg/100 g) | Potássio (mg/100 g) | Cálcio (mg/100 g) | Fósforo (mg/100 g) |
|------------|------------------|---------------------|-------------------|--------------------|
| A          | 59,32 ±4,61      | 179,96 ±13,97       | 105,98 ±1,98      | 83,9 ±11,91        |
| B          | 90,65 ±4,16      | 250,62 ±5,03        | 132,64 ±3,05      | 85,8 ±4,06         |
| C          | 77,91 ±5,25      | 219,74 ±18,92       | 128,52 ±7,5       | 89,88 ±1,2         |
| D          | 82,94 ±6,03      | 236,88 ±14,2        | 132,04 ±1,06      | 76,91 ±14,4        |
| E          | 63,99 ±3,47      | 183,31 ±7,05        | 117,32 ±5,05      | 63,93 ±1,38        |
| F          | 90,65 ±3,05      | 262,63 ±6,12        | 138,65 ±10,26     | 87,12 ±3,13        |
| G          | 71,97 ±4,02      | 201,24 ±4,16        | 123,27 ±4,14      | 68,25 ±10,58       |
| H          | 108,89 ±18,16    | 259,68 ±35,78       | 130,06 ±12,59     | 81,87 ±7,1         |
| I          | 77,97 ±5,31      | 217,25 ±18,07       | 122,62 ±2,29      | 75,42 ±1,93        |
| J          | 69,28 ±14,2      | 205,17 ±31,42       | 119,90 ±11,14     | 76,51 ±2,29        |
| K          | 75,31 ±4,15      | 216,61 ±3,03        | 125,97 ±1,99      | 67,5 ±11,01        |

Conforme a Tabela 9, a composição de sódio variou entre 59,32 e 108,89 mg/100 g. A Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos (TACO, 2011), bebida láctea sabor pêsego possui 46 mg de sódio em 100 g do produto, valor inferior ao encontrado neste estudo.

A Tabela 9 mostra que as formulações possuem entre 179,96 e 262,63 mg/100 g de potássio. A Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos (TACO, 2011), bebida láctea sabor pêsego possui 62 mg de potássio em 100 g do produto, valor inferior ao encontrado neste estudo.

Segundo a Tabela 9, a concentração de cálcio nas formulações variou de 105,98 a 138,65 mg/100 g. A Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos (TACO, 2011), bebida

láctea sabor pêsego possui 89 mg de cálcio em 100 g do produto, valor inferior ao encontrado neste estudo.

Conforme a Tabela 9, a variação da composição de fósforo variou entre 63,93 e 89,88 mg/100 g. A Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos (TACO, 2011), bebida láctea sabor pêsego possui 63 mg de fósforo em 100 g do produto, valor próximo ao encontrado neste estudo.

#### **4.2.11 Contagem de micro-organismos**

##### **4.2.11.1 Contagem de coliformes**

Em relação à contagem de coliformes, nenhuma das amostras apresentou formação de colônias. Conforme Cesarino et al. (2000), estes micro-organismos muitas vezes estão ausentes em bebidas lácteas fermentadas devido ao baixo pH do produto e Tebaldi et al. (2007) sugere que sua ausência também é ser indicativa de boas condições higiênico-sanitárias durante o processo de elaboração das bebidas.

Tebaldi et al. (2007) analisaram 20 amostras de bebidas lácteas fermentadas comercializadas no sul de Minas Gerais que também não apresentaram contaminação por este micro-organismo. Já Ferreira (2011), analisando 20 bebidas lácteas fermentadas pasteurizadas comercializadas no Distrito Federal, obteve contagens de coliformes totais de até 460 NMP/mL. Destas, apenas uma amostra apresentou contagem de coliformes totais termotolerantes.

##### **4.2.12.2 Contagem de bactérias lácticas**

As Tabelas 10 a 12 apresentam as contagens das bactérias utilizadas nas 11 formulações durante os 45 dias de armazenamento.

Tabela 10 – Resultados das análises microbiológicas de *Lactobacillus acidophilus*

| Formulação | Tempo de estocagem da bebida |                       |                    |                    |                    |
|------------|------------------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|            | 1 dia                        | 7 dias                | 14 dias            | 28 dias            | 45 dias            |
| A          | $2,40 \times 10^6$           | $4,55 \times 10^6$    | $1,95 \times 10^4$ | $4,15 \times 10^3$ | $2,50 \times 10^2$ |
| B          | $3,40 \times 10^6$           | $1,80 \times 10^{-7}$ | $2,75 \times 10^6$ | $1,55 \times 10^4$ | $1,55 \times 10^3$ |
| C          | $4,15 \times 10^6$           | $6,90 \times 10^4$    | $6,95 \times 10^4$ | $2,69 \times 10^4$ | $1,45 \times 10^4$ |
| D          | $8,50 \times 10^6$           | $4,90 \times 10^6$    | $1,98 \times 10^6$ | $1,40 \times 10^6$ | $4,00 \times 10^2$ |
| E          | $3,90 \times 10^6$           | $6,65 \times 10^{-6}$ | $1,06 \times 10^6$ | $4,95 \times 10^5$ | $1,10 \times 10^4$ |
| F          | $2,90 \times 10^6$           | $4,00 \times 10^6$    | $2,45 \times 10^6$ | $4,25 \times 10^5$ | $4,50 \times 10^2$ |
| G          | $6,50 \times 10^5$           | $1,17 \times 10^6$    | $8,35 \times 10^5$ | $4,15 \times 10^5$ | $4,90 \times 10^3$ |
| H          | $2,90 \times 10^7$           | $6,90 \times 10^6$    | $1,23 \times 10^6$ | $1,25 \times 10^6$ | $3,80 \times 10^3$ |
| I          | $9,95 \times 10^6$           | $6,10 \times 10^6$    | $2,00 \times 10^6$ | $5,07 \times 10^5$ | $2,05 \times 10^4$ |
| J          | $5,05 \times 10^6$           | $1,16 \times 10^6$    | $9,22 \times 10^5$ | $8,80 \times 10^5$ | $3,00 \times 10^2$ |
| K          | $5,05 \times 10^6$           | $7,70 \times 10^5$    | $4,65 \times 10^5$ | $4,35 \times 10^5$ | $4,50 \times 10^2$ |

\*Resultados expressos em UFC/g

Conforme mostrado na Tabela 10, as contagens de *Lactobacillus acidophilus* tiveram comportamentos diversos durante o período de estocagem. Enquanto as formulações A, B, E, F e G apresentaram aumento da população de bactérias até o 7º dia, C, D, H, I, J e K sofreram decréscimo durante os 45 dias. Não foi possível estabelecer relação entre as concentrações de leite, polidextrose ou soro nas amostras e o comportamento desta bactéria.

Tabela 11 – Resultados das análises microbiológicas de *Streptococcus thermophilus*

| Identificação da amostra | Tempo de estocagem da bebida |                    |                       |                    |                       |
|--------------------------|------------------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|
|                          | 1 dia                        | 7 dias             | 14 dias               | 28 dias            | 45 dias               |
| A                        | $2,35 \times 10^{10}$        | $3,25 \times 10^9$ | $4,86 \times 10^8$    | $1,25 \times 10^8$ | $6,20 \times 10^7$    |
| B                        | $3,55 \times 10^6$           | $5,10 \times 10^7$ | $9,82 \times 10^8$    | $4,90 \times 10^8$ | $6,15 \times 10^7$    |
| C                        | $6,00 \times 10^7$           | $2,60 \times 10^7$ | $8,14 \times 10^8$    | $7,20 \times 10^8$ | $4,40 \times 10^8$    |
| D                        | $4,75 \times 10^7$           | $2,24 \times 10^8$ | $6,28 \times 10^8$    | $7,20 \times 10^8$ | $2,30 \times 10^{10}$ |
| E                        | $8,95 \times 10^9$           | $2,35 \times 10^8$ | $4,05 \times 10^8$    | $6,00 \times 10^8$ | $2,10 \times 10^7$    |
| F                        | $2,85 \times 10^8$           | $1,95 \times 10^9$ | $9,06 \times 10^{10}$ | $2,75 \times 10^8$ | $1,00 \times 10^6$    |
| G                        | $8,50 \times 10^7$           | $1,25 \times 10^8$ | $2,25 \times 10^8$    | $1,34 \times 10^9$ | $3,25 \times 10^8$    |
| H                        | $7,10 \times 10^8$           | $7,95 \times 10^7$ | $2,47 \times 10^{10}$ | $4,35 \times 10^9$ | $3,80 \times 10^9$    |
| I                        | $2,25 \times 10^7$           | $2,82 \times 10^8$ | $5,70 \times 10^8$    | $6,95 \times 10^8$ | $4,58 \times 10^9$    |
| J                        | $8,55 \times 10^8$           | $2,02 \times 10^9$ | $4,18 \times 10^8$    | $8,15 \times 10^8$ | $4,65 \times 10^8$    |
| K                        | $4,00 \times 10^6$           | $1,31 \times 10^7$ | $2,24 \times 10^9$    | $6,95 \times 10^8$ | $3,30 \times 10^8$    |

\*Resultados expressos em UFC/g

Segundo a Tabela 11, as formulações A e E sofreram decréscimo na concentração de *Streptococcus thermophilus* durante os 45 dias de estocagem, enquanto que a formulação D somente apresentou acréscimo destas bactérias no mesmo período. As demais formulações

tiveram comportamentos variados. Não foi possível estabelecer relação entre as concentrações de leite, polidextrose ou soro nas amostras e o comportamento desta bactéria.

Tabela 12 – Resultados das análises microbiológicas de *B. animalis* subsp. *lactis*

| Identificação da amostra | Tempo de estocagem da bebida |                    |                    |                    |                    |
|--------------------------|------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                          | 1 dia                        | 7 dias             | 14 dias            | 28 dias            | 45 dias            |
| A                        | $1,57 \times 10^8$           | $1,55 \times 10^6$ | $6,60 \times 10^4$ | $6,70 \times 10^3$ | $4,55 \times 10^3$ |
| B                        | $4,05 \times 10^8$           | $1,40 \times 10^7$ | $2,14 \times 10^7$ | $1,65 \times 10^4$ | $3,85 \times 10^4$ |
| C                        | $8,40 \times 10^6$           | $2,01 \times 10^7$ | $2,65 \times 10^8$ | $5,95 \times 10^5$ | $5,45 \times 10^4$ |
| D                        | $2,85 \times 10^6$           | $3,65 \times 10^5$ | $1,13 \times 10^5$ | $8,30 \times 10^3$ | $6,90 \times 10^4$ |
| E                        | $9,40 \times 10^8$           | $1,80 \times 10^6$ | $6,75 \times 10^5$ | $8,45 \times 10^3$ | $5,65 \times 10^3$ |
| F                        | $3,01 \times 10^{11}$        | $2,10 \times 10^8$ | $4,05 \times 10^6$ | $8,45 \times 10^3$ | $1,55 \times 10^3$ |
| G                        | $3,70 \times 10^6$           | $8,80 \times 10^6$ | $1,03 \times 10^6$ | $4,25 \times 10^4$ | $3,85 \times 10^4$ |
| H                        | $2,50 \times 10^6$           | $4,50 \times 10^6$ | $6,55 \times 10^7$ | $7,25 \times 10^5$ | $7,00 \times 10^5$ |
| I                        | $2,15 \times 10^6$           | $5,20 \times 10^7$ | $1,95 \times 10^5$ | $9,50 \times 10^5$ | $1,12 \times 10^6$ |
| J                        | $2,00 \times 10^7$           | $1,80 \times 10^7$ | $4,95 \times 10^5$ | $4,45 \times 10^4$ | $3,15 \times 10^4$ |
| K                        | $1,80 \times 10^6$           | $1,77 \times 10^6$ | $5,45 \times 10^7$ | $1,60 \times 10^5$ | $2,05 \times 10^4$ |

\*Resultados expressos em UFC/g

A Tabela 12 mostra que as formulações A, B, D, E, F e J sofreram decréscimo na concentração de *Bifidobacterium animalis* durante os 45 dias de estocagem. As demais formulações tiveram comportamentos variados, mostrando crescimento até os 7 ou 14 dias e depois, o decréscimo da quantidade desta bactéria. Desta forma, aos 28 dias, todas as bactérias já apresentavam declínio da população. Não foi possível estabelecer relação entre as concentrações de leite, polidextrose ou soro nas amostras e o comportamento desta bactéria.

As Figuras 12 a 16 ilustram as quantidades totais das bactérias lácticas nas diferentes formulações.

Figura 12 – Gráfico das contagens das bactérias lácticas no primeiro dia de estocagem

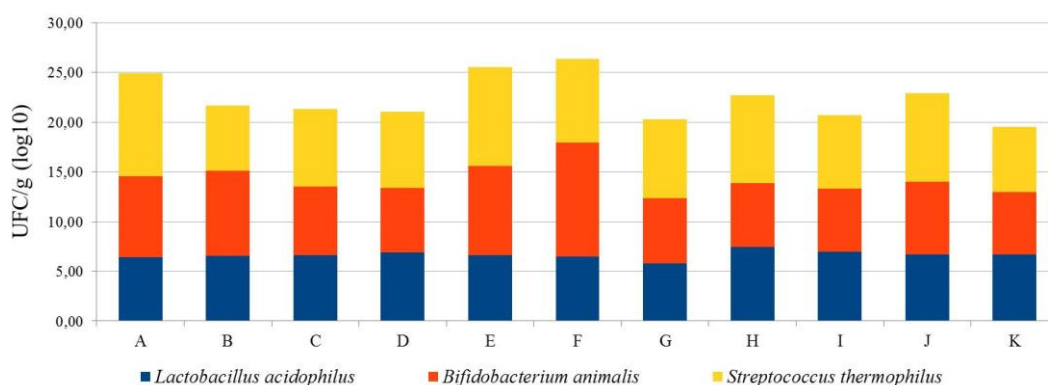


Figura 13 – Gráfico das contagens das bactérias lácticas no 7º dia de estocagem

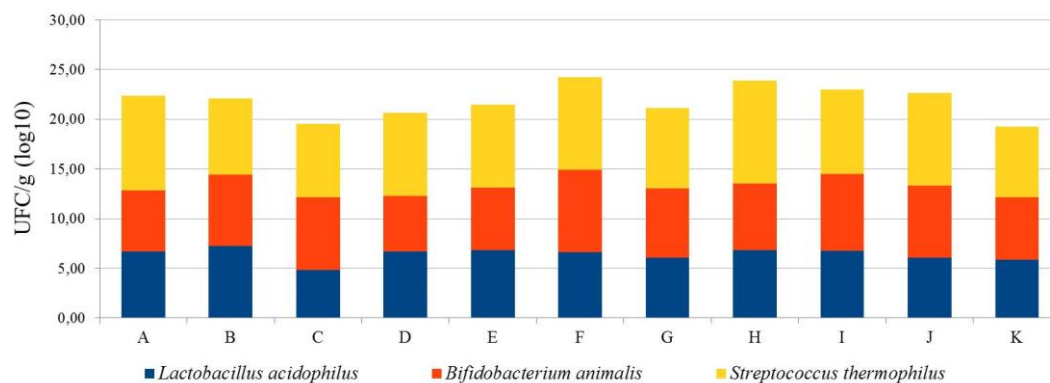


Figura 14 – Gráfico das contagens das bactérias lácticas no 14º dia de estocagem

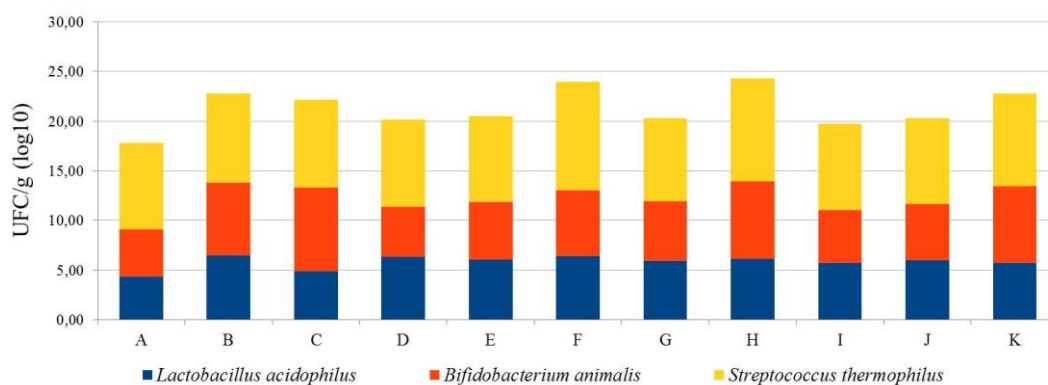


Figura 15 – Gráfico das contagens das bactérias lácticas no 28º dia de estocagem

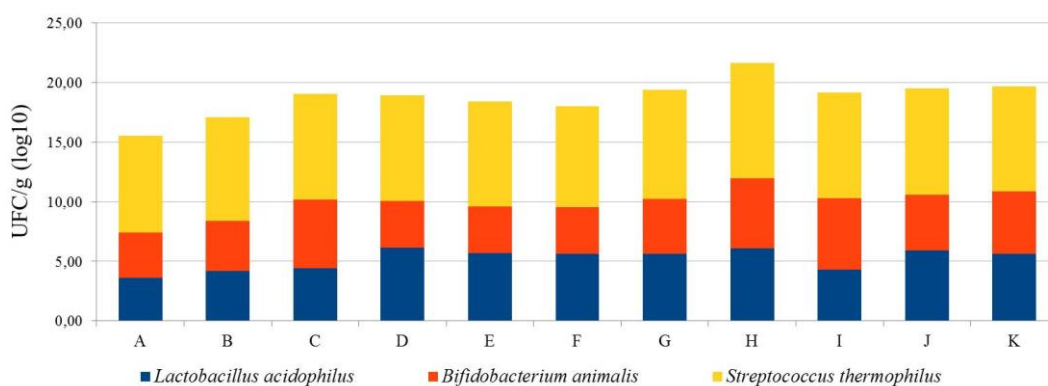
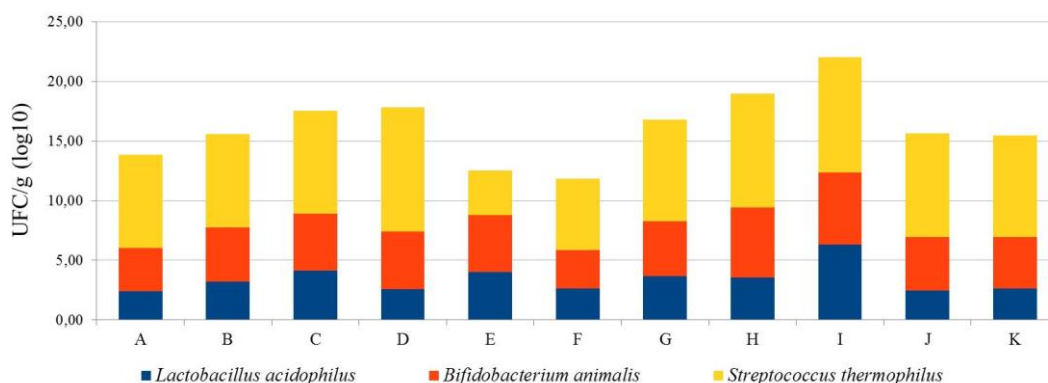


Figura 16 – Gráfico das contagens das bactérias lácticas no 45º dia de estocagem



Conforme mostrado nas Figuras 12 a 16, todas as formulações produzidas podem ser classificadas como fermentadas até 45 dias, pois possuem quantidade de UFC/g superior a  $10^6$ , conforme exigido pela Instrução Normativa nº 16 de 23 de agosto de 2005 (BRASIL, 2005). Os resultados indicam que as formulações devem ultrapassar os 45 dias de validade que foram planejados no que diz respeito à alegação de “bebida láctea fermentada” em função da alta concentração de bactérias lácticas apresentada ao 45º dia. Este resultado é reflexo de um armazenamento adequado, fator crucial para a manutenção do prazo de validade. Quando a bebida é comercializada, muitas vezes não é armazenada adequadamente, o que diminui seu *shelf life*.

Tebaldi et al. (2007) realizaram o plaqueamento em ágar MRS de quatro lotes de 5 marcas de bebidas lácteas fermentadas comerciais e somente uma apresentou contagem superior a  $10^6$  UFC/g, estando de acordo com a legislação.

Thammer e Penna (2005), estudando o efeito do teor de soro, açúcar e frutooligosacarídeos sobre a população de bactérias lácticas em bebidas lácteas, observaram, assim como neste estudo, uma predominância de *Streptococcus thermophilus* sobre os demais micro-organismos. A viabilidade dos micro-organismos utilizados na produção de alimentos fermentados depende da interação entre as espécies presentes, da cepa utilizada, tempo de fermentação, condições de armazenamento e pós-acidificação, nutrientes disponíveis, entre outros (THAMER e PENNA, 2006; VINDEROLA et al., 2000).

Quando analisada a população de bactérias probióticas, percebe-se que a menor contagem destes micro-organismos ocorreu na formulação K no primeiro dia de fabricação ( $9,06 \times 10^6$  UFC/g). Conforme a Anvisa (ANVISA, 2008), a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada na faixa de  $10^8$  a  $10^9$  UFC na recomendação diária do

produto pronto para o consumo. Levando em consideração que bebidas lácteas e leites fermentados são apresentados em embalagens com doses individuais entre 100 e 200 g, todas as formulações possuem população muito superior a essa exigência. Desta forma, todas as formulações podem ser consideradas probióticas.

Segundo Thamer e Penna (2005) as culturas probióticas crescem lentamente no leite produzindo pouco ácido e resultando em um tempo de fermentação prolongado. Estes autores relatam que o emprego de *Streptococcus thermophilus* aumentaria a taxa de crescimento de probióticos, reduzindo o tempo de fermentação. Isso se dá, segundo Lin et al. (2006), devido diminuição do teor de oxigênio do meio, o que contribui para a manutenção das bifidobactérias.

Vinderola et al. (2000) estudaram a sobrevivência de probióticos em iogurtes sob armazenamento refrigerado. Os resultados demonstraram que *L. acidophilus* é mais sensível às características ambientais do iogurte do que *B. bifidum*. Por outro lado, *B. bifidum* foi mais inibido em iogurte integral do que em iogurte com teor reduzido de gordura. Além disso, a cultura *starter* utilizada também afetou a viabilidade das bactérias probióticas. Ao utilizar duas culturas comerciais contendo *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* (culturas denominadas SID e SISD, cuja especificação completa não foi encontrada), a maior acidificação foi obtida no iogurte com teor de gordura reduzido fermentado com cultura SISD e no iogurte integral fermentado com cultura SID. No entanto, a maior redução de células viáveis ocorreu no iogurte integral fermentado com cultura SISD, o qual não apresentou o menor pH. Isso mostra que a necessidade de selecionar a combinação adequada das bactérias probióticas com a cultura *starter* em diferentes formulações de iogurte, pois o pH e a acidez não são o único parâmetro para prever a viabilidade destes micro-organismos.

Cunha (2007) utilizou *S. thermophilus*, *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* BB-12 para preparar bebidas lácteas com 49%, 40% e 30% de soro de queijo e concluiu que as contagens de células probióticas não foram influenciadas pela proporção de soro, sendo que todas apresentaram contagens superiores a  $10^6$  UFC/mL, podendo ser classificadas como bebidas probióticas. Em uma segunda etapa do estudo preparou também um leite fermentado com as mesmas bactérias, que também obteve contagem superior a  $10^6$  UFC/mL. Kastner et al. (2006) recomendam que mais estudos sejam realizados a fim de otimizar a sobrevivência de bactérias probióticas.

Martín-Diana et al. (2003) recomendam que a quantidade de micro-organismos inoculados seja igual à desejada da no produto final, principalmente no que se refere às bifidobactérias, que possuem baixo desenvolvimento em pHs muito ácidos

#### **4.2.12 Viscosidade**

A Tabela 13 apresenta a viscosidade apresentada pelas formulações durante o armazenamento.

Tabela 13 – Viscosidade aparente das formulações obtidas em viscosímetro de Brookfield

| Amostra | Rotação<br>(rpm) | Tempo de<br>armaz. | 0,5              | 1,0    | 2,0    | 2,5    | 4,0    | 5,0    | 10,0   | 20,0  | 50,0  | 100,0 | 50,0  | 20,0  | 10,0   | 5,0    | 4,0    | 2,5    | 2,0    | 1,0    | 0,5     |
|---------|------------------|--------------------|------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
|         |                  |                    | Viscosidade (cP) |        |        |        |        |        |        |       |       |       |       |       |        |        |        |        |        |        |         |
| A       | 1 dia            |                    | 7840,0           | 4880,0 | 2800,0 | 2232,0 | 1500,0 | 1200,0 | 678,0  | 387,0 | 208,2 | 126,2 | 182,8 | 341,0 | 572,0  | 972,0  | 1175,0 | 1682,0 | 2010,0 | 3500,0 | 5680,0  |
|         | 21 dias          |                    | 7302,5           | 4537,5 | 2520,6 | 1981,3 | 1314,1 | 1036,5 | 584,6  | 340,6 | 191,0 | 116,4 | 165,3 | 301,7 | 495,2  | 836,6  | 994,9  | 1437,3 | 1686,0 | 2839,3 | 4587,5  |
|         | 45 dias          |                    | 5680,0           | 3280,0 | 1880,0 | 1584,0 | 1095,0 | 932,0  | 562,0  | 345,0 | 192,8 | 128,0 | 189,6 | 339,0 | 550,0  | 912,0  | 1065,0 | 1536,0 | 1800,0 | 3080,0 | 5080,0  |
| B       | 1 dia            |                    | 7450,0           | 4260,0 | 2660,0 | 2173,0 | 1415,0 | 1132,0 | 636,0  | 361,5 | 189,5 | 120,5 | 174,0 | 326,0 | 552,0  | 952,0  | 1140,0 | 1696,0 | 2050,0 | 3680,0 | 6280,0  |
|         | 21 dias          |                    | 6760,0           | 3720,0 | 1980,0 | 1584,0 | 1050,0 | 856,0  | 494,0  | 296,0 | 161,6 | 106,6 | 151,6 | 277,0 | 458,0  | 776,0  | 920,0  | 1360,0 | 1610,0 | 2820,0 | 4800,0  |
|         | 45 dias          |                    | 5400,0           | 3080,0 | 1730,0 | 1448,0 | 995,0  | 840,0  | 506,0  | 313,0 | 176,0 | 120,8 | 173,6 | 306,0 | 492,0  | 820,0  | 965,0  | 1384,0 | 1630,0 | 2780,0 | 4640,0  |
| C       | 1 dia            |                    | 12072,8          | 7727,3 | 5490,9 | 4632,7 | 3136,4 | 2596,4 | 1509,1 | 897,3 | 464,7 | 285,1 | 448,0 | 863,7 | 1438,2 | 2411,0 | 2827,3 | 3978,2 | 4627,3 | 7218,2 | 8509,1  |
|         | 21 dias          |                    | 13280,0          | 8500,0 | 6040,0 | 5096,0 | 3450,0 | 2856,0 | 1660,0 | 987,0 | 511,2 | 313,6 | 492,8 | 950,0 | 1582,0 | 2652,0 | 3110,0 | 4376,0 | 5090,0 | 7940,0 | 9360,0  |
|         | 45 dias          |                    | 14640,0          | 9860,0 | 6330,0 | 5208,0 | 3505,0 | 2872,0 | 1634,0 | 946,0 | 474,8 | 301,4 | 455,6 | 875,0 | 1474,0 | 2496,0 | 2950,0 | 4240,0 | 5000,0 | 8340,0 | 11520   |
| D       | 1 dia            |                    | 11927,3          | 7490,9 | 4272,8 | 3447,3 | 2304,6 | 1898,2 | 1098,2 | 643,7 | 334,2 | 208,2 | 317,9 | 604,5 | 1010,9 | 1716,4 | 2040,9 | 2960,0 | 3527,3 | 6036,4 | 9345,5  |
|         | 21 dias          |                    | 11688,7          | 7341,1 | 4187,3 | 3378,3 | 2258,4 | 1860,2 | 1076,2 | 630,7 | 327,4 | 204,0 | 201,7 | 311,5 | 592,4  | 990,6  | 1682,0 | 2000,1 | 2900,8 | 3456,7 | 5915,6  |
|         | 45 dias          |                    | 11000,0          | 6320,0 | 3460,0 | 2848,0 | 1925,0 | 1592,0 | 936,0  | 556,0 | 297,2 | 186,8 | 280,8 | 520,0 | 856,0  | 1436,0 | 1700,0 | 2432,0 | 2900,0 | 5020,0 | 8400,0  |
| E       | 1 dia            |                    | 8160,0           | 4740,0 | 2890,0 | 2376,0 | 1600,0 | 1276,0 | 720,0  | 412,0 | 217,1 | 134,2 | 187,6 | 341,0 | 564,0  | 948,0  | 1130,0 | 1656,0 | 1960,0 | 3400,0 | 5560,0  |
|         | 21 dias          |                    | 7601,1           | 4408,2 | 2601,0 | 2109,7 | 1401,7 | 1102,5 | 620,7  | 362,2 | 199,4 | 123,7 | 169,8 | 302,2 | 488,3  | 816,1  | 956,9  | 1414,9 | 1643,2 | 2757,8 | 4490,8  |
|         | 45 dias          |                    | 6840,0           | 3740,0 | 2060,0 | 1688,0 | 1140,0 | 948,0  | 556,0  | 334,0 | 180,0 | 117,8 | 176,0 | 322,0 | 542,0  | 912,0  | 1085,0 | 1560,0 | 1880,0 | 3260,0 | 5600,0  |
| F       | 1 dia            |                    | 15080,0          | 9060,0 | 6390,0 | 5760,0 | 4055,0 | 3196,0 | 1764,0 | 981,0 | 478,0 | 278,0 | 469,2 | 923,0 | 1580,0 | 2748,0 | 3310,0 | 4824,0 | 5770,0 | 9660,0 | 11920,0 |
|         | 21 dias          |                    | 14047,1          | 8425,8 | 5751,0 | 5114,4 | 3552,3 | 2761,4 | 1520,7 | 862,4 | 438,9 | 256,3 | 424,6 | 817,9 | 1367,8 | 2365,7 | 2803,1 | 4121,5 | 4837,5 | 7835,4 | 9627,7  |
|         | 45 dias          |                    | 15400,0          | 9480,0 | 5340,0 | 4368,0 | 2975,0 | 2472,0 | 1442,0 | 852,0 | 437,0 | 274,2 | 418,4 | 798,0 | 1338,0 | 2280,0 | 2705,0 | 3928,0 | 4680,0 | 8140,0 | 13120,0 |
| G       | 1 dia            |                    | 8072,8           | 4781,8 | 2627,3 | 2130,9 | 1427,3 | 1189,1 | 690,9  | 410,9 | 218,8 | 136,4 | 207,7 | 390,9 | 654,5  | 1116,4 | 1331,8 | 1949,1 | 2309,1 | 4054,6 | 6836,4  |
|         | 21 dias          |                    | 8880,0           | 5260,0 | 2890,0 | 2344,0 | 1570,0 | 1308,0 | 760,0  | 452,0 | 240,6 | 150,0 | 228,4 | 430,0 | 720,0  | 1228,0 | 1465,0 | 2144,0 | 2540,0 | 4460,0 | 7520,0  |
|         | 45 dias          |                    | 9280,0           | 5440,0 | 3120,0 | 2584,0 | 1785,0 | 1496,0 | 892,0  | 538,0 | 294,0 | 186,2 | 282,0 | 519,0 | 848,0  | 1412,0 | 1660,0 | 2368,0 | 2790,0 | 4720,0 | 7680,0  |
| H       | 1 dia            |                    | 8518,2           | 5054,6 | 2854,6 | 2218,2 | 1450,0 | 1152,8 | 634,6  | 361,0 | 202,2 | 122,0 | 178,2 | 330,9 | 554,6  | 963,6  | 1168,2 | 1723,6 | 2027,3 | 3600,0 | 5636,4  |
|         | 21 dias          |                    | 9370,0           | 5560,0 | 3140,0 | 2440,0 | 1595,0 | 1268,0 | 698,0  | 397,0 | 222,4 | 134,2 | 196,0 | 364,0 | 610,0  | 1060,0 | 1285,0 | 1896,0 | 2230,0 | 3960,0 | 6200,0  |
|         | 45 dias          |                    | 4280,0           | 2240,0 | 1230,0 | 1008,0 | 675,0  | 568,0  | 338,0  | 212,0 | 118,7 | 89,0  | 114,8 | 202,0 | 324,0  | 532,0  | 625,0  | 912,0  | 1070,0 | 1900,0 | 3360,0  |
| I       | 1 dia            |                    | 6300,0           | 4030,0 | 2440,0 | 2038,0 | 1415,0 | 1186,0 | 730,0  | 411,3 | 213,0 | 145,0 | 216,3 | 360,0 | 590,0  | 988,0  | 1205,0 | 1690,0 | 1995,0 | 3365,5 | 5265,0  |
|         | 21 dias          |                    | 5320,0           | 3220,0 | 1760,0 | 1424,0 | 935,0  | 772,0  | 436,0  | 253,0 | 131,2 | 83,4  | 122,0 | 237,0 | 410,0  | 724,0  | 875,0  | 1320,0 | 1600,0 | 2860,0 | 4320,0  |
|         | 45 dias          |                    | 9480,0           | 5620,0 | 3200,0 | 2616,0 | 1810,0 | 1512,0 | 898,0  | 536,0 | 288,0 | 186,5 | 277,0 | 513,0 | 842,0  | 1404,0 | 1655,0 | 2376,0 | 2810,0 | 4840,0 | 7960,0  |
| J       | 1 dia            |                    | 11018,2          | 7254,6 | 4563,7 | 3440,0 | 2113,6 | 1676,4 | 898,2  | 506,4 | 277,5 | 169,7 | 251,7 | 473,7 | 783,7  | 1330,9 | 1568,2 | 2269,1 | 2690,9 | 4581,9 | 6872,8  |
|         | 21 dias          |                    | 12120,0          | 7980,0 | 5020,0 | 3784,0 | 2325,0 | 1844,0 | 988,0  | 557,0 | 305,2 | 186,6 | 276,8 | 521,0 | 862,0  | 1464,0 | 1725,0 | 2496,0 | 2960,0 | 5040,0 | 7560,0  |
|         | 45 dias          |                    | 12200,0          | 7460,0 | 4260,0 | 3448,0 | 2320,0 | 1928,0 | 1108,0 | 639,0 | 322,8 | 204,0 | 307,2 | 583,0 | 974,0  | 1648,0 | 1970,0 | 2832,0 | 3360,0 | 5740,0 | 8400,0  |
| K       | 1 dia            |                    | 12763,6          | 7927,3 | 4554,6 | 3578,2 | 2395,5 | 1963,6 | 1131,0 | 661,8 | 341,5 | 223,3 | 324,0 | 616,4 | 1029,1 | 1745,5 | 2059,1 | 2981,8 | 3536,4 | 6000,0 | 8909,1  |
|         | 21 dias          |                    | 14040,0          | 8720,0 | 5010,0 | 3936,0 | 2635,0 | 2160,0 | 1244,0 | 728,0 | 375,6 | 245,6 | 356,4 | 678,0 | 1132,0 | 1920,0 | 2265,0 | 3280,0 | 3890,0 | 6600,0 | 9800,0  |
|         | 45 dias          |                    | 9040,0           | 4900,0 | 2750,0 | 2280,0 | 1565,0 | 1312,0 | 776,0  | 463,0 | 248,0 | 155,2 | 236,0 | 434,0 | 714,0  | 1200,0 | 1410,0 | 2048,0 | 2420,0 | 4220,0 | 7200,0  |

Os maiores valores de viscosidade foram obtidos pela formulação F, que foi preparada com a quantidade máxima de leite em pó utilizada no planejamento experimental (10%) e quantidade intermediária de soro de ricota (50%). Essa formulação foi a que mais recebeu classificação “Certamente compraria” quando analisada a intenção de compra na análise sensorial. Apesar disso, os resultados do atributo “Textura” e “Aceitação global”, no primeiro dia, ficaram ligeiramente abaixo das médias da formulação C, porém sem diferença estatística ( $P \leq 0,05$ ). Ainda, em relação ao Índice de Aceitabilidade, F obteve a 3ª maior aceitação no primeiro dia de armazenamento e a maior aceitação no 45º dia.

Já os menores valores de viscosidade aparente foram apresentados pela formulação B, que, apesar disso, não foi a mais rejeitada na análise sensorial quanto a intenção de compra e também não recebeu as menores notas nos atributos “Textura” e “Aceitação global”. Essa formulação continha a segunda menor quantidade de leite em pó utilizada (7%) e a segunda maior quantidade de soro utilizada (64,2%).

Percebe-se ainda, que as formulações comportaram-se de forma diferente durante o armazenamento no que se refere à variação da viscosidade. As amostras A, B, D e E sofreram redução deste parâmetro durante os 45 dias de armazenamento; as formulações C, I e J apresentaram aumento de viscosidade; já as formulações F e H sofreram redução da viscosidade até 21 dias de armazenamento e novamente aumentaram esse parâmetro, enquanto para a amostra K ocorreu o inverso. Fatores como o pH, a concentração de soro, concentração de leite e de polidextrose afetam este parâmetro e a combinação destes fatores durante a vida de prateleira pode acarretar em comportamentos diversos, conforme ocorreu neste estudo.

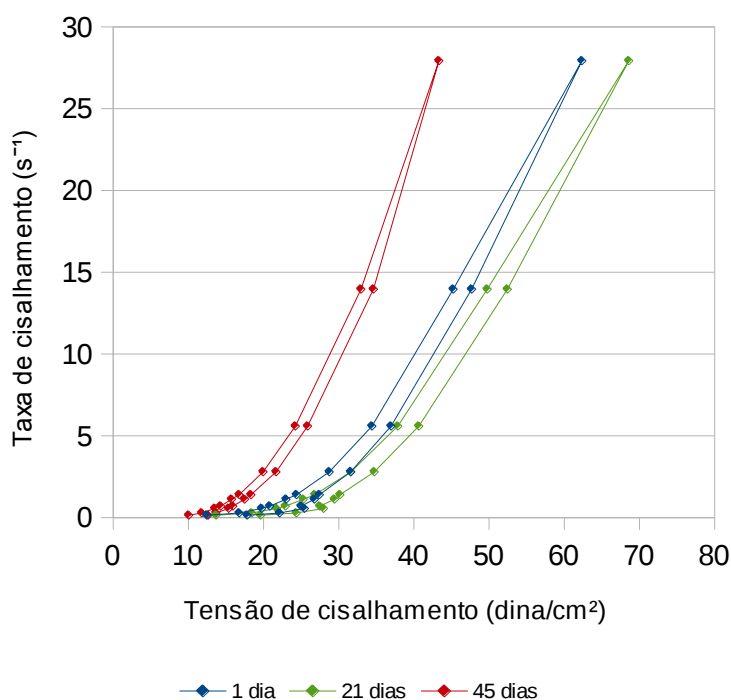
Almeida et al. (2001) produziram bebidas lácteas com soro de queijo Minas frescal a 30, 40 e 50% de soro com viscosidade inicial entre 2000 e 3000 Cp aproximadamente. Após 7 dias a viscosidade de todas as formulações aumentou e novamente declinou até os 28 dias, quando a viscosidade foi aproximadamente a mesma que a inicial. Os autores concluíram que o teor de sólidos influenciou a viscosidade das bebidas, pois as bebidas elaboradas com 30% de soro (e, desta forma, maior quantidade de leite que as demais) apresentaram os maiores valores médios para a viscosidade.

A viscosidade aparente das amostras decresceu com o aumento da taxa de cisalhamento indicando comportamento pseudoplástico, conforme pode ser observado na

Tabela 13. O apêndice C mostra os gráficos da viscosidade aparente em relação à taxa de cisalhamento das 11 formulações nos 3 períodos analisados. Conforme Sinko (2008), à medida que a taxa de cisalhamento é aumentada, as moléculas desordenadas passam normalmente a alinhar seu eixo longitudinal na direção do fluxo, reduzindo, desta forma, a resistência interna do material e permitindo uma maior velocidade de cisalhamento para cada tensão de cisalhamento sucessiva.

A Figura 17 apresenta o reograma da formulação K, como exemplo do comportamento da viscosidade observado em todas as 11 formulações produzidas. A apêndice D apresenta os reogramas de todas as formulações. Através do gráfico apresentado na Figura 17, é possível perceber que a viscosidade é menor na segunda vez em que uma determinada taxa de cisalhamento é aplicada (após utilização de velocidade de rotação de 100 rpm, quando as mesmas rotações são aplicadas em ordem decrescente). Este fato é característico de tixotropia, característica que pode ser observada nos reogramas mostrados na Figura 17 e no Apêndice D (a curva descendente aparece deslocada à esquerda da curva ascendente).

Figura 17 – Reograma da formulação K nos 3 períodos analisados



Cunha (2007) preparou bebidas lácteas fermentadas com 51% de leite e 49% de soro de queijo, 60% de leite e 40% de soro e 70% de leite e 30% de soro utilizando *S. thermophilus*, *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* BB-12 que também apresentaram comportamento pseudoplástico. Além disso, observou a menor viscosidade nas bebidas com maior proporção de soro. Em uma segunda etapa do estudo, o mesmo autor produziu bebida láctea fermentada composta por 70% de leite e 30% de soro de queijo e leite fermentado utilizando os mesmos micro-organismos. Ambos os produtos comportaram-se como fluidos pseudoplásticos, com comportamento não-Newtoniano e apresentaram tixotropia.

#### **4.2.13 Análise sensorial**

A Tabela 14 informa as médias obtidas para cada amostra nos atributos analisados após 1 e 45 dias de fabricação.

Tabela 14 – Resultados médios das análises sensoriais das bebidas lácteas fermentadas nos diferentes atributos

| Formulação | Aparência                  |                            | Odor                      |                           | Sabor                      |                           | Textura                     |                            | Aceitação Global            |                            |
|------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
|            | 1 dia                      | 45 dias                    | 1 dia                     | 45 dias                   | 1 dia                      | 45 dias                   | 1 dia                       | 45 dias                    | 1 dia                       | 45 dias                    |
| A          | 7,17 ± 1,57 <sup>Aab</sup> | 7,09 ± 1,58 <sup>Aa</sup>  | 7,21 ± 1,71 <sup>Aa</sup> | 7,30 ± 1,46 <sup>Aa</sup> | 6,68 ± 1,46 <sup>Abc</sup> | 6,75 ± 1,59 <sup>Aa</sup> | 7,5 ± 1,68 <sup>Ad</sup>    | 6,25 ± 1,73 <sup>Ac</sup>  | 6,70 ± 1,34 <sup>Ac</sup>   | 6,87 ± 1,44 <sup>Aab</sup> |
| B          | 7,38 ± 1,33 <sup>Aa</sup>  | 7,04 ± 1,47 <sup>Aa</sup>  | 7,08 ± 1,28 <sup>Aa</sup> | 6,85 ± 1,65 <sup>Aa</sup> | 6,79 ± 1,62 <sup>Aac</sup> | 7,13 ± 1,52 <sup>Aa</sup> | 6,6 ± 1,8 <sup>Ad</sup>     | 6,85 ± 1,52 <sup>Abc</sup> | 6,94 ± 1,23 <sup>Aac</sup>  | 7,09 ± 1,38 <sup>Aab</sup> |
| C          | 7,51 ± 1,37 <sup>Aa</sup>  | 7,25 ± 1,75 <sup>Aa</sup>  | 7,04 ± 1,59 <sup>Aa</sup> | 6,94 ± 1,70 <sup>Aa</sup> | 7,06 ± 1,61 <sup>Aab</sup> | 7,09 ± 1,5 <sup>Aa</sup>  | 7,68 ± 1,5 <sup>Aa</sup>    | 7,64 ± 1,44 <sup>Aa</sup>  | 7,51 ± 1,27 <sup>Ab</sup>   | 7,25 ± 1,41 <sup>Aa</sup>  |
| D          | 7,38 ± 1,40 <sup>Aa</sup>  | 7,23 ± 1,71 <sup>Aab</sup> | 7,09 ± 1,43 <sup>Aa</sup> | 6,89 ± 1,58 <sup>Aa</sup> | 7,17 ± 1,38 <sup>Aab</sup> | 6,96 ± 1,56 <sup>Aa</sup> | 7,47 ± 1,3 <sup>Aab</sup>   | 7,19 ± 1,62 <sup>Aab</sup> | 7,40 ± 1,1 <sup>Aab</sup>   | 7,06 ± 1,51 <sup>Aab</sup> |
| E          | 7,30 ± 1,38 <sup>Aa</sup>  | 6,23 ± 1,81 <sup>Bc</sup>  | 7,21 ± 1,32 <sup>Aa</sup> | 6,81 ± 1,58 <sup>Aa</sup> | 6,68 ± 1,5 <sup>Abc</sup>  | 6,70 ± 1,76 <sup>Aa</sup> | 6,49 ± 1,69 <sup>Ad</sup>   | 6,19 ± 1,69 <sup>Ac</sup>  | 6,92 ± 1,22 <sup>Aac</sup>  | 6,57 ± 1,55 <sup>Ab</sup>  |
| F          | 7,32 ± 1,48 <sup>Aa</sup>  | 7,32 ± 1,81 <sup>Aa</sup>  | 7,36 ± 1,11 <sup>Aa</sup> | 7,21 ± 1,67 <sup>Aa</sup> | 7,28 ± 1,56 <sup>Aab</sup> | 7,26 ± 1,95 <sup>Aa</sup> | 7,53 ± 1,58 <sup>Aab</sup>  | 7,74 ± 1,68 <sup>Aa</sup>  | 7,45 ± 1,38 <sup>Aabd</sup> | 7,36 ± 1,74 <sup>Aa</sup>  |
| G          | 6,87 ± 1,57 <sup>Aab</sup> | 7,26 ± 1,55 <sup>Aab</sup> | 6,87 ± 1,36 <sup>Aa</sup> | 7,08 ± 1,62 <sup>Aa</sup> | 7,21 ± 1,54 <sup>Aab</sup> | 7,06 ± 1,61 <sup>Aa</sup> | 6,87 ± 1,62 <sup>Abd</sup>  | 7,26 ± 1,2 <sup>Aab</sup>  | 7,15 ± 1,2 <sup>Aabc</sup>  | 7,30 ± 1,29 <sup>Aa</sup>  |
| H          | 6,55 ± 1,65 <sup>Ab</sup>  | 6,23 ± 1,89 <sup>Abc</sup> | 7,02 ± 1,55 <sup>Aa</sup> | 6,77 ± 1,55 <sup>Aa</sup> | 6,72 ± 1,65 <sup>Abc</sup> | 6,62 ± 1,76 <sup>Aa</sup> | 6,72 ± 1,54 <sup>Ac</sup>   | 5,94 ± 1,82 <sup>Ad</sup>  | 6,98 ± 1,32 <sup>Aabc</sup> | 6,58 ± 1,51 <sup>Ab</sup>  |
| I          | 7,36 ± 1,16 <sup>Aa</sup>  | 7,28 ± 1,34 <sup>Aa</sup>  | 6,96 ± 1,44 <sup>Aa</sup> | 7,04 ± 1,73 <sup>Aa</sup> | 6,87 ± 1,65 <sup>Aac</sup> | 7,06 ± 1,6 <sup>Aa</sup>  | 7,00 ± 1,62 <sup>Aad</sup>  | 7,06 ± 1,59 <sup>Aab</sup> | 7,13 ± 1,16 <sup>Aabc</sup> | 7,25 ± 1,34 <sup>Aa</sup>  |
| J          | 7,02 ± 1,61 <sup>Aab</sup> | 7,21 ± 1,54 <sup>Aa</sup>  | 7,13 ± 1,66 <sup>Aa</sup> | 6,83 ± 1,54 <sup>Aa</sup> | 6,23 ± 2,02 <sup>Ac</sup>  | 6,55 ± 1,77 <sup>Aa</sup> | 6,91 ± 1,66 <sup>Abd</sup>  | 6,89 ± 1,58 <sup>Abc</sup> | 6,75 ± 1,59 <sup>Ac</sup>   | 6,89 ± 1,56 <sup>Aab</sup> |
| K          | 7,23 ± 1,46 <sup>Aab</sup> | 7,30 ± 1,38 <sup>Aab</sup> | 7,15 ± 1,32 <sup>Aa</sup> | 6,98 ± 1,54 <sup>Aa</sup> | 7,45 ± 1,41 <sup>Aa</sup>  | 6,83 ± 1,67 <sup>Aa</sup> | 7,38 ± 1,35 <sup>Aabc</sup> | 6,79 ± 1,69 <sup>Abc</sup> | 7,51 ± 1,15 <sup>Aab</sup>  | 6,98 ± 1,61 <sup>Aab</sup> |

Abc – Médias seguidas por letras maiúsculas iguais, na mesma linha e parâmetro, não diferem estatisticamente; médias seguidas por letras minúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem estatisticamente conforme Teste de Tukey (P ≤ 0,05).

Conforme mostrado na Tabela 14, os valores médios no atributo aparência variaram entre 6,55 e 7,51 no 1º dia de armazenamento e entre 6,23 e 7,32 no 45º dia. A análise estatística demonstrou que somente a amostra E apresentou diferença nos dois períodos analisados ( $P \leq 0,05$ ). A comparação entre as amostras no mesmo período mostra que os provadores perceberam pouca diferença na aparência das amostras no primeiro dia de armazenamento, pois, com exceção da formulação H, todas as amostras apresentaram resultados estatisticamente iguais e H apresentou resultados iguais às formulações G, J e K ( $P \leq 0,05$ ). Aos 45 dias, as formulações A, B, C, F, I e J apresentaram resultados iguais a D, G e K, que também apresentaram resultados semelhantes a H, sendo C semelhante somente a H ( $P \leq 0,05$ ).

Os valores médios no atributo odor não apresentaram diferença significativa nos períodos analisados ( $P \leq 0,05$ ). Os valores médios neste atributo variaram entre 6,87 e 7,36 no 1º dia de armazenamento e entre 6,77 e 7,30 no 45º dia. Gerhardt et al. (2013) encontraram valores médios entre 6,7 e 7,3 em bebidas lácteas com soro de ricota e colágeno, valores muito próximos aos encontrados neste estudo.

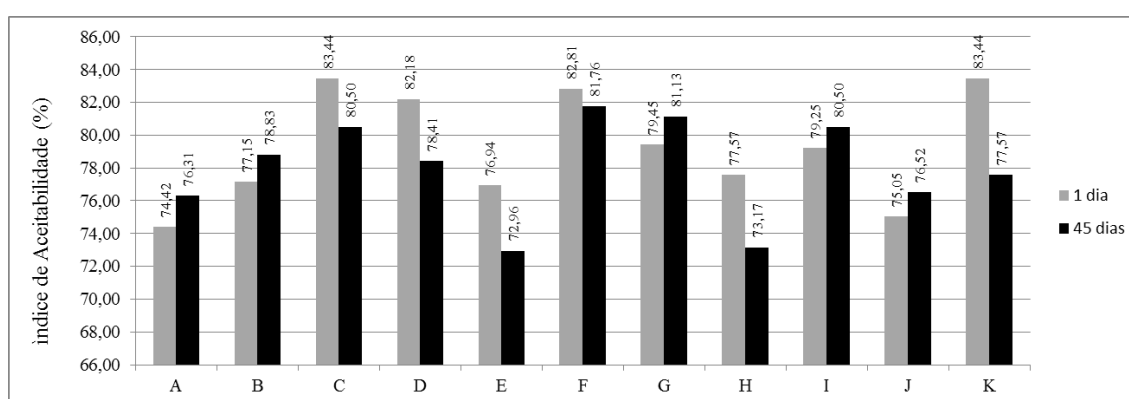
Já o atributo sabor apresentou diferença significativa entre algumas amostras somente no primeiro dia de fabricação. As formulações A, E e H apresentaram médias diferente de K e iguais às demais; B e I mostraram-se iguais a todas as demais formulações; C, D, F, G e K apresentaram-se diferentes de J ( $P \leq 0,05$ ). Os valores médios neste atributo variaram entre 6,23 e 7,45 no 1º dia de armazenamento e entre 6,55 e 7,26 no 45º dia. Os valores médios foram superiores aos encontrados por Gerhardt et al. (2013) em bebidas lácteas com soro de ricota e colágeno.

No atributo textura, no primeiro dia de fabricação, as formulações A, B e E apresentaram-se iguais a G, H, I e J; a formulação C teve média igual a D, F, I e K; D e F mostraram-se iguais a C, D, G, J e K; as amostras G e J tiveram médias iguais a D, E, F, H, I e K; a formulação H teve resultado igual a A, B, E, H, I, J e K; I apresentou-se igual a todas as demais amostras; e K apresentou-se diferentes de A, B e E. Os valores médios neste atributo variaram entre 6,49 e 7,68 no 1º dia de armazenamento e entre 5,94 e 7,74 no 45º dia. Gerhardt et al. (2013) encontraram médias entre 5,4 e 7,5 em bebidas lácteas com soro de ricota e colágeno.

Os valores médios no atributo aceitação global variaram entre 6,70 e 7,51 no 1º dia de armazenamento e entre 6,57 e 7,36 no 45º dia.

Conforme pode ser visto na Figura 18, o Índice de Aceitabilidade (IA) com base na aceitação global variou entre 74,42 e 83,43 no primeiro dia de estocagem, respectivamente nas amostras A e C/K, entre 72,95 e 81,76 aos 45 dias de armazenamento, nas amostras E e F, respectivamente. Assim sendo, todas as formulações apresentaram IA superior a 70%, indicando grande aceitação. As formulações A, B, G, I e J apresentaram maior aceitação aos 45 dias de estocagem, enquanto para as demais ocorreu o menor aceitação aos 45 dias.

Figura 18 – Índice de aceitabilidade (%)\* das formulações



\*Resultados expressos com base na impressão global

O Apêndice E apresenta os comentários dos provadores acerca das bebidas lácteas analisadas. Percebe-se que alguns provadores não compreendem a diferença entre iogurte e bebida láctea e esperavam a mesmas características nas formulações analisadas. Ainda, alguns comentaram sobre necessidade de mais sabor e acidez e mostraram preferência por bebidas mais viscosas.

Na Tabela 15 é apresentada a distribuição da frequência de intenção de compra das bebidas lácteas fermentadas.

Tabela 15 – Distribuição de frequência (em %) da intenção de compra das bebidas lácteas fermentadas

| Formulação | Tempo de estocagem | Certamente não compraria (%) | Possivelmente não compraria (%) | Talvez compraria/ talvez não compraria (%) | Possivelmente compraria (%) | Certamente compraria (%) |
|------------|--------------------|------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| A          | 1 dia              | 1,89                         | 24,53                           | 24,53                                      | 28,30                       | 20,75                    |
|            | 45 dias            | 5,66                         | 16,98                           | 20,75                                      | 47,17                       | 9,43                     |
| B          | 1 dia              | 1,89                         | 15,09                           | 32,08                                      | 33,96                       | 16,98                    |
|            | 45 dias            | 1,89                         | 15,09                           | 22,64                                      | 43,40                       | 16,98                    |
| C          | 1 dia              | 7,55                         | 5,66                            | 24,53                                      | 39,62                       | 22,64                    |
|            | 45 dias            | 1,89                         | 11,32                           | 28,30                                      | 24,53                       | 33,96                    |
| D          | 1 dia              | 3,77                         | 9,43                            | 18,87                                      | 39,62                       | 28,30                    |
|            | 45 dias            | 0,00                         | 26,42                           | 37,74                                      | 18,87                       | 0,00                     |
| E          | 1 dia              | 0,00                         | 24,53                           | 26,42                                      | 35,85                       | 13,21                    |
|            | 45 dias            | 7,55                         | 20,75                           | 39,62                                      | 20,75                       | 11,32                    |
| F          | 1 dia              | 32,08                        | 5,66                            | 13,21                                      | 3,77                        | 45,28                    |
|            | 45 dias            | 7,55                         | 7,55                            | 13,21                                      | 20,75                       | 50,94                    |
| G          | 1 dia              | 7,55                         | 5,66                            | 30,19                                      | 33,96                       | 22,64                    |
|            | 45 dias            | 3,77                         | 7,55                            | 24,53                                      | 43,40                       | 20,75                    |
| H          | 1 dia              | 5,66                         | 11,32                           | 32,08                                      | 35,85                       | 15,09                    |
|            | 45 dias            | 15,09                        | 22,64                           | 32,08                                      | 18,87                       | 11,32                    |
| I          | 1 dia              | 11,32                        | 13,21                           | 22,64                                      | 33,96                       | 18,87                    |
|            | 45 dias            | 3,77                         | 13,21                           | 28,30                                      | 37,74                       | 16,98                    |
| J          | 1 dia              | 0,00                         | 26,42                           | 26,42                                      | 39,62                       | 7,55                     |
|            | 45 dias            | 5,66                         | 11,32                           | 30,19                                      | 35,85                       | 16,98                    |
| K          | 1 dia              | 3,77                         | 5,66                            | 24,53                                      | 35,85                       | 30,19                    |
|            | 45 dias            | 5,66                         | 13,21                           | 32,08                                      | 33,96                       | 15,09                    |

Conforme mostrado na Tabela 15, a amostra D apresentou a maior frequência de intenção de compra positiva (“certamente compraria” e “possivelmente compraria”) no 1º dia de armazenamento, com 67,92%, enquanto F apresentou a maior frequência aos 45 dias, com 71,70%. As formulações F e H apresentaram as menores intenções de compra, respectivamente 47,17% (1 dia de armazenamento) e 30,19% (45 dias de estocagem).

Conforme Siró et al. (2008), a aceitação dos consumidores de alimentos funcionais não é incondicional, ou seja, outros fatores, além dos benefícios à saúde, influenciam na decisão de compra. O consumidor avalia o alimento funcional como alimento, em primeiro lugar. O que prevalece são as propriedades sensoriais (SIRÓ et al., 2008).

Kähkönen e Tuorila (1999) sugerem que a redução na quantidade de gordura afeta as propriedades sensoriais e que os consumidores apresentam menor prazer em consumir produtos com redução de gordura.

Cunha (2007) preparou bebidas fermentadas com 51% de leite e 49% de soro de queijo, 60% de leite e 40% de soro e 70% de leite e 30% de soro utilizando *S. thermophilus*, *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* BB-12, sendo todas as bebidas igualmente preferidas e aceitas pelos julgadores.

### 4.3 Avaliação da atividade antioxidante

#### 4.3.1 Atividade antioxidante avaliada através do método de sequestro do DPPH

A superfície de contorno (Figura 19) mostrou que os valores codificados ótimos para leite em pó e soro de ricota de acordo com o atributo Aceitação Global foram, respectivamente, 0,848 e -0,198, o que resultou na formulação mostrada na Tabela 16.

Figura 19 – Superfície de contorno mostrando a melhor condição das variáveis soro de ricota e leite em pó com base na avaliação da aceitação global

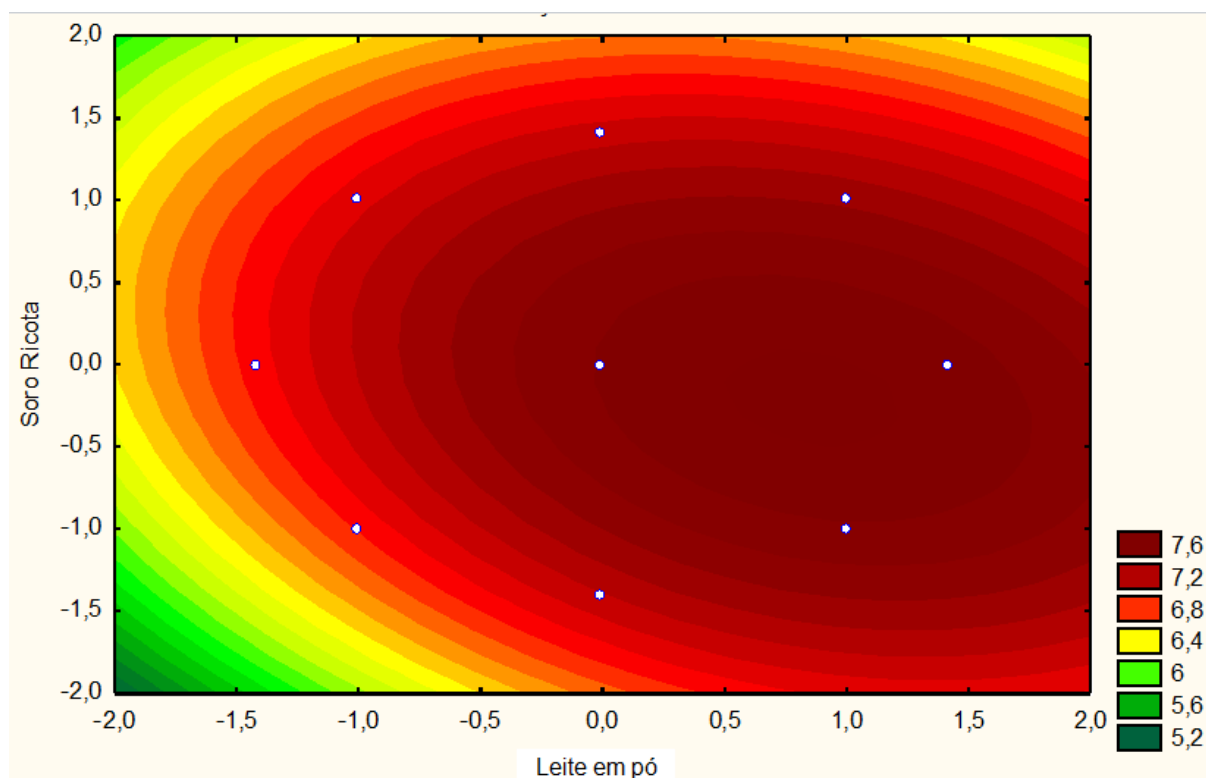


Tabela 16 – Formulação de acordo com a melhor condição para soro de ricota e leite em pó com base na avaliação da aceitação global

| Sacarose <sup>1</sup><br>(%) | Leite<br>em pó<br>(%) | Polidextrose<br>(%) | Água<br>(%) | Soro de<br>ricota<br>(%) | Inóculo<br>cultura<br>lática (%) | Solução de<br>sorbato de<br>potássio <sup>2</sup><br>(%) | Polpa de<br>morango <sup>3</sup><br>(%) | Preparado<br>sabor<br>morango <sup>4</sup><br>(%) |
|------------------------------|-----------------------|---------------------|-------------|--------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 5                            | 9,3                   | 2,2                 | 22,81       | 47,19                    | 3                                | 0,5                                                      | 2,5                                     | 7,5                                               |

<sup>1</sup>Sacarose utilizada na forma de açúcar cristal

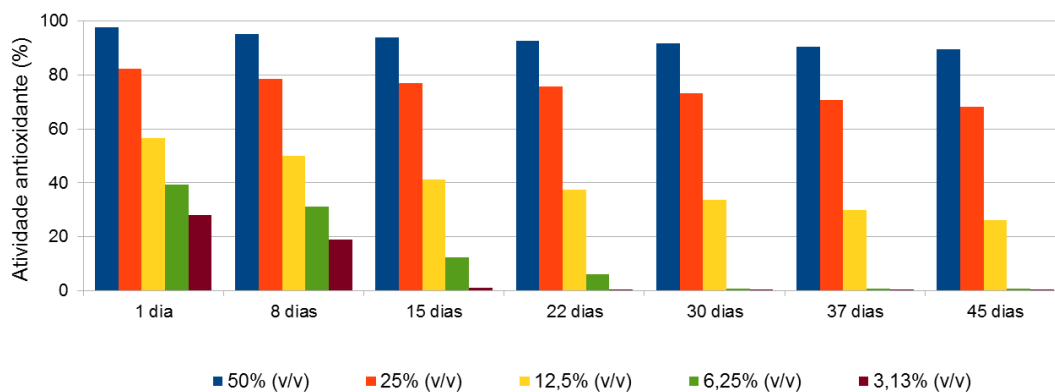
<sup>2</sup>Solução de sorbato de potássio 0,06g/mL

<sup>3</sup>Polpa de morango comercial congelada adicionada de 1% de pectina

<sup>4</sup>Preparado comercial sabor morango

As atividades antioxidantes da formulação controle e das 5 formulações com compostos antioxidantes são mostradas nas Figuras 20 a 25.

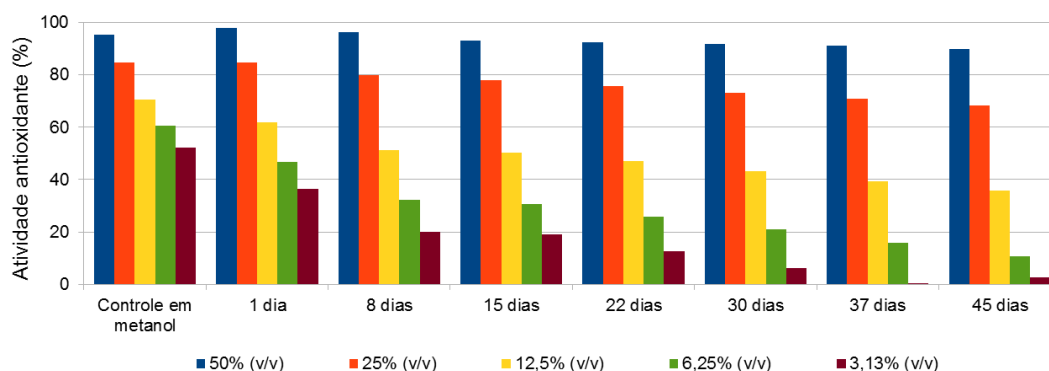
Figura 20 – Porcentagem de atividade antioxidante da formulação Controle durante o armazenamento



A Figura 20 demonstra que a bebida láctea sem adição possui atividade antioxidante. Esta variou de 97,53% a 89,35% na concentração de 50% (v/v), respectivamente, no 1º e 45º dia.

Pelegrine e Carrasqueira (2008) afirmam que várias proteínas do soro de leite e seus produtos metabólicos são antioxidantes e sequestrantes de radicais livres. Além disso, a bebida contém polpa de morango, que possui atividade antioxidante devido a seu conteúdo de vitaminas e polifenóis (KUSKOSKI et al., 2006). Também é possível perceber o decréscimo da atividade antioxidante durante os 45 dias de armazenamento.

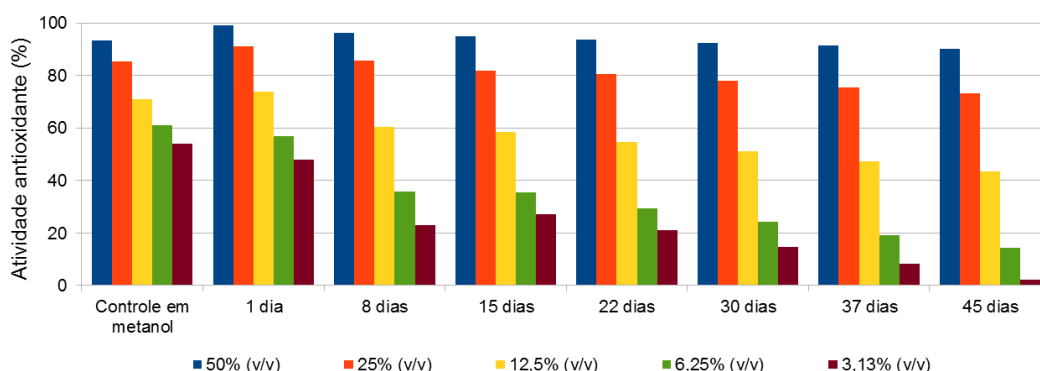
Figura 21 – Porcentagem de atividade antioxidante da formulação AA durante o armazenamento\*



\*O controle em metanol corresponde à mesma concentração utilizada na bebida láctea

Conforme a Figura 21, a atividade antioxidante da bebida AA, que contém resveratrol, variou de 97,78% a 89,85% na concentração de 50% (v/v), respectivamente, no 1º e 45º dia, um pouco superior a bebida que não foi adicionada de antioxidantes.

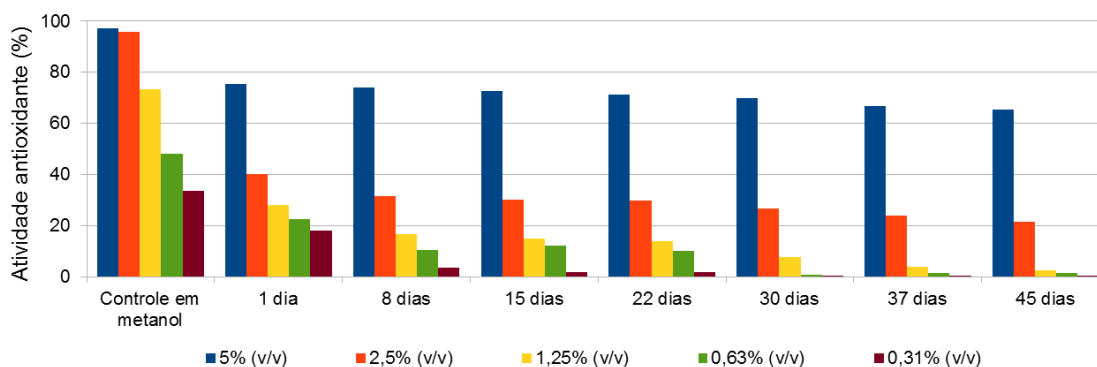
Figura 22 – Porcentagem de atividade antioxidante da formulação AB durante o armazenamento\*



\*O controle em metanol corresponde à mesma concentração utilizada na bebida láctea

A Figura 22 mostra que atividade antioxidante da bebida AB, que contém resveratrol e vitamina E, variou de 99,08% a 90,10% na concentração de 50% (v/v), respectivamente, no 1º e 45º dia, valores superiores à bebida que continha somente resveratrol.

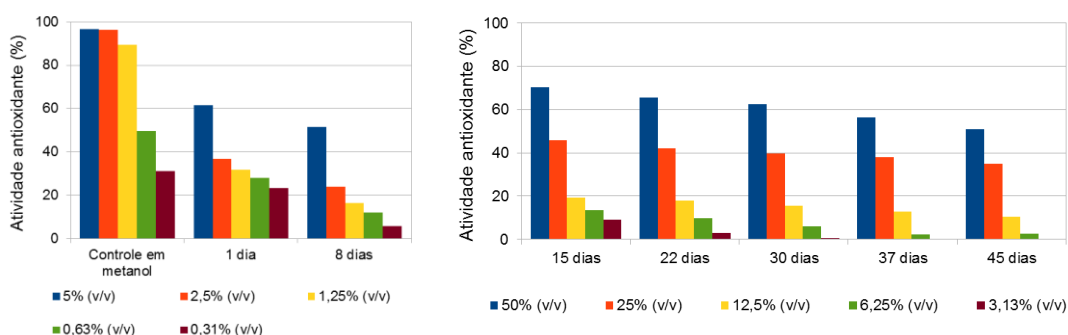
Figura 23 – Porcentagem de atividade antioxidante da formulação AC durante o armazenamento\*



\*O controle em metanol corresponde à mesma concentração utilizada na bebida láctea

A bebida AC, que continha Vitamina C, precisou ser 10 vezes mais diluída do que a bebida controle (sem adição de antioxidante) e as formulações A, B e E para que a atividade antioxidante pudesse ser determinada. Conforme a Figura 23, a atividade antioxidante desta bebida variou de 75,41% a 65,30% na concentração de 5% (v/v), respectivamente, no 1º e 45º dia. Porém, o a solução controle em metanol mostrou atividade antioxidante bem superior, o que indica que parte da vitamina C perde sua atividade quando adicionada à bebida láctea formulada. Mesmo assim, seu efeito antioxidante ainda é considerável.

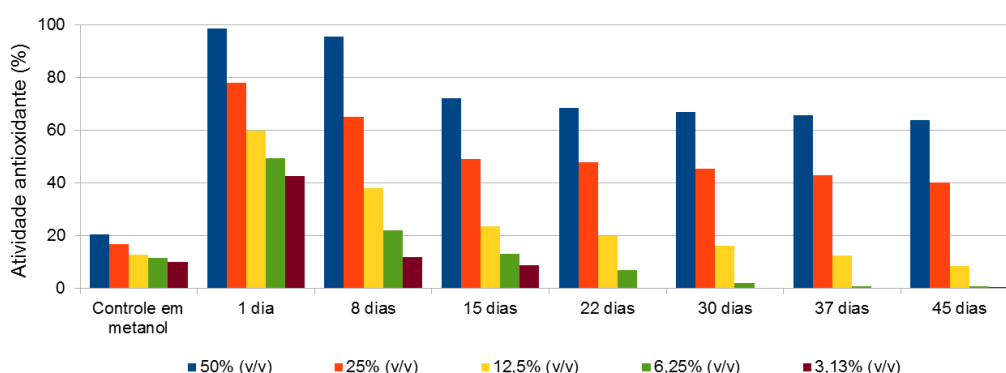
Figura 24 – Porcentagem de atividade antioxidante da formulação AD durante o armazenamento\*



\*O controle em metanol corresponde à mesma concentração utilizada na bebida láctea

Assim como a formulação AC, a formulação AD precisou ser diluída para a determinação da atividade antioxidante. Conforme a Figura 24, a atividade antioxidante desta bebida no primeiro dia foi 61,61%, menor do que a atividade antioxidante da formulação C. Assim como a formulação AC, a solução controle em metanol mostrou atividade antioxidante bem superior, o que indica que parte da vitamina perde sua atividade quando adicionada à bebida láctea formulada. Durante os 45 dias de armazenamento percebe-se a diminuição da atividade antioxidante.

Figura 25 – Porcentagem de atividade antioxidante da formulação AE durante o armazenamento\*



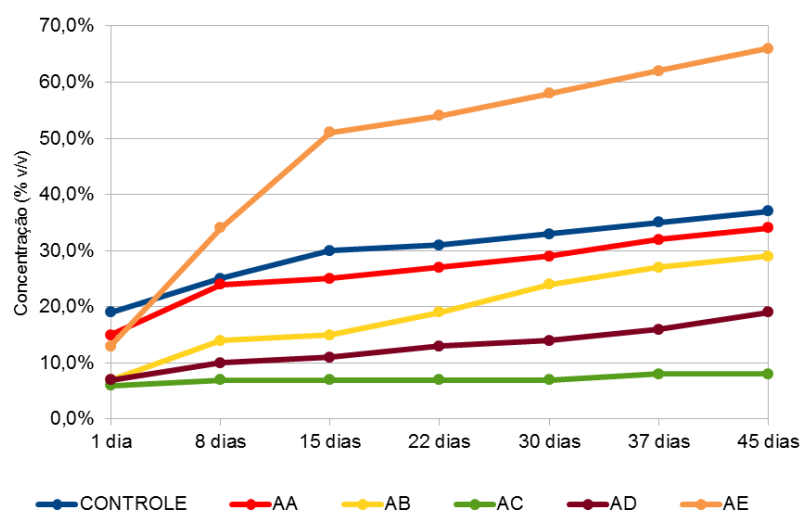
\*O controle em metanol corresponde à mesma concentração utilizada na bebida láctea

Conforme a Figura 25, a atividade antioxidante da bebida AE, que contém somente vitamina E, variou de 98,79% a 63,80% na concentração de 0,5 mL/mL, respectivamente, no 1º e 45º dia, um pouco superior a bebida controle e à formulação A, porém inferior à formulação AB, AC e AD. Durante os 45 dias de armazenamento percebe-se a diminuição da atividade antioxidante.

A atividade antioxidante das amostras foi comparada por meio da quantidade de bebida láctea (mL) por quantidade de solução metanólica (mL) necessária para reduzir em 50% o radical DPPH a cada período (CI<sub>50</sub>). Essas quantidades são mostradas na Tabela 17 e Figura 26.

Tabela 17 – Capacidade de Inibição (CI<sub>50</sub>) das formulações adicionadas de antioxidantes

| Amostra  | CI <sub>50</sub> (%) |        |         |         |         |         |         |
|----------|----------------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|
|          | 1 dia                | 8 dias | 15 dias | 22 dias | 30 dias | 37 dias | 45 dias |
| Controle | 19                   | 25     | 30      | 31      | 33      | 35      | 37      |
| AA       | 15                   | 24     | 25      | 27      | 29      | 32      | 34      |
| AB       | 7                    | 14     | 15      | 19      | 24      | 27      | 29      |
| AC       | 6                    | 7      | 7%      | 7       | 7       | 8       | 8       |
| AD       | 7                    | 10     | 11      | 13      | 14      | 16      | 19      |
| AE       | 13                   | 34     | 51      | 54      | 58      | 62      | 66      |

Figura 26 – Capacidade de Inibição (CI<sub>50</sub>) das formulações adicionadas de antioxidantes

A Tabela 17 e a Figura 26 mostram que a atividade antioxidante da formulação C foi a mais elevada durante os 45 dias, além de manter-se relativamente estável. A formulação E, que inicialmente foi a 3ª com maior atividade antioxidante, sofreu uma queda brusca até o 45º dia, inclusive apresentando CI<sub>50</sub> maior do que a bebida controle.

Lima et al (2012) avaliaram a atividade antioxidante de bebida láctea fermentada adicionada de erva-mate, obtendo valores entre 55 e 59% até 28 dias de fabricação para concentração de 10% (v/v). Quando comparado aos resultados do presente estudo, percebe-se que a bebida produzida possui valores próximos à bebida Controle e à bebida E, porém menor atividade antioxidante que as formulações A, B, C e D.

A capacidade antioxidante de variedades de tangerinas e laranjas foi avaliada por Couto e Canniatti-Brazaca (2010), que encontraram valores entre 12,78% e 66,24% para soluções etanólicas 0,32% (m/v). Estes valores são superiores às atividades encontradas nas formulações Controle, A, B e E. Já a formulação C apresentou valores superiores aos encontrados para a tangerina marcote durante todo o período de armazenamento, em que o menor valor para 0,025% (v/v) foi 21,46% de atividade antioxidante aos 45 dias de fabricação. Quando comparada a laranja lima, que apresentou a maior atividade antioxidante, percebe-se que valores próximos são encontrados na concentração 0,050% (v/v) aos 45 dias de armazenamento.

Morais et al. (2009) avaliaram a atividade de chás e condimentos, sendo o chá verde o chá mais ativo com  $CI_{50} = 0,14$  mg/mL. No mesmo estudo, os condimentos mais ativos foram canela, com  $CI_{50} = 0,37$  mg/mL, cravo, com  $CI_{50} = 0,46$  mg/mL) e louro, com  $CI_{50} = 0,76$  mg/mL. Quando comparada a atividade antioxidante de chás, as bebidas lácteas formuladas no presente estudo têm atividades antioxidantes menores.

Este trabalho teve como objetivo um estudo inicial da atividade antioxidante de bebida láctea e a verificação de seu comportamento durante o prazo de validade do produto. A grande variedade de componentes na formulação das bebidas lácteas é um dos condicionantes que torna difícil verificar a influência de determinado fator nos valores/resultados mostrados. Desta forma, é necessária a realização de mais estudos para validação dos resultados aqui obtidos.

#### **4.3.1 Atividade antioxidante avaliada através da voltametria cíclica**

Testes iniciais conduzidos para avaliação da melhor condição de análises foram feitos. Alguns voltamogramas são mostrados no Apêndice F. Mais testes serão necessários para ajustar os sinais e tentar analisar os antioxidantes por esta técnica.

## 5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostram ser possível a elaboração de bebida láctea fermentada prebiótica e probiótica com até 70% de soro de ricota, atendendo a legislação vigente (IN nº 16 de 23 de agosto de 2005) e com resultados satisfatórios na análise sensorial, com índice de aceitabilidade superior a 70% em todas as formulações produzidas conforme planejamento experimental. Desta forma, a bebida láctea se mostrou uma forma viável para a utilização de soro de ricota como matéria-prima, diminuindo o efluente gerado em laticínios e, conseqüentemente, reduzindo gastos com seu tratamento e o impacto ambiental gerado pelo seu descarte quando descartado de forma inadequada.

Foi verificado que a variação da quantidade de soro de ricota e leite em pó afetou os resultados das análises físico-químicas e microbiológicas, porém a realização de metodologia de superfície de resposta permitirá avaliar a influência destas variáveis sobre as respostas.

Os resultados de extrato seco foram próximos aos encontrados em bebidas lácteas comerciais e em estudos semelhantes. A diferença encontrada é devido à utilização de diferentes teores de soro de ricota e leite em pó nas formulações.

As formulações de bebidas lácteas produzidas no presente estudo possuem teor de cinzas e proteínas relativamente maior que outros estudos com bebidas lácteas e, inclusive, com iogurtes comerciais, o que indica que possui maior teor de minerais. Essa diferença possivelmente ocorre devido à utilização de leite em pó na formulação.

Os valores de lipídios nas formulações foram inferiores aos encontrados em bebidas lácteas comerciais.

Os valores de carboidratos foram similares aos encontrados em bebidas lácteas comerciais e superiores aos encontrados em estudos semelhantes.

Os valores de acidez obtidos foram próximos a resultados observados na literatura, porém superiores a valores de acidez encontrados para produtos similares analisados. Já os resultados de pH foram inferiores a estudos semelhantes e próximos aos encontrados em iogurtes comerciais, encontrando-se dentro da faixa ideal sugerida pela literatura.

Os valores de atividade de água foram inferiores a outros estudos. Em bebidas lácteas, a alta atividade de água é compensada pela acidez elevada.

A comparação entre valores de sinerese e sedimentação em diferentes estudos foi dificultada pela utilização de métodos distintos.

A concentração de sódio e potássio foi superior à encontrada na literatura, enquanto que a concentração de cálcio foi superior e a de fósforo, similar.

Em relação à contagem de coliformes, nenhuma das amostras apresentou formação de colônias de coliformes, o que indica boas condições higiênico-sanitárias durante o processo de elaboração das bebidas.

Todas as formulações produzidas apresentaram quantidade de UFC/g superior a  $10^6$ , conforme exigido pela Instrução Normativa nº 16 de 23 de agosto de 2005 (BRASIL, 2005) até o 45º dia de armazenamento. Ainda, todas as formulações podem ser consideradas probióticas.

As determinações reológicas mostraram que as amostras apresentaram comportamento de fluidos pseudoplásticos, com comportamento não-Newtoniano e tixotropia.

Todas as formulações apresentaram IA superior a 70%, indicando grande aceitação. Os comentários dos provadores demonstram que alguns não compreendem a diferença entre iogurte e bebida láctea e esperavam as mesmas características do iogurte nas formulações analisadas. Ainda, alguns comentaram sobre necessidade de mais sabor e acidez e mostraram preferência por bebidas mais viscosas.

A formulação com a melhor condição para soro de ricota e leite em pó foi determinada através de metodologia de superfície de resposta, com base no atributo aceitação global. Os valores estabelecidos foram 47,19% para soro de ricota e 9,3% para leite em pó.

Ainda, a elaboração de bebida láctea com adição de substâncias antioxidantes mostrou que a vitamina C possui maior capacidade antioxidante, além de manter-se mais estável em relação ao resveratrol, à vitamina E e sua combinação. Não se descarta, porém, a utilização de resveratrol, pois aumentou a capacidade antioxidante da bebida láctea fermentada e possui efeitos benéficos ao consumidor, como a redução de incidência de doenças cardiovasculares. Os testes realizados através de voltametria cíclica não possibilitaram que a melhor condição fosse obtida. Nas duas metodologias utilizadas, a complexidade da matriz dificultou a análise dos resultados. Desta forma, mais estudos são necessários para verificar a atividade antioxidante deste tipo de amostra.

Desta forma, a bebida láctea elaborada neste estudo apresentou características probióticas, prebióticas e antioxidantes e possibilitou a utilização de soro de ricota como matéria-prima, obtendo avaliação positiva em análise sensorial.

## REFERÊNCIAS

ABE, Lucile Tiemi; MOTA, Renata Vieira da; LAJOLO, Franco Maria; GENOVESE, Maria Inés. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca L.* e *Vitis vinifera L.* **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.27, n. 2, p. 394-400, 2007. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612007000200032&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000200032&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 08 mai. 2013.

ABIQ. Associação Brasileira das Indústrias de Queijo. Disponível em <<http://www.abiq.com.br/>>. Acesso em: mar. 2013.

ALMEIDA, Keila Emílio de; BONASSI, Ismael Antônio; ROCA, Roberto de Oliveira. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, ago. 2001. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612001000200012&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612001000200012&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 17 mar. 2013.

AKOH, Casimir C. Fat replacers. **Food Technology**, v. 52, n. 3, p. 47-53, 1998. Disponível em <[http://www.ift.org/~media/Knowledge%20Center/Science%20Reports/Scientific%20Status%20Summaries/fatreplacers\\_0398.pdf](http://www.ift.org/~media/Knowledge%20Center/Science%20Reports/Scientific%20Status%20Summaries/fatreplacers_0398.pdf)>. Acesso em: 05 jan. 2014.

ALVES, Clayton Q.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P.; BAHIA, Marcus V.; AGUIAR, Rosane M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, 2010. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422010001000033&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010001000033&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 19 mar. 2013.

AMAYA-LLANO, Silvia Lorena; MARTÍNEZ-ALEGRÍA, Ana Laura; ZAZUETA-MORALES, José De Jesús; MARTÍNEZ-BUSTOS, Fernando. Acid thinned jicama and maize starches as fat substitute in stirred yogurt. **LWT-Food Science and Technology**, Oxford, v. 41, n.7, p. 1274–1281, set. 2008. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643807002848>>. Acesso em: 19. mar. 2013.

ANTUNES, Adriane E. C.; CAZZETTO, Thalita F.; CARDELLO, Helena M. A. B. Iogurtes desnatados probióticos adicionados de concentrado protéico do soro de leite: perfil de textura, sinérese e análise sensorial. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 2, p. 105-114, 2004. Disponível em <<http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/63/78>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

ANTUNES, Adriane E. C.; CAZZETTO, Talita F.; BOLINI, Helena M. A. Viability of probiotic micro-organisms during storage, postacidification and sensory analysis of fat-free yogurts with added whey protein concentrate. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 58, n. 3, p. 169—173, ago. 2005. Disponível em <<http://www.aseanfood.info/Articles/11024963.pdf>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

ANTUNES, Aloísio José. **Funcionalidades de proteínas de soro de leite bovino**. São Paulo: Manole, 2003.

ANVISA. Ministério da Saúde. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos: lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. IX - Lista de Alegações de Propriedade Funcional Aprovadas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, julho de 2008. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>. Acesso em: 16 jun. 2012.

ARSLANOGLU, Sertac; MORO, Guido E.; SCHMITT, Joachim; TANDOI, Laura; RIZZARDI, Sílvia; BOEHM, Gunther. Early dietary intervention with a mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of allergic manifestations and infections during the first two years of life. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 6, p. 1091-1095, jun 2008. Disponível em <<http://jn.nutrition.org/content/138/6/1091.full.pdf+html>>. Acesso em: 23 dez. 2013.

BALDASSO, Camila. **Concentração, Purificação e Fracionamento das Proteínas do Soro Lácteo através da Tecnologia de Separação por Membranas**. 2008. 179 p. Dissertação (Mestrado) Mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008. Disponível em <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/13453/000640939.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 13 nov. 2013.

BALLESTEROS, Cristina, POVEDA, Justa M., GONZÁLEZ-VIÑAS, Miguel A. e CABEZAS, Lourdes. Microbiological, biochemical and sensory characteristics of artisanal and industrial Manchego cheeses. **Food Control**, v. 17, n. 4, p. 249-255, 2006. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713504002427>>. Acesso em: 30 mar. 2013.

BALLUS, Cristiano A.; KLAJN, Vera M.; CUNHA, Márcio F.; OLIVEIRA, Marlon L.; FIORENTINI, Ângela M. Aspectos científicos e tecnológicos do emprego de culturas probióticas na elaboração de produtos lácteos fermentados: Revisão. **Ceppa**, v. 28, n. 1, p. 85 - 96, 2010. Disponível em <[http://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CC0QFjAA&url=http%3A%2F%2Fojs.c3sl.ufpr.br%2Fojs2%2Findex.php%2Falimentos%2Farticle%](http://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CC0QFjAA&url=http%3A%2F%2Fojs.c3sl.ufpr.br%2Fojs2%2Findex.php%2Falimentos%2Farticle%2F)>

2Fdownload%2F17900%2F11714&ei=kufPUtLSD7HisAS-6oD4Cw&usg=AFQjCNER8oE9Y70YUhCsRzbrdc3WG6kPJg&bvm=bv.59026428,d.cWc&cad=rja>. Acesso em: 05 jan. 2014.

BANAVARA, D.S.; ANUPAMA, D.; RANKIN, S.A. Studies on physicochemical and functional properties of commercial sweet whey powders. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 12, p. 3866-3875, 2003. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030203739940>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

BARROSO, Ronei R.; RUBERT, Sílvia. **Elaboração e caracterização de uma bebida láctea acrescida de farinha de quinoa e inulina**. Dissertação (Graduação) – Bacharelado em Químico, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2011. Disponível em <<http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/291>>. Acesso em: dez. 2013.

BARUFFALDI, Renato; OLIVEIRA, Maricê. N. **Fundamentos de Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu Editora, 1998.

BAYNES, John; DOMINICZAK, Marek H. **Bioquímica Médica**. São Paulo: Manole, 2000.

**BRASEQ**. Boletim técnico informativo Braseq: entendendo a atividade de água e a sua importância para a qualidade de alimentos e outros produtos em geral. Jarinu: Braseq, [s.d]. Disponível em <[www.braseq.com.br/site/pdf/decagon.pdf](http://www.braseq.com.br/site/pdf/decagon.pdf)>. Acesso em: 18 set. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 16, de 23 de agosto de 2005**. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Bebida Láctea. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, 23 de ago. 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, 26 de ago. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, 30 dez. 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 68, de 12 de dezembro de 2006**. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, 12 de dez. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 1020 p. Disponível em <

[http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com\\_remository&Itemid=0&func=select&orderby=1](http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository&Itemid=0&func=select&orderby=1)>. Acesso em: 27 mar. 2013.

BUENO, Micheli Maria. **Desenvolvimento e aceitabilidade de pão de forma enriquecido com polidextrose e flocos de quinoa**. 2012. 719 p. Monografia (Graduação) – Curso Superior em Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Estado do Rio Grande do Sul, Bento Gonçalves, 2012.

BÚRIGO, Telma; FAGUNDES, Regina L. M.; TRINDADE, Erasmo B. S. M.; VASCONCELOS, Helena C; F. F.; MASSAUT, Ires H. B.; ROTOLO, Marco Antônio S. Rotolo. Ação do prebiótico sobre as proteínas de fase aguda de pacientes com neoplasia hematológica. **Revista Brasileira Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v. 29, n. 2, jun. 2007. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-84842007000200010&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842007000200010&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 19 mar. 2013.

BURITI, Flávia C. A.; ROCHA, Juliana S.; SAAD, Susana M. I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. **International Dairy Journal**, v. 15, n. 12, p. 1279-1288, dez. 2005. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694605000208>>. Acesso em: 06 jan. 2014.

BUTTON. Sérgio. T. **Metodologia para Planejamento Experimental e Análise de Resultados**. Programa de Pós-graduação em Engenharia Mecânica. Unicamp. 2005. Disponível em <<http://pessoal.utfpr.edu.br/lincolnusmao/arquivos/Planejamento%20Experimental.pdf>>. Acesso em: dez. 2013.

CAMARGO, Rodolpho de. **Tecnologia dos produtos agropecuários – alimentos**. São Paulo: Nobel, 1986.

CARDARELLI, Haíssa R.; SAAD, Susana M. I.; GIBSON, Glenn R.; VULEVIC, Jelena. Functional petit-suisse cheese: Measure of the prebiotic effect. **Anaerobe**, v. 13, p. 200–207, out.-dez. 2007. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1075996407000297>>. Acesso em: 06 jan. 2014.

CARVALHO, Glaucio R.; CARNEIRO, Alziro V.; STOCK, Lorildo A. O Brasil no cenário mundial de lácteos. **Comunicado técnico – Embrapa**. Juiz de Fora, out. 2006. Disponível em <<http://www.cnpagl.embrapa.br/nova/publicacoes/comunicado/COT51.pdf>>. Acesso em: 14 jan. 2014.

CARVALHO, Glaucio R.. A Indústria de laticínios no Brasil: passado, presente e futuro. **Comunicado técnico – Embrapa**. Juiz de Fora, out. 2010. Disponível em <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/870411/1/CT102.pdf>>. Acesso em: 14 jan. 2014.

CASTRO, Deise S.; NUNES, Jarderlany S.; SILVA, Luzia M. M.; SOUSA, Francinalva C.; MOREIRA, Inácia S. Parâmetros físico-químicos de iogurtes naturais comercializados na cidade de Juazeiro do Norte – CE. **Revista Verde (Mossoró – RN - Brasil)**, v. 8, n. 3, p. 32 - 35, jul – set , 2013. Disponível em

<<http://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/2150>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

CASTRO, Wellington de Freitas. **Efeito da Concentração de Soro de Queijo na Produção e Qualidade Sensorial de Bebidas lácteas probióticas**. 2012. 161 f. Tese (Doutorado) – Doutorado em Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012. Disponível em <<http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=000863337>>. Acesso em: 16 mar. 2013.

CECCHI, Heloísa M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Unicamp: Campinas, 2003.

CESARINO, Maria L. N.; SOARES, Karoline M. P.; SILVA, Jean B.A. Avaliação de parâmetros de qualidade microbiológica de bebidas lácteas comercializadas na cidade de Mossoró-RN. **PUBVET**, Londrina, v. 4, n. 6, ed. 111, art. 747, 2010. Disponível em: <<http://www.cabi.org/cabdirect/FullTextPDF/2011/20113098125.pdf>>. Acesso em: 05/01/2014.

COUTO, Meylene A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, Solange G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 15-19, 2010. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v30s1/03.pdf>>. Acesso em: 24 jan. 2014.

CUNHA, Thiago Meurer; CASTRO, Fabiane Picinin de; BARRETO, Pedro Luiz Manique; BENEDET, Honório Domingos; PRUDÊNCIO, Elane Schwinden. Avaliação físico-química, microbiológica e reológica de bebida láctea e leite fermentado adicionados de probióticos. **Ciências Agrárias**, v. 29, n. 1, p. 103-116, jan./mar. 2008. Disponível em <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/2860/2425>>. Acesso em: 19 mar. 2013.

CUNHA, Thiago Meurer. **Avaliação tecnológica, microbiológica, sensorial, físico-química e reológica de bebida láctea fermentada adicionada de probióticos**. 2007. Resumo de dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007. Disponível em <<http://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/90044>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

DEG. **Informe Técnico farmacêutico**. Resveratrol. 2011. Disponível em <[http://cdn.fagron.com.br/doc\\_prod/docs\\_6/doc\\_600.pdf](http://cdn.fagron.com.br/doc_prod/docs_6/doc_600.pdf)>. Acesso em: ago. 2013.

DESSIMONI-PINTO, Nísia A. V.; SILVA, Viviane M.; BATISTA, Ângela G.; VIEIRA, Gilmar; SOUZA, Cinthya R.; DUMONT, Paula V.; SANTOS, Geânia K. M. Características físico-químicas da amêndoa de macaúba e seu aproveitamento na elaboração de barras de cereais. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.21, n.1, p.77-84, 2010. Disponível em <<http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/1392/914>>. Acesso em 05 jan. 2014.

DEWHURST, Richard J., SHINGFIELD, Kevin J., LEE, Michael R. F. e SCOLLAN, Nigel D. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. **Animal Feed Science and Technology**, v. 131, n. 10, p.

168-206, 2006. Disponível em  
<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840106002604>>. Acesso em: 15 dez. 2013.

DIAS, Manoela Maciel dos Santos. **Leite de cabra fermentado adicionado de prebiótico, probióticos e compostos bioativos destinado a idosos**. 2009. 123 p. Dissertação (Mestrado) – Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009. Disponível em <[http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde\\_arquivos/39/TDE-2009-08-14T085106Z-1946/Publico/texto%20completo.pdf](http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde_arquivos/39/TDE-2009-08-14T085106Z-1946/Publico/texto%20completo.pdf)>. Acesso em: 19 mar. 2013.

DIAS, Marina Chagas. **Utilização de diferentes substratos e culturas lácteas comerciais empregadas na produção de bebidas lácteas**. 2008. 67 p. Dissertação (Mestrado) – Mestrado em Ciências, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008. Disponível em ><http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-26092008-135633/pt-br.php>>. Acesso em: 15 dez. 2013.

EPAMIG. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Tecnologia de fabricação de bebida láctea fermentada e não fermentada**. [s.d.]. Disponível em  
<[http://www.epamig.br/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&gid=1521](http://www.epamig.br/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=1521)>. Acesso em: 1º mai. 2013.

EVANGELISTA, José. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

FERNANDES, Felipe Amorin. **Efeito do trans-resveratrol sobre a longevidade e o metabolismo de glicogênio de *Drosophila melanogaster* em diferentes idades**. 2006. 76 p. Dissertação (Mestrado) – Mestrado em Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006. Disponível em  
<<https://www.repositorioceme.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/7689/000553858.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 19 mar. 2013.

FERREIRA, Célia Lúcia de Lucas Fortes. **Prebióticos e Probióticos em Alimentos**. Atualização e Prospecção. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2012.

FERREIRA, Priscila M. **Análise microbiológica e físico-química de bebida láctea pasteurizada, sem sabor, comercializada no Distrito Federal**. Monografia (Graduação) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2011. Disponível em <<http://bdm.bce.unb.br/handle/10483/3099>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

FOSCHIERA, José Luiz. **Indústria de Laticínios**. Industrialização do Leite. Análises. Derivados. Porto Alegre: Suliani Editografia, 2004.

FRANCO, Bernadete. D. G. M; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia de Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

FREITAS, Andréia Andrade de; DETONI, Alessandra Maria; CLEMENTE, Edmar; OLIVEIRA, Cláudio Celestino de. Determinação de resveratrol e características químicas em sucos de uvas produzidas em sistemas orgânico e convencional. **Revista Ceres**, v. 57, n.1, p. 1-5, 2010. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-737X2010000100001&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-737X2010000100001&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 08 mai. 2013.

FUCHS, Renata H. B.; BORSATO, Dionísio; BONA, Evandro; HAULY, Maria C. O. “Iogurte” de soja suplementado com oligofrutose e inulina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 175-181, jan./mar. 2005. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_pdf&pid=S0101-20612005000100029&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_pdf&pid=S0101-20612005000100029&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 13 mar. 2013.

GAINO, Vanessa de Oliveira; VOLTARELLI, Verônica Parassen; RENSIS, Christiane Maciel Vasconcellos Barros de; VIANNA, Priscila Cristina Bizam Vianna. Requeijão cremoso probiótico: avaliação da viabilidade de *Lactobacillus casei*, da composição físico-química e aceitação sensorial. **Ciências Agrárias**, v. 33, suplemento 2, p. 3133-3142, 2012.

GALLICE, Wellington César; MESSERSCHMIDT, Iara; PERALTA-ZAMORA, Patricio. Caracterização espectroscópica multivariada do potencial antioxidante de vinhos. **Química Nova**, v. 34, n.3, p. 397-403, 2011. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422011000300006&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422011000300006&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 08 mai. 2013.

GALLINA, Darlila. A.; ALVES, Adriana T. S., TRENTA, Fabiana K. H. S.; CARUS, Juliana. Caracterização de Leites Fermentados Com e Sem Adição de Probióticos e Prebióticos e Avaliação da Viabilidade de Bactérias Láticas e Probióticas Durante a Vida-de-Prateleira. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 13, n. 4, 239-244, 2011. Disponível em <[http://www.ital.sp.gov.br/tecnolat/arquivos/artigos/caracterizacao\\_de\\_leites\\_fermentados.pdf](http://www.ital.sp.gov.br/tecnolat/arquivos/artigos/caracterizacao_de_leites_fermentados.pdf)>. Acesso em: 15 dez. 2013.

GAVA, Altanir Jaime; SILVA, Caros Alberto Bento da; FRIAS, Jenifer Ribeiro Gava. **Tecnologia de Alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel, 2008.

GERHARDT, Ângela, MONTEIRO, Bruna W., GENNARI, Adriano, LEHN, Daniel N., SOUZA Cláucia F. V. Características físico-químicas e sensoriais de bebidas lácteas fermentadas utilizando soro de ricota e colágeno hidrolisado. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”**, v. 68, n. 390, p. 41-50, jan./fev. 2013. Disponível em <<http://www.revistadoilct.com.br/ilct/article/view/7/7>>. Acesso em: 30 dez. 2013.

GIBSON, Glenn R. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). **Clinical Nutrition Supplements**, v. 1, p. 25-31, 2004. Disponível em <<http://www.clinicalnutritionsupplements.com/article/S1744-1161%2804%2900023-7/fulltext>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

GIBSON, Glenn R.; FULLER, Roy. Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. **Journal of Nutrition**, vol. 130, n. 2, p. 391-395, 2000. Disponível em <<http://jn.nutrition.org/content/130/2/391.1>>. Acesso em: 19 mar. 2013.

GOLCUA, Aysegul; DOGANB, Barcu; OZCAN, Sibel A. Anodic voltammetric behavior and determination of cefixime in pharmaceutical dosage forms and biological fluids. **Talanta**, n. 67, p. 703–712. 2005. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914005001773>>. Acesso em: mai. 2013.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatística da Produção Pecuária**.

Março de 2013. Disponível em:

<[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos\\_201204\\_publ\\_completa.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201204_publ_completa.pdf)>. Acesso em: 15 jun. 2013.

JAY, James M. **Microbiologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JARAMILLO, Beatriz E; DUARTE, Edison; MARTELO, Irina. Composición química volátil del aceite esencial de *Eryngium foetidum* L. colombiano y determinación de su actividad antioxidante. **Revista Cubana de Plantas Medicinai**s, Ciudad de la Habana, v. 16, n. 2, jun. 2011. Disponível em <[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962011000200003&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962011000200003&lng=es&nrm=iso)>. Acesso em: 30 mar. 2013.

JERÔNIMO, Carlos E.; COELHO, Mateus S.; MOURA, Fernanda N.; ARAÚJO, Ana B. A. Qualidade ambiental e sanitária das indústrias de laticínios do município de Mossoró-RN. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria, v. 7, n. 7, p. 1349-1356, mar-ago. 2012. Disponível em <<http://cascavel.ufsm.br/revistas/ojs-2.2.2/index.php/reget/article/view/5751/3599>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

KÄHKÖNEN, P.; TUORILA, H. Consumer responses to reduced and regular fat content in different products: effect of gender, involvement and health concern. **Food Quality and Preference**, v. 10, p. 83-91, 1999. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0950329398000433>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

KAILASAPATHY, K.; HARMSTORF, I.; PHILLIPS, M. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* in stirred fruit yogurts. **Food Science and Technology**, London, v. 48, p. 1317-1322, 2008. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643807002873>>. Acesso em: 20 dez. 2013.

KASTNER, Sabine; PERRETEN, Vincent; BLEULER, Helen; HUGENSCHIMDT, Gabirel ; LACROIX, Christophe; MEILE, Leo. Antibiotic susceptibility patterns and resistance genes of starter cultures and probiotic bacteria used in food. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 29, n. 2, p. 145-155, 2006. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0723202005001517>>. Acesso em: 06 jan. 2014.

KRÜGER, Roberta; KEMPKA, Anieli P.; OLIVEIRA, Débora; VALDUGA, Eunice; CANSIAN, Rogério L.; TREICHEL, Helen; Di LUCCIO, Marco. Desenvolvimento de uma bebida láctea probiótica utilizando como substratos soro de leite e extrato hidrossolúvel de soja. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 1, p. 43-53, 2008. Disponível em <<http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/200/205>>. Acesso em: 16 mar. 2013.

KUSKOSKI, Eugenio M.; ASUERO, Agustín G.; MORALES, Maria T.; FETT, Roseane. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p. 1283 – 1287, jul-ago 2006. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v36n4/a37v36n4.pdf>>. Acesso em: 24 jan. 2014.

LIMA, Ana Raquel Carmo de. **Avaliação sensorial, química e microbiológica de bebidas lácteas fermentadas elaboradas com polpas de frutas tropicais**. 2011. 60 p. Dissertação (Mestrado) – Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011. Disponível em <[http://bdtd.biblioteca.ufpb.br/tde\\_busca/arquivo.php?codArquivo=2560](http://bdtd.biblioteca.ufpb.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=2560)>. Acesso em: 06 jan. 2014.

LIMA, Isabela F. P.; LINDNER, Juliano D.; SOCCOL, Vanete T.; PARADA, José L.; SOCCOL, Carlos R. Development of an Innovative Nutraceutical Fermented Beverage from Herbal Mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) Extract. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 1, p. 788-800, 2012. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3269720/>>. Acesso em: 24 jan. 2014.

LIN, Wen-Hsin; HWANG, Chin-Fa; CHEN, Li-Wei.; TSEN, Hau-Yang. Viable counts, characteristic evaluation for commercial lactic acid bacteria products. **Food Microbiology**, London, v. 23, n. 1, p. 74-81, 2006. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002005000183>>. Acesso em: 06 jan. 2014.

LUCEY, John A. Culture dairy products: An overview of their gelation and texture properties. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v.57, n. 1, p.34-40, 2004. Disponível em <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-0307.2004.00142.x/pdf>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

LUIZ, Livia M. P. **Avaliação do envase a quente de uma bebida láctea na conservação a temperatura ambiente**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008. Disponível em <[http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select\\_action=&co\\_obra=131473](http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=131473)>. Acesso em: 15 dez. 2013.

MACEDO, Renata Ernlund Freitas de. **Utilização de culturas lácticas probióticas no processamento de produto cárneo fermentado**. 2005. 210 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005. Disponível em <<http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/13513/TESE%20RENATA%20COM%20PAGINAS%20CERTO.pd.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

MADRONA, Grasielle S.; ZOTARELLI, Marta F.; BERGAMASCO, Rosângela; BRANCO, Ivanise G. Estudo do efeito da adição de soro de queijo na qualidade sensorial do doce de leite pastoso. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 29 (2009), pp. 826–833. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v29n4/20.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2013.

MADRONA, Grasielle S.; ZOTARELLI, Marta F.; BERGAMASCO, Rosangela; BRANCO, Ivanise G. Estudo do efeito da adição de soro de queijo na qualidade sensorial do doce de leite pastoso. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 4, dez. 2009. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612009000400020&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612009000400020&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 17 Mar. 2013.

MALTOS, Dulce A. F.; CORTÉS, José S.; URDIALES, Blanca V.; GONZÁLEZ, Cristóbal N. A. Uso de técnicas electroquímicas para evaluar el poder antioxidante en alimentos. **Investigación y Ciencia**, vol. 18, núm. 49, mayo-agosto, 2010, p. 20-25. Disponível em <

[http://www.uaa.mx/investigacion/revista/archivo/revista49/Articulo 3.pdf](http://www.uaa.mx/investigacion/revista/archivo/revista49/Articulo%203.pdf) >. Acesso em: 19 mar. 2013.

MANZANO, Gabriela P. P.; DAIUTO, Érica R.; Janzantti, Natália S.; ROSSI, Elizeu A. Aspectos sensoriais e físico-químicos de “iogurtes” de soja com espessantes/estabilizantes a base de fécula de inhame (*Dioscorea alata*), amido modificado e gelatina. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 26, n. 2, p. 287-296, jul./dez. 2008. Disponível em <<http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=522573&indexSearch=ID>>. Acesso em: 02 jan. 2014.

MARINHO, Maria V. M.; FIQUEIRÊDO, Rossana M. F.; QUEIROZ, Alexandre J. M.; SANTIAGO, Vanessa M. S.; GOMES, Josivanda P. Análise físico-química e sensorial de iogurte de leite de cabra com polpa de umbu. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.14, n. Especial, p.497-510, 2012. Disponível em <<http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev14e/Art14E7.pdf>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

MARTÍN-DIANA, A. B.; JANER, C.; PELÁEZ, C. REQUENA, T. Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, Barking, v. 13, n. 10, p. 827-833, 2003. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694603001171>>. Acesso em: 06 jan. 2014.

MATOS, Rossane S.; BARONCINI, Lis A. V.; PRÉCOMA, Leonardo B.; WINTER, Guilherme; LAMBACH, Pedro H.; CARON, Kaiber; Flávia; PRÉCOMA, Dalton B. Resveratrol provoca efeitos antiaterogênicos em um modelo animal de aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 98, n. 2, Feb. 2012. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2012000200006&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2012000200006&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 19 mar. 2013.

MATOS, Antonio T; ABRAHÃO, Sérgio S.; LO MONACO, Paola A. V.; SARMENTO, Antover P.; MATPS, Mateus P. Capacidade extratora de plantas em sistemas alagados utilizados no tratamento de águas residuárias de laticínios. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, n. 12, p. 1311-1317, 2010. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v14n12/09.pdf>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

MATTA, Cristiane M. B.; JURKIEWICZ, Cynthia; KUNIGK, Leo; ROSON, Beatriz M. Influência de prebióticos e de farinha integral de aveia na sobrevivência de bactérias probióticas em bebida simbiótica à base de arroz. **Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 1, p. 55-63, jan./mar. 2012. Disponível em <<http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/1589/1197>>. Acesso em: 06 jan. 2014.

MENESES, Adriana C. S. **Desenvolvimento de bebida láctea fermentada à base de soro de leite e polpa de cajá (*Spondias mombim* L.) com potencial atividade probiótica**. 2011. 106 f. Dissertação (Mestrado) – Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2011. Disponível em <[http://www.pgcta.ufrpe.br/files/dissertacoes/2011/Adriana\\_Carla\\_Santos\\_Menezes.pdf](http://www.pgcta.ufrpe.br/files/dissertacoes/2011/Adriana_Carla_Santos_Menezes.pdf)>. Acesso em: 16 mar. 2013.

MENSOR L. L.; MENEZES F. S.; LEITÃO G. G.; REIS A. S.; DOS SANTOS T. C.; COUBE C. S.; LEITÃO S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytother. Res.** 15: 127-130. 2001. Disponível em <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.687/abstract>>. Acesso em: 14 dez. 2013.

milk. **Food Hydrocolloids**, v. 14, n. 1, p. 1-7, 2000. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X99000399>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

MILLER, Gail Lorenz. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426-428, 1959. Disponível em <<http://nsrdec.natick.army.mil/LIBRARY/59-69/R59-36.pdf>>. Acesso em: 05 jun. 2013.

MINIM, Valéria. P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa: Ed. UFV, 2006.

MORAIS, Selene M.; CAVALCANTI, Eveline S. B.; COSTA, Sônia M. O. AGUIAR, Liza A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 1B, p. 315-320, 2009. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v19n1b/a23v191b.pdf>>. Acesso em: 24 jan. 2014.

MOREIRA, Sílvia R.; SCHWAN, Rosane F.; CARVALHO, Eliana P.; FERREIRA, Célia. Análise microbiológica e química de iogurtes comercializados em Lavras - MG. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 1, p. 147-152, 1999. Disponível em <[http://www.educadores.diaadia.pr.gov.br/arquivos/File/2010/veiculos\\_de\\_comunicacao/CTA/VOL19N1/CTA19N1\\_23.PDF](http://www.educadores.diaadia.pr.gov.br/arquivos/File/2010/veiculos_de_comunicacao/CTA/VOL19N1/CTA19N1_23.PDF)>. Acesso em: 15 dez. 2013.

MORO, G.; ARSLANOGLU, S.; STAHL, B.; JELINEK, J.; WAHN, U.; BOEHM, G. A mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of atopic dermatitis during the first six months of age. **Archives of Diseases in Childhood**, v. 91, n. 10, p. 814-819, out. 2006. Disponível em <<http://adc.bmj.com/content/91/10/814.full.pdf+html>>. Acesso em 23 dez. 2013.

NOH, DaeHyun; CHUNG S.H.; CHOI, SeungJun; HUR, SunJin. A preliminary study on the development of an easy method for beef freshness using a cyclic voltammetric system. **Food Control**, 22 (1), p. 133-136. 2011. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.06.007>>. Acesso em: jun. 2013.

O'MAY, G. A.; MACFARLANE, G. T. Health claims associated with probiotics. In: TAMIME, A. Y. (ed.). **Probiotic Dairy Products**. Ames: Blackwell Publishing, 2005. p.138-166. Disponível em <[http://bib.convdocs.org/docs/8/7775/conv\\_1/file1.pdf#page=156](http://bib.convdocs.org/docs/8/7775/conv_1/file1.pdf#page=156)>. Acesso em: 05 jan. 2014.

OETTERER, Marília. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. São Paulo: Manole, 2006.

OLIVEIRA, Maricê N.; DAMIN, M. Regina. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 172-176, 2003. Disponível em <[http://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:HbGxkSv0fFgJ:scholar.google.com/+atividade+de+%C3%A1gua+iogurte&hl=pt-BR&as\\_sdt=0,5](http://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:HbGxkSv0fFgJ:scholar.google.com/+atividade+de+%C3%A1gua+iogurte&hl=pt-BR&as_sdt=0,5)>. Acesso em: 06 jan. 2014.

OLIVEIRA, Maricê Nogueira de. **Tecnologia de Produtos Lácteos Funcionais**. São Paulo: Atheneu Editora, 2009.

OOMEN, Charlotte A.; FARKAS, Eszter; ROMAN, Viktor; BEEK, Eline M. van der; LUITEN, Paul G. M.; MEERLO, Peter. Resveratrol preserves cerebrovascular density and cognitive function in aging mice. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 1, p. 1-9, dec. 2009. Disponível em <[http://www.frontiersin.org/Aging\\_Neuroscience/10.3389/neuro.24.004.2009/full](http://www.frontiersin.org/Aging_Neuroscience/10.3389/neuro.24.004.2009/full)>. Acesso em: 19 mar. 2013.

ORDOÑEZ, Juan A. **Tecnologia de Alimentos. Alimentos de Origem Animal**. Vol. 2. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PADILHA, Patrícia C.. PINHEIRO, Rosilene L. Alimentos Funcionais no Câncer de Mama. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 50, n. 3, p. 251-260, 2004. Disponível em <[http://www.inca.gov.br/rbc/n\\_50/v03/pdf/REVISAO3.pdf](http://www.inca.gov.br/rbc/n_50/v03/pdf/REVISAO3.pdf)>. Acesso em: 19 mar. 2013.

PALERMO, Jane Rizzo. **Bioquímica da Nutrição**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

PASTEN, Consuelo; GRENETT, Hernán. Vino, fibrinolysis y salud. **Revista Médica do Chile**, Santiago, v. 134, n. 8, agosto 2006. Disponível em <[http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-98872006000800015&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872006000800015&lng=es&nrm=iso)>. Acesso em: 19 mar. 2013.

PELEGRINE, Daniela H. G.; CARRASQUEIRA, Ricardo L. Aproveitamento das Proteínas do Soro do Leite no Enriquecimento Nutricional de Sucos Vitaminados. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 10, n. 1, jan-jun 2008. Disponível em <<http://revistas.unicentro.br/index.php/RECEN/article/viewArticle/516>>. Acesso em: 24 jan. 2014.

PENNA, Ana L. B.; BARUFFALDI, Renato; OLIVEIRA, Maricê N. Optimization of yoghurt production using demineralized whey. **Journal of Food Science**, 62 (1997), pp. 846–850. Disponível em <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.1997.tb15469.x/pdf>>. Acesso em: 06 jan. 2014.

PEREIRA, Eliana; BARROS, Lilian; FERREIRA, Isabel C. F. R. Avaliação da atividade antioxidante e análise cromatográfica de açúcares e tocoferóis em iogurtes com fruta: pêssego, ananás, ameixa e manga. **Anais do 11º Encontro de Química dos Alimentos**. 2012. Instituto Politécnico de Bragança, Portugal. Disponível em <<https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/7925>>. Acesso em: 19 mar. 2013.

PIARD, Jean-Christophe; LE LOIR, Yves; POQUET, Isabelle; LANGELLA, Philippe. Bactérias lácticas: as bactérias lácteas no centro de novos desafios tecnológicos. **Biotechnologia Ciência e Desenvolvimento**. Encarte Especial. 2011. Disponível em <[http://www.biotechnologia.com.br/revista/bio08/encarte\\_8.pdf](http://www.biotechnologia.com.br/revista/bio08/encarte_8.pdf)>. Acesso em: 22 nov. 2013.

PINHEIRO, Márcia V. S.; PENNA, Ana L. B. Substitutos de gordura: tipos e aplicações em produtos lácteos. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 2, p. 175-186, 2004. Disponível em <<http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/view/72/87>>. Acesso em: 21 jan. 2014.

PORTO, Lia M.; SANTOS, Rinaldo C; MIRANDA, Tânia Lúcia S. Determinação das melhores condições operacionais do processo de produção da ricota. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 23, p. 173-182, 2005. Disponível em <<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/alimentos/article/view/1278/1071>>. Acesso em: 14 mar. 2012.

RAMOS, Adriana C. S. M.; STAMFORD, Tânia L. M.; MACHADO, Erilane C. L; LIMA, Flávia R. B.; GARCIA, Estefânia F.; ANDRADE, Samara A. C.; SILVA, Celiane G. M. Elaboração de bebidas lácteas fermentadas: aceitabilidade e viabilidade de culturas probióticas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 2817-2828, nov./dez. 2013. Disponível em <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/13815>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

RAMOS, Thaís M. **Produção de xarope de lactulose a partir do soro de ricota e seu emprego em iogurte e queijo quark**. 2010. 99 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

RAO, M. A. **Rheological properties of fluid foods**. In: RAO, M. A.; Rizvi, S. S. H. (eds), Engineering properties of foods. New York: Marcel Dekker, 1986, p.1-47. Disponível em <[http://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=OOo98fhmEqoC&oi=fnd&pg=PA41&dq=Rheological+properties+of+fluid+foods&ots=KikN1TzfJU&sig=rtZFNqYIcLZ5\\_EWfS4WcPQL14-Q](http://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=OOo98fhmEqoC&oi=fnd&pg=PA41&dq=Rheological+properties+of+fluid+foods&ots=KikN1TzfJU&sig=rtZFNqYIcLZ5_EWfS4WcPQL14-Q)>. Acesso em: 05 jan. 2014.

REIS, Nathasha S.; SERRANO, Sílvia H. P.; MENEGHATTI, Ricardo; GIL, Eric de S. Métodos Eletroquímicos usados para Avaliação da Atividade Antioxidante de Produtos Naturais. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, Nº 6, 2009. Disponível em <[http://www.latamjpharm.org/trabajos/28/6/LAJOP\\_28\\_6\\_3\\_2\\_CXNVVPMJM.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/28/6/LAJOP_28_6_3_2_CXNVVPMJM.pdf)>. Acesso em: out. 2013.

RODAS, Maria A. B.; RODRIGUES, Regina M. M. S.; SAKUMA, Harumi; TAVARES, ana Zanetti; SGARBI, Cássia Regina; LOPES, Welitania C.C. Caracterização físico-química, histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 3, p. 304-309, set-dez. 2001. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612001000300009&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612001000300009&script=sci_arttext)>. Acesso em 06 jan. 2014.

RODRIGUES, Maria I.; IEMMA, Antônio F. Planejamento de experimentos e otimização de processos. 2ª ed. São Paulo: Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé e Amor, 2009.

ROESLER, Roberta; MALTA, Luciana Gome; CARRASCO, Luciana Cristina; HOLANDA, Roseane Barata; SOUZA, Clélia Alves Socorro; PASTORE, Glaucia M. P. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, mar. 2007. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612007000100010&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000100010&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 30 mar. 2013.

ROHLFES, Ana L. B.; BACCAR, Nádia M.; OLIVEIRA, Mari S. R. MARQUARDT, Liliane; RICHARDS, Neila S. P. S. Indústrias lácteas: alternativas de aproveitamento do soro de leite como forma de gestão

ambiental. **Tecno-Lógica**, Santa Cruz do Sul, v. 15, n. 2, p.79-83, jul./dez. 2011. Disponível em <<http://online.unisc.br/seer/index.php/tecnologica/article/view/2350/1817>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

SAAD, Susana M. I.; CRUZ, Adriano G.; FARIA, José A. F. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos – Fundamentos e Aplicações Tecnológicas**. São Paulo: Livraria Varela, 2011.

SALVADOR, Izabela. **Atividade antioxidante e teor de resveratrol em cacau, chocolates, achocolatados em pó e bebidas lácteas achocolatadas**. Dissertação (Mestrado). Mestrado em Ciências, Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Universidade de São Paulo. 2011. Disponível em <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/64/64134/tde-08022012-100355/pt-br.php>>. Acesso em: 15 jul. 2013.

SANDERS, Mary Ellen. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v.8, p.341-347, 1998. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694698000569>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

SANSONETTI, Sascha; CURCIO, Stefano; CALABRÒ, Vinenza; IORIO, Gabriela. Bio-ethanol production by fermentation of ricotta cheese whey as an effective alternative non-vegetable source. *Biomass Bioenerg.*, 33 (2009), pp. 1687–1692. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096195340900186X>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

SANSONETTI, Sascha; CURCIO, Stefano; CALABRÒ, Vinenza; IORIO, Gabriela. Optimization of Ricotta cheese whey fermentation by Response Surface Methodology. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 23 pp. 9156–9162, dez. 2010. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410012198>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

SANTOS, Calila T.; MARQUES, Gutto M. R.; FONTAN, Gabrielle C. R.; FONTAN, Gabriel C. I.; BONOMO, Renata C. F.; BONOMO, Paulo. Elaboração e caracterização de uma bebida láctea fermentada com polpa de umbu (*Spondias tuberosa* sp.). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 8, n.2, p. 111-116, 2006. Disponível em <<http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev82/Art823.pdf>>. Acesso em: 14 mai. 2013.

SANTOS, Calila T.; COSTA, Angélica R.; FONTAN, Gabrielle C. R.; FONTAN, Gabriel C. I.; BONOMO, Renata C. F. Influência da concentração de soro na aceitação sensorial de bebida láctea fermentada com polpa de manga. **Alimentos e Nutrição, Araraquara**, v. 19, n.1, p. 55-60, jan/mar. 2008. Disponível em <<http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/199/204>>. Acesso em: 15 mai. 2013.

SAUTTER, Cláudia K.; DENARDIN, Sandra; ALVES, Audrei O.; MALLMANN, Carlos A.; PENNA, Neidi G.; HECKTHEUER, Luisa H. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.3, p. 437-442, 2005. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612005000300008&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612005000300008&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 08 mai. 2013.

SCHOLTENS, Petra A.; ALLIET, PJILIPPE, Raes, M, ALLES, Martine S.; KROES Hilde; BOEHM, Guenher; KNIPELS, Leon M. J. KNOL, Jan; VANDEPLAS, Yvan. Fecal secretory immunoglobulin A is increased in healthy infants who receive a formula with short-chain galacto-oligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 6, p. 1141-1147, jun 2008. Disponível em <<http://jn.nutrition.org/content/138/6/1141.full.pdf+html>>. Acesso em: 20 dez. 2013.

SGARBIERI, Valdemiro C. **Proteínas em alimentos proteicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Varela, 1996.

SGARBIERI, Valdemiro Carlos. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 4, Dec. 2004. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-52732004000400001&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732004000400001&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 06 Jan. 2014.

SHAH, Nagendra P. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.83, p.894-907, abr. 2000. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030200749538>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

SIA, Jocelyn; YEE, Hong-Ben; SANTOS, José H.; ABDURRAHMAN, M. Khairul-Anwaz. Cyclic voltammetric analysis of antioxidant activity in cane sugars and palm sugars from Southeast Asia. **Food Chemistry** 840–846. 2010. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.030>>. Acesso em: 15 jun. 2013.

SILVA, Amanda M. T. **Elaboração de iogurte com propriedades funcionais utilizando *Bifidobacterium lactis* e fibra solúvel**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais da Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, 2013. Disponível em <<http://periodicos.ccta.ufcg.edu.br/index.php/PPSA/article/viewFile/34/3>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

SILVA, Elen V. C.; MEDIROS, Leanny F. P. S.; Danielle B. M., Gisele F. S. Elaboração de bebida láctea pasteurizada sabor bacuri enriquecida com pólen. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v.4, n.1, p.01-09, 2010. Disponível em <<http://revistas.utfpr.edu.br/pg/index.php/rbta/article/view/561>>. Acesso em: 01 jan. 2014.

SILVA, Maria C. A. da; PAIVA, Selma R. Antioxidant activity and flavonoid content of *Clusia fluminensis* Planch. & Triana. **An. Acad. Bras. Ciênc.**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 3, Sept. 2012. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0001-37652012000300004&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652012000300004&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 30 mar. 2013.

SILVEIRA, Hugo S., ALMEIDA, N. M., SOUZA, A. B. D., NETO, E. F. e TOMAZ, E. A. Avaliação físico-química de marcas comerciais de bebida láctea fermentada comercializada em Bananeiras e Solânea-PB. In: I Semana Acadêmica da Engenharia de Alimentos de Pombal, 2011, Pombal-PB. **Anais da I Semana Acadêmica da Engenharia de Alimentos de Pombal**, 2011. Disponível em <<http://www.gvaa.org.br/revista/index.php/CVADS/article/view/1073/1012>>. Acesso em: 07 jan. 2014.

SINKO, Patrick J. **Martin: físico-farmácia e ciências farmacêuticas**. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

SIRÓ, István; KÁPOLNA, Emese; KÁPOLNA, Beáta;; LUGASI, Andrea. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. *Appetite*, v. 51, n. 3, p. 456 – 467, nov. 2008. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195666308004923>>. Acesso em: 05 jan. 2014.

SIVIERI, Katia; OLIVEIRA, Maricê N. Avaliação da vida-de-prateleira de bebidas lácteas preparadas com "fat replacers" (Litesse e Dairy-lo). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 1, jan. 2002. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612002000100005&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612002000100005&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 08 Jan. 2014

SKOOG, Douglas A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

TACO. Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA – UNICAMP.- 4. ed. Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011. 161 p.

TEBALDI, Victor M. R.; RESENDE, Jaíne G. O. S.; RAMALHO, Guilherme C. A.; OLIVEIRA, Thales L. C. I.; ABREU, Luiz R.; PICCOLI, Roberta H. Avaliação microbiológica de bebidas lácteas fermentadas adquiridas no comércio varejista do sul de Minas Gerais. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, ago. 2007. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-70542007000400021&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542007000400021&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 05 jan. 2014.

TEBALDI, Victor Maximiliano Reis. **Elaboração de bebida láctica de soro de ricota e extrato solúvel de soja**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

TEIXEIRA, Stella Magda Bitencourt. **Elaboração de bebida láctea fermentada utilizando soro de ricota**. 2002. 63 p. Dissertação (Mestrado) – Mestrado em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

TEOFILO, Jeanine S. C.; BERNARDO, Greyce L.; DA SILVA, Edson L.; PROENÇA, Rossana P. C. Aquecimento de vinho tinto e suco de uva utilizados em preparações culinárias não afeta a capacidade antioxidante e o teor de fenóis totais. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 24, n. 1, fev. 2011. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-52732011000100015&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732011000100015&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 28 fev. 2013.

THAMER, Karime G.; PENNA, Ana L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, set. 2006. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612006000300017&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612006000300017&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 17 Mar. 2013.

THAMER, Karime G.; PENNA, Ana L. B. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligosacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 41, n. 3, set. 2005. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-93322005000300013&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322005000300013&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 19 mar. 2013.

TONELI, Juliana T. C. L.; MURR, Fernanda E. X.; PARK, Kil J. Estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 7, n. 2, p. 181–204, 2005. Disponível em <<http://www.deag.ufcg.edu.br/rbpa/rev72/Art720.pdf>>. Acesso em: 07 jan. 2014.

TSUCHIYA, Ami; ALMIRON-ROIG, Eva; LIUCH, Anne; GUYONNET, Denis e DREWNOWSKI, Adam. Higher Satiety Ratings Following Yogurt Consumption Relative to Fruit Drink or Dairy Fruit Drink. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 106, n. 4, p. 550-557, abr. 2006. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002822306000058>>. Acesso em: 06 jan. 2014.

TUINIER, R.; TEN GROTENHUIS, E.; KRUIF, C. G. The effect of depolymerised guar gum on the stability of skim milk. **Food Hydrocolloids**, v. 14, n. 1, p. 1–7, jan. 2000. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X99000399>>. Acesso em: 30 dez. 2013.

ULSENHEIMER, Fátima; SCHLABITZ, Cláudia; LEHN, Daniel N.; HOEHNE, Lucélia. SOUZA, Cláucia F. V. Análise da composição de bebidas lácteas fermentadas comercializadas na região do Vale do Taquari, RS. Salão de Iniciação Científica da Univates. Anais do XI Salão de Iniciação Científica da Univates, Lajeado: Univates, 2012. Disponível em <[https://www.univates.br/editora-univates/media/publicacoes/29/pdf\\_29.pdf](https://www.univates.br/editora-univates/media/publicacoes/29/pdf_29.pdf)>. Acesso em: 30 dez. 2013.

VALENTE, Gerson F. S. Avaliação de eletrocoagulação no tratamento de efluente líquido na indústria de laticínios. 2012. 106 p. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2012. Disponível em <[http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde\\_arquivos/38/TDE-2013-04-25T151622Z-4487/Publico/texto%20completo.pdf](http://www.tede.ufv.br/tedesimplificado/tde_arquivos/38/TDE-2013-04-25T151622Z-4487/Publico/texto%20completo.pdf)>. Acesso em: 05 jan. 2014.

VEIGA, P. G.; CUNHA, R. L.; VIOTTO, W. H.; PETENATE, A. J. Caracterização química, reológica e aceitação sensorial do queijo petit suisse brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 3, set./dez. 2000. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612000000300012](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612000000300012)>. Acesso em: 05 jan. 2014.

VELEZ-MARIN, Miryam; URIBE-VELASQUEZ, Luis Fernando; LENZ SOUZA, Maria Inês. Papel del resveratrol de uva como antioxidante. **Luna Azul**, Manizales, n. 34, jun. 2012. Disponível em <[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1909-24742012000100014&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-24742012000100014&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 28 fev. 2013.

VENTURINI FILHO, Waldemar Gastoni. **Bebidas não alcoólicas. Ciência e Tecnologia. Vol. 2.** São Paulo: Editora Blücher, 2010.

VIDAL, José R. M. B., PELEGRINE, Danila H., GASPARETTO, Carlos A. Efeito da temperatura no comportamento reológico da polpa de manga (mangífera indica l-keitt). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 1, mar. 2004. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612004000100008&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612004000100008&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 08 Jan. 2014.

VILA, Fabiana C.; COLOMBO, Renata; LIRA, Tatiana O.; YARIWAKE, Janete H. . HPLC microfractionation of flavones and antioxidant (radical scavenging) activity of *Saccharum officinarum* L. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo , v. 19, n. 5, 2008. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-50532008000500014&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532008000500014&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 05 jan. 2014.

VINDEROLA, C. G.; PROSELLO, W.; GHIRBERTO, D. REINHEIMER, J. A. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and non probiotic microflora in Argentinian fresco cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 9, p. 1905—1911, 2000. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002203020075065X>>. Acesso em: 30 mar. 2013.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. **International Dairy Journal**, v. 9, n. 8, p. 497 – 505, ago. 1999. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095869469900120X>>. Acesso em: 03 jan. 2013.

WHITE, David A.; FISK, I. D.; MITCHELL, J. R.; WOLF, B.; HILL, S. E.; GRAY, D. A. Sunflower-seed oil body emulsions: Rheology and stability assessment of a natural emulsion. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v.22, n.7, p.1224-1232, out. 2008. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X07001956>>. Acesso em: 15 mar. 2013.

ZACARCHENCO, Patrícia B.; MASSAGUER-ROIG, Salvador. Avaliação sensorial, microbiológica e de pós-acidificação durante a vida-de-prateleira de leites fermentados contendo *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus acidophilus*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas , v. 24, n. 4, Dec. 2004. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612004000400033&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612004000400033&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 02 mar. 2013.  
<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612004000400033>.

ZERAIK, Maria Luiza; PEREIRA, Cíntia A. M.; ZUIN, Vânia G.; YARIWAKE, Janete H. Maracujá: um alimento funcional?. **Rev. Bras. Farmacogn.**, 2010, v. 20, n. 3, p. 459-471, jun/jul. 2010. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-695X2010000300026&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2010000300026&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em 05 jan. 2014.

## **APÊNDICES**

## APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar de forma voluntária do projeto de pesquisa "Aplicação de soro de ricota da fabricação de bebida láctea funcional", para avaliação sensorial das amostras de bebidas lácteas fermentadas.

A avaliação sensorial consiste em avaliar os atributos aparência, odor, sabor, textura e impressão global, em uma escala hedônica de 9 pontos. No caso de aceitar participar da análise sensorial, você deve assinar este documento em duas vias; uma delas ficará com você, e a outra, com a pesquisadora. Você poderá, em qualquer momento, desistir ou interromper a análise e retirar seu consentimento, se julgar que está sendo submetido a desconfortos e riscos, sem que isso traga qualquer tipo de prejuízo.

Em caso de dúvidas a cerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa, você poderá, em qualquer momento, esclarecê-las com a pesquisadora. A sua participação na avaliação não envolve nenhum custo ao participante e deverá ser de forma espontânea. Porém, se existirem gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

A aluna pesquisadora será responsável pela coleta de dados junto aos participantes da pesquisa. A coleta será feita em cabines individuais específicas para análise sensorial, mantendo a privacidade no momento da análise. Os dados da avaliação sensorial serão armazenados pela orientadora sob sigilo, por um período de 5 anos, em local reservado de acesso somente a equipe de pesquisa e, após, serão incinerados. Os resultados serão utilizados apenas para fins científicos e poderão ser publicados em forma de artigos, monografia e salão de iniciação científica, sempre mantendo-se o sigilo dos participantes.

O objetivo deste estudo é desenvolver uma bebida láctea fermentada com propriedades funcionais utilizando soro de ricota *in natura* a fim de viabilizar a utilização deste resíduo produzido em laticínios da região; elaborar uma bebida láctea fermentada funcional com incorporação de soro de ricota, prebióticos(s), probióticos(s) e antioxidante(s); possibilitar a utilização do soro de ricota em formulações lácteas, reduzindo a quantidade de soro incorporado às águas residuárias dos laticínios da região; avaliar o produto elaborado através de análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais; estudar a atividade antioxidante da bebida láctea adicionada de substâncias conhecidas por possuir esta propriedade, particularmente resveratrol, vitamina C e vitamina E, através de voltametria cíclica e frente ao radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH); e avaliar a vida de prateleira da formulação produzida.

Sua participação consiste na degustação de 11 amostras de bebida láctea, servidas em copos plásticos descartáveis codificados com números aleatórios de 3 dígitos, em sala especial e preenchimento de uma ficha de análise sensorial, onde serão avaliados os atributos aparência, odor, sabor, textura e impressão global do produto, e através desta, a intenção de compra de cada amostra. Para tanto serão necessários cerca de 10 minutos.

Como a análise sensorial utilizará os sentidos da visão, olfato e paladar, poderá acarretar algum desconforto no que se refere ao paladar (sabor não desejado), mas não acarreta em nenhum risco ao participante, já que as amostras foram desenvolvidas seguindo as normas de Boas Práticas de Fabricação e de higiene.

Caso ocorra algum desconforto que leve o voluntário a necessitar de atendimento, ao mesmo será oferecida água para lavar a boca e se houver alguma situação mais grave (não prevista) o mesmo será encaminhado ao Ambulatório de Enfermagem da Univates.

Este documento – assim como a pesquisa – foi revisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – COEP da UNIVATES, estando de acordo com a resolução 196/96 que trata de pesquisas envolvendo seres humanos, e deverá ser assinado em duas vias, sendo que uma delas será retida pelo sujeito da pesquisa e a outra pelos pesquisadores.

Cláudia Schlabit – Aluna Pesquisadora  
Telefone: (51) 91562628

Profª. Drª. Lucélia Hoehne – Orientadora  
Telefone: (51) 3714-7000 ramal 5524.

Lajeado, RS, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

#### Consentimento do Participante

Eu, \_\_\_\_\_, aceito participar de forma voluntária da avaliação sensorial de bebida láctea fermentada. Fui devidamente esclarecido(a) pela aluna pesquisadora Cláudia Schlabit sobre a pesquisa e avaliação sensorial, bem como da possibilidade de minha desistência em qualquer momento, sem sofrer nenhuma penalidade.

Lajeado, RS, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

RG ou CPF: \_\_\_\_\_

## APÊNDICE B - Ficha de análise sensorial

## ANÁLISE SENSORIAL DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Idade: ( ) &lt; 25 anos ( ) 25-35 anos ( ) 36-50 anos ( ) &gt; 50 anos

Sexo: ( ) F ( ) M

Você está recebendo amostras codificadas de bebidas lácteas fermentadas. Por favor, observe, sinte o odor e após prove as amostras. Em seguida use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou de cada uma quanto à aparência, sabor, textura e impressão global.

- 1 – desgostei muitíssimo
- 2 – desgostei muito
- 3 – desgostei moderadamente
- 4 – desgostei ligeiramente
- 5 – nem gostei/nem desgostei
- 6 – gostei ligeiramente
- 7 – gostei moderadamente
- 8 – gostei muito
- 9 – gostei muitíssimo

Anote para cada atributo (característica) e cada amostra o resultado na tabela abaixo:

| Atributo/Amostra |  |  |  |  |
|------------------|--|--|--|--|
| Aparência        |  |  |  |  |
| Odor             |  |  |  |  |
| Sabor            |  |  |  |  |
| Textura          |  |  |  |  |
| Impressão global |  |  |  |  |

Baseado em sua **impressão global**, marque com um **X** na tabela abaixo, o grau de certeza com que você **COMPRARIA** ou **NÃO COMPRARIA**, cada uma das amostras caso elas estivessem à venda em um supermercado.

| Intenção de compra/Amostra            |  |  |  |  |
|---------------------------------------|--|--|--|--|
| Certamente compraria                  |  |  |  |  |
| Possivelmente compraria               |  |  |  |  |
| Talvez compraria/talvez não compraria |  |  |  |  |
| Possivelmente não compraria           |  |  |  |  |
| Certamente não compraria              |  |  |  |  |

Comentários: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

APÊNDICE C – Gráficos de viscosidade aparente em relação à taxa de cisalhamento das 11 formulações nos 3 períodos analisados

Figura 27 - Gráfico de viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento da formulação A

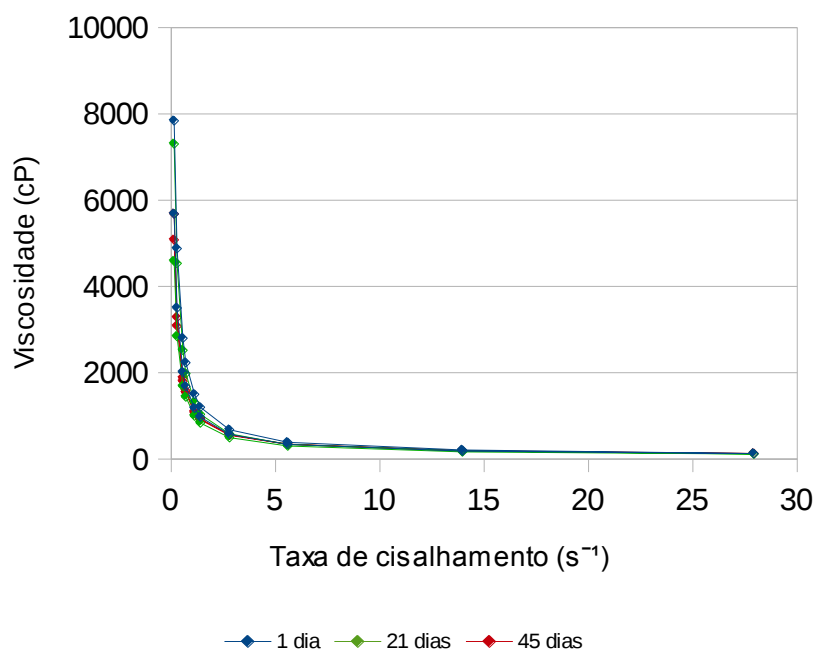


Figura 28 - Gráfico de viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento da formulação B

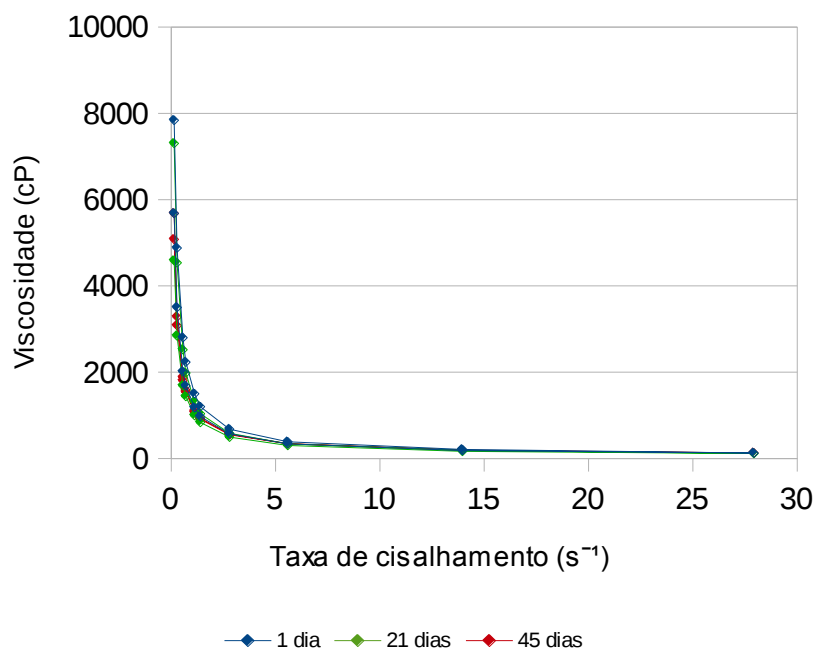


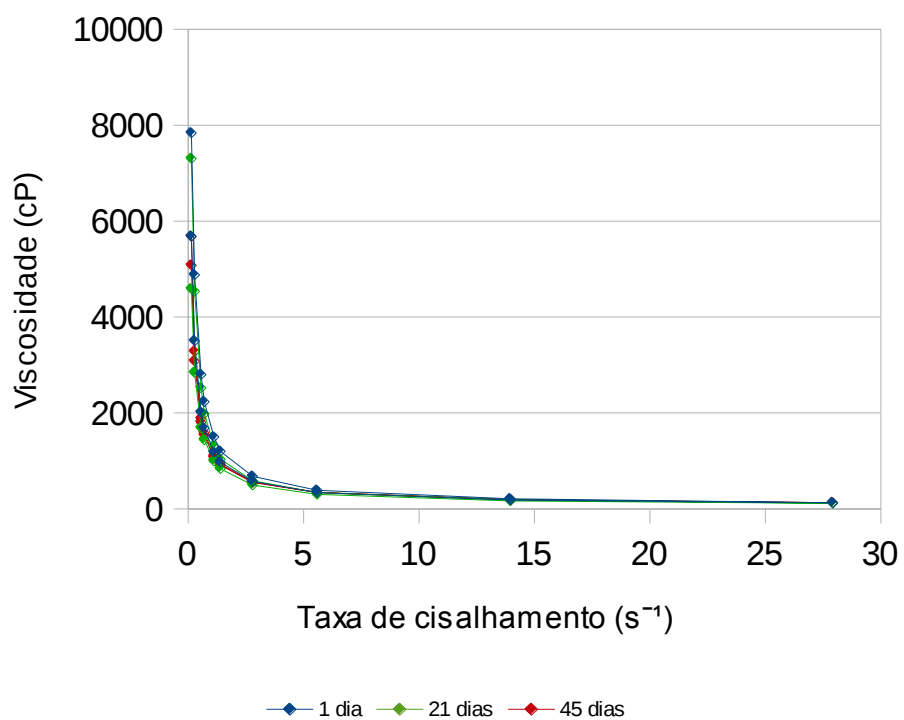
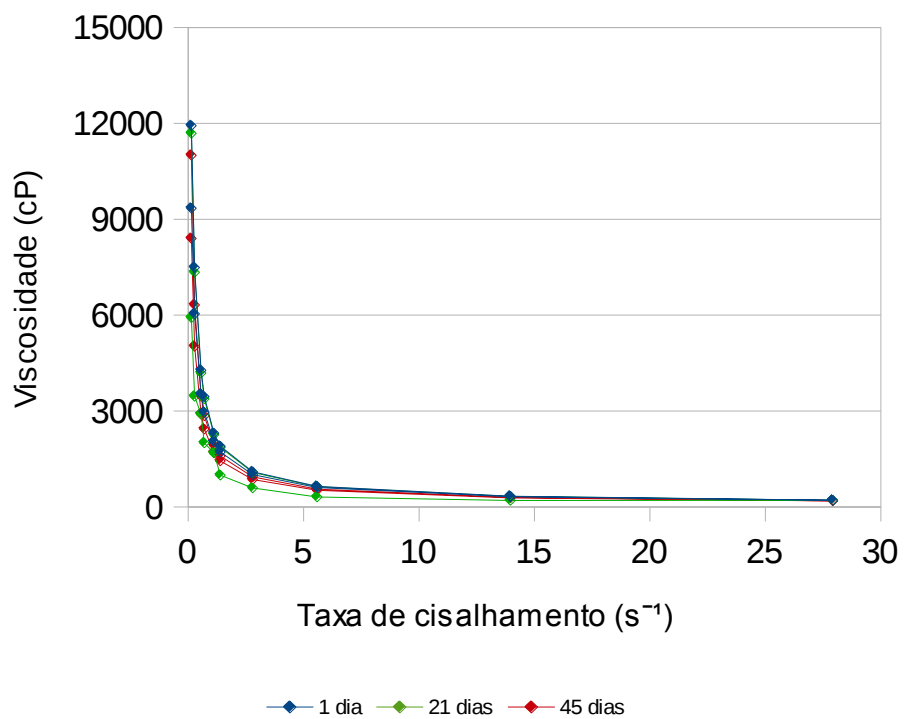
Figura 29 - Gráfico de viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento da formulação CFigura 30 - Gráfico de viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento da formulação D

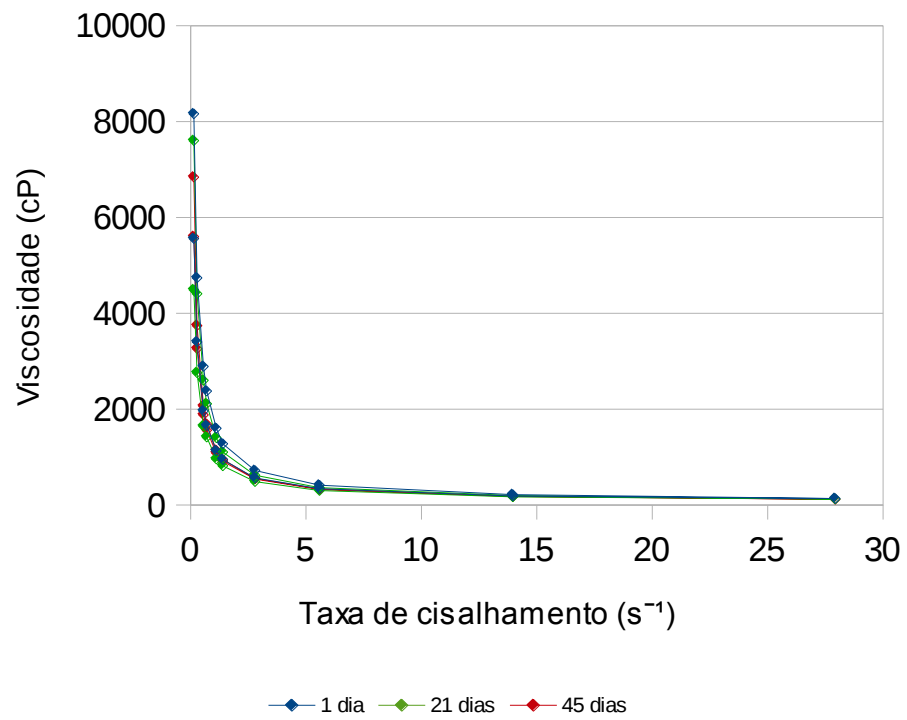
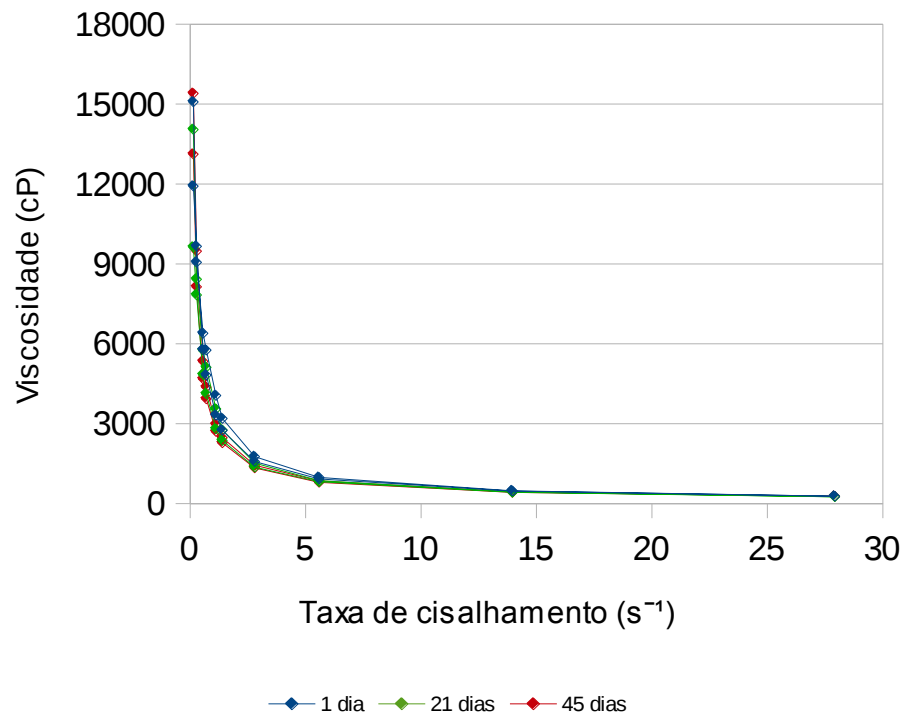
Figura 31 - Gráfico de viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento da formulação EFigura 32 - Gráfico de viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento da formulação F

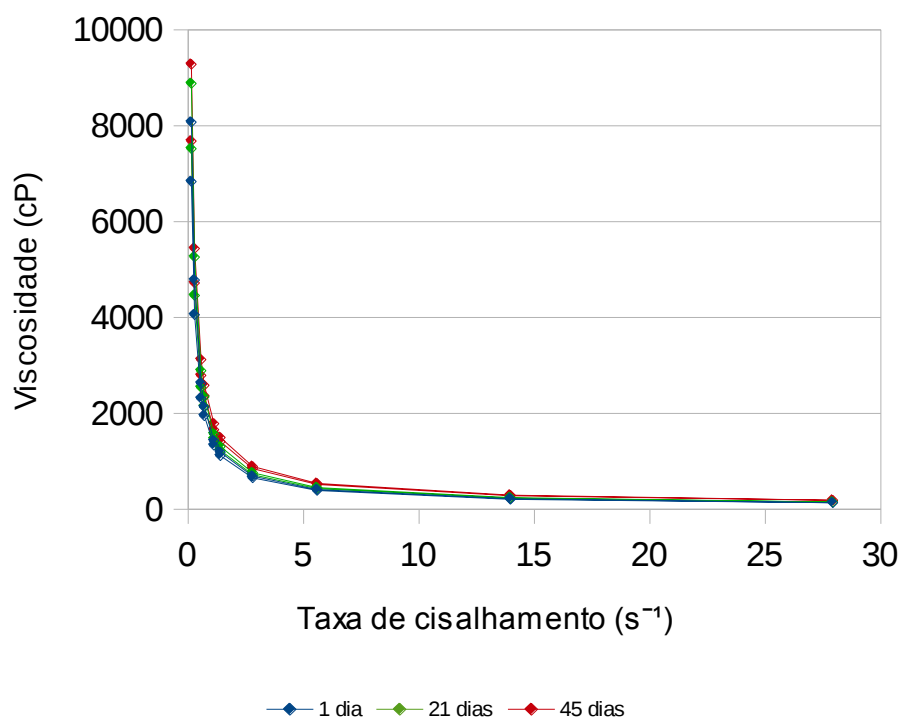
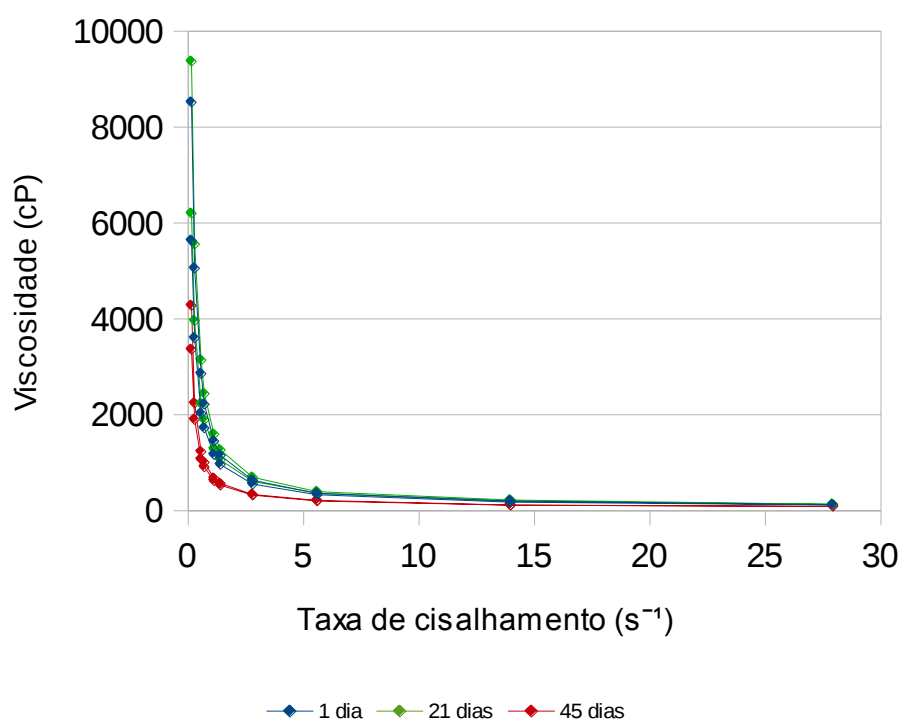
Figura 33 - Gráfico de viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento da formulação GFigura 34 - Gráfico de viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento da formulação H

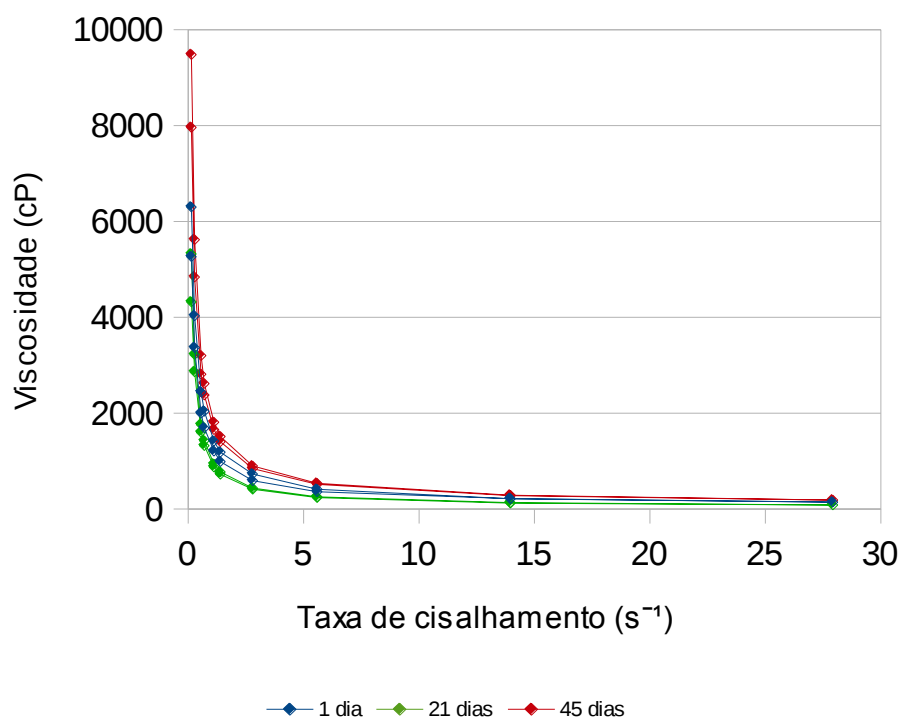
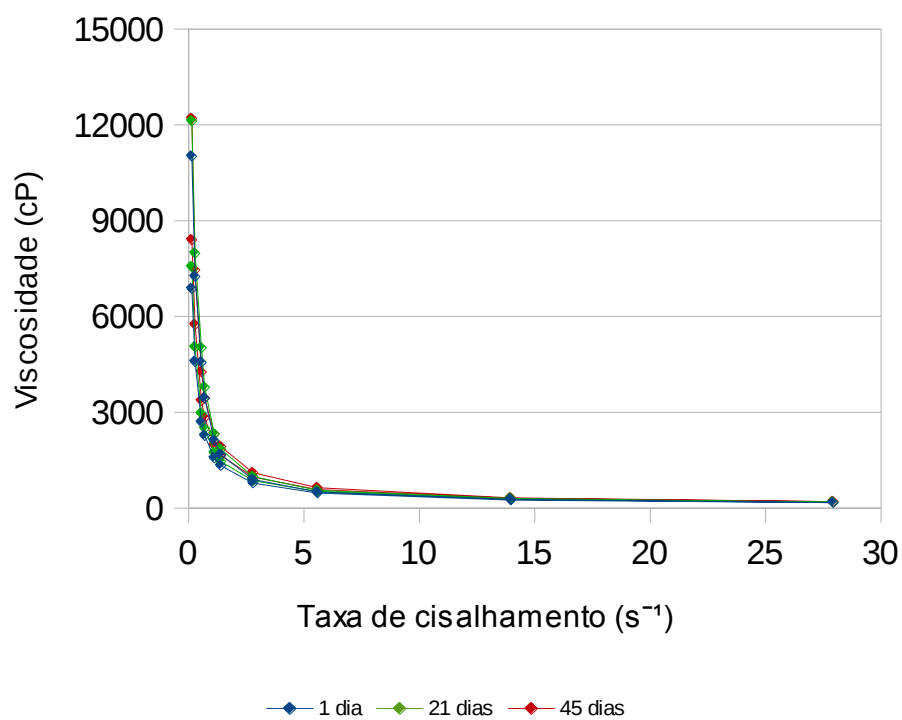
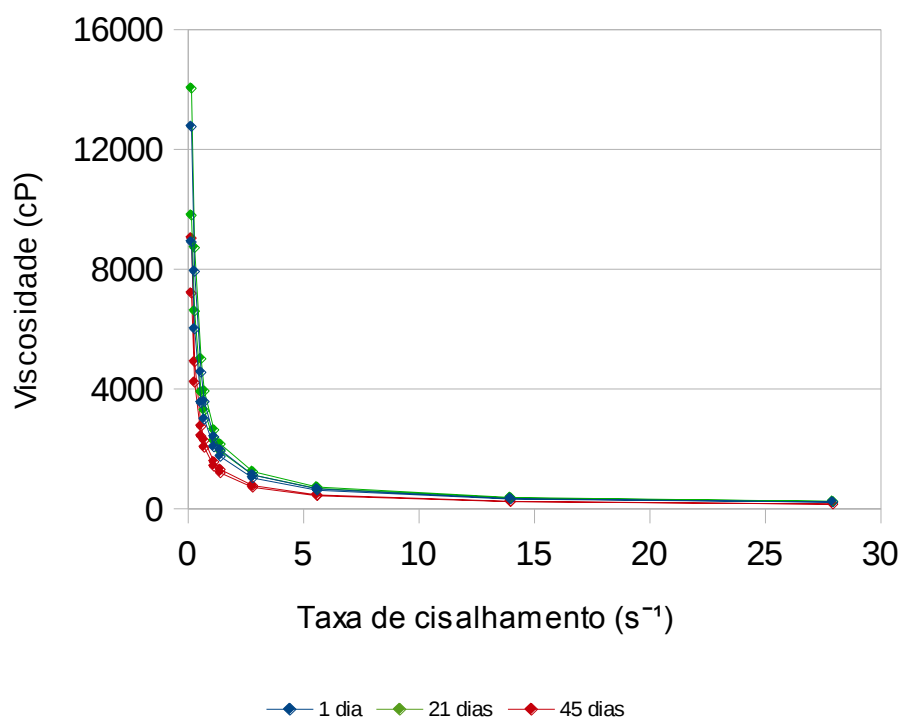
Figura 35 - Gráfico de viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento da formulação IFigura 36 - Gráfico de viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento da formulação J

Figura 37 - Gráfico de viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento da formulação K

## APÊNDICE D – Reogramas das 11 formulações nos 3 períodos analisados

Figura 38 - Reograma da formulação A nos 3 períodos analisados

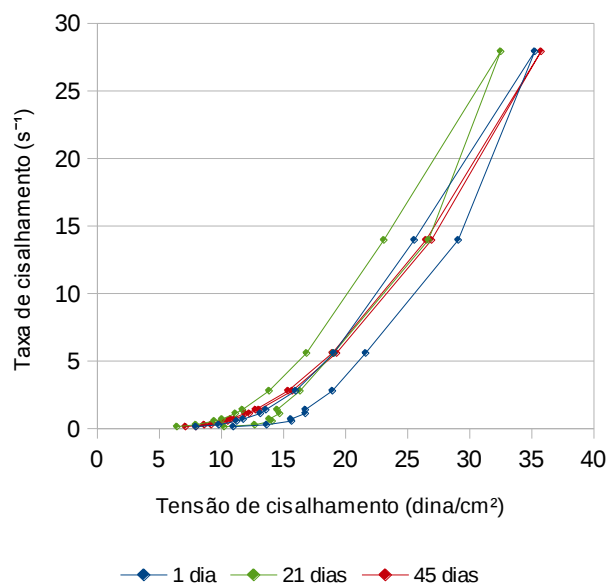


Figura 39 - Reograma da formulação B nos 3 períodos analisados

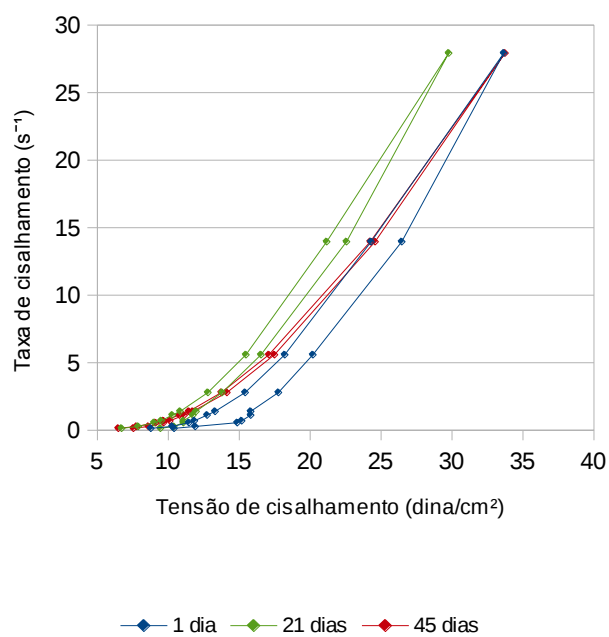


Figura 40 - Reograma da formulação C nos 3 períodos analisados

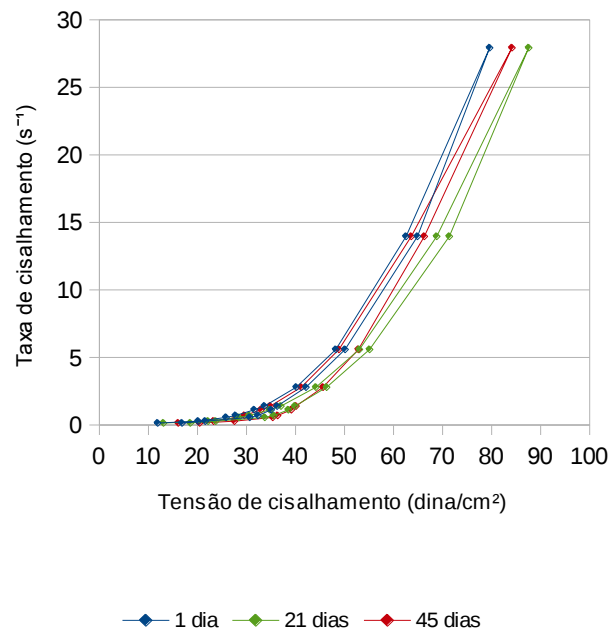


Figura 41 - Reograma da formulação D nos 3 períodos analisados

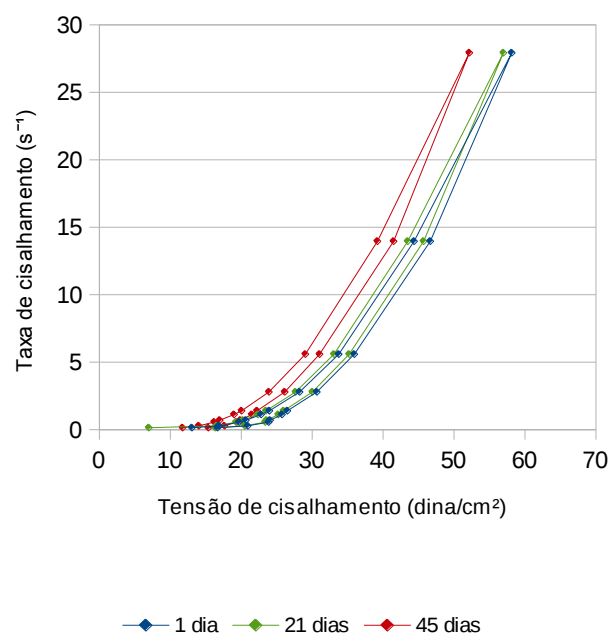


Figura 42 - Reograma da formulação E nos 3 períodos analisados

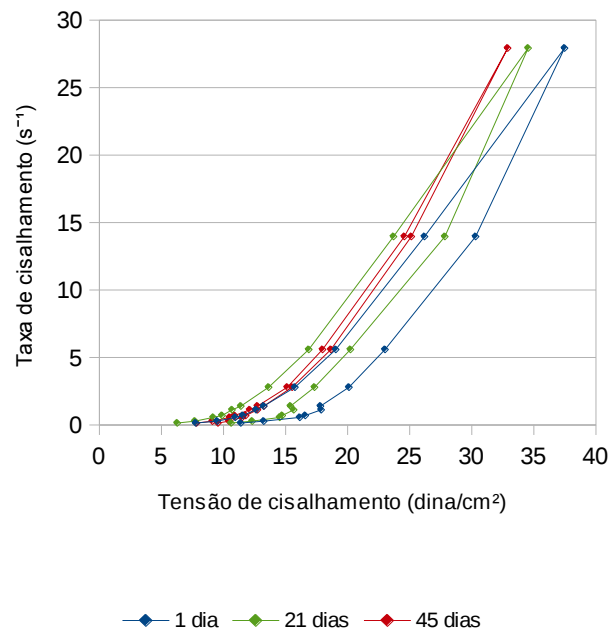


Figura 44 - Reograma da formulação F nos 3 períodos analisados

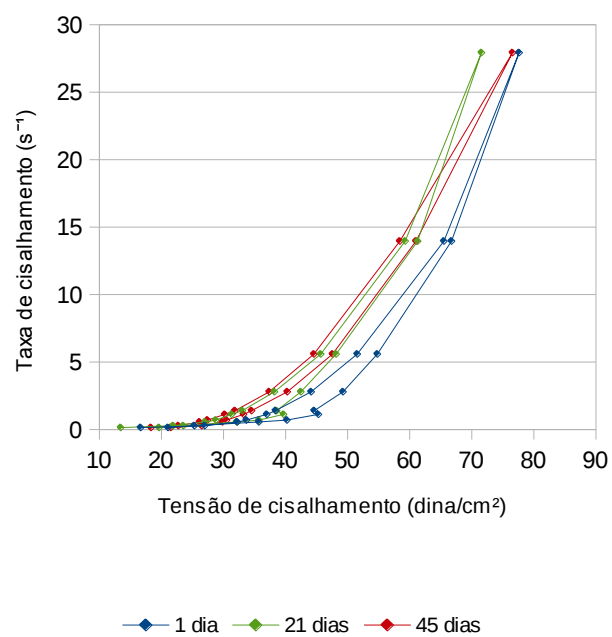


Figura 45 - Reograma da formulação G nos 3 períodos analisados

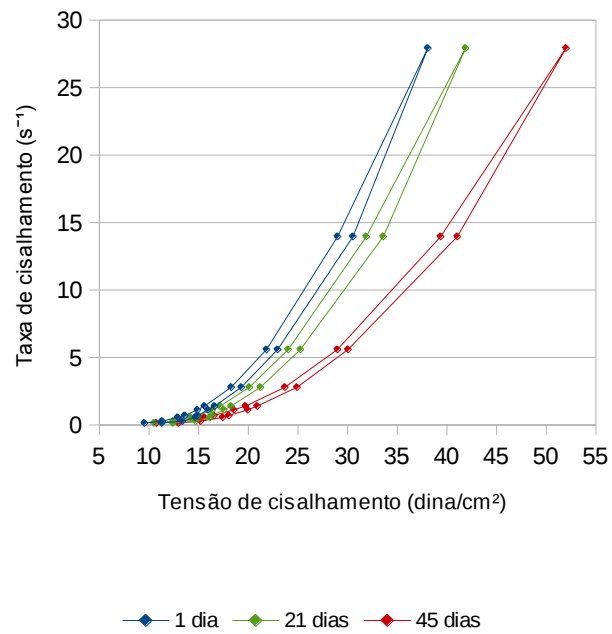


Figura 46 - Reograma da formulação H nos 3 períodos analisados

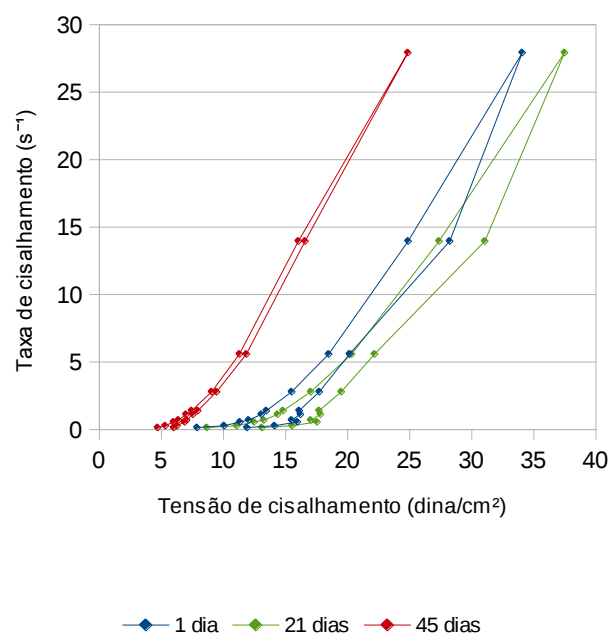


Figura 47 - Reograma da formulação I nos 3 períodos analisados

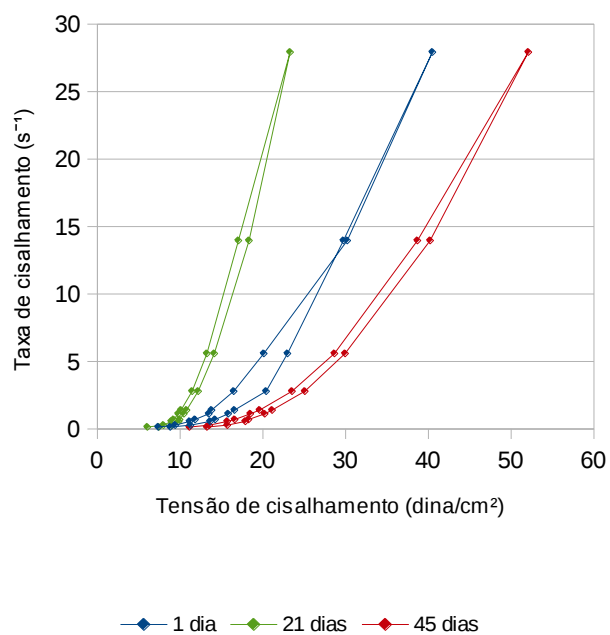


Figura 48 - Reograma da formulação J nos 3 períodos analisados

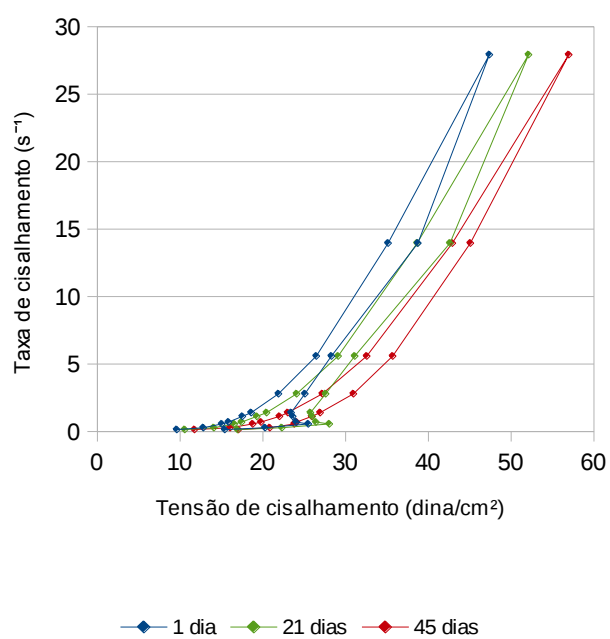
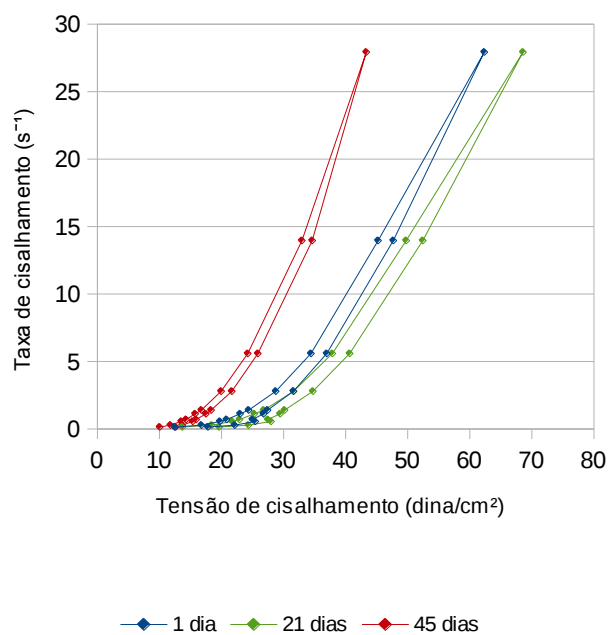


Figura 49 - Reograma da formulação K nos 3 períodos analisados



## APÊNDICE E – Comentários dos provadores

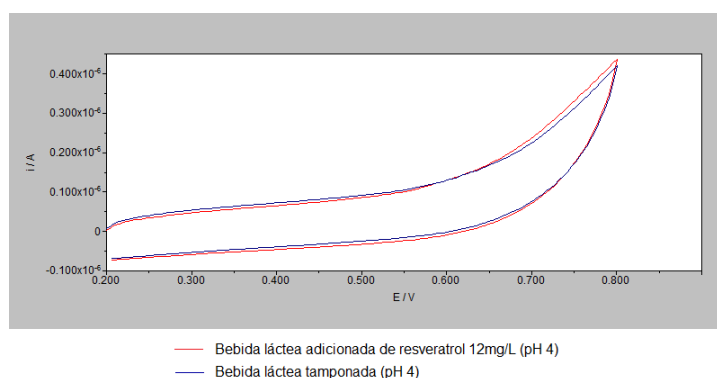
| <b>Comentários sobre as amostra no 1º dia de armazenamento</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>“Gosto mais de iogurtes doces e mais grossos”</p> <p>“As bebidas lácteas estavam todas muito boas. Certamente eu compraria, sim. O sabor, o odor, aparência, tudo ótimo. Por mim está aprovado.”</p> <p>“Todas as bebidas maravilhosas! Gostei muito da A, mas compraria todas. Ótimo sabor, eu com certeza.”</p> <p>“Textura e sabor melhores que as da primeira amostra (A, B, E, F e I). Ficariam melhores, com uma textura mais encorpada (como a F).”</p> <p>“A muito líquido, gosto forte e residual.”</p> <p>“K muito bom o gosto, mas poderia melhorar a textura (cremosidade). Acredito que venderia muito o número F.”</p> <p>“A amostra H e J o sabor não se destacou e a textura não estava agradável. A amostra A não estava consistente, muito líquida.”</p> <p>“A amostra B tem cheiro e sabor mais intenso. Eu prefiro a textura mais cremosa, por isso minha preferência pelo F.”</p> <p>“A textura da amostra F pareceu mais adequada, porém o sabor poderia ser da amostra E”.</p> <p>“Algumas amostras são muito líquidas”</p> <p>“Algumas apresentaram pequenas partículas escuras.”</p> <p>“Amostras muito parecidas, difícil avaliar e muita quantidade de amostras.”</p> <p>“Eu normalmente não consumo bebida láctea porque é muito líquida, mas a amostra F tem textura boa e fica no intermediário de escolha entre bebida láctea e iogurte.”</p> <p>“Gosto com mais com textura espessas, é o caso da D. F possui textura mais espessa, na minha opinião é melhor.”</p> <p>“O sabor poderia mais ácido. A textura está ótima.”</p> <p>“Particularmente gosto de bebidas mais ácidas e encorpadas, com aparência de iogurte.”</p> <p>“Produto com ótimo potencial.”</p> <p>“Texturas muito aguadas não atraem o paladar.”</p> |
| <b>Comentários sobre as amostra no 45º dia de armazenamento</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <p>“H estava muito líquido.”</p> <p>“A amostra H achei um sabor muito bom, porém quando fica parado aparecem grumos brancos.”</p> <p>“A amostra H muito líquida. As amostras B, I, E e A são muito líquidas, achei a F melhor por ser mais consistente.”</p> <p>“Amostra A muito aguada (líquida)”</p> <p>“As amostras poderiam estar mais geladas.”</p> <p>“Gostei muito das bebidas lácteas. Por mim aprovadíssimo. Com certeza compraria. Em geral gostei de todas as bebidas lácteas. Principalmente a nº B. Ao meu paladar, estão ótimas.”</p> <p>“Não senti odor nas amostras C, G, K, D, E, I, B, F.”</p> <p>“O sabor está muito bom, mas alguns parecem um pouco mais aguados que os outros.”</p> <p>“Prefiro bebidas lácteas com textura mais consistente.”</p> <p>“Prefiro iogurte com consistência, como a amostra F.”</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

*A numeração utilizada na análise sensorial já foi alterada para a codificação utilizada para identificar as amostras (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J e K).*

# APÊNDICE F – Determinação da atividade antioxidante através de voltametria cíclica: testes iniciais

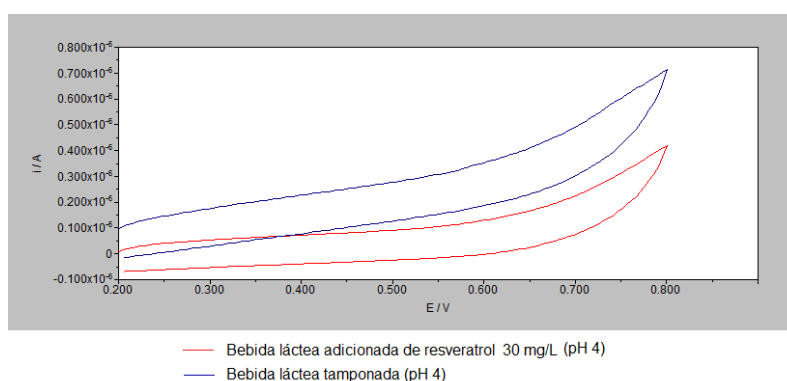
Inicialmente foi testada a concentração de resveratrol de 12 mg/L, um valor intermediário encontrado na literatura em sucos de uva e vinho (SAUTTER et al., 2005; FREITAS et al., 2010; GALLICE et al., 2011; ABE et al., 2007). A Figura 50 mostra os resultados.

Figura 50 – Voltamograma cíclico do eletrodo de carbono vítreo em bebida láctea tamponada (pH 4) com e sem adição de resveratrol 12 mg/L



Como pode ser observado, não houve diferença nos sinais do voltamograma. Assim, optou-se por adicionar uma concentração maior de resveratrol. A Figura 51 mostra os resultados.

Figura 51 – Voltamograma cíclico do eletrodo de carbono vítreo em bebida láctea tamponada (pH 4) com e sem adição de resveratrol 30 mg/L



De acordo com a Figura 51, verificou-se um deslocamento no sinal dos voltamogramas. Provavelmente o meio pode ter interferido nos resultados, uma vez que nos componentes da bebida láctea existem substâncias antioxidantes que interferem na análise.

Também foi avaliada a adição de vitamina E (Figura 52) e a combinação de resveratrol e vitamina E (Figura 53).

Figura 52 – Voltamograma cíclico do eletrodo de carbono vítreo em bebida láctea tamponada (pH 4) com e sem adição de vitamina E 75 mg/L

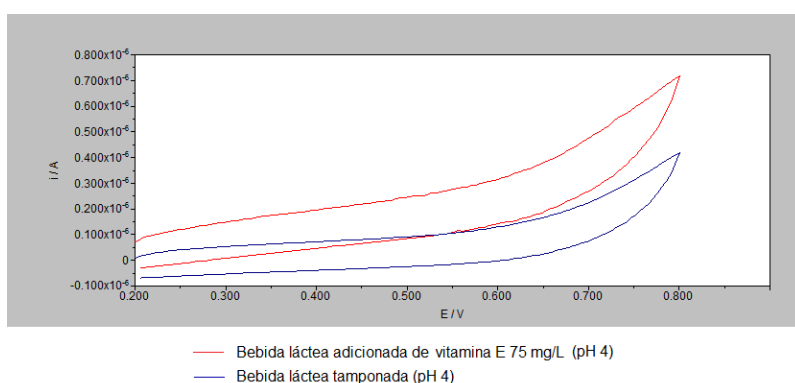
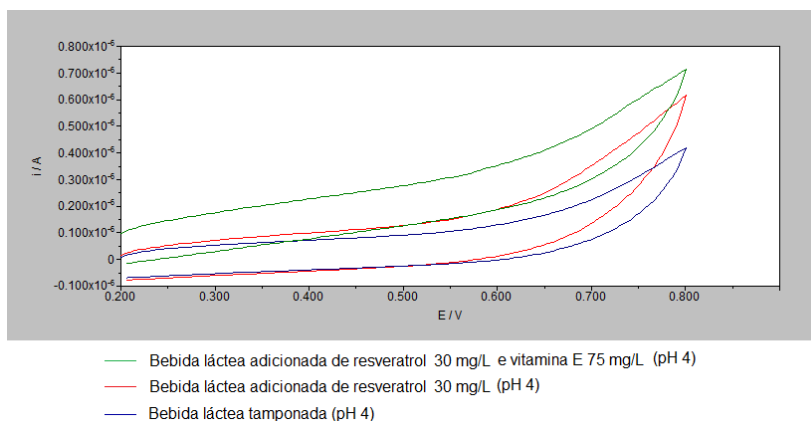


Figura 53 – Voltamograma cíclico do eletrodo de carbono vítreo em bebida láctea tamponada (pH 4) com e sem adição de resveratrol 30 mg/L e/ou vitamina E 75 mg/L



Como pode ser visto, não há uma uniformidade nos sinais após a aplicação de corrente nos voltamogramas. Provavelmente os componentes da bebida láctea causem essas interferências.

Avaliou-se ainda a combinação de vitamina C e vitamina E (Figura 54) e sua diluição 1:10 (v/v) (Figura 55).

Figura 54 – Voltamograma cíclico do eletrodo de carbono vítreo em bebida láctea tamponada (pH 4) com e sem adição de vitamina C 450 mg/L e/ou vitamina E 75 mg/L

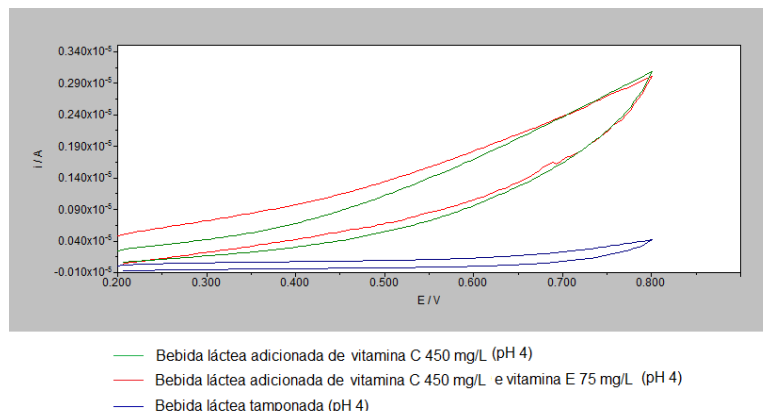
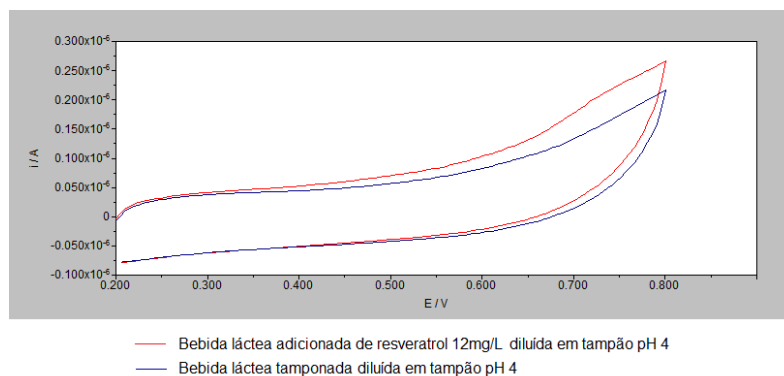


Figura 55 – Voltamograma cíclico do eletrodo de carbono vítreo em bebida láctea tamponada (pH 4) com e sem adição de resveratrol 12 mg/L diluída em tampão pH 4 (1:10)



Como pode ser visto (Figura 54), também ocorreram deslocamentos na combinação de vitamina C e vitamina E em decorrência dos componentes da bebida láctea.

Diluindo a amostra (Figura 55), houve uma melhora no sinal do voltamograma, porém mais testes serão necessários para ajustar os sinais e tentar analisar os antioxidantes por esta técnica.