

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO**

**INFLUÊNCIA DO CONCENTRADO PROTÉICO DO SORO DE LEITE
E DE CULTURAS PROBIÓTICAS NAS PROPRIEDADES DE
IOGURTES NATURAIS DESNATADOS**

Adriane Elisabete Costa Antunes
Nutricionista

Profa. Dra. Helena Maria André Bolini
Orientadora

CAMPINAS, 2004

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA - UNICAMP

An89i Antunes, Adriane Elisabete Costa
Influência do concentrado protéico do soro de leite e de
culturas probióticas nas propriedades de iogurte naturais
desnatados / Adriane Elisabete Costa. – Campinas, SP:
[s.n.], 2004.

Orientador: Helena Maria André Bolini
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Soro de leite. 2. Iogurte. 3. Funcionais. 4.
Microestrutura. 5. Análise sensorial. I. Bolini, Helena
Maria André. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Helena M. A. Bolini
(Orientadora)

Profa. Dra. Mirna Lúcia Gigante
(Membro)

Prof. Dr. Valdemiro C. Sgarbieri
(Membro)

Profa. Dra. Alda L. S. Lerayer
(Membro)

Prof. Dr. Edir Nepomuceno da Silva
(Membro)

Prof. Dr. Salvador Massaguer Roig
(Suplente)

Prof. Dr. Jorge H. Behrens
(Suplente)

" Nada há a subtrair, nada a acrescentar às maravilhas de Deus; elas são incompreensíveis.

Quando o homem tiver acabado, então estará no começo; e quando cessar a pesquisa, ficará perplexo."

Eclo: 18, 5-6.

Dedico:

Aos meus amados pais, Pedro e Maria Terezinha
e amados irmãos, Alexandre, Christian, Fernanda, Caroline e Francine

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, princípio e fim de todas as coisas!

Ao professor Aloísio J. Antunes pela orientação inicial do trabalho que foi de grande valor, e também pela por sua disponibilidade e amizade.

À professora Helena M. A. Bolini por sua orientação, e especialmente pelo respeito e cordialidade com todos; característica marcante de sua pessoa!

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos e ao Fundo de Apoio ao Ensino e a Pesquisa (FAEP) pelo apoio financeiro.

A empresa Rhodia, na pessoa de Marcelo Pedras, pela gentil doação das culturas láticas utilizadas na pesquisa.

Aos membros da banca examinadora pelas preciosas contribuições.

Aos técnicos, sem os quais esse trabalho não seria possível: Eliana (meu muitíssimo obrigada!), Chico (seu bom humor e competência diante dos problemas), Ana Lourdes (do DTA, por sua atenção e profissionalismo), Yara, Rosinha (DTA) Bete (DTA/Leites), Alessandra (DTA), Antônia e Adriane (Biologia).

Agradeço também à Fátima, Suzana, Nice, Carla, Soeli, Celes, Cidinha, Graça, Bete, Gustavo e Cosme.

Aos colegas do DTA: Patrícia Z. e Luciano que me deram dicas imprescindíveis para a pesquisa.

Aos amigos do DEPAN: Karla (por tanto me ouvir), Kity (por tanto me ajudar), Cláudia, Elaine, Cristina, Luciano Bruno, Bete (obrigada!), Keila (a mais informada sobre os prazos do CNPq!), professor Célio, Lucía, Sônia, Fábio....

Aos amigos da vida: Izaura e Fabrício (por cuidarem tanto de mim !!!), Guadalupe e Brenda (por me acolherem no Poveda e nos seus corações), Léo (por tanto me incentivar e rezar por mim), Mauro (por me ajudar a vir para Campinas), Pe Miguel (por me ajudar em tantas decisões), Angelica, Melissa, Fabiane, Alice, Pollyana, Ana Rita, Renata, Patrícia...

Enfim, a todos aqueles que participaram de alguma maneira do trabalho e/ou da minha "vida de doutoranda", meu muito obrigada!!!

ÍNDICE

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS

ÍNDICE DE FIGURAS

RESUMO

SUMMARY

INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO	1
------------	---

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Soro de Leite	3
1.1 Classificação dos Concentrados Protéicos do Soro de Leite	4
1.2 Características Químicas e Físicas das Proteínas do Soro de Leite	6
2. Iogurte	7
2.1 Propriedades Reológicas do Iogurte	8
2.2 Sinérese de Iogurte	9
2.3 Microestrutura de Iogurte	9
2.4 Análise Sensorial de Iogurte	10
2.5 Iogurte Probiótico	11
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13

PRIMEIRO ESTUDO

PROPRIEDADES DE GELATINIZAÇÃO DO CONCENTRADO PROTÉICO DO SORO DO LEITE

RESUMO	20
SUMMARY	21
1. INTRODUÇÃO	22

2. MATERIAIS E MÉTODOS	24
2.1 Materiais	24
2.2 Métodos	25
2.2.1 Determinação da Composição Química Básica	25
2.2.2 Gelatinização das Proteínas de CPS	25
2.2.3 Perfil de Textura	26
2.2.4 Aspecto Visual	26
2.2.5 Capacidade de Retenção de Água (Umidade Espremível)	26
2.2.6 Planejamento Experimental	27
2.2.7 Análise Estatística	28
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
3.1 Composição Química Básica	28
3.2 Comparação de Médias	29
3.3 Análise de Efeitos	31
3.4 Análise de Variância e Coeficientes de Regressão	33
3.6 Aspecto Macroscópico dos Géis de CPS	68
4. CONCLUSÕES	71
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

SEGUNDO ESTUDO

CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO DE LEITE NA PRODUÇÃO DE IOGURTE NATURAL DESNATADO DE CONSISTÊNCIA FIRME

RESUMO	78
SUMMARY	79
1. INTRODUÇÃO	80
2. MATERIAIS E MÉTODOS	81
2.1 Materiais	81
2.2 Métodos	82
2.2.1 Composição Centesimal dos Ingredientes	82
2.2.2 Preparo dos iogurtes	82

2.2.3 Avaliações dos iogurtes	83
2.2.3.1 Sólidos Totais	83
2.2.3.2 Perfil de Textura	84
2.2.3.3 Sucetibilidade à Sinérese	85
2.2.4 Análise Estatística	85
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
4. CONCLUSÕES	91
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92

TERCEIRO ESTUDO

PROPRIEDADES QUÍMICAS, FÍSICAS, MICROESTRUTURAIS E SENSORIAIS DE IOGURTE NATURAL DESNATADO DE CONSISTÊNCIA FIRME ESTABILIZADO COM CONCENTRADO PROTÉICO DO SORO DE LEITE

RESUMO	96
SUMMARY	97
1. INTRODUÇÃO	98
2. MATERIAIS E MÉTODOS	99
2.1 Materiais	99
2.2 Métodos	100
2.2.1 Preparo dos iogurtes	100
2.2.2 Composição Química Básica	101
2.2.3 Cinética de Fermentação	101
2.2.4 Perfil de Textura	102
2.2.5 Suscetibilidade à Sinérese	102
2.2.6 Capacidade Tamponante	102
2.2.7 Microestrutura	103
2.2.8 Análise Sensorial	103
2.2.9 Análise Estatística	104
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	104
3.1 Composição Química Básica	104

3.2 Cinética de Fermentação	105
3.3 Perfil de Textura, Sinérese, Capacidade Tamponante e Percentual de Sólidos Totais	106
3.4 Macro e Microestrutura	121
3.5 Análise Sensorial	129
4. CONCLUSÕES	137
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	138

QUARTO ESTUDO

PERFIL DE TEXTURA, SINÉRESE, PROPRIEDADES SENSORIAIS E VIABILIDADE DOS FERMENTOS DE IOGURTES DESNATADOS PROBIÓTICOS ADICIONADOS DE CONCENTRADO PROTÉICO DO SORO DE LEITE

RESUMO	144
SUMMARY	145
1. INTRODUÇÃO	146
2. MATERIAIS E MÉTODOS	148
2.1 Materiais	149
2.2 Métodos	149
2.2.1 Composição Química Básica	149
2.2.2 Seletividade dos Meios de Cultura	150
2.2.3 Determinação da Contagem Inicial das Culturas	150
2.2.4 Reativação dos Fermentos	151
2.2.5 Preparo dos Iogurtes	151
2.2.6 Cinética de Fermentação	153
2.2.7 Perfil de Textura	153
2.2.8 Suscetibilidade a Sinérese	154
2.2.9 Crescimento e Viabilidade das Culturas	154
2.2.10 Análise Sensorial	155
2.2.11 Análise Estatística	155

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	156
3.1 Composição Química Básica	156
3.2 Seletividade dos Meios de Cultura	157
3.3 Cinética de Fermentação	157
3.4 Pós-acidificação	161
3.5 Perfil de Textura, Sinérese e Sólidos Totais	165
3.6 Crescimento e Viabilidade das Culturas	177
3.7 Análise Sensorial	183
3.7.1 Diferença do Controle	183
3.7.2 Teste de Aceitação	184
4. CONCLUSÕES	187
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	193
 CONCLUSÕES GERAIS	 199
 APÊNDICE A	 201
APÊNDICE B	211
APÊNDICE C	215

ÍNDICE DE FIGURAS

PRIMEIRO ESTUDO

Figura 1.1	Modelo para formação de géis transparentes e opacos de ovalbumina.	23
Figura 1.2	Valores preditos e observados de dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade e umidade espremível dos géis de CPS.	37
Figura 1.3	Superfícies de resposta e curvas de contorno da concentração de proteína em função da temperatura e do tempo de desnaturação, na dureza dos géis de CPS.	39
Figura 1.4	Superfícies de resposta e curvas de contorno do pH em função da concentração de proteína e do tempo de desnaturação, na dureza dos géis de CPS.	41
Figura 1.5	Superfícies de resposta e curvas de contorno da temperatura em função pH e do tempo de desnaturação, na dureza dos géis de CPS.	43
Figura 1.6	Superfícies de resposta e curvas de contorno da concentração de proteína em função da temperatura e do tempo de desnaturação, na elasticidade dos géis de CPS.	45
Figura 1.7	Superfícies de resposta e curvas de contorno do pH em função da concentração de proteína e do tempo de desnaturação, na elasticidade dos géis de CPS.	47
Figura 1.8	Superfícies de resposta e curvas de contorno da temperatura em função do pH e do tempo de desnaturação, na elasticidade dos géis de CPS.	49
Figura 1.9	Superfície de resposta e curvas de contorno do pH em função da temperatura de desnaturação, na coesividade dos géis de CPS.	51
Figura 1.10	Superfícies de resposta e curvas de contorno da concentração de proteína em função da temperatura e do tempo, na gomosidade dos géis de CPS.	53
Figura 1.11	Superfícies de resposta e curvas de contorno do pH em função da concentração de proteína e da temperatura, na gomosidade dos géis de CPS.	55
Figura 1.12	Superfícies de resposta e curvas de contorno do tempo em função do pH e da temperatura de desnaturação, na gomosidade dos géis de CPS.	57
Figura 1.13	Superfícies de resposta e curvas de contorno da concentração de proteína em função da temperatura e do tempo de desnaturação, na umidade espremível dos géis de CPS.	59
Figura 1.14	Superfícies de resposta e curvas de contorno do pH em função da concentração de proteína e do tempo de desnaturação, na umidade espremível dos géis de CPS.	61

Figura 1.15	Superfícies de resposta e curvas de contorno da temperatura em função do pH e do tempo de desnaturação, na umidade espremível dos géis de CPS.	63
Figura 1.16	Aspecto dos géis de CPS nos pontos axiais de concentração de proteína, pH, temperatura e tempo de desnaturação.	69

SEGUNDO ESTUDO

Figura 2.1	Fluxograma do preparo e avaliações dos iogurtes preparados por mistura-base de leite com concentrado protéico de soro do leite e/ou leite em pó desnatado.	83
Figura 2.2	Correlação entre sinérese e dureza, sinérese e percentual de sólidos totais e dureza e percentual de sólidos totais dos iogurtes desnatados adicionados de combinações de CPS e LPD.	89

TERCEIRO ESTUDO

Figura 3.1	Fluxograma do preparo dos iogurtes de consistência firme adicionados de leite em pó desnatado e/ou concentrado protéico de soro de leite.	101
Figura 3.2	Curvas de pH durante a fermentação dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados) estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções de 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente.	107
Figura 3.3	Produção de ácido láctico durante a fermentação dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados) estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções de 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente.	107
Figura 3.4	Dureza dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados) estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções de 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente.	111
Figura 3.5	Gomosidade dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados) estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções de 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente.	111
Figura 3.6	Elasticidade dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados) estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções de 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente.	113
Figura 3.7	Coesividade dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados) estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções de 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente.	113

Figura 3.8	Sinérese dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados) estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções de 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente.	115
Figura 3.9	Sólidos totais dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados) estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções de 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente.	115
Figura 3.10	Capacidade tamponante dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados) estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções de 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente.	117
Figura 3.11	Aparência dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados) estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções de 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente.	117
Figura 3.12	Gráfico de perfil de textura dos iogurtes dos iogurtes Y51, Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções de 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente.	119
Figura 3.13	Microscopia eletrônica de varredura dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados) estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções de 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente, 10kV ou 5kV, aumento de 2500x.	123
Figura 3.14	Microscopia eletrônica de varredura do iogurte desnatado Y55 com adição LPD:CPS na proporção de 0,5:1,5 e iogurte integral com adição de LPD, 10kV, aumento de 2500x.	125
Figura 3.15	Detalhe dos <i>Streptococcus thermophilus</i> formado “colar” e glóbulo. Iogurte controle, 10kV, 4000x.	125
Figura 3.16	Microscopia eletrônica de varredura do iogurte desnatado Y55 com adição LPD:CPS na proporção de 0,5:1,5 e iogurte integral com adição de LPD, 10kV, aumento de 5000x.	127
Figura 3.17	Valores médios de aparência, sabor, textura e impressão global dos iogurtes Y51, Y52, Y53.	131
Figura 3.18	Distribuição de notas para os atributos aparência, sabor, textura e impressão global dos iogurtes Y51, Y52 e Y53.	133
Figura 3.19	Intenção de compra dos iogurtes Y51, Y52 e Y53.	135

QUARTO ESTUDO

Figura 4.1	Fluxograma do preparo dos iogurtes adicionados de concentrado protéico do soro de leite e/ou leite em pó desnatado	152
Figura 4.2	Curvas de pH e de produção de ácido láctico durante a fermentação dos iogurtes adicionados de CPS e LPD (A1,	159

	B1, C1 e D1) e apenas LPD (A2, B2, C2 e D2); e fermentados por <i>St</i> e <i>Lb</i> (A1 e A2), por <i>St</i> , <i>Lb</i> e <i>La</i> (B1 e B2), por <i>St</i> , <i>Lb</i> e <i>Bl</i> (C1 e C2) e por <i>St</i> , <i>Lb</i> , <i>La</i> e <i>Bl</i> (D1 e D2).	
Figura 4.3	Curvas de pH e de produção de ácido láctico durante a vida-de-prateleira dos iogurtes adicionados de CPS e LPD (A1, B1, C1 e D1) e apenas LPD (A2, B2, C2 e D2); e fermentados por <i>St</i> e <i>Lb</i> (A1 e A2), por <i>St</i> , <i>Lb</i> e <i>La</i> (B1 e B2), por <i>St</i> , <i>Lb</i> e <i>Bl</i> (C1 e C2) e por <i>St</i> , <i>Lb</i> , <i>La</i> e <i>Bl</i> (D1 e D2).	163
Figura 4.4	Dureza dos iogurtes adicionados de CPS e LPD (A1, B1, C1 e D1) e apenas LPD (A2, B2, C2 e D2); e fermentados por <i>St</i> e <i>Lb</i> (A1 e A2), por <i>St</i> , <i>Lb</i> e <i>La</i> (B1 e B2), por <i>St</i> , <i>Lb</i> e <i>Bl</i> (C1 e C2) e por <i>St</i> , <i>Lb</i> , <i>La</i> e <i>Bl</i> (D1 e D2) no início e final da vida-de-prateleira.	167
Figura 4.5	Gomosidade dos iogurtes adicionados de CPS e LPD (A1, B1, C1 e D1) e apenas LPD (A2, B2, C2 e D2); e fermentados por <i>St</i> e <i>Lb</i> (A1 e A2), por <i>St</i> , <i>Lb</i> e <i>La</i> (B1 e B2), por <i>St</i> , <i>Lb</i> e <i>Bl</i> (C1 e C2) e por <i>St</i> , <i>Lb</i> , <i>La</i> e <i>Bl</i> (D1 e D2) no início e final da vida-de-prateleira.	167
Figura 4.6	Elasticidade dos iogurtes adicionados de CPS e LPD (A1, B1, C1 e D1) e apenas LPD (A2, B2, C2 e D2); e fermentados por <i>St</i> e <i>Lb</i> (A1 e A2), por <i>St</i> , <i>Lb</i> e <i>La</i> (B1 e B2), por <i>St</i> , <i>Lb</i> e <i>Bl</i> (C1 e C2) e por <i>St</i> , <i>Lb</i> , <i>La</i> e <i>Bl</i> (D1 e D2) no início e final da vida-de-prateleira.	169
Figura 4.7	Coesividade dos iogurtes adicionados de CPS e LPD (A1, B1, C1 e D1) e apenas LPD (A2, B2, C2 e D2); e fermentados por <i>St</i> e <i>Lb</i> (A1 e A2), por <i>St</i> , <i>Lb</i> e <i>La</i> (B1 e B2), por <i>St</i> , <i>Lb</i> e <i>Bl</i> (C1 e C2) e por <i>St</i> , <i>Lb</i> , <i>La</i> e <i>Bl</i> (D1 e D2) no início e final da vida-de-prateleira.	169
Figura 4.8	Sinérese dos iogurtes adicionados de CPS e LPD (A1, B1, C1 e D1) e apenas LPD (A2, B2, C2 e D2); e fermentados por <i>St</i> e <i>Lb</i> (A1 e A2), por <i>St</i> , <i>Lb</i> e <i>La</i> (B1 e B2), por <i>St</i> , <i>Lb</i> e <i>Bl</i> (C1 e C2) e por <i>St</i> , <i>Lb</i> , <i>La</i> e <i>Bl</i> (D1 e D2) no início e final da vida-de-prateleira.	171
Figura 4.9	Sólidos totais dos iogurtes adicionados de CPS e LPD (A1, B1, C1 e D1) e apenas LPD (A2, B2, C2 e D2); e fermentados por <i>St</i> e <i>Lb</i> (A1 e A2), por <i>St</i> , <i>Lb</i> e <i>La</i> (B1 e B2), por <i>St</i> , <i>Lb</i> e <i>Bl</i> (C1 e C2) e por <i>St</i> , <i>Lb</i> , <i>La</i> e <i>Bl</i> (D1 e D2).	171
Figura 4.10	Gráficos de perfil e textura dos iogurtes A1 e A2 adicionados de LPD e CPS e apenas LPD, fermentados por <i>S. thermophilus</i> e <i>L. bulgaricus</i> , avaliados no início e final da vida-de-prateleira	173
Figura 4.11	Gráficos de perfil e textura dos iogurtes B1 e B2 adicionados de LPD e CPS e apenas LPD, fermentados por <i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> e <i>L. acidophilus</i> , avaliados no início e final da vida-de-prateleira	173
Figura 4.12	Gráficos de perfil e textura dos iogurtes C1 e C2 adicionados de LPD e CPS e apenas LPD, fermentados por <i>S.</i>	175

	<i>thermophilus</i> e <i>L. bulgaricus</i> e <i>B. longum</i> , avaliados no início e final da vida-de-prateleira	
Figura 4.13	Gráficos de perfil e textura dos iogurtes D1 e D2 adicionados de LPD e CPS e apenas LPD, fermentados por <i>S. thermophilus</i> e <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. acidophilus</i> e <i>B. longum</i> , avaliados no início e final da vida-de-prateleira.	175
Figura 4.14	Viabilidade dos fermentos nos iogurtes frescos e ao final da vida-de-prateleira.	181
Figura 4.15	Valores médios de aparência, sabor, textura e impressão global dos iogurtes D1 e D2.	185
Figura 4.16	Distribuição de notas para os atributos aparência, sabor, textura e impressão global dos iogurtes D1 e D2.	189
Figura 4.17	Intenção de compra dos iogurtes D1 e D2.	191

ÍNDICE DE TABELAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 1	Composição dos soros de leite <i>in natura</i> obtidos por ação enzimática e por acidificação do leite	5
Tabela 2	Composição dos concentrados protéicos do soro com diferentes percentuais de proteína	5
Tabela 3	Características químicas e físicas das principais proteínas do soro de leite bovino	6

PRIMEIRO ESTUDO

Tabela 1.1	Nível e valores das variáveis independentes: concentração de CPS, pH, temperatura e tempo de desnaturação	28
Tabela 1.2	Composição química básica do CPS Alacen TM 392, conforme o fabricante e determinada no experimento	28
Tabela 1.3	Planejamento fatorial 2 ⁴ completo e médias das respostas de dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade e umidade espremível	30
Tabela 1.4	Efeitos das variáveis concentração de proteína, pH, temperatura e tempo de desnaturação nas respostas de dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade e umidade espremível dos géis de CPS	32
Tabela 1.5	Análise de variância e coeficiente de correlação da dureza, elasticidade, coesividade e umidade espremível de géis de CPS	33
Tabela 1.6	Coeficientes de regressão para dureza, elasticidade, coesividade e umidade espremível de géis de CPS	34
Tabela 1.7	Equações ajustadas para os efeitos das diferentes variáveis do processo nas respostas de perfil de textura e umidade	35

Tabela 1.8	espremível dos géis de CPS Níveis das variáveis do processo correspondentes às maiores respostas para géis de CPS	68
-------------------	--	----

SEGUNDO ESTUDO

Tabela 2.1	Código dos iogurtes, proporção de adição de proteína e percentual de adição concentrado protéico de soro (CPS) e leite em pó desnatado (LPD)	84
Tabela 2.2	Características físicas e químicas das matérias-primas para preparo dos iogurtes	86
Tabela 2.3	Sólidos totais, sinérese e perfil de textura dos iogurtes contendo adições de 3, 4 ou 5% de proteína por diferentes combinações de CPS e LPD	87

TERCEIRO ESTUDO

Tabela 3.1	Códigos dos iogurtes, proporção de adição (proteína:proteína) e percentual (produto:produto) de adição de concentrado protéico de soro (CPS) e leite em pó desnatado (LPD)	100
Tabela 3.2	Composição química básica dos leites UHT integral de desnatado	104
Tabela 3.3	Composição química básica dos iogurtes	105

QUARTO ESTUDO

Tabela 4.1	Indicações bibliográficas dos meios e condições de cultivo das culturas	150
Tabela 4.2	Condições de incubação para reativação das culturas	151
Tabela 4.3	Códigos dos iogurtes, percentual de adição de LPD e/ou CPS e de inoculação com culturas lácticas	152
Tabela 4.4	Composição química básica dos diferentes lotes de leite UHTs desnatados empregados no preparo dos iogurtes	156
Tabela 4.5	Seletividade dos meios de cultura para contagens isoladas de culturas lácticas e probióticas	157
Tabela 4.6	Comparação entre iogurte padrão e iogurtes adicionados de CPS (A1 e A2) e fermentados por probióticos (D1 e D2)	183

NOMENCLATURA

ABT	Fermento contendo <i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i> e <i>S. thermophilus</i>
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
α-La	α -Lactoalbumina
β-Lb	β -Lactoglobulina
ANOVA	Análise de variância
B.O.D.	Biological Demand of Oxygen (equipamento)
<i>Bl</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>
BSA	Albumina do soro bovino
°C	Graus centígrados
cm	Centímetro
C. T.	Capacidade tamponante
CPS	Concentrado protéico de soro de leite
g	Gramas
<i>g</i>	Gravidade
h	Horas
Ig	Imunoglobulina
IPS	Isolado protéico de soro de leite
Kda	Kilo Dalton
<i>La</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Lb</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
LPD	Leite em pó desnatado
log	Logaritmo
M	Molaridade
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
MRS A	Meio de cultura de Man, Rogosa e Sharpe, acidificado (pH 5,2)

MRS B	Meio de cultura MRS, adicionado de ácidos biliares
MRS LP	Meio de cultura MRS, adicionado de propionato de sódio e cloreto de lítio
n	Número absoluto
N	Normalidade
NZMP	New Zealand Milk Products
PER	Índice de eficiência protéica
pI	Ponto isoelétrico
RSM	Metodologia de superfície de resposta (Response Surface Methodology)
rpm	Rotações por minuto
SEM	Microscopia Eletrônica de Varredura (Scanning Electron Microscopy)
seg	segundos
<i>St</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
ST agar	Meio de cultura para crescimento seletivo de <i>Streptococcus thermophilus</i>
t	Tempo
T	Temperatura
TEM	Microscopia Eletrônica de Transmissão (Transmission Electron Microscopy)
TPA	Análise do perfil de textura (Texture Profile Analysis)
UE	Umidade Espremível
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UHT	Ultrapasteurização (Ultra High Temperature)

RESUMO GERAL

O concentrado protéico do soro de leite (CPS) vem sendo aplicado em diversos produtos devido às suas propriedades funcionais. Iogurtes desnatados apresentam consistência frágil e dessoragem, e uma das atribuições do CPS é de agir como substituinte da gordura. A presente pesquisa foi dividida em quatro estudos. No primeiro estudo objetivou-se avaliar as propriedades de textura, retenção de água e aparência dos géis ácidos de CPS. No segundo, realizou-se uma triagem de diferentes percentuais de adição de proteínas e de combinações de CPS e leite em pó desnatado (LPD) na produção de iogurte desnatado objetivando alcançar propriedades de textura e dessoragem semelhantes às do iogurte padrão (integral, adicionado de LPD). O terceiro estudo observou a cinética de fermentação, perfil de textura, sinérese, microestrutura e análise sensorial dos iogurtes contendo 5% de adição de proteína pelas seguintes proporções de CPS e LPD: 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5, 0:1. O objetivo do quarto estudo foi avaliar a adição do CPS na viabilidade das culturas probióticas, perfil de textura, pós-acidificação, e dessoragem durante o armazenamento dos iogurtes desnatados, bem como analisar características sensoriais dos produtos. Através dos resultados concluiu-se que géis ácidos de CPS, formulados nas maiores faixas de concentração protéica, tempo e temperatura de desnaturação tenderam a apresentar os maiores valores de dureza, coesividade, elasticidade, gomosidade e capacidade de retenção de água. No pH 4,0 os géis apresentaram-se mais elásticos, opacos, amarelados e com maior capacidade de retenção de água, enquanto que os géis formados em pH 4,9 a 5,2 foram mais firmes, coesos, gomosos e brilhantes. Iogurtes desnatados com perfil de textura instrumental, sinérese, propriedades sensoriais (aparência, sabor, textura e impressão global) similares às do iogurte padrão foram obtidas com a formulação de iogurte desnatado adicionado de 5% de proteína, sendo a relação dos ingredientes LPD:CPS de 1,5:0,5. O CPS acelerou a fermentação dos iogurtes. A microestrutura foi muito semelhante entre os iogurtes, embora as amostras tenham variado de 13,8 até 21,8% de sólidos totais. Durante o armazenamento foram intensificadas a firmeza, gomosidade e capacidade de retenção de água dos iogurtes. O iogurte com fermento probiótico

L. acidophilus apresentou maior dessoragem, no entanto, a adição de CPS compensou essa tendência. Não foi observada variação significativa na pós-acidificação dos iogurtes conferida pela adição de CPS. No entanto, a pós-acidificação foi influenciada pela quantidade de *L. bulgaricus* empregada. O CPS potencializou o crescimento e viabilidade dos microrganismos *L. acidophilus* e *B. longum*.

Palavras-chave: concentrado protéico do soro de leite, iogurte probiótico, funcionalidade, microestrutura, análise sensorial, viabilidade dos fermentos.

SUMMARY

The whey protein concentrate (WPC) has been used in several products due to its functional properties. The fat-free yogurt shows poor consistency and syneresis and the WPC is known as a fat substitute. The present work was divided in four studies. The first one aimed at the evaluation of the texture profile, water holding capacity and appearance of acid WPC gels. In the second one we did a screening of different protein perceptual addition and combinations of WPC and skim milk powder (SMP) to produce a fat-free yogurt with similar texture properties and syneresis of the control (full fat yogurt with SMP addition). The third study looked at the fermentation kinetics, texture profile, syneresis, microstructure and sensorial analysis of yogurts with 5% protein addition in the following proportions of WPC and SMP: 1:0, 1.5:0.5, 1:1, 0.5:1.5, 0:1. The objective of the fourth study was to evaluate the effect of WPC addition on the probiotic cultures viability, texture profile, postacidification and syneresis along the shelf life of fat-free yogurts; and also, the sensory characteristics of the products. It was concluded that the WPC acid gels, made at higher protein concentration, time and temperature of denaturation had the tendency of been harder and more cohesive, springy, gummy, and with better water holding capacity. At pH 4.0 the gels were springier, yellowier and with more opacity and higher water holding capacity. On the other hand, the gels made at pH 4.9 to 5.2 were harder, shinier, more cohesive and gummy. The fat-free yogurts with similar instrumental texture profile, syneresis and sensory properties (appearance, flavor, texture and overall impression) to the control were obtained by the formulation of fat-free yogurt added by 5% protein, with SMP:WPC at 1.5:0.5. The WPC shortened the yogurt fermentation time. The microstructure was very similar among the yogurts, although the total solids of the samples varied among 13.8 to 21.8%. During the storage the firmness, gumminess and water holding capacity were intensified. The yogurt with *L. acidophilus* showed more syneresis, however, the WPC addition diminished this tendency. It was not observed a significant variation on the yogurt postacidification due WPC addition. However postacidification was a function of concentration of *L. bulgaricus* added to

the culture. The WPC intensified the growth and viability of *L. acidophilus* and *B. longum*.

Key words: whey protein concentrate, yogurt, functionality, microstructure, sensorial evaluation and starters viability.

INTRODUÇÃO

Modificações consideráveis nos hábitos alimentares das pessoas têm ocorrido devido a mudanças no estilo de vida e particularmente pelo aumento da consciência sobre dieta e saúde. A indústria de laticínios procurou lançar no mercado produtos de baixo teor de gordura (Hall, 1992).

O consumo de iogurte vem aumentando em vários países do mundo, inclusive no Brasil (Teixeira *et al.*, 2000). O iogurte desnatado representa uma importante parcela do mercado, especialmente consumido por indivíduos com excesso de peso, dislipidemias, diabetes, cardiopatias, entre outros. A aceitabilidade desse produto desnatado depende de sua textura e corpo que, por conter reduzida quantidade de sólidos, necessita de estabilizantes para melhoria de textura e redução da separação de soro (Sivieri e Oliveira, 2002).

O concentrado protéico do soro de leite (CPS) vem sendo aplicado em diversos produtos dietéticos devido às suas propriedades funcionais tecnológicas, entre as quais, a de agir mimetizando a gordura.

No estudo de Barrantes *et al.* (1994), foi observado o efeito da substituição de gordura por proteína do soro microparticulada, na qualidade de iogurte natural de consistência firme.

Atribui-se ao CPS ação hipocolesterolêmica. Beena e Prasad (1997) observaram diminuição de colesterol-LDL em ratos alimentados com iogurte fortificado com proteínas do soro de leite.

O CPS tem sido, ainda, apontado como estimulador do crescimento de culturas lácticas. No trabalho de Bury *et al.* (1998), a suplementação do meio de cultura com CPS refletiu em acidificação mais rápida e aumento do número de células de *L. bulgaricus* 11842 e *S. thermophilus* ST20. Dave e Shah (1998), observaram aumento acima de três ciclos logarítmicos na contagem de bifidobactérias nos iogurtes suplementados com CPS.

Outra tendência do mercado é a produção de iogurtes e leites fermentados probióticos aos quais se atribui benefícios fisiológicos para consumidores regulares, devido a alteração qualitativa na microflora destes indivíduos.

Segundo Kailasapathy e Supriadi (1996) fatores que influenciam na microbiota intestinal são a dieta, uso de medicamentos (antibióticos), estresse e idade. Epitélio intestinal íntegro e com microflora adequada representa uma barreira às bactérias patogênicas, antígenos e outras substâncias nocivas (Salminen *et al.* 1998). Em pessoas saudáveis essa barreira é estável, protegendo o hospedeiro, preservando a função intestinal e conferindo resistência imunológica (Holzapfel *et al.*, 1998).

Dentre os diversos efeitos benéficos do consumo regular de iogurtes probióticos diversos autores indicam a redução do colesterol e da concentração de triglicerídeos plasmáticos (Arunachalam, 1999, Gilliland *et al.*, 1995, Brashears e Gilliland, 1995, Lourens-Hattingh e Viljoen, 2001, Scheinbach, 1998, Schrezenmeir e Vrese, 2001, Shahani e Chadán, 1979).

Portanto, o consumo de um iogurte probiótico desnatado adicionado de CPS seria potencialmente recomendado para indivíduos com hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia.

Associado à funcionalidade fisiológica do CPS atribuída pela literatura correlata, as propriedades de melhorar a textura, diminuir a dessoragem e aumentar a viabilidade dos fermentos probióticos seriam de grande interesse para a indústria lática.

Objetivou-se, com a pesquisa composta por quatro experimentos conduzidos em cascata, avaliar:

1. a influência das variáveis concentração de proteína, pH, temperatura e tempo de desnaturação sobre o perfil de textura, capacidade de retenção de água e aparência de géis ácidos de CPS, através de sistema modelo;
2. avaliar diferentes formulações de iogurte desnatado adicionado de CPS e leite em pó desnatado (LPD) visando alcançar propriedades de textura e sinérese semelhantes ao iogurte integral adicionado apenas de LPD;

3. obter a curva de fermentação, as propriedades de textura, retenção de água, capacidade tamponante, microestrutura e propriedades sensoriais da melhor formulação - obtida no estudo anterior - de iogurte desnatado; e
4. avaliar a influência do CPS na viabilidade das culturas ácido-láticas e probióticas, no perfil de textura e dessoragem ao longo da vida-de-prateleira dos iogurte.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Soro de Leite

O soro de leite é um subproduto da indústria de laticínios que vem despertando o interesse de inúmeros pesquisadores em todo o mundo devido à sua potencialidade nutricional, funcional e econômica.

A qualidade nutricional das proteínas do soro de leite é inquestionável. O Índice de Eficiência Protéica (PER) e Valor Biológico (VB) dessas proteínas superam os obtidos pelas caseínas, especialmente por serem ricas em aminoácidos sulfurados (Antunes, 2003, Swaisgood, 1996). Atribuem-se também às proteínas do soro de leite possíveis atividades anti-câncer, hipocolesterolêmica, anti-inflamatória, de proteção e reparo das células entéricas, entre outras (McIntosh et al., 1998). Estudos recentes apontaram ainda ação imunomoduladora (Moreno, 2002), antiulcerogênica (Rosaneli, 2002) e para os hidrolisados protéicos ação anti-hipertensiva (Costa, 2004).

O soro de leite, na forma de concentrados protéicos, vem sendo aplicado pela indústria de alimentos na confecção de produtos dietéticos, nos quais age como substituinte da gordura. Um exemplo é o soro de leite microparticulado, conhecido com o nome comercial de *Simplese®* que vem sendo aplicado como ingrediente de vários produtos *light*. Barrantes *et al.* (1994) utilizaram Simplese 100® como substituto de gordura em iogurte natural de consistência firme.

As proteínas do soro apresentam inúmeras propriedades funcionais de interesse industrial. Cita-se, segundo Antunes (2003), que a β -Lg possui excelente propriedade gelatinizante, a α -La tem a capacidade de formar espuma similar à da clara de ovo, a lactoferrina e lactoperoxidase apresentam propriedades bacteriostáticas.

A prática usual dos laticínios é de descartar o soro de leite, resultante da produção de queijos, em esgotos ou mananciais. Embora contendo ainda cerca de 0,8% de proteínas este sub-produto é muito rico em água e lactose (~94% e 4,5%, respectivamente) e os custos com tecnologia para concentrá-lo, especialmente por ultrafiltração, são elevados. Porém, quando os laticínios investem no aproveitamento e concentração do soro de leite acabam se favorecendo das propriedades funcionais das proteínas que o compõem. O CPS pode conferir propriedades de interesse em iogurtes, cremes de leite, manteigas, requeijões, entre outros, que nas versões *light* apresentam custo diferenciado. Além de agregar valor às nobres proteínas, diminui-se a quantidade de efluentes lançados no meio ambiente, pois o soro de leite é muito poluidor, devido à sua alta demanda biológica de oxigênio. Segundo Antunes (2003), 0,1Kg de soro possui o poder poluente de uma pessoa, portanto, 1 tonelada equivaleria à poluição gerada por 10 mil indivíduos.

1.1 Classificações dos Concentrados Protéicos do Soro de Leite

Os concentrados protéicos de soro de leite podem ser classificados quanto ao processo de obtenção e quanto ao teor de proteínas, segundo as Tabelas 1 e 2, respectivamente.

O soro doce (*soft*) é originado da coagulação do leite por ação da renina em pH 6,6, na manufatura de queijo Cheddar, enquanto que o soro ácido (*acid*) é obtido na produção de queijos frescos como Cream Cheese, Camembert e Petit Suisse, após coagulação ácida do leite e no caso do queijo Cottage, seguido de aquecimento da massa (Cayot e Lorient, 1997).

Tabela 1. Composição dos soros de leite *in natura* obtidos por ação enzimática e por acidificação do leite

Parâmetro	Soro doce	Soro ácido
pH	6,3	4,6
Proteínas (%)	0,82	0,75
Lipídios (%)	0,07	0,03
Lactose (%)	4,77	4,71
Ácido láctico (%)	0,15	0,55
Cinzas (%)	0,53	0,69

Fonte: Morr e Ha (1993), adaptado

O soro de leite *in natura* seco é denominado soro em pó e contém em média 12,5% de proteínas. Por ser muito rico em lactose (74%) e cinzas (8%) sua funcionalidade tecnológica é restrita.

Quando o percentual de proteínas atinge entre 35 e 80% são obtidos os concentrados protéicos de soro (CPS) e acima de 90% os isolados protéicos de soro (IPS). Para obtenção dos CPSs são empregadas as técnicas de ultrafiltração e diafiltração, enquanto os IPSs são processados por troca iônica (Kilara, 1994).

Outras técnicas podem ser ainda aplicadas para obtenção de soro em pó desmineralizado, desengordurado, deslactosado, com baixa contagem de microrganismos, entre outros (Bird, 1996, Kilara, 1994).

Tabela 2. Composição dos concentrados protéicos do soro com diferentes percentuais de proteína

Constituintes	Concentrado protéico de soro de leite (%)			
	35	50	65	80
Umidade (%)	4,6	4,3	4,2	4,0
Proteínas (%)	36,2	52,1	63,0	81,0
Lactose (%)	46,5	30,9	21,1	3,5
Lipídios (%)	2,1	3,7	5,6	7,2
Cinzas (%)	2,1	3,7	5,6	7,2

Fonte: Kilara (1994), com adaptações

1.2 Características Químicas e Físicas das Proteínas do Soro de Leite

Algumas das características químicas e físicas das proteínas do soro de leite estão listadas na Tabela 3.

Tabela 3. Características químicas e físicas das principais proteínas do soro de leite bovino

Característica	β -lactoglobulina	α -lactoalbumina	Albumina do soro bovino	Imunoglobulinas
Massa molecular (g/mol)	18.362	14.174	69.000	150.000 - 1.000.000
Total resíduos/mol	162	123	582	>1000
Ligações dissulfídicas/mol	2	4	17	4.x
Função tiol/mol	1	0	1	-
Ponto Isoelétrico	5.2	4.5 - 4.8	4.7 - 4.9	5.5 - 8.3

Fonte: Cayot e Lorient (1997), com modificações.

As duas principais proteínas do soro (β -Lg e α -La) são moléculas pequenas; elas perfazem cerca de 50% e 20%, respectivamente, do total de proteínas do soro (Cayot e Lorient, 1997).

As três frações protéicas α -La, β -Lg e BSA ocorrem naturalmente no soro como proteínas globulares organizadas em uma estrutura tridimensional compacta, na qual as cadeias laterais de aminoácidos hidrofóbicos reativos estão localizados no interior da proteína, ficando a maior parte das cadeias laterais polares no exterior (Aguilera, 1995). O estado conformacional globular dessas proteínas garante que elas permaneçam solúveis nos seus respectivos pontos isoelétricos (Morr e Ha, 1993).

Dentre as principais características das proteínas do soro, a presença de aminoácidos sulfurados permite que elas formem ligações covalentes intermoleculares durante o processamento térmico de soluções de CPS (Morr e Ha, 1993). Mangino *et al.* (1987) observaram correlação positiva entre a firmeza do gel e a quantidade de grupos SH livres. Conforme observado na Tabela 3 a β -Lg e BSA nativas apresentam ambas um grupamento SH por mol.

As proteínas do soro de leite apresentam diversas propriedades funcionais tecnológicas, tais como solubilidade, gelatinização, emulsificação, formação de

espuma entre outros (Morr e Ha, 1993). Citam-se algumas das aplicações na indústria de alimentos: produtos de panificação, lácteos, produtos de confeitaria, cárneos, sopas, molhos para salada, alimentos infantis, bebidas para atletas e dietas enterais (Jost *et al.* 1999, Gupta e Thapa, 1991).

2. Iogurte

No século XIX *Metchnikoff* postulou a “teoria da longevidade” associada ao consumo de iogurte (Rasic & Kurmam, 1978). Embora essa teoria tenha sobreestimado o real valor do iogurte, estimulou extensivos estudos sobre o tema. Hoje se sabe que apenas iogurtes e leites fermentados contendo fermentos probióticos podem ser considerados “funcionais”.

O iogurte é obtido do leite através da ação protocooperativa das duas bactérias homofermentativas *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* que transformam lactose em ácido láctico (Rasic e Kurmann, 1978).

O consumo de iogurte é mais vantajoso que o de leite sob alguns aspectos: apresenta maior digestibilidade (após a primeira hora do consumo cerca de 90% do iogurte é digerido e apenas 30% do leite), promove absorção mais eficiente de alguns minerais e melhora a tolerância à lactose (Salji, 1989, Lee *et al.*, 1988, Shahani e Chadán, 1979). Em geral o iogurte apresenta um percentual de lactose equivalente ao do leite, pois embora parte deste açúcar seja convertido em glicose e galactose pela ação das culturas lácticas, a adição de leite em pó para aumentar o teor de sólidos eleva o teor de lactose. A melhora da digestibilidade deste dissacarídeo ocorre em função da atividade de lactase conferida pela presença das culturas lácticas (Deeth e Tamime, 1981).

Durante a fermentação do iogurte algumas vitaminas (B2, B12, C) são consumidas enquanto que outras (ácido fólico, niacina) são sintetizadas ativamente (Rasic e Kurmann, 1978, Deeth e Tamime, 1981).

Existe no comércio diversos tipos de iogurte. Algumas das classificações são: iogurte de consistência firme (*set*), batido (*stirred*), líquido (*fluid*), natural,

adicionado de frutas, integral, desnatado, semi-desnatado, probiótico, etc... (Rasic e Kurmann, 1978, Tamime e Deeth, 1980, Tamime e Robinson, 1991).

2.1 Propriedades Reológicas de iogurte

Segundo Tamime e Deeth (1980) iogurte de consistência firme é obtido quando a fermentação do leite é transcorrida dentro da própria embalagem e o iogurte produzido apresenta massa semi-sólida. Por outro lado, iogurte batido é resultante da fermentação em tanques, seguida de ruptura do gel antes do resfriamento e embalagem do produto. O iogurte líquido é considerado o iogurte batido de baixa viscosidade (teor reduzido de sólidos totais).

Dois fatores são de grande influência nas características de textura do iogurte: a adição de sólidos e o tratamento térmico (Rasic e Kurmann, 1978).

Alguns dos ingredientes que acrescentados ao leite aumentam a firmeza do iogurte são: o leite em pó integral ou desnatado, soro ou concentrado protéico do soro de leite, caseinato, amido modificado, pectina, gelatina e gomas (Rasic e Kurmann, 1978, Tamime e Robinson, 1991, De Vuyst e Degeest, 1999).

Alguns fermentos lácticos produzem exopolissacarídeos que desempenham importante papel nas características reológicas tais como textura e corpo dos leites fermentados (De Vuyst e Degeest, 1999).

O tratamento térmico do leite promove agregação proporcionando géis mais firmes e diminuindo o grau de acidificação necessário para provocar a associação da matriz no iogurte (Haque *et al.*, 2001). A adsorção das proteínas do soro às micelas de caseína, mediada pelo aquecimento do leite, é fundamental nas propriedades físicas e químicas das micelas e conseqüentemente influencia na textura do iogurte (Mottar *et al.*, 1989).

Iogurtes desnatados tendem a apresentar textura mais frágil e quebradiça, portanto, a quantidade e qualidade dos sólidos acrescentados à mistura-base, bem como o tratamento térmico subsequente são de fundamental importância para garantir um produto de alta qualidade.

2.2 Sinérese de iogurte

Durante a fermentação do leite o pH diminui gradualmente até cerca de 4,5, ocorrendo desestabilização das micelas que se agregam formando rede tridimensional na qual o soro é aprisionado (Jaros *et al.*, 2002).

Segundo Dannenberg e Kessler (1988), os rearranjos na rede produzidos por forças atrativas entre as moléculas de caseína ou micelas agrupadas podem levar à formação de ligações intermoleculares adicionais e conseqüentemente a contração do gel com expulsão de líquido. Esse fenômeno, chamado sinérese é, portanto, causado pela liberação espontânea de água do gel acompanhada pela redução do seu volume e intensificado por mudanças na temperatura, valor de pH e fatores mecânicos (Dannenberg e Kessler, 1988).

A suscetibilidade à sinérese tende a diminuir com o aumento da matéria sólida do iogurte (Jaros *et al.*, 2002).

Durante o aquecimento do leite, ou preparações à base de leite, ocorre desnaturação da β -lactoglobulina e sua associação com a κ -caseína, presente primordialmente na superfície da micela, através de ligações dissulfídicas, e provavelmente entre α -lactoalbumina e α_{s2} -caseína (Dalglish, 1997, Fox e McSweeney, 1998). Com tratamento térmico do leite diminui a susceptibilidade a sinérese dos géis lácteos, o que é desejável para produção de iogurtes, mas desfavorável na manufatura de queijos.

2.3 Microestrutura de iogurte

O iogurte de consistência firme apresenta estrutura tridimensional ininterrupta composta por cadeias e agrupamentos (*clusters*) de micelas de caseína, enquanto o iogurte batido é caracterizado por poucas cadeias e quantidade maior de agrupamentos de micelas ligados por pequenas fibras (Kalab, 1979).

O estado de solvatação das micelas de caseína e a extensão da desnaturação das proteínas do soro durante o aquecimento do leite são

responsáveis por estruturas específicas desenvolvidas no iogurte (Kalab *et al.* 1976). Segundo esses autores estruturas mais abertas, formadas por micelas maiores, caracterizam iogurtes mais macios e sujeitos a sinérese.

Os ingredientes adicionados à mistura-base podem conferir alterações na ultraestrutura de iogurtes. No estudo de Modler e Kalab (1983), no qual se avaliou a estabilização de iogurtes desnatados por diversos ingredientes à base de caseína e proteínas do soro do leite por microscopia eletrônica de varredura (SEM) e de transmissão (TEM), foram observadas diferenças entre as amostras. Os iogurtes fortificados com leite em pó desnatado e proteínas do leite concentradas apresentaram as micelas de caseína unidas por poucas ligações; enquanto caseinato de sódio induziu a formação de micelas extensivamente coalescidas. Por outro lado, os iogurtes preparados com concentrados protéicos do soro do leite diferiram dos demais pela presença de espaços intermicelares com proteínas floculadas.

2.4 Análise Sensorial de iogurte

Muir e Hunter (1992), desenvolveram um vocabulário de termos sensoriais para avaliar iogurtes, com oito termos descritores para o odor, doze para sabor, quatro para sabor residual e oito para textura.

Os iogurtes adicionados de açúcar, mel, polpa de frutas, entre outros, apresentam grande aceitação pelos consumidores em geral. Por outro lado, os iogurtes não adicionados destes ingredientes – denominados naturais – são consumidos por um público mais seletivo. A versão “desnatado” também apresenta nicho restrito de mercado, geralmente entre consumidores adultos ou idosos.

Segundo Kähkönen e Tuorila (1999), as modificações nas propriedades sensoriais dos alimentos causadas pela redução na quantidade de gordura são difíceis de evitar. Os consumidores freqüentemente identificam modificação no perfil sensorial e menor prazer em consumir produtos com redução de gordura (Kähkönen e Tuorila, 1999). Portanto, a aceitação do iogurte desnatado tende a ser menor.

Além dos ingredientes adicionados à mistura-base, outros fatores podem influir nas características organolépticas dos produtos. No estudo de Martin *et al.* (1999), foi observado efeito importante da combinação de fermentos lácteos, temperatura de incubação e pH final nas propriedades sensoriais de iogurtes desnatados. Segundo Marshall e Cole (1983), o leite acidificado por *L. acidophilus* é caracterizado por aroma pobre, devido ao fato desse microrganismo possuir uma álcool desidrogenase que converte o acetaldeído – o principal componente do aroma de iogurte – em álcool.

2.5 Iogurte Probiótico

O iogurte probiótico é um iogurte “funcional”. O conceito de alimentos funcionais provém da hipótese de que a dieta possa controlar e modular várias funções orgânicas, contribuindo para a manutenção da saúde e reduzindo o risco de aparecimento de doenças (Borges, 2001).

As bactérias lácticas clássicas na produção de iogurte - *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* - utilizam a lactose como substrato energético com liberação de ácido láctico. Essas culturas não resistem às condições adversas do trato digestivo (sensíveis à bile) e são incapazes de colonizar o intestino humano. Ao contrário, as culturas probióticas, fornecem efeitos terapêuticos ao homem. Para isso precisam estar viáveis no alimento durante a vida-de-prateira e serem ingeridas com frequência (Schrezenmeir e Vrese, 2001). Alguns dos microrganismos mais utilizados para iogurtes funcionais são *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacteria ssp* (Tamime e Deeth, 1980).

As culturas probióticas, por apresentarem baixa atividade proteolítica, crescem mais vagarosamente no iogurte, fazendo-se necessário suplemento exógeno de peptídeos e aminoácidos para seu crescimento ótimo (Shihata e Shah, 2000). Por isso, para produção de iogurte probiótico, também podem ser incorporadas culturas lácticas as quais possuem complexo sistema de proteinases e peptidases (Shihata e Shah, 2000).

Em humanos, as bifidobactérias são consideradas benéficas por produzirem ácido láctico, acético e pequena quantidade de ácido fórmico, diminuindo o pH do cólon e inibindo a proliferação de patógenos (Hughes e Hoover, 1991, Ibrahim e Bezkorovainy, 1994). Bullen e Willis (1971), citados por Fox e Flynn (1992), reportaram que crianças alimentadas exclusivamente com leite materno apresentam pH médio nas fezes de 5,1, enquanto que das que recebem mamadeira o valor é de 6,4. Isto se deve à microflora intestinal das primeiras ser constituída preferencialmente de bifidobactérias (até 99%). No outro extremo, os idosos, tendem a apresentar populações baixas de bifidobactérias, enquanto que o número de bactérias patogênicas - tais como coliformes, enterobactérias e clostrídeos – tende a aumentar (Shah, 1997).

Atualmente, a Organização Mundial da Saúde (FAO/WHO, 2001), preconiza a implementação de estratégias alternativas para controle de patologias, medidas tais que explorem o potencial profilático e terapêutico das bactérias probióticas.

Existem evidências de benefícios relacionados ao consumo de probióticos que estão em fase de estudo por diversos grupos de pesquisa. São eles: 1) redução de infecção por *Helicobacter pylori*, que está associado a gastrites e úlceras pépticas (Cruchet *et al.*, 2003, Marteau *et al.*, 2001); 2) redução de sintomas de alergias alimentares (Salminen *et al.* 1998); 3) regularização da função intestinal, combatendo a obstipação intestinal (Arunachalam, 1999); 4) atenuação da síndrome do intestino irritável e doença de Crohn (FAO/WHO, 2001, Marteau *et al.*, 2001, Salminen *et al.* 1998); 5) eliminação dos sintomas da intolerância à lactose (Lourens-Hattingh e Viljoen, 2001, Salminen *et al.*, 1998, Scheinbach, 1998, Vrese *et al.*, 2001); 6) efeitos benéficos no metabolismo mineral, particularmente na densidade e estabilidade óssea (Arunachalam, 1999); 7) prevenção do câncer de cólon e outros tipos de câncer (Arunachalam, 1999, FAO/WHO, 2001, Marteau *et al.*, 2001, Salminen *et al.* 1998, Wolloski, *et al.*, 2001); 8) redução do colesterol e concentração de triglicerídeos plasmáticos (Arunachalam, 1999, Gilliland *et al.*, 1985, Lourens-Hattingh e Viljoen, 2001, Scheinbach, 1998, Schrezenmeir e Vrese, 2001, Shahani e Chadani, 1979); 9)

resistência à infecções do trato urogenital (Arunachalam, 1999, Reid, 2001) e outros.

Segundo Schrezenmeir e Vrese (2001), os benefícios à saúde que estão bem estabelecidos pela literatura atualmente são: 1) diminuição da frequência e duração da diarreia associada ao uso de antibióticos (*Clostridium difficile*), infecção por rotavírus, quimioterapia, e, em menor grau, diarreia do viajante; 2) estimulação humoral e imunidade celular; e 3) diminuição de metabólitos desfavoráveis como amônia e enzimas pró-carcinogênicas do cólon.

A atitude dos consumidores em relação às culturas probióticas é positiva (Bruhn *et al.*, 2002). No entanto, segundo os mesmos autores, o público consumidor gostaria que fosse veiculado nos rótulos dos produtos a quantidade e a frequência recomendada de consumo. Bruhn e Bruhn (2000), afirmam que quantidade e frequência de consumo necessárias para garantir efeitos benéficos está ainda sob investigação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILERA, J. M. Gelation of whey proteins. **Food Technology**, v. 49, n. 10, p. 83-89, 1995.

ANTUNES, A. J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino**, 2003, Barueri: Manolo, 135p.

ARUNACHALAM, K. D. Role of bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. **Nutrition Research**, v. 19, n. 10, pp. 1559-1597, 1999.

BARRANTES, E., TAMIME, A. Y., MUIR D. D., SWORD, A. M. The effect of substitution of fat by microparticulate whey protein on the quality of set-type, natural yogurt. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v. 47, n. 2, p. 61-68, 1994.

BEENA, A., PRASAD, V. Effect of yogurt and bifidus yogurt fortified with skim milk powder, condensed whey and lactose-hydrolyzed condensed whey on serum cholesterol and triacylglycerol levels in rats. **Journal of Dairy Research**, v. 64, n. 3, p. 453-457, 1997.

BEZKOROVAINY, A. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 399s-405s, 2001. Suplemento.

BIRD, J. The application of membrane systems in the dairy industry. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v. 49, n. 1, p. 16-23, 1996.

BORGES, V. C. Alimentos funcionais: prebióticos, probióticos, fitoquímicos e simbióticos. In: WAITZBERG, D. (Ed). **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**, 2001. São Paulo:Atheneu, vol. 2, 3ª edição, p. 1495-1509, 2001.

BURY, D., JELEN, P., KIMURA, K. Whey protein concentrate as a nutrient supplement for lactic acid bacteria. **International Dairy Journal**, v. 8, n. 2, p. 149-151, 1998.

BRASHEARS, M. M., GILLILAND, S. E. Survival during frozen and subsequent refrigerated storage of *Lactobacillus acidophilus* cells as influenced by the growth phase. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 8, p. 2326-2335, 1995.

BRUHN, C. M. BRUHN, J. C. Probiotics: consumer attitudes. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 55, p. 101, 2000.

BRUHN, C. M. BRUHN, J. C., COTTER, A., GARRETT, C., KLENK, M., POWELL, C., STANFORD, G., STEINBRING, Y., WEST, W. Consumer attitudes toward use of probiotic culture. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 5, p. 1969-1971, 2002.

CAYOT, P., LORIENT, D. Structure-function relationships of whey proteins. In: DAMODARAN, S., PARAF., A. (Eds) **Food proteins and their applications**, 1997. New York: Marcel Dekker, p. 225-255.

COSTA, E. L. **Efeito do processamento térmico e enzimático na obtenção de hidrolisados do isolado protéico do soro de leite com atividade anti-hipertensiva**. 2004. 100f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

CRUCHET, S. OBREGON, M. C., SALAZER, G., DIAZ, E., GOTTELAND, M. E., GOTTELAND, M. Effect of the ingestion of a dietary product containing *Lactobacillus johnsonii* La1 on *Helicobacter pylori* colonization in children. **Applied Nutritional Investigation**, v. 19, n. 9, p. 716-721, 2003.

DANNENBERG, F., KESSLER, H. G. Effect of denaturation of β -lactoglobulin on texture properties of set-style nonfat yoghurt. 1. Syneresis. **Milchwissenschaft**, v. 43, n. 10, p. 632-635, 1988.

DALGLEISH, D. G. Structure-function relationship of caseins. In: DAMODARAN, S. PARAF, A. (Eds.) **Food Proteins and their Applications**. 1997.Marcel Dekker, New York, p.199-224, 1997.

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

DEETH, H. C., TAMIME, A. Y. Yogurt: nutritive and therapeutic aspects. **Journal of Food Protection**, v. 44, n. 1, p. 78-86, 1981.

DE VUYST, L., DEGEEST, B. Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 23, n. 2, p. 153-177, 1999.

FAO/WHO, Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics. **Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria**. Disponível em: <http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/em/pobiotics.pdf> Acesso em: 27 out 2003.

FOX, P. F., FLYNN, A. Biological properties of milk proteins. In: FOX, P. F. (Ed) **Advanced dairy chemistry – 1. Proteins**. 1992. London: Chapman e Hall, 1992, p. 255-284.

FOX, P. F., McSWEENEY, P. L. H. **Dairy chemistry and biochemistry**, 1998. London: Blackie Academic and Professional, 476p, 1998.

GILLILAND, S. E., NELSON, C. R., MAXWELL, C. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 49, n. 2, p. 377-381, 1985.

GUPTA, V. K., THAPA, T. B. Application of whey protein concentrates in food industry: A review. **Indian Journal of Dairy Science**, v. 44, n. 1, p. 104-110, 1991.

HALL, D. M. Current markets for nutritionally adapted dairy foods. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v. 45, n. 3, p. 80-83, 1992.

HAQUE, A., RICHARDSON, R. K., MORRIS, E. R. Effect of fermentation temperature on the rheology of set and stirred yogurt. **Food Hydrocolloids**, v. 15, n. 4-6, p. 593-602, 2001.

HOLZAPFEL, W. H., HABERER, P., SNEL, J., SCHILLINGER, U., VELD, J. H. J. H. Overview of gut flora and probiotics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 41, n. 2, p. 85-101, 1998.

HUGHES, D. B., HOOVER, D. G. Bifidobacteria: their potential for use in american dairy products. **Food Technology**, v.45, n. 4, p. 75-83, 1991.

IBRAHIM, S. A., BEZKOROVAINY, A. Growth-promoting factors for *Bifidobacterium longum*. **Journal of Food Science**, v. 59, n. 1, p. 189-191, 1994.

JAROS, D., ROHM, H., HAQUE, A., BONAPARTE, C., KNEIFEL, W. Influence of the starter culture on the relationship between dry matter content and physical properties of set-style yogurt. **Milchwissenschaft**, v. 57, n. 6, p. 325-328, 2002.

JOST, R., MAIRE, J. –C., MAYNARD, F., SECRETIN, M. –C. Aspects of whey protein usage in infant nutrition, a brief review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 34, p. 533-542, 1999.

KAHKONEN, P., TUORILA, H. Consumer responses to reduced and regular fat content in different products: effects of gender, involvement and health concern. **Food Quality and Preference**, v. 10, n. 2, p. 83-91, 1999.

KALAB, M. Microstructure of dairy foods. 1. Milk products based on protein. **Journal of Dairy Science**, v. 62, n. 8, p. 1352-1364, 1979.

KALAB, M., EMMONS, D. B., SARGANT, A. G. Milk gel structure. V. Microstructure of yoghurts as related to the heating of milk. **Milchwissenschaft**, v. 31, n. 7, p. 402-408, 1976.

KALASAPATHY, K., SUPRIADI, D. Effect of whey protein concentrate on the survival of *Lactobacillus acidophilus* in lactose hydrolysed yoghurt during refrigerated storage. **Milchwissenschaft**, v. 51, n. 10, p. 565-569, 1996.

KILARA, A. Whey protein functionality. In: HETTIARACHCHY, N. S., ZIEGLER, G. R. (Eds) **Protein functionality in food systems**, 1994. New York: Marcel Dekker, p. 325-355.

LEE, H., FRIEND, B. A., SHAHANI, K. M. Factors affecting the protein quality of yogurt and acidophilus milk. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 12, p. 3203-3213, 1988.

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

MANGINO, M. E., KIM, J. H., DUNKERLEY, J. A., ZADOW, J. G. Factors important to the gelation of whey protein concentrates. **Food Hydrocolloids**, v. 1, n. 4, p. 277-282, 1987.

MARTIN, N. C., SKOKANOVA, J., LATRILEE, E., BEAL, C., CORRIEU, G. Influence of fermentation and storage conditions on the sensory properties of plain low fat stirred yogurts. **Journal of Sensory Studies**, v. 14, p. 139-160, 1999.

MARSHALL, V. M., COLE, W. M. Threonine aldolase and alcohol dehydrogenase activities in *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* and their contribution to flavour production in fermented milks. **Journal of Dairy Research**, v. 50, n. 3, p. 375-379, 1983.

McINTOSH, G. H., ROYLE, P. J., LEU, R. K., REGESTER, G. O., JONSON, M. A., GRINSTED, R. L., KENWARD, R. S., SMITHERS, G. W. Whey proteins as functional food ingredients? **International Dairy Journal**, v. 8, p. 425-434, 1998.

MARTEAU, P., DE VRESE, M. CELLIER, C. J., SCHREZENMEIR, J. Probiotic form gastrointestinal diseases with the use of probiotics. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 430s-436s, 2001. Suplemento.

MODLER, H. W., KALAB, M. Microstructure of yogurt stabilized with milk proteins. **Journal of Dairy Science**, v.66, n.3, p. 430-437, 1983.

MORENO, Y. M. F. **Influência das proteínas de soro de leite bovino no estado nutricional, composição corporal e sistema imune em coorte de crianças com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS)**. 2002. 105f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

MORR, C. V., HA, Y. W. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. **Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 431-476, 1993.

MOTTAR, J., BASSIER, A., JONIAU, M., BAERT, J. Effect of heat-induced association of whey proteins and casein micelles on yogurt texture. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 2247-2256, 1989.

MUIR, D. D., HUNTER, E. A. Sensory evaluation of fermented milks: vocabulary development and the relations between sensory properties and composition and between acceptability and sensory properties. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v. 45, n. 3, p. 73-80, 1992.

MARTEAU, P., VRESE, M. CELLIER, C. J., SCHREZENMEIR, J. Probiotic form gastrointestinal diseases with the use of probiotics. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 430s-436s, 2001. Suplemento.

RASIC, J. L., KURMANN, J. A. **Yogurt: scientific grounds, technology, manufacture and preparations**. v.1, 1978. Technical Dairy Publishing House, p.428.

REID, G. Probiotic agents to protect the urogenital tract against infection. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 437s-443s, 2001. Suplemento.

ROSANELI, C. F. **Atividade antiulcerogênica de um concentrado de soro de leite bovino em modelos experimentais com ratos**. 2002. 81f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

SALJI, J. P. The miracle food. **Food Science and Technology Today**, v. 3, n. 4, p. 228-231, 1989.

SALMINEN, S., OUWEHAND, A. C., ISOLAURI, E. Clinical applications of probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 563-572, 1998.

SCHEINBACH, S. Probiotics: functionality and commercial status. **Biotechnology Advances**, v. 16, n. 3, p. 581-608, 1998.

SCHREZENMEIR, J., VRESE, M. Probiotics, prebiotics and synbiotics – approaching and definition. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 361s-364s, 2001. Suplemento.

SHAH, N. P. Bifidobacteria: characteristics and potential for application in fermented milk products. **Milchwissneschaft**, v. 52, n. 1, p. 16-21, 1997.

SHAHANI, K. M., CHANDAN, R. Nutritional and healthful aspect of cultures and culture-containing dairy foods. **Journal of Dairy Science**, v. 62, p. 1685-1694, 1979.

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

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

SWAISGOOD, H. E. Characteristics of milk. In: FENNEMA, O. R. (Ed) **Food chemistry**, 1996. New York: Marcel Dekker, p. 841-878, 1996.

TAMIME, A. Y., DEETH, H. C. Yogurt: technology and biochemistry. **Journal of Food Protection**, v. 43, n. 12, p. 939-977, 1980.

TAMIME, A. Y., ROBINSON, R. K. **Yogurt ciencia y tecnología**, 1991. Zaragoza: Acribia, 367p.

TEIXEIRA, A.C. P, MOURTHÉ, K., ALEXANDRE, D. P., SOUZA, M. R., PENNA, C. F. A. M. Qualidade do iogurte comercializado em Belo Horizonte. **Leite e Derivados**, n. 51, p. 32-36, 2000.

VRESE, M., STEGELMANN, A., RICHTER, B, FENSELAU, S., LAUE, C., SCHREZENMEIR. Probiotic – compesantion for lactose insufficiency. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 421s-429s, 2001. Suplemento.

WOLLOWSKI, I., RESCKEMMER, G., POOL-ZOBEL, B. L. Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 451s-455s, 2001. Suplemento.

PRIMEIRO ESTUDO

PROPRIEDADES DOS GÉIS DE CONCENTRADO PROTÉICO DO SORO DE LEITE

RESUMO

A capacidade dos concentrados protéicos do soro de leite (CPS) de formar géis é uma propriedade funcional tecnológica de grande importância. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência das variáveis concentração de proteína, pH, temperatura e tempo de desnaturação, nos intervalos de 8 a 12%; 4,0 a 5,2; 81 a 89°C e 15 a 27 minutos, respectivamente, no perfil de textura, capacidade de retenção de água e aparência visual dos géis ácidos de CPS. O perfil de textura foi determinado em texturômetro TAXT2 e a capacidade de retenção de água avaliada através da umidade espremível dos géis. O delineamento estatístico foi um planejamento fatorial 2^4 completo. Os géis de CPS apresentaram os maiores valores de dureza, coesividade, elasticidade, gomosidade e capacidade de retenção de água, de maneira geral, nas maiores faixas de concentração protéica, tempo e temperatura de desnaturação. Com relação à variável pH, géis formados em pH 4,0 apresentaram-se mais elásticos, opacos, amarelados e com maior capacidade de retenção de água, enquanto que os géis formados em pH 4,9 a 5,2 foram mais firmes, coesos, gomosos e brilhantes.

Palavras-chave: concentrado protéico de soro de leite, gel, textura, retenção de água, Metodologia de Superfície de Resposta.

SUMMARY

The ability of whey protein concentrates (WPC) to form gel structures is an important technological functional property. The aim of this study was to evaluate the influence of protein concentration, pH, temperature and denaturation time, at 8 to 12%, 4.0 to 5.2, 81 to 89°C and 15 to 27 minutes, respectively, on texture profile and water holding capacity of WPC acid gels. The texture profile was evaluated by a texturometer TAXT2 and water holding capacity by expressible moisture. The statistic method applied was the factorial 2⁴ planning. The best results of hardness, cohesiveness, springiness, gumminess and water holding capacity were generally obtained with the higher levels of protein concentration, temperature and denaturation time. Concerning the variable pH, the range from 4.0 to 4.3 led to formation of gels with higher elasticity, opacity, yellow and water holding capacity, while samples prepared at pH 4.9 to 5.2 developed gels with higher hardness, cohesiveness, gumminess and shine.

Key words: whey protein concentrate, gel, texture, water holding capacity, Surface Response Methodology.

1. INTRODUÇÃO

Os concentrados protéicos do soro de leite (CPS) são sistemas multifuncionais que vêm sendo adicionados a diversos alimentos com o objetivo de modificar propriedades através de gelatinização, aumento de viscosidade, estabilização de emulsões ou espumas, entre outros.

A capacidade das proteínas do soro de leite de formar géis estáveis, quando em solução, através do aquecimento, constitui uma importante propriedade funcional (Morr e Ha, 1993). A reação inicial do processo de gelatinização envolve o enfraquecimento e quebra das pontes de hidrogênio e dissulfídicas desestabilizando a estrutura conformacional das proteínas. Posteriormente, ocorre polimerização das moléculas de proteína produzindo uma estrutura tridimensional capaz de imobilizar fisicamente grande parte do solvente, através de ligações dissulfídicas intermoleculares, interações hidrofóbicas e iônicas (Mangino, 1992). A integridade física do gel é mantida pelo contrabalanceamento das forças de atração e repulsão entre as moléculas de proteína e destas com o solvente circundante (Ziegler e Foegeding, 1990).

As propriedades dos géis de CPS induzidos termicamente são influenciadas por muitos fatores, tais como concentração de proteína, pH, temperatura e duração do tratamento térmico (Mangino *et al.*, 1987). Outros fatores, segundo Kohnhort e Mangino (1985) são interações iônicas, hidrofóbicas e sulfidrilas livres.

O pH, assim como a força iônica, pode alterar a distribuição das cargas entre as cadeias laterais das proteínas causando aumento ou diminuição das interações proteína-proteína (Gossett *et al.*, 1984). O CPS é composto por quatro frações protéicas principais que apresentam pontos isoelétricos de 5,2 (β -lactoglobulina), 4,2-4,5 (α -lactoalbumina), 4,7-4,9 (albumina do soro bovino) e 5,5-8,3 (imunoglobulinas). As proteínas do soro em sua forma nativa permanecem solúveis em seus pontos isolétricos, devido aos seus estados conformacionais globulares e compactos (Morr e Ha, 1993). O aquecimento de soluções de CPS em valores de pH próximos ao ponto isoelétrico, leva à formação de coágulos túrbidos e sujeitos a sinérese devido às forças atrativas intensas entre as

moléculas protéicas, resultando em géis frágeis e de reduzida elasticidade (Brandenberg *et al.*, 1992, Kinsella, 1984, Morr e Ha, 1993).

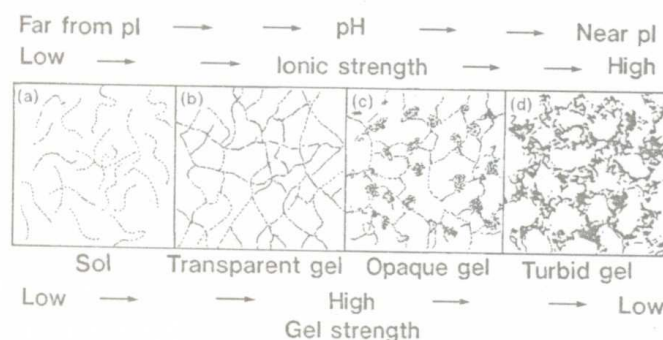


Figura 1.1 Modelo para formação de géis transparentes e opacos de ovalbumina. Fonte: Oakenfull *et al.*, 1997.

Conforme ilustrado na Figura 1.1 à medida em que o pH se afasta do ponto isoelétrico das proteínas em suspensão, forças eletrostáticas repulsivas dificultam a formação de agregados ao acaso, favorecendo a formação de polímeros lineares, resultando em géis translúcidos (Oakenfull *et al.*, 1997).

Com o aumento da concentração protéica ocorre modificação da textura dos géis, resultando em aumento da firmeza e intensificando a retenção de água pela matriz (Mangino, 1984, Schmidt *et al.*, 1978). As proteínas do soro de leite que apresentam melhores propriedades gelatinizantes são a β -lactoglobulina e a albumina do soro bovino (BSA). A primeira é de 10 a 20 vezes mais abundante nos produtos com soro lácteo sendo, portanto, considerada o principal agente gelatinizante (Aguilera, 1995). Esta propriedade deve-se a presença de grupos sulfidrilas livres (Rattray e Jelen, 1997).

Durante o aquecimento de soluções de CPS ocorre desnaturação das proteínas do soro, que são naturalmente globulares, expondo grupamentos reativos que poderão se envolver em ligações hidrofóbicas, pontes dissulfeto, interações iônicas e induzidas pelo cálcio. A ordem aparente de desnaturação das principais proteínas do soro individualmente é: Ig>BSA> β -La> α -Lb; todavia as

taxas de desnaturação são fortemente influenciadas pelo pH, composição iônica e concentração de sólidos totais (Morr e Ha, 1993). Temperaturas elevadas favorecem a formação de géis mais firmes (Gossett *et al.*, 1984). No entanto, segundo os mesmos autores, o aumento da firmeza não é função linear da temperatura.

O processo de gelatinização é completado pelo resfriamento da amostra em baixas temperaturas de estocagem, continuando o processo de polimerização protéica e interação com água adicional através da formação de pontes de hidrogênio (Brandenberg *et al.*, 1992, Morr e Ha, 1993).

Cooper *et al.* (1977), utilizando Metodologia de Superfície de Resposta investigaram o efeito da concentração de proteínas do soro, e adição de NaCl, CaCl_2 e sacarose na formação de gel. Boye *et al.* (1997), avaliaram o efeito do tempo e temperatura de aquecimento, pH, concentração de NaCl, sacarose e concentração de proteína de CPS, de marcas comerciais, nas características de firmeza do gel e capacidade de retenção de água.

Grande parte dos trabalhos publicados sobre gelatinização das proteínas de CPS enfocou faixa de pH abaixo do ponto isoelétrico das proteínas do soro (Cooper *et al.*, 1977, Moldler e Emmons, 1976, Shimada e Cheftel, 1988, Shimada e Cheftel, 1989) ou acima (Mangino *et al.*, 1987, Rattray e Jelen, 1997, Schmidt *et al.*, 1978, Shimada e Cheftel, 1988, Shimada e Cheftel, 1989). Neste trabalho, foi escolhida à faixa correspondente ao pI das principais proteínas do CPS (4,0 e 5,2) para verificar seu comportamento quando aplicado na produção de alimentos ácidos, tais como iogurtes. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da concentração de proteína, pH, temperatura e tempo de desnaturação sobre perfil de textura, a capacidade de retenção de água e aparência dos géis ácidos de CPS.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Amostra comercial de concentrado protéico de soro de leite (CPS) AlacenTM 392 foi adquirida da empresa New Zealand Milk Products e estocada a vácuo sob refrigeração ($6 \pm 2^{\circ}\text{C}$). Segundo informação do fabricante este CPS foi obtido a partir de soro doce (pH 6-6,2), ultrafiltrado, diafiltrado e seco por *spray drying*.

2.2 Métodos

2.2.1 Determinação da Composição Química Básica

As matérias primas foram avaliadas quanto a sua composição química básica segundo A. O. A. C. (1996): umidade por secagem em estufa a 105°C , proteínas totais pelo método micro-Kjeldahl (% de nitrogênio total multiplicado pelo fator 6,38), gordura pelo método Mojonnier e cinzas pelo método de incineração em mufla a 550°C . O percentual de lactose foi determinado por Felhing, de acordo com Lanara (1981).

2.2.2 Gelatinização das Proteínas de CPS

Os géis de CPS foram preparados segundo metodologia sugerida por Beuschel *et al.* (1992), com concentração protéica variando entre 8 a 12%, pH entre 4,0 a 5,2 e temperatura e tempo de desnaturação variando entre 81 a 89°C e 15 a 27 minutos, respectivamente. O ajuste de pH foi feito pela adição de HCl 1N. Para remover bolhas de ar, as soluções protéicas foram centrifugadas por 10 minutos em centrífuga Sorvall RC5C a $29 \times g$. Alíquotas de 10 mL de solução foram transferidas para tubos de vidro de 20 mm de diâmetro interno, vedados numa das extremidades por rolha de borracha e selados com plástico na outra extremidade. Após desnaturação térmica em banho-maria foram resfriadas em banho de água gelada por 5 minutos e armazenadas em geladeira ($6 \pm 2^{\circ}\text{C}$) por 20 horas. Os géis foram removidos dos tubos e amostras com 1 cm de altura foram cortadas em seis replicatas, utilizando-se os três resultados de menor coeficiente de variação para determinação do perfil de textura.

2.2.3 Perfil de Textura

A avaliação do perfil de textura foi segundo Friedman *et al.* (1963), utilizando texturômetro TA-XT2, com probe cilíndrico de acrílico de fundo chato de 20 mm de diâmetro e os resultados obtidos da curva força x tempo foram calculados pelo programa Texture Expert versão 1.11 para TPA (Texture Profile Analysis). A curva obtida para cada amostra é resultante de dois ciclos de compressão que são relativos a parâmetros mecânicos da amostra; sendo dureza, coesividade, elasticidade e gomosidade as características de interesse deste estudo. O primeiro pico expressa a dureza; coesividade é igual à área do segundo pico dividida pela área do primeiro pico; elasticidade é obtida pela diferença entre a distância medida do início do contato com a amostra até o início da segunda compressão, e uma constante obtida pela análise de um material completamente sem elasticidade (argila); e gomosidade é produto da dureza pela coesividade (Friedman *et al.*, 1963). As condições de medida foram padronizadas em calibre do probe 40 mm, força e velocidade de compressão de 5 g e 3 mm.s⁻¹, respectivamente.

2.2.4. Aspecto Visual

Para avaliar a aparência dos géis foram elaboradas as amostras dos pontos axiais (ver ensaios 20 a 27 da Tabela 1.3), seguindo-se comparação visual entre elas.

2.2.5. Capacidade de Retenção de Água (Umidade Espremível)

A capacidade de retenção de água dos géis, que consiste na quantidade de líquido expelido de um sistema protéico pela aplicação de uma força centrífuga, foi avaliada por umidade espremível (UE) segundo a metodologia proposta por Jauregui *et al.* (1981), com modificações de Beuschel *et al.* (1992). Amostras de gel ($1 \text{ g} \pm 0,15$) foram pesadas em papel filtro Whatman número 2 e centrifugadas

a 700 x g (2500 rpm em rotor SS34, centrífuga Sorvall RC5C) por 10 minutos a 6°C. A porcentagem de umidade espremível foi calculada através da diferença em peso entre o papel de filtro seco e úmido. Quanto maior a umidade espremível, ou seja, quanto maior a quantidade de líquido liberado, menor será a capacidade de retenção de água dos géis. Cada amostra foi analisada em seis replicatas, utilizando-se os três resultados de menor coeficiente de variação.

2.2.6. Planejamento Experimental

Para avaliação das características dos géis foi utilizado o Central Composite Design (Box e Draper, 1987), ou Metodologia de Superfície de Resposta.

Empregou-se um delineamento fatorial 2^4 completo, com 4 variáveis independentes em 2 níveis eqüidistantes (-1 e 1), três repetições no ponto central (nível 0) e acrescido de 8 pontos axiais ($-\alpha$ e α), onde $\alpha = \pm (2^n)^{1/4}$, sendo n o número de variáveis independentes (Neto *et al.*, 1995).

Na Tabela 1.1 estão apresentadas as variáveis independentes concentração de proteína do soro de leite, pH, temperatura e tempo de desnaturação em cinco níveis de variação.

Os pontos experimentais foram escolhidos baseados na literatura que cita temperaturas de 80 a 90°C, tempos de aquecimento de 20 a 30 minutos e pH em torno de 4,6 para o final da fermentação de iogurtes (Tamime e Robinson, 1991, El-Salam, *et al.*, 1991, Jaros *et al.*, 2002, Bhullar, *et al.*, 2002, Guirguis, *et al.*, 1984).

Duggan e Washorne (2003), bem como, Capellas e Needs (2003), aplicaram aquecimento a 85°C por 20 minutos na manufatura de iogurte; níveis centrais das variáveis temperatura e tempo de desnaturação do presente trabalho.

Tabela 1.1 Níveis e valores das variáveis independentes: concentração de CPS, pH, temperatura e tempo de desnaturação

Variáveis independentes	Codificadas	Níveis				
		- ∞	-1	0	+1	+ ∞
Concentração proteína (%)	p	8	9	10	11	12
Temperatura (°C)	T	81	83	85	87	89
Tempo (min)	t	15	18	21	24	27
pH	pH	4,0	4,3	4,6	4,9	5,2

2.2.7 Análise Estatística

Equações polinomiais de segunda ordem foram ajustadas para os dados experimentais. As variáveis não significativas a 95% de confiança foram colocadas no resíduo. O *software Statistica for Windows* versão V foi utilizado para calcular os coeficientes de regressão, análise de variância (ANOVA) e coeficientes de correlação do modelo, bem como para gerar as superfícies de resposta. A comparação das médias foi feita utilizando o teste de Tukey com o *software SAS* (versão 8.2, 2001).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição Química Básica

A composição centesimal determinada do CPS foi muito semelhante àquela expressa no rótulo do produto comercial (Tabela 1.2).

Tabela 1.2 Composição química básica do CPS AlacenTM 392 conforme o fabricante e determinada no experimento

Parâmetro	Expressa no rótulo		Determinada	
	%	%	s	cv (%) [*]
Cinzas	-	2,62	± 0,02	1,06
Umidade	4,5	5,7	± 0,3	5,14
Proteína	79,1	78,6	± 0,6	0,81
Gordura	5,75	5,96	± 0,09	1,64
Lactose	6,90	6,4	± 0,10	1,73

* cv : coeficiente de variação

— : não especificado

3.2 Comparação de Médias

Na Tabela 1.3 estão expressos os valores codificados dos 27 ensaios e as comparações das médias para as respostas dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade e umidade espremível, expressas em valor médio de três repetições. A variabilidade associada aos testes foi pequena, sendo aceito coeficiente de variação menor de 5% para capacidade de retenção de água e de 10% para as medidas de textura (devido à alta sensibilidade do equipamento).

Os maiores valores de dureza foram obtidos quando o percentual de proteína, temperatura e tempo se encontravam no nível superior (11%, 87°C e 24 minutos, respectivamente), ou seja, nos ensaios número 8 e 16. Nestes dois ensaios a variação de pH entre 4,3 e 4,9 não resultou em diferença significativa entre a dureza das amostras. Observando-se os pontos axiais de todas as variáveis dependentes (ensaios 20 a 27) identificou-se diferença significativa na dureza dos géis quando do nível inferior ($-\infty$) para o superior ($+\infty$) de todas as variáveis independentes (percentual de proteína de 8 para 12%, temperatura de 81 para 89°C, tempo de 15 para 27 minutos e pH de 4,0 para 5,2).

O gel mais elástico foi obtido no experimento número 8, no qual todas as variáveis independentes, a exceção do pH, se encontravam no nível superior (+1).

Os extremos de coesividade dos géis foram obtidos no pH 4,9 quando percentual de proteína, temperatura, tempo passaram respectivamente, de 9%, 83°C, 18 min. (ensaio 9) para 11%, 87°C, 24 min. (ensaio 16). Embora nos pontos axiais a passagem do nível $-\infty$ para $+\infty$, para todas as variáveis independentes, tenha refletido em aumento no valor de coesividade, diferença estatisticamente significativa foi observada apenas nos parâmetros temperatura e pH.

A variação de gomosidade entre as amostras foi muito semelhante à de dureza, da qual é produto (dureza x coesividade). O maior valor ($78,88 \pm 2,94$) foi obtido no nível +1 de todas as variáveis independentes (ensaio 16). Da mesma forma, do nível $-\infty$ para $+\infty$ (pontos axiais de todos os parâmetros) ocorreu aumento estatisticamente significativo, no nível de significância de 95%, na gomosidade dos géis de CPS.

Tabela 1.3 Planejamento fatorial 2⁴ completo e médias das respostas de firmeza, elasticidade, coesividade, gomosidade e capacidade de retenção de água de géis de CPS

ENSAIO	NÍVEIS				PERFIL DE TEXTURA				CRA ²	
	p	T	t	pH	Dureza (g)	Elasticidade ¹	Coesividade ¹	Gomosidade ¹	UE (%) ³	
1	9	83	18	4,3	37,07 ± 2,17 ^L	0,716 ± 0,01 ^{DEF}	0,329 ± 0,03 ^{GH}	12,17 ± 0,64 ^L	70,81 ± 1,69 ^{AB}	
2	11	83	18	4,3	57,86 ± 1,57 ^{JK}	0,790 ± 0,01 ^{ABCDEF}	0,326 ± 0,00 ^{GH}	18,87 ± 0,35 ^{JK}	62,96 ± 0,84 ^{GH}	
3	9	87	18	4,3	79,28 ± 3,91 ^{HI}	0,823 ± 0,00 ^{ABCDE}	0,327 ± 0,02 ^{GH}	25,90 ± 1,84 ^I	67,02 ± 2,15 ^{CDEF}	
4	11	87	18	4,3	127,05 ± 4,82 ^E	0,833 ± 0,04 ^{ABC}	0,359 ± 0,01 ^{EFGH}	45,64 ± 0,57 ^{EF}	62,4 ± 0,63 ^{GH0}	
5	9	83	24	4,3	45,76 ± 1,53 ^{KL}	0,761 ± 0,00 ^{CDEF}	0,324 ± 0,00 ^{GHI}	14,86 ± 0,51 ^{KL}	68,55 ± 1,20 ^{BCD}	
6	11	83	24	4,3	70,69 ± 2,25 ^{IJ}	0,780 ± 0,01 ^{BCDEF}	0,312 ± 0,00 ^{HI}	21,74 ± 1,23 ^{IJ}	62,40 ± 0,49 ^{GH}	
7	9	87	24	4,3	131,42 ± 4,90 ^{ED}	0,886 ± 0,02 ^{AB}	0,440 ± 0,00 ^{AB}	57,85 ± 3,01 ^{CD}	68,10 ± 0,95 ^{BCDE}	
8	11	87	24	4,3	179,46 ± 5,57 ^A	0,901 ± 0,01 ^A	0,405 ± 0,00 ^{ABCDEF}	72,81 ± 2,41 ^{AB}	62,03 ± 0,17 ^{GH}	
9	9	83	18	4,9	53,59 ± 3,69 ^K	0,679 ± 0,04 ^F	0,231 ± 0,02 ^J	12,37 ± 0,94 ^{KL}	67,45 ± 0,38 ^{CDEF}	
10	11	83	18	4,9	111,78 ± 5,01 ^F	0,775 ± 0,06 ^{BCDEF}	0,407 ± 0,01 ^{ABCDEF}	45,24 ± 2,31 ^{EF}	63,3 1 ± 1,42 ^{GH}	
11	9	87	18	4,9	90,56 ± 2,76 ^{GH}	0,769 ± 0,02 ^{CDEF}	0,411 ± 0,03 ^{ABCDE}	37,20 ± 1,82 ^{GH}	68,67 ± 0,43 ^{BCD}	
12	11	87	18	4,9	149,67 ± 5,17 ^{BC}	0,766 ± 0,06 ^{CDEF}	0,461 ± 0,00 ^{AB}	69,03 ± 1,18 ^B	65,07 ± 0,93 ^{EFG}	
13	9	83	24	4,9	84,71 ± 3,76 ^H	0,750 ± 0,03 ^{CDEF}	0,423 ± 0,01 ^{ABC}	35,81 ± 0,59 ^H	68,06 ± 0,75 ^{BCDE}	
14	11	83	24	4,9	136,52 ± 7,22 ^{CDE}	0,782 ± 0,04 ^{BCDEF}	0,450 ± 0,00 ^{AB}	61,40 ± 2,54 ^C	62,71 ± 0,22 ^{GH}	
15	9	87	24	4,9	99,49 ± 2,40 ^{GF}	0,769 ± 0,02 ^{CDEF}	0,447 ± 0,00 ^{AB}	44,54 ± 0,97 ^F	69,62 ± 0,59 ^{BCD}	
16	11	87	24	4,9	170,18 ± 5,78 ^A	0,776 ± 0,02 ^{BCDEF}	0,463 ± 0,00 ^A	78,88 ± 2,94 ^A	64,42 ± 0,31 ^{FG}	
17	10	85	21	4,6	102,90 ± 1,71 ^{GF}	0,825 ± 0,02 ^{ABCD}	0,403 ± 0,01 ^{ABCDEF}	41,49 ± 1,37 ^{FGH}	67,33 ± 0,31 ^{CDEF}	
18	10	85	21	4,6	104,26 ± 1,00 ^{GF}	0,849 ± 0,02 ^{ABC}	0,405 ± 0,00 ^{ABCDEF}	42,27 ± 0,99 ^{FGH}	67,52 ± 0,93 ^{BCDEF}	
19	10	85	21	4,6	104,45 ± 0,98 ^{GF}	0,835 ± 0,05 ^{ABC}	0,411 ± 0,03 ^{ABCDEF}	42,94 ± 4,03 ^{FG}	67,35 ± 1,17 ^{CDEF}	
20	8	85	21	4,6	78,79 ± 2,27 ^{HI}	0,763 ± 0,02 ^{CDEF}	0,362 ± 0,02 ^{DEFGH}	28,39 ± 2,43 ^I	72,99 ± 1,63 ^A	
21	12	85	21	4,6	155,22 ± 9,79 ^B	0,862 ± 0,01 ^{ABC}	0,376 ± 0,00 ^{CDEFG}	58,35 ± 3,54 ^{CD}	62,13 ± 1,07 ^{GH}	
22	10	81	21	4,6	53,78 ± 4,08 ^K	0,710 ± 0,05 ^{EF}	0,266 ± 0,01 ^{IJ}	14,31 ± 0,94 ^{KL}	70,30 ± 0,87 ^{ABC}	
23	10	89	21	4,6	143,50 ± 6,29 ^{BCD}	0,751 ± 0,01 ^{CDEF}	0,420 ± 0,02 ^{ABCD}	60,28 ± 3,10 ^C	67,57 ± 0,65 ^{BCDEF}	
24	10	85	15	4,6	56,38 ± 0,26 ^K	0,800 ± 0,02 ^{ABCDE}	0,313 ± 0,00 ^{HI}	17,67 ± 0,04 ^{JKL}	66,96 ± 0,86 ^{DEF}	
25	10	85	27	4,6	142,55 ± 4,94 ^{BCD}	0,761 ± 0,05 ^{CDEF}	0,352 ± 0,01 ^{FGH}	50,07 ± 0,36 ^{DE}	64,43 ± 1,85 ^{FG}	
26	10	85	21	4,0	78,06 ± 6,79 ^{HI}	0,813 ± 0,04 ^{ABCDE}	0,333 ± 0,02 ^{GH}	25,92 ± 2,31 ^I	60,55 ± 0,74 ^H	
27	10	85	21	5,2	127,50 ± 0,31 ^E	0,785 ± 0,02 ^{BCDEF}	0,435 ± 0,00 ^{ABC}	55,52 ± 0,88 ^{CD}	69,33 ± 1,22 ^{BCD}	

¹ medidas adimensionais

² capacidade de retenção de água, ³ unidade espremível

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente (p < 0,05)

Conforme a última coluna da Tabela 1.3 identificou-se forte relação do percentual de proteína com a capacidade de retenção de água dos géis analisados. Comparando-se os ensaios nos quais o nível de proteína passou de 9 para 11% a umidade espremível diminuiu significativamente. O maior valor de umidade espremível ($72,99 \% \pm 1,07$) foi obtido no ensaio 20, onde temperatura, tempo e pH estiveram no nível central (85°C , 21 min. e 4,6) e percentual de proteína no - α (8%). Nos pontos axiais observou-se que a capacidade de retenção de água aumentou no pH inferior, diferentemente das demais variáveis independentes.

3.3 Análise de Efeitos

A análise dos efeitos das variáveis do processo nas respostas é importante passo no planejamento experimental. Normalmente é calculado sem considerar os pontos axiais (fatorial de 2 níveis).

Conforme a Tabela 1.4, o efeito na dureza dos géis de CPS foi significativo para todas as variáveis independentes e suas interações duas a duas, nas faixas avaliadas, a 95% de confiança. A temperatura foi a variável que proporcionou maior efeito na dureza dos géis de CPS, seguido da concentração de proteínas. O estudo de Molder e Emmons (1977), confirma que a firmeza do gel de CPS é intensificada pelo aumento na concentração protéica. Tempo de desnaturação e pH tiveram efeitos proporcionalmente semelhantes. Quando as quatro variáveis independentes passaram do nível inferior (-1) para o superior (+1) ocorreu acréscimo da dureza entre 23,48 a 52,46g.

A variável dependente elasticidade ao passar do nível -1 para +1 na temperatura (de 83 para 87°C) apresentou aumento na ordem de 0,046, e no pH (de 4,3 para 4,9) apresentou diminuição na ordem de 0,036. A concentração de proteína, na faixa avaliada, não apresentou efeito significativo na resposta elasticidade, confirmando resultado obtido por Ziegler e Foegeding (1990) com géis de CPS.

Para a coesividade apenas as variáveis temperatura e pH apresentaram efeito significativo e positivo a 95% de confiança. O efeito mais pronunciado foi do pH, sendo as amostras ajustadas para pH 4,9 mais coesas.

Tabela 1.4 Efeitos das variáveis concentração de proteína, pH, temperatura e tempo de desnaturação nas respostas de dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade e umidade espremível de géis de CPS

Variáveis	Efeitos				
	Dureza(g)	Elasticidade ¹	Coesividade ¹	Gomosidade ¹	UE ² (%)
principal	102,38*	0,7999*	0,3959*	41,96*	66,31*
% proteína (p) ³	46,49*	0,0221	0,0127	19,99*	-6,16*
temperatura (T)	52,46*	0,0466*	0,0422*	24,15*	-0,45
tempo (t)	25,25*	0,0171	0,0285	13,16*	-0,77*
pH	23,48*	-0,0359*	0,0922*	17,1*	0,62*
p x T	9,9*	-0,0148	0,0045	5,22*	1,25*
p x t	2,37*	-0,0039	-0,0137	0,45	0,47
p x pH	9,78*	-0,0099	0,007	7,16*	0,56*
T x t	8,24*	0,0181	0,0192	5,91*	1,07*
T x pH	-25,31*	-0,0549*	-0,028	-10,24*	1,39*
t x pH	-7,59*	-0,0268*	-0,0167	-3,76	0,3

* significativos à 95% de confiança ($p \leq 0,05$)

¹ medidas adimensionais

² umidade espremível

³ concentração de proteína

Na resposta gomosidade o aumento da concentração de proteína, pH, temperatura e tempo de desnaturação promoveu valores significativamente maiores.

O efeito negativo das variáveis concentração protéica, temperatura e tempo de desnaturação na capacidade de retenção de água já era esperado, pois a medida em que estas variáveis independentes aumentam, maior se torna a capacidade da matriz protéica de reter água, conseqüentemente menor será a umidade espremível. A temperatura, no entanto, não refletiu em variação significativa, confirmando o trabalho de Shimada e Cheftel (1988). Por outro lado, o aumento do pH de 4,3 para 4,9 promoveu aumento na umidade espremível na ordem de 0,62%.

Desta forma, a partir da Tabela 1.4 pode-se verificar que a variável pH foi a mais influente no processo de gelatinização das proteínas de soro de leite nas condições analisadas, pois, ainda que variando em uma pequena faixa, apresentou efeito significativo para todas as respostas. Segundo Ziegler e Foegeding (1990) o pH é um dos principais fatores que regula as propriedades reológicas dos géis de CPS e IPS (isolado protéico de soro). Elofsson *et al.* (1997) afirmam que na faixa de pH correspondente ao pI das principais proteínas presentes no soro a carga na superfície da rede é próxima a zero, o que reduz a repulsão entre as moléculas, resultando em géis particulados. Por outro lado, em pH fora da faixa isoelétrica aumenta a carga superficial das proteínas e forças repulsivas impedem a formação de grandes agregados (Elofsson *et al.*, 1997).

3.4 Análise de Variância e Coeficientes de Regressão

A Tabela 1.5 apresenta a análise de variância (ANOVA) para o ajuste dos modelos linear e quadrático. No apêndice A estão as tabelas de análise de variância de cada parâmetro.

Tabela 1.5 Análise de variância e coeficiente de correlação da dureza, elasticidade, coesividade e umidade espremível de géis de CPS

	Dureza	Elasticidade	Coesividade	Gomosidade	UE ^a
F _{calculado}	29,57	11,72	20,62	41,59	10,97
F _{tabelado} ^b	2,62	2,54	3,40	2,51	2,49
F _{cal} / F _{tab}	11,28	4,61	6,06	16,57	4,40
R ²	0,97	0,81	0,63	0,94	0,87

^a umidade espremível

^b à 95% de confiança ($p \leq 0,05$)

O teste F confere significância estatística ao modelo. A regressão é estatisticamente significativa se o valor de F calculado for maior que o valor de F tabelado (Neto *et al.*, 2001). Observa-se na Tabela 1.5 que todos os parâmetros avaliados apresentaram $F_{cal} > F_{tab}$. Segundo Box e Draper (1987), para que uma regressão não seja apenas estatisticamente significativa, mas também útil para

fins preditivos a razão entre a média quadrática da regressão e a média quadrática do resíduo (MQ_R/MQ_r , que corresponde ao $F_{\text{calculado}}$) deve ser no mínimo 10 vezes maior que o valor de $F_{1,n-2}$ (F_{tabelado}). Os modelos para as variáveis independentes dureza e elasticidade apresentaram bons ajustes ($R^2 = 0,97$ e $0,94$, respectivamente) e as razões $F_{\text{calculado}}/F_{\text{tabelado}}$ ao nível de 5%, foram de 11,28 e 16,57, respectivamente, o que indica modelos preditivos para ambas.

Os modelos das demais respostas também apresentaram bons ajustes, com exceção da coesividade para a qual apenas 63% da variação total em torno da média foi explicada pela regressão.

Os coeficientes de regressão das variáveis do processo, no nível de significância de 5%, foram obtidos, analisados compilados na Tabela 1.6 (ver apêndice 1 para dados complementares).

Tabela 1.6 Coeficientes de regressão para dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade e umidade espremível de géis de CPS

Variáveis	Coeficientes de Regressão				
	Dureza (g)	Elasticidade ¹	Coesividade ¹	Gomosidade ¹	UE ² (%)
principal	103,60*	0,8417*	0,4076*	42,27*	67,310*
% proteína (L ³)	21,86*	0,0156*	0,0054	9,14*	-2,678*
% proteína (Q ⁴)	2,96*	-0,0053	-0,0035	0,81	0,018
temperatura (L ³)	24,96*	0,0189*	0,0269*	11,88*	-0,308*
temperatura (Q ⁴)	-1,62*	-0,0258*	-0,0100	-0,73	0,002
tempo (L ³)	15,59*	0,0024	0,0127	7,09*	-0,325*
tempo (Q ⁴)	-1,41*	-0,0133*	-0,0126	-1,59	-0,433*
pH (L ³)	11,94*	-0,0143*	0,0392*	8,16*	0,872*
pH (Q ⁴)	-0,59*	-0,0087	0,0001	0,12	-0,588*
p x T	4,95*	-0,0074	0,0022	2,61*	0,628*
p x t	1,18*	-0,0019	-0,0068	0,22	0,237
p x pH	4,89*	-0,0049	0,0035	3,58*	0,281*
T x t	4,12*	0,0090	0,0096	2,95*	0,536*
T x pH	-12,65*	-0,0274*	-0,014	-5,12*	0,697*
t x pH	-3,79*	-0,0134*	-0,0083	-1,88	0,153

* significativos à 95% de confiança ($p \leq 0,05$)

¹ medidas adimensionais

² umidade espremível

³ variável linear

⁴ variável quadrática

As variáveis lineares, quadráticas e suas interações duas a duas que foram significativas a 95% de confiança fizeram parte dos modelos para compor as superfícies de resposta, sendo as demais excluídas.

Na Tabela 1.7 estão expressas as equações que geraram as superfícies de resposta e curvas de contorno de géis ácido de CPS.

Como pode ser observado nesta tabela todas as variáveis do processo, bem como suas interações foram significativas para a dureza dos géis, compondo modelo quadrático. Por outro lado, na resposta coesividade apenas as variáveis concentração de proteína e pH lineares foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$), resultando em modelo linear.

Tabela 1.7 Equações ajustadas para os efeitos das diferentes variáveis do processo nas respostas de perfil de textura e umidade espremível de géis de CPS

Resposta	Equações ²
Dureza	$103,60 + 21,86[p] + 2,96[p]^2 + 24,96[T] - 1,62[T]^2 + 15,59[t] - 1,41[t]^2 + 11,94[pH] - 0,59[pH]^2 + 4,95[pxT] + 1,18[pxt] + 4,89[pxpH] + 4,12[Txt] - 12,65[TxpH] - 3,79[txpH]$
Elasticidade	$0,84 + 0,015[p] + 0,018[T] - 0,025[T]^2 - 0,013[t]^2 - 0,014[pH] - 0,027[TxpH] - 0,013[txpH]$
Coesividade	$0,407 + 0,026[T] + 0,039[pH]$
Gomosidade	$42,27 + 9,14[p] + 11,88[T] + 7,09[t] + 8,16[pH] + 2,61[pxT] + 3,58[pxpH] + 2,95[Txt] - 5,12[TxpH]$
U. E. ¹	$67,31 - 5,35[p] - 0,61[T] - 0,65[t] - 0,86[t]^2 + 1,74[pH] - 1,17[pH]^2 + 1,25[pxT] + 0,56[pxpH] + 1,07[Txt] + 1,39[TxpH]$

1 Umidade espremível

2 [P], percentual de proteína; [T], temperatura; [t], tempo de aquecimento; [pH], ajuste de pH
Apenas termos com $p < 0,05$ foram incluídos.

A relação entre os valores preditos pelas equações para dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade e umidade espremível dos géis e os valores obtidos experimentalmente estão ilustrados na Figura 1.2. Como pode ser observado a distribuição aleatória dos resíduos indica que não ocorreram erros sistemáticos ou falta de ajuste.

A partir das equações da Tabela 1.7 foram geradas as superfícies de resposta conforme Figuras 1.3 a 1.15.

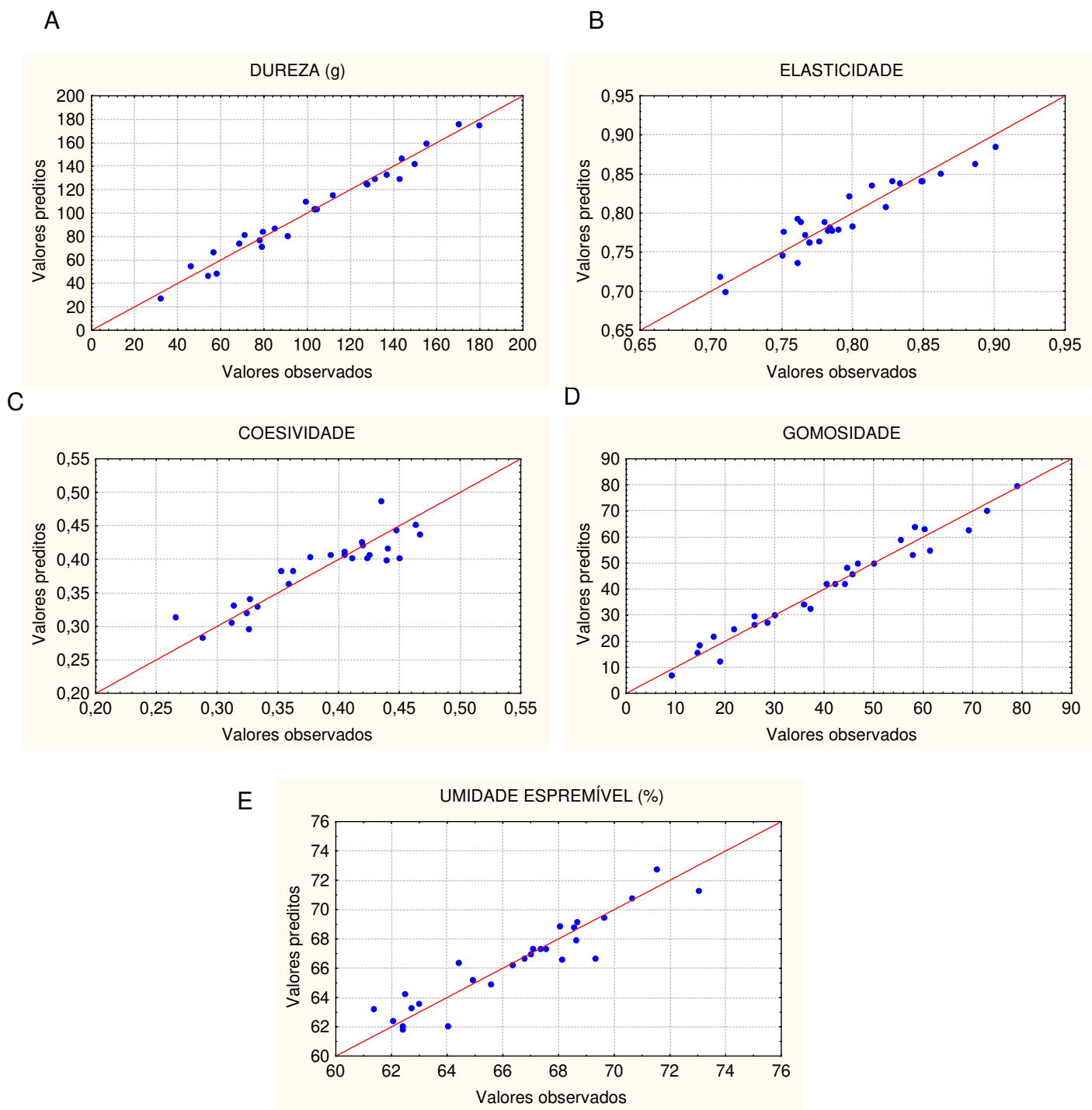
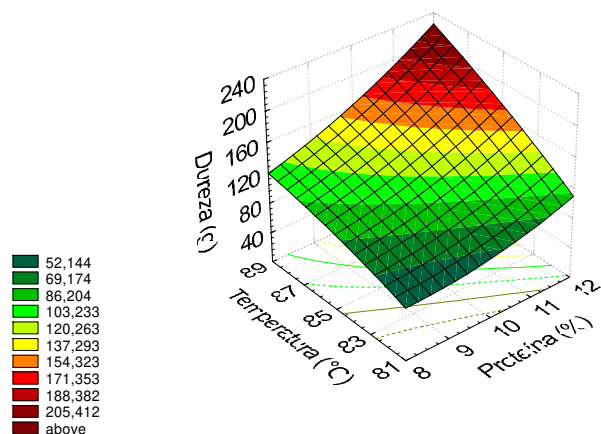
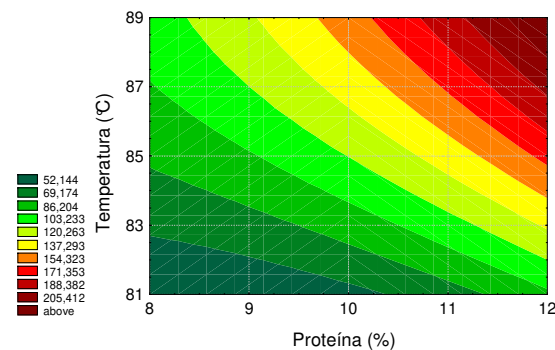


Figura 1.2 Valores preditos e observados de dureza (A), elasticidade (B), coesividade (C), gomosidade (D) e umidade espremível (E) de géis de CPS.

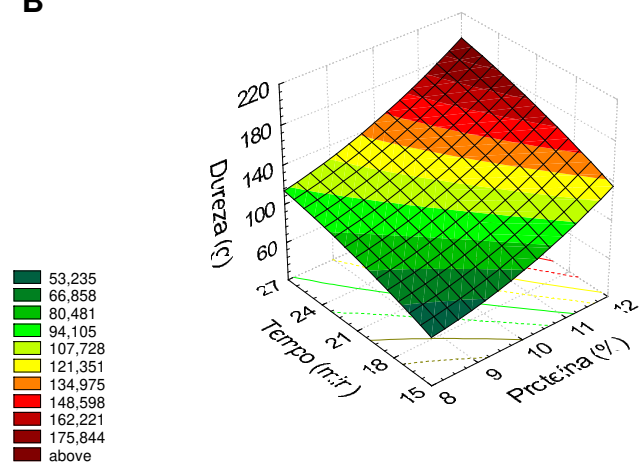
A



A



B



B

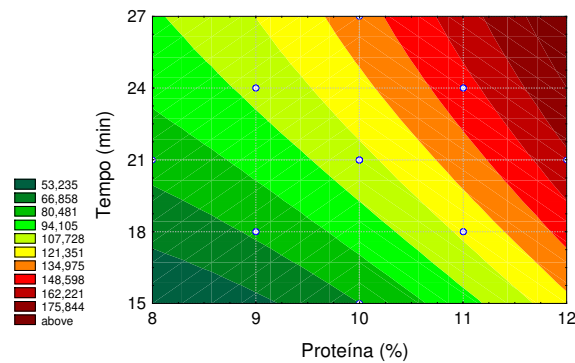
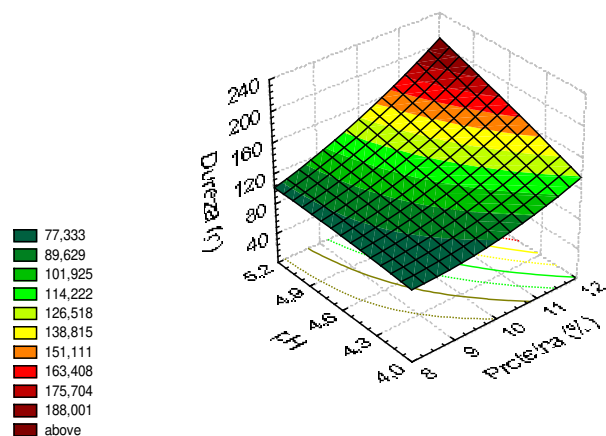
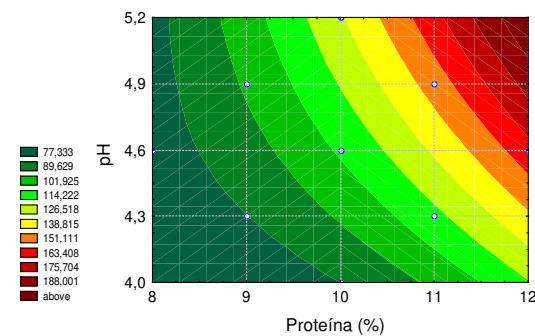


Figura 1.3 Superfícies de resposta e curvas de contorno da concentração de proteína em função da temperatura (A) e do tempo (B) de desnaturação, na dureza dos géis de CPS. (Os pares de variáveis ocultos nos gráficos foram fixados nos seus respectivos pontos centrais).

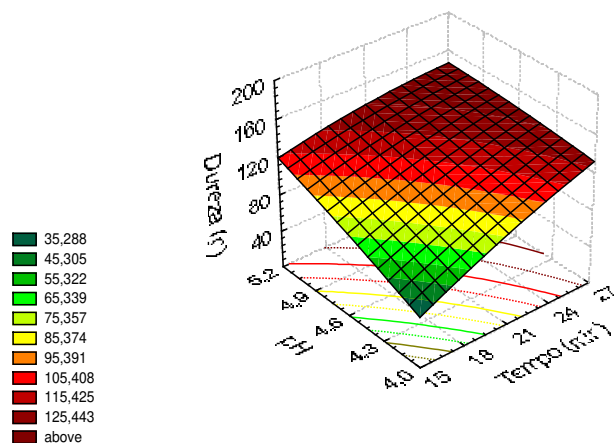
C



C



D



D

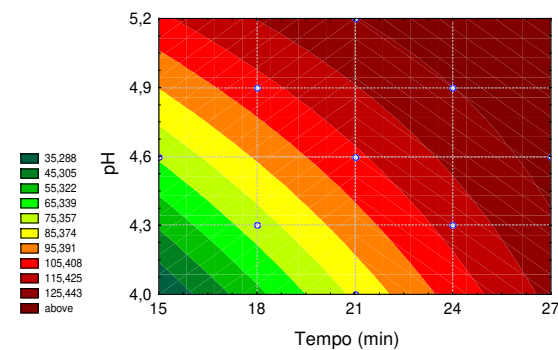
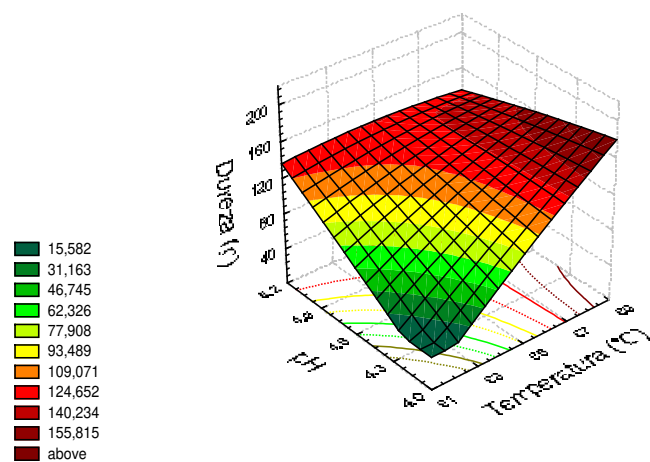
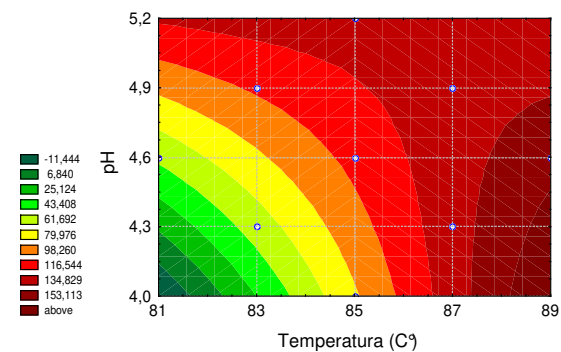


Figura 1.4 Superfícies de resposta e curvas de contorno do pH em função da concentração de proteína (C) e do tempo (D) de desnaturação, na dureza dos géis de CPS. (Os pares de variáveis ocultos nos gráficos foram fixados nos seus respectivos pontos centrais).

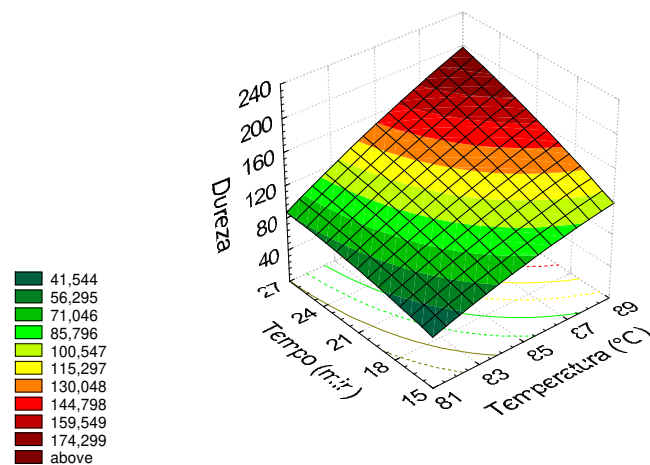
E



E



F



F

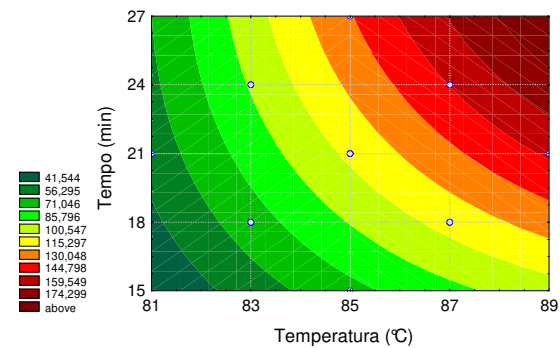


Figura 1.5 Superfícies de resposta e curvas de contorno da temperatura em função do pH (E) e do tempo (F) de desnaturação, na dureza dos géis de CPS. (Os pares de variáveis ocultos nos gráficos foram fixados nos seus respectivos pontos centrais).

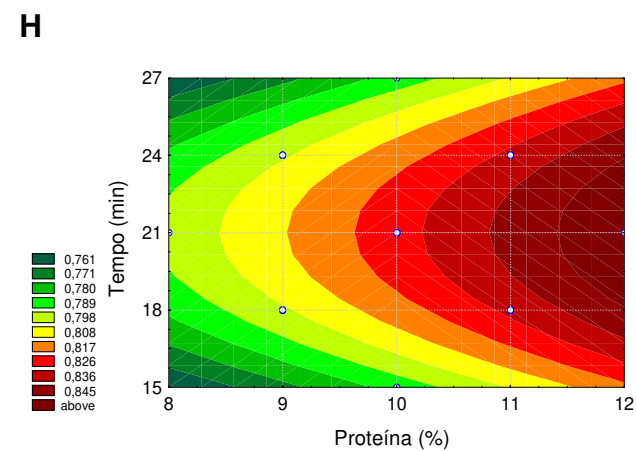
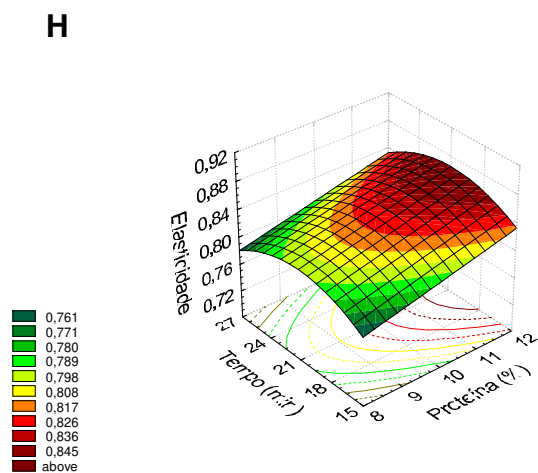
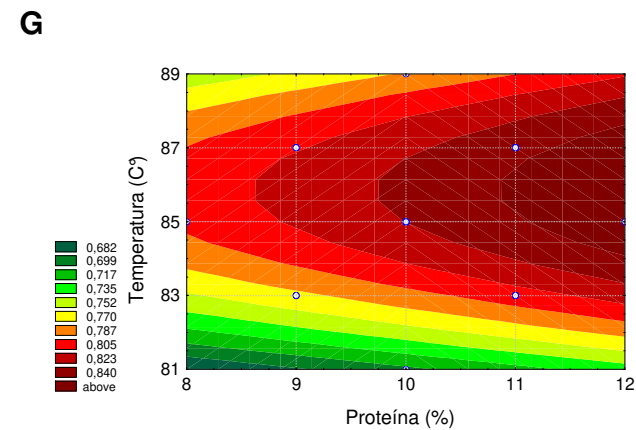
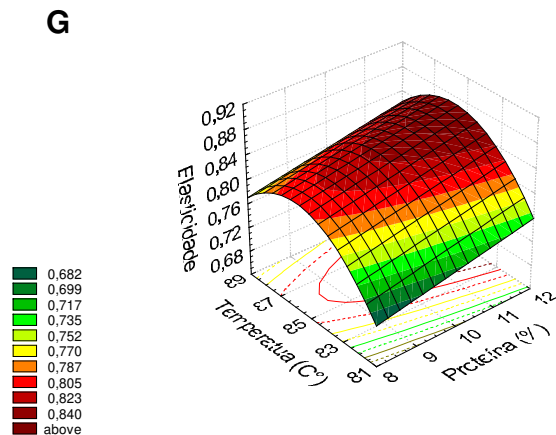


Figura 1.6 Superfícies de resposta e curvas de contorno da concentração de proteína em função da temperatura (G) e do tempo (H) de desnaturação, na elasticidade dos géis de CPS. (Os pares de variáveis ocultos nos gráficos foram fixados nos seus respectivos pontos centrais).

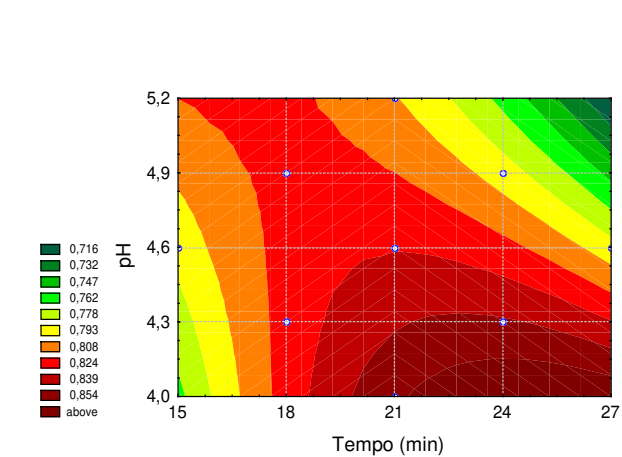
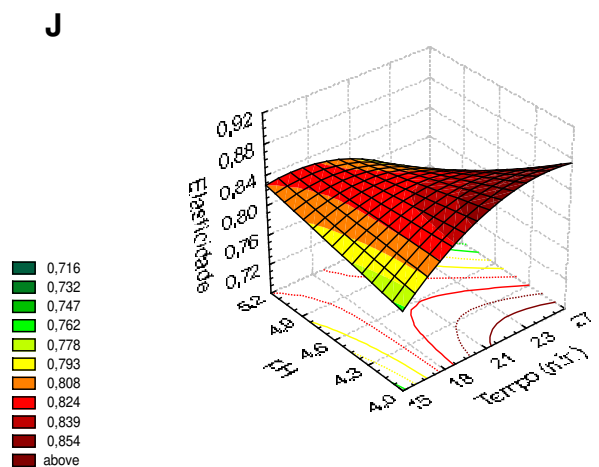
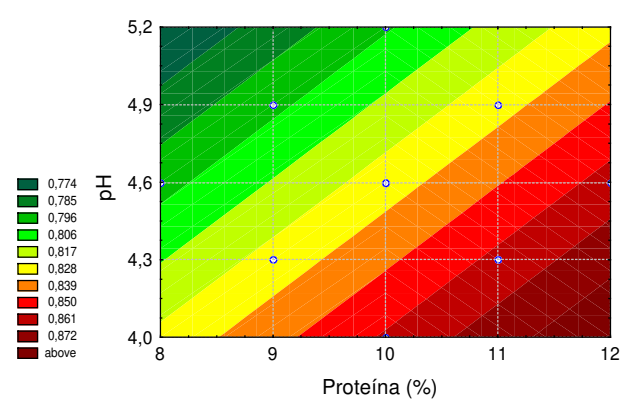
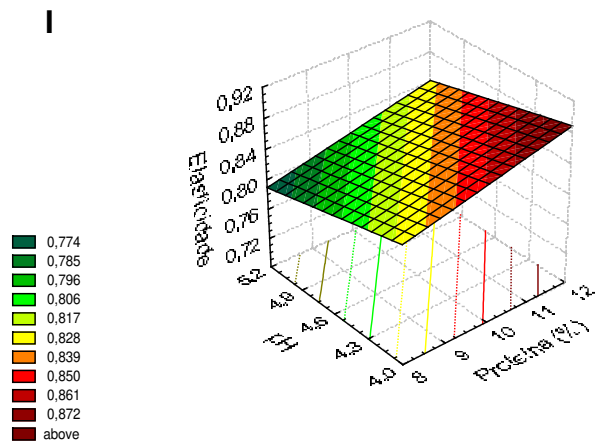
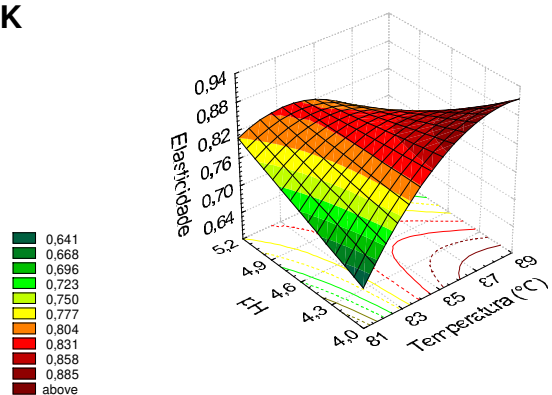
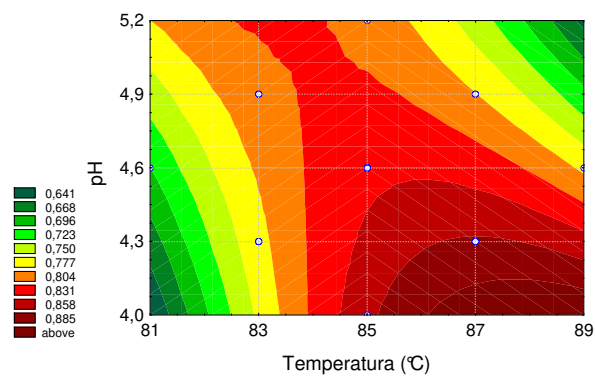


Figura 1.7 Superfícies de resposta e curvas de contorno do pH em função da concentração de proteína (I) e do tempo (J) de desnaturação, na elasticidade dos géis de CPS. (Os pares de variáveis ocultos nos gráficos foram fixados nos seus respectivos pontos centrais).

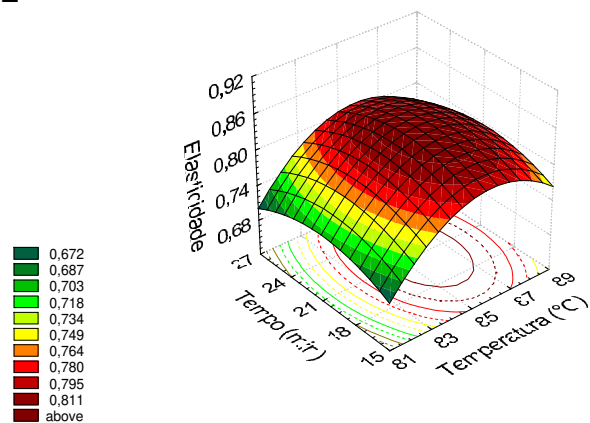
K



K



L



L

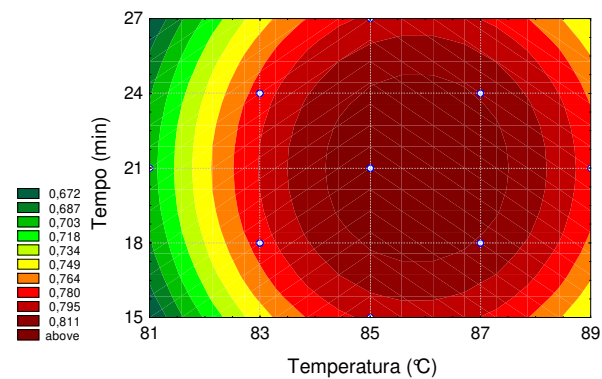
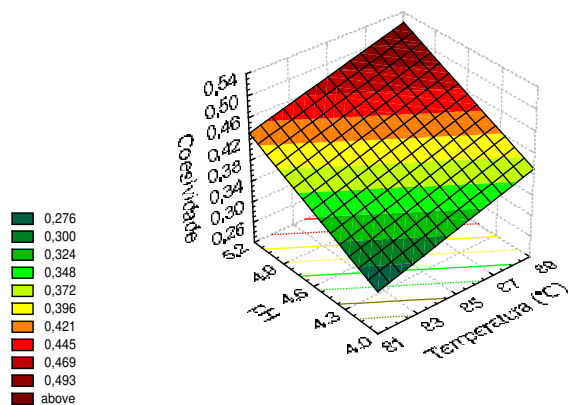


Figura 1.8 Superfícies de resposta e curvas de contorno da temperatura em função do pH (L) e do tempo (M) de desnaturação, na elasticidade dos géis de CPS. (Os pares de variáveis ocultos nos gráficos foram fixados nos seus respectivos pontos centrais).

M



M

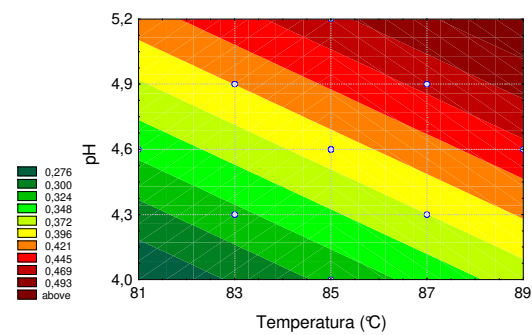
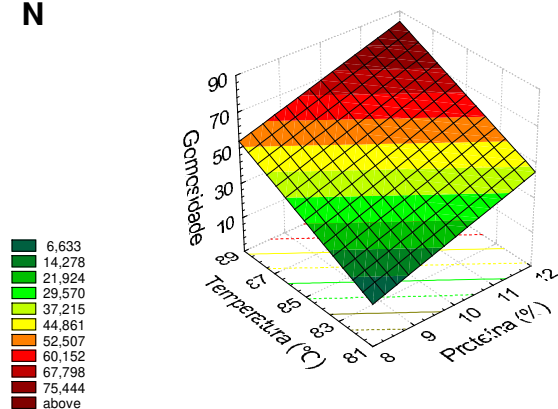
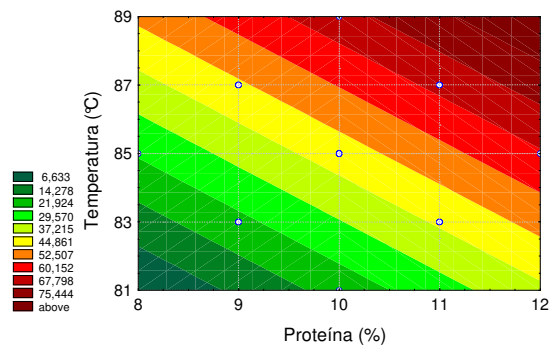


Figura 1.9 Superfícies de resposta e curvas de contorno do pH em função da temperatura (M) de desnaturação, na coesividade dos géis de CPS. (Os pares de variáveis ocultos nos gráficos foram fixados nos seus respectivos pontos centrais).

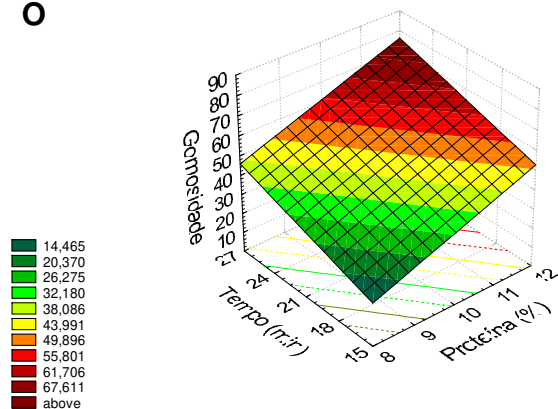
N



N



O



O

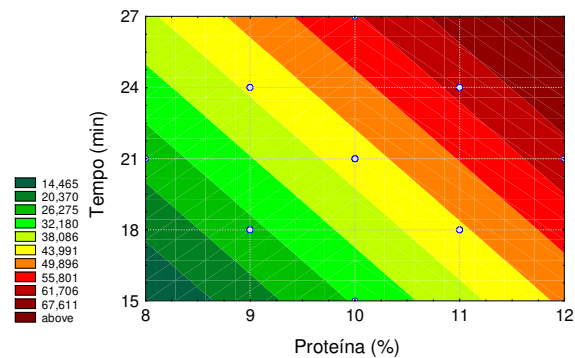


Figura 1.10 Superfícies de resposta e curvas de contorno da concentração de proteína em função da temperatura (N) e do tempo (O) na gomosidade dos géis de CPS. (Os pares de variáveis ocultos nos gráficos foram fixados nos seus respectivos pontos centrais).

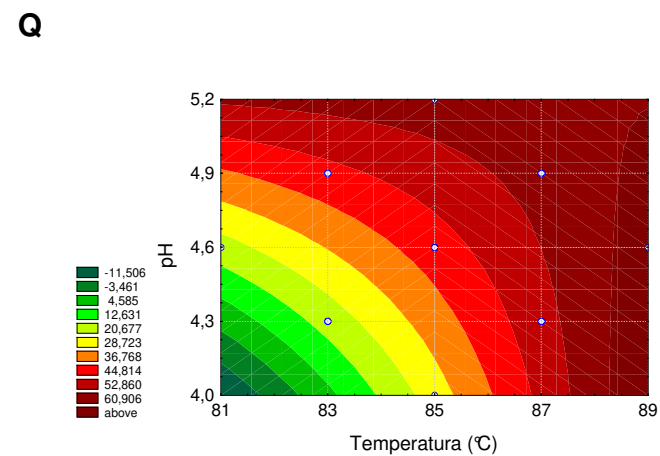
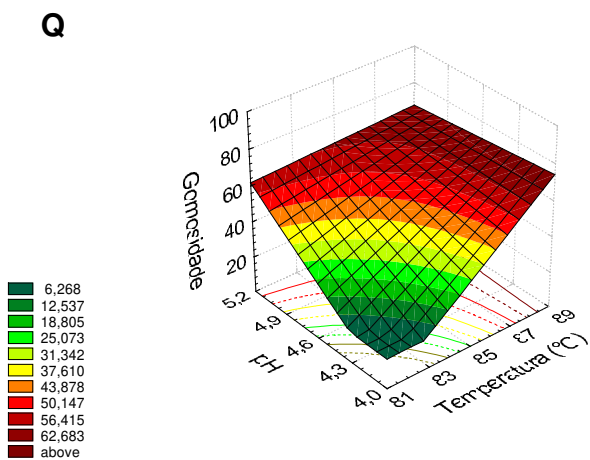
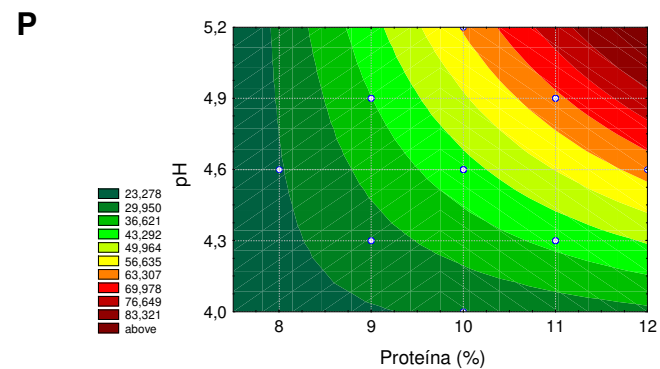
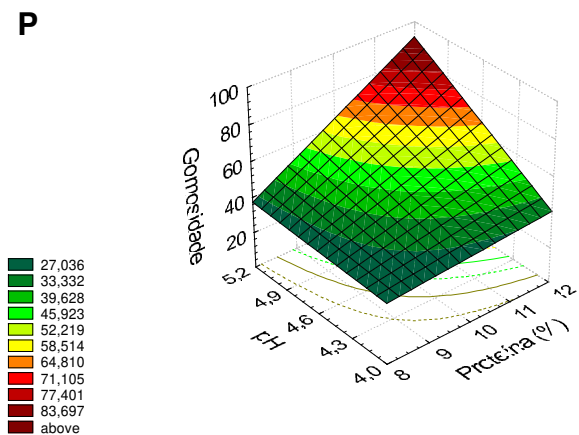


Figura 1.11 Superfícies de resposta e curvas de contorno do pH em função da concentração de proteína (P) e da temperatura (Q) de desnaturação, na gomosidade dos géis de CPS. (Os pares de variáveis ocultos nos gráficos foram fixados nos seus respectivos pontos centrais).

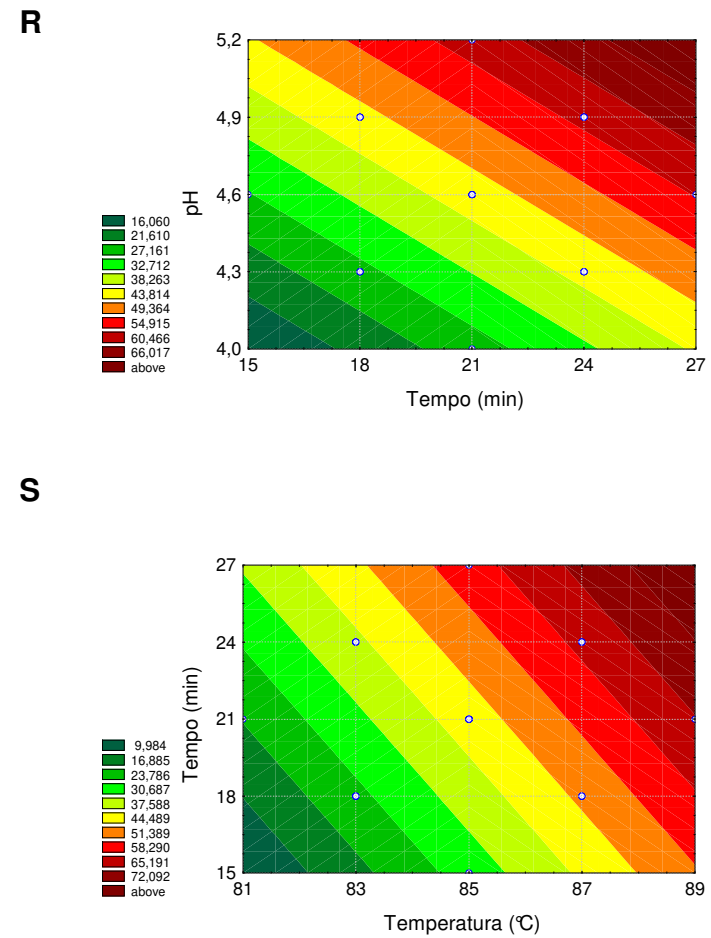
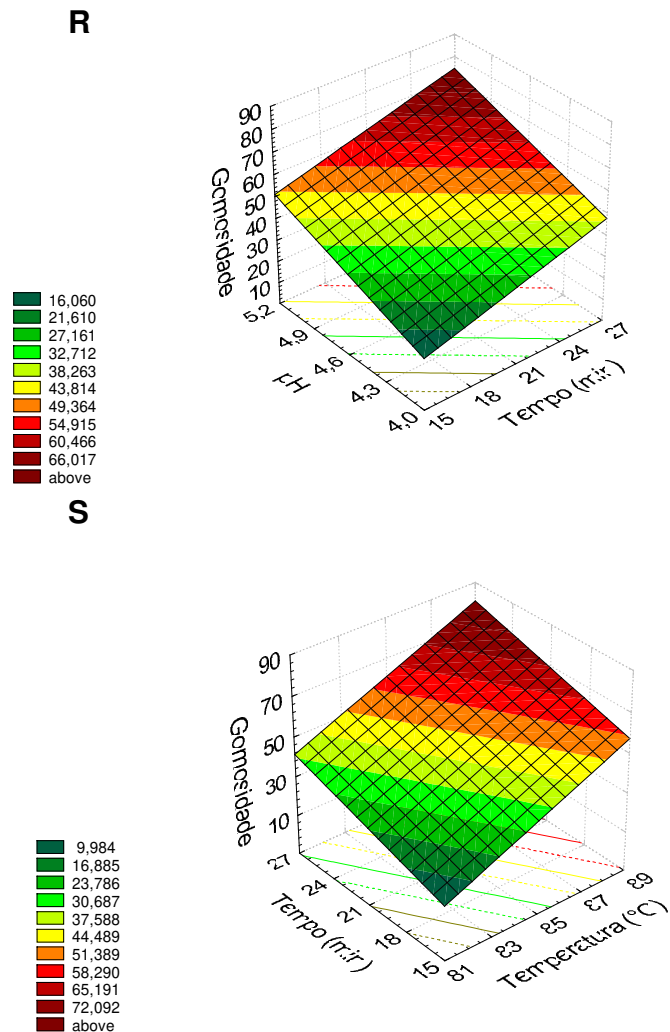
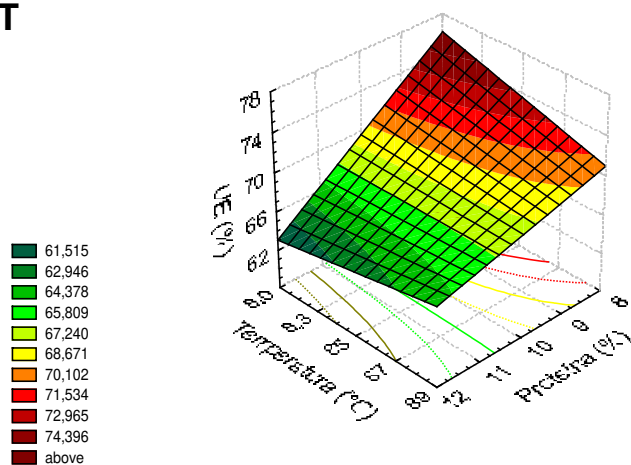
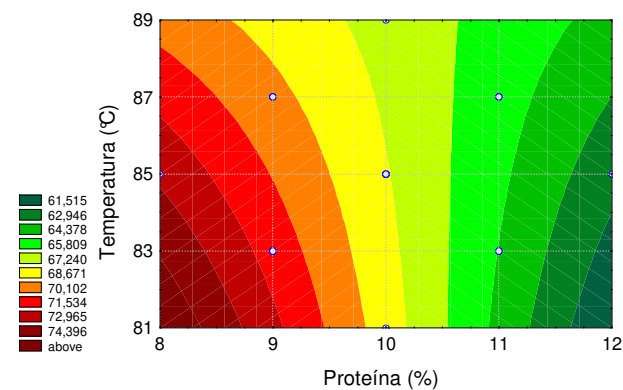


Figura 1.12 Superfícies de resposta e curvas de contorno do tempo em função do pH (R) e da temperatura (S) de desnaturação, na gomosidade dos géis de CPS. (Os pares de variáveis ocultos nos gráficos foram fixados nos seus respectivos pontos centrais).

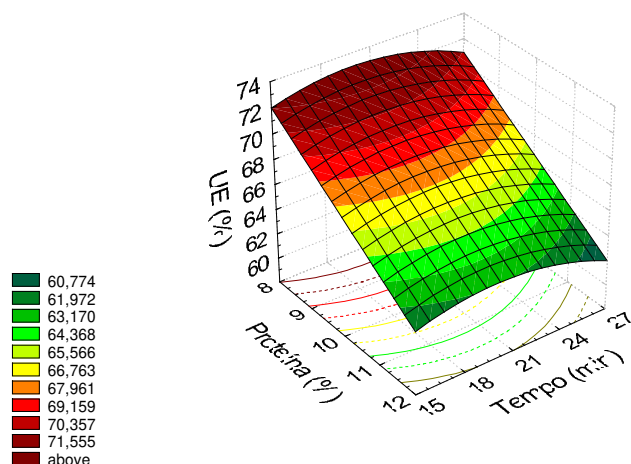
T



T



U



U

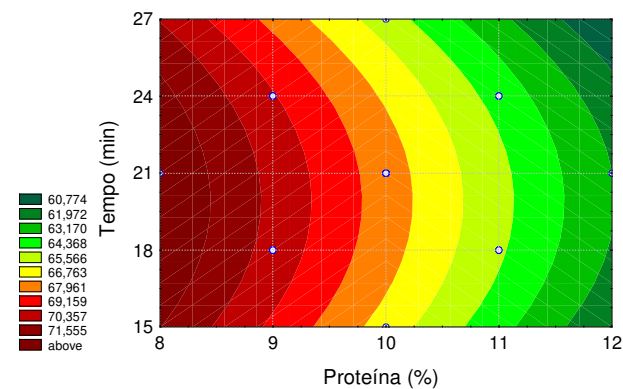
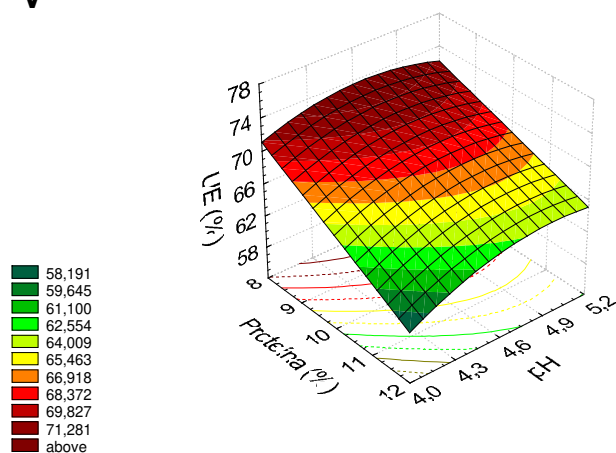
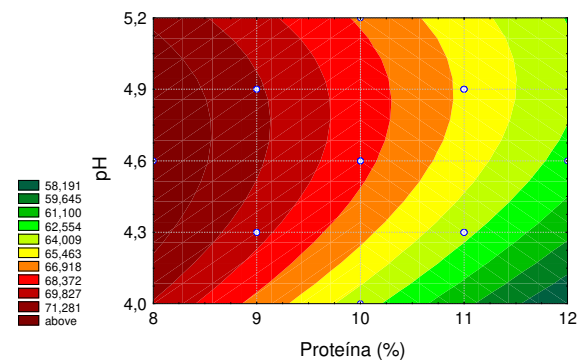


Figura 1.13 Superfícies de resposta e curvas de contorno da concentração de proteína em função da temperatura (T) e do tempo (U) de desnaturação, na umidade espremível dos géis de CPS. (Os pares de variáveis ocultos nos gráficos foram fixados nos seus respectivos pontos centrais).

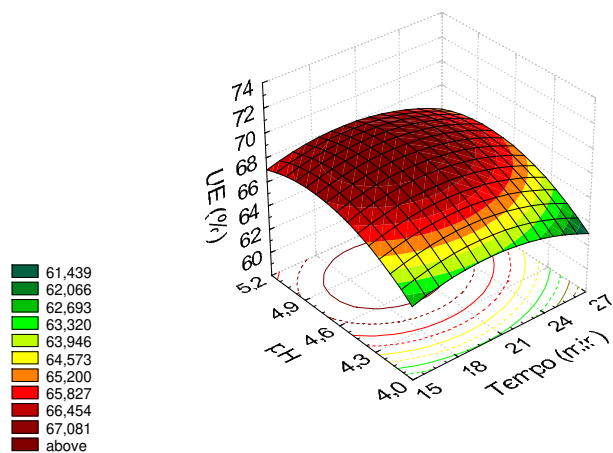
V



V



W



W

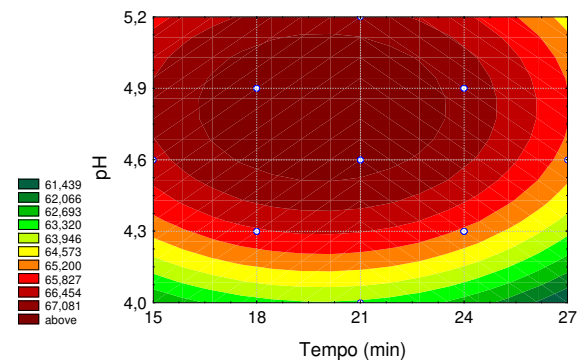
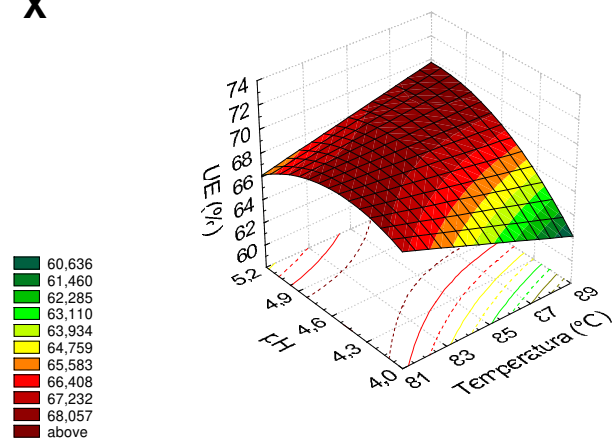
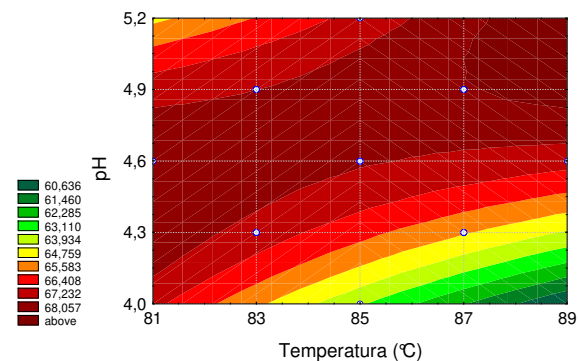


Figura 1.14 Superfícies de resposta e curvas de contorno do pH em função da concentração de proteína (V) e do tempo (W) de desnaturação, na umidade espremível dos géis de CPS. (Os pares de variáveis ocultos nos gráficos foram fixados nos seus respectivos pontos centrais).

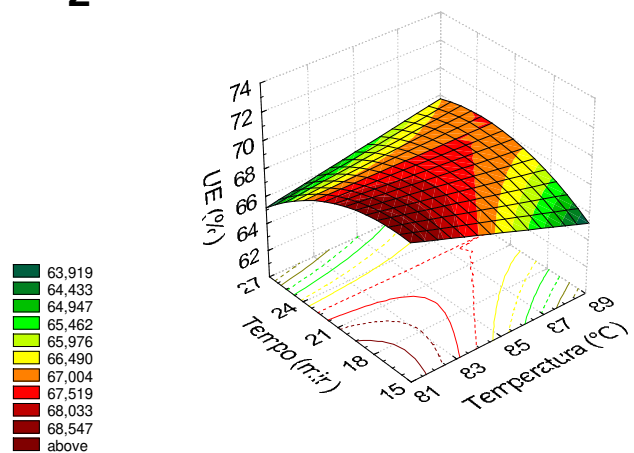
X



X



Z



Z

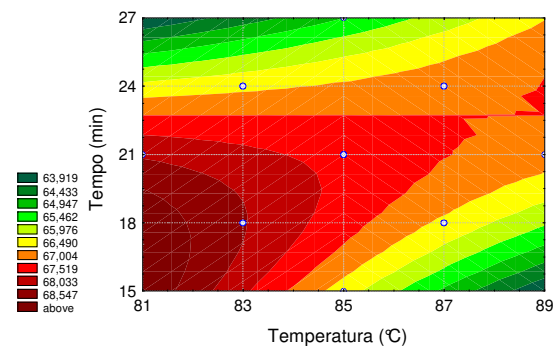


Figura 1.15 Superfícies de resposta e curvas de contorno da temperatura em função do pH (X) e do tempo (Z) de desnaturação, na umidade espremível dos géis de CPS. (Os pares de variáveis ocultos nos gráficos foram fixados nos seus respectivos pontos centrais).

Para a resposta dureza todas as interações de variáveis resultaram em superfícies semelhantes (dureza maior nos níveis superiores de concentração de proteína, pH, temperatura e tempo). Nas interações do pH com tempo (Figura 1.4 D) e com temperatura (Figura 1.5 E) observa-se formação de platô, indicando que a firmeza dos géis contendo 10% de proteína (ponto central) não tenderá ultrapassar 160g entre as faixas de pH 4,9 a 5,2, tempo de 24 a 27 minutos e temperatura de 85 a 89°C. No estudo de Shimada e Cheftel (1989) a firmeza dos géis (em pH 7,5) aumentaram proporcionalmente ao tempo de aquecimento, atingindo platô após 30 minutos. Outros autores relataram platô na força dos géis de CPS após 20 minutos a 90°C (4% proteína e pH 7,0) e mesma tendência a 80°C após 40 minutos (Barbut e Foegeding, 1993).

Os géis de CPS mais firmes (acima de 205g) foram obtidos nos maiores valores de concentração protéica e temperatura de desnaturação (Figura 1.3 A). Para o processo de gelatinização das proteínas do CPS é necessária uma concentração mínima de proteínas que pode variar entre 6 -12% dependendo do pH (Brandenberg *et al.*, 1992) e temperatura entre as faixas de 70 a 90°C (Morr e Ha, 1993). A Figura 1.3 A é semelhante à obtida por Boye *et al.* (1997) que estudaram a firmeza de géis de CPS avaliando os mesmos parâmetros, embora em faixas mais amplas (10 a 30% de proteína e 65 a 90°C).

Os íons cálcio também influenciam na dureza dos géis de CPS. Segundo pesquisa de Motta (2002), géis de CPSs dialisados, com 10% de proteína e pH 7,0 sem adição de CaCl_2 , apresentavam valores de dureza em torno de 210 g, e quando da adição de 15 mM CaCl_2 apresentaram dureza de 581,7 g e 627,9 g para as marcas comerciais Calpro 80 e AMP 80, respectivamente.

Géis mais elásticos foram obtidos em concentrações maiores de proteína (acima de 11%), conforme Figuras 1.6 G e 1.6 H e 1.7 I. Embora a elasticidade dos géis seja fortemente relacionada com a formação de pontes S-S intermoleculares (Shimada e Cheftel, 1988), interações hidrofóbicas e eletrostáticas predominam na rede dos géis obtidos na faixa isoelétrica de pH (Shimada e Cheftel, 1989), pois, nesses valores de pH os grupos SH são

relativamente inertes, não contribuindo para manutenção da estrutura do gel (Mangino *et al.*, 1987).

Shimada e Cheftel (1988) obtiveram pequena variação de elasticidade em géis de CPS (pH 7,5) com o aumento da concentração de proteína (de 8 para 10%) e da temperatura de desnaturação (75 a 135°C). Ambas variáveis independentes apresentaram efeito significativo na elasticidade dos géis no presente trabalho, especialmente a última.

Faixa ótima de elasticidade foi obtida quando tempo e temperatura estiveram nos pontos centrais (21 minutos e 85°C), conforme ilustrado na Figura 1.8 L. Observou-se, conjuntamente, que a interação do pH com tempo e temperatura de desnaturação resultou em superfícies de resposta muito semelhantes entre si (comparar Figura 1.7 J com 1.8 K).

A coesividade relaciona-se com as forças envolvidas nas ligações internas do produto. As únicas variáveis do processo que influenciaram significativamente a coesividade ($p < 0,05$) foram temperatura e pH, gerando apenas uma superfície plana correlacionando esses dois parâmetros (Figura 1.9 M). A tendência da coesividade foi de aumentar paralelamente ao pH e temperatura nas faixas estudadas. O maior valor de coesividade no pH 5,2 coincide com o pI da β -lactoglobulina (que corresponde de 40 a 77% das proteínas totais do CPS), sugerindo grande agregação das moléculas protéicas presentes em maior quantidade no produto. Ribeiro (2001), avaliando através de RSM o perfil de textura e capacidade de retenção de água de géis de CPS observou igualmente que a concentração de proteína (de 9,0 a 12%) não influenciou na coesividade das amostras com pH ácido. Observou, no entanto, aumento da coesividade em valores mais elevados de pH, atribuindo-o à formação de ligações dissulfídicas pela oxidação dos grupos SH, que é favorecida nestas condições (Ribeiro, 2001).

As superfícies de resposta e curvas de contorno da resposta gomosidade (Figuras 1.10, 1.11 e 1.12) foram muito semelhantes às da dureza. Valores maiores desta resposta foram obtidos nos níveis superiores dos parâmetros concentração de proteína, pH, temperatura e tempo de desnaturação. No entanto, acima da temperatura de processamento de 87°C a resposta obtida foi

independente da variação de pH, na faixa estudada, resultando em valores de gomosidade de 60 ou mais (Figura 1.11 Q). Fenômeno semelhante ocorreu com a dureza (Figura 1.5 E).

Os valores de umidade espremível foram altos (cerca de 65%), indicando baixa capacidade de retenção de água dos géis ácidos de CPS. Motta (2002) obteve valores em torno de 30% para géis de CPS em pH neutro.

Na faixa de pH próxima a 4,6 foi expelida grande quantidade de água das amostras, devido à forte agregação protéica (Figuras 1.14 V, 1.14 W e 1.15 X). Quando o pH se aproximou de 4,0 a umidade espremível tendeu a diminuir. Durante a produção de iogurte, o pH 4,6 é geralmente fixado para o término da fermentação, no entanto, a pós-acidificação durante a vida de prateleira é um fenômeno comum. A adição de CPS potencializaria a capacidade de retenção de água dos iogurtes na medida em que o pH diminuísse, ao longo do período de armazenamento.

Tempo e temperatura constituem um binômio importante no processo de gelatinização das proteínas do soro do leite. Quando as condições de aquecimento são extremas as moléculas de proteína não têm tempo hábil para alinharem-se de forma organizada, resultando em agregados ou precipitados com baixa hidratação (Mulvihill e Kinsella, 1987).

Observando-se a Figura 1.14 V, verifica-se que pH 4,0 e concentração de proteína acima de 10% favorecem melhores resultados (vale ressaltar que as faixas de menor umidade espremível são as de maior capacidade de retenção de água).

O total de superfícies geradas foi de 25. Como apenas as variáveis independentes pH e temperatura foram significativas para a coesividade uma única superfície de resposta foi obtida para essa resposta. A análise das superfícies de resposta e curvas de contorno levou a conclusão que existem faixas onde as respostas são maximizadas ou minimizadas, conforme compilado na Tabela 1.8 que é decorrente da interpretação das Figuras 1.3 a 1.15.

A maioria dos parâmetros encontrou resposta máxima nos níveis mais altos das variáveis independentes (Tabela 1.8). No entanto, o pH não apresentou a

mesma concordância. Os valores próximos a 4,0 foram favoráveis à elasticidade e ao aumento da capacidade de retenção de água, enquanto que próximo a pH 5,0 ocorreu aumento de dureza, coesividade e gomosidade. Para optar entre uma faixa ou outra é recomendado, portanto, avaliar as características de interesse no produto. Além disso, ressalta-se que este foi um sistema modelo e em um alimento os outros componentes apresentam grande influência no perfil de textura e retenção de água.

Tabela 1.8 Níveis das variáveis do processo correspondentes às maiores respostas para géis ácidos de CPS

Variável	Níveis			
	CPS (%)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	pH
Dureza	11-12	87-89	24-27	4,9-5,2
Elasticidade	11-12	85-87	21	4,0
Coesividade	-	87-89	-	4,9-5,2
Gomosidade	11-12	87-89	24-27	4,9-5,2
CRA ¹	11-12	87-89	24-27	4,0

¹ capacidade de retenção de água

Para produção de iogurte sugerem-se condições que aumentem a capacidade de retenção de água para inibir a sinérese. Para um iogurte de consistência firme (set) valores altos de dureza e de capacidade de retenção de água são sugeridos.

3.5 Aspecto Macroscópico de Géis de CPS

Os géis obtidos no ponto central (C) e nos pontos axiais do planejamento experimental (Tabela 1.9) foram fotografados conforme ilustra a Figura 1.16.

Os géis de concentrado protéico do soro de leite obtidos em diferentes condições de percentual protéico, pHs, temperaturas e tempos de tratamento térmico apresentaram macroestrutura diversa (Figura 1.16).

Tabela 1.9 Géis de CPS elaborados no ponto central e nos pontos axiais de concentração de proteína, pH, tempo e temperatura de desnaturação

Símbolo	Concentração de proteína (g)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	pH
C	10	85	21	4,6
↓ P	8	85	21	4,6
↑ P	12	85	21	4,6
↓ pH	10	85	21	4,0
↑ pH	10	85	21	5,2
↓ t	10	81	21	4,6
↑ t	10	89	21	4,6
↓ T	10	85	15	4,6
↑ T	10	85	27	4,6

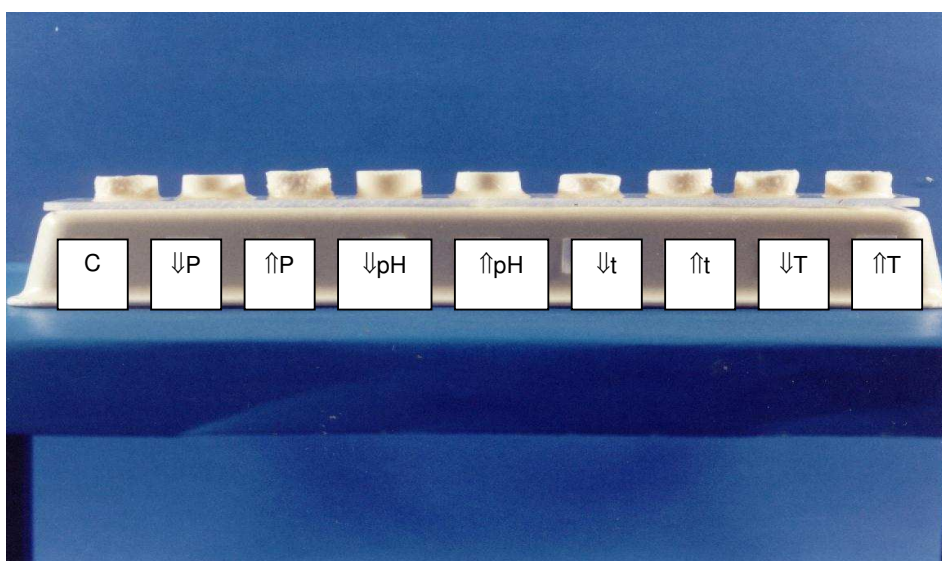


Figura 1.16 Aspecto dos géis de CPS no ponto central e nos pontos axiais de concentração de proteína, pH, temperatura e tempo de desnaturação

No -∞ de proteína (8%) o gel apresentou-se macio, brilhante, com bordas regulares, mas com grande exudação. Por outro lado, a 12% (+∞) o aspecto foi de gel compacto, farinhento, opaco, mas de pequena exudação.

A variável pH apresentou grande variabilidade na aparência dos géis de CPS. Na faixa inferior de pH (4,0), a amostra apresentou boa capacidade de reter o soro, opacidade e cor levemente amarelada, diferindo de todos os demais géis que tenderam a coloração branca. A faixa superior (pH 5,2) caracterizou-se por gel macio, brilhante e de grande sinérese, com aspecto de “flan”.

O nível superior de temperatura e tempo de aquecimento proporcionou géis melhor estruturados e de menor dessoragem, comparados aos géis obtidos por desnaturação nas condições mais brandas.

Com todos os parâmetros no ponto central, codificado como amostra C, (contendo 10% de proteína, pH 4,6, e desnaturada à 85°C por 21 minutos), o gel apresentou-se branco, com pouco brilho e forte sinérese.

4. CONCLUSÕES

Através dos resultados obtidos para géis ácidos de CPS verificou-se:

Géis de CPS com concentração protéica entre 11 e 12% apresentaram-se mais firmes, elásticos, gomosos, opacos e capazes de reter maiores quantidades de água quando comparados aos contendo de 8 a 10% de proteína. A coesividade não foi alterada de modo significativo pela concentração de proteína, nas faixas avaliadas.

Quando a temperatura de desnaturação utilizada foi entre 87 a 89°C, os géis de CPS apresentaram maior dureza, coesividade, gomosidade e capacidade de retenção de água. Para obter géis mais elásticos a faixa ideal de temperatura de desnaturação foi de 85 a 87°C.

O tempo de aquecimento de 24 a 27 minutos resultou em géis mais firmes e gomosos. Para a característica elasticidade o tempo ideal foi de 21 minutos. Coesividade e retenção de água não encontraram correlação com o tempo de aquecimento na faixa estudada.

Géis preparados em valores de pH próximos de 4,0 apresentaram-se mais elásticos, opacos, amarelados e com maior retenção de água, enquanto que os preparados em pH variando de 4,9 a 5,2 formaram géis mais firmes, coesos, brilhantes e gomosos.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILERA, J. M. Gelation of whey proteins. **Food Technology**, v. 49, n. 10, p. 83-89, 1995.

A. O. A. C. 1996. **Official methods of analysis**, Association of Official Analytical Chemists, Washington D. C.

BARBUT, S., FOEGEDING, E. A. Ca^{2+} induced gelation of pre-heated whey protein isolate. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 4, p. 867-871, 1993.

BEUSCHEL, B. C., CULBERTSON, J. D., PARTRIDGE, J. A., SMITH, D. Gelation and emulsion properties of partially insolubilized whey protein concentrates. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 3, p.605-609, 1992.

BHULLAR, Y. S., UDDIN, M. A., SHAH, N. P. Effect of ingredients supplementation on textural characteristics and microstructure of yoghurt. **Milchwissenschaft**, v. 57, n. 6, p. 328-332, 2002.

BOX, G. E. P., DRAPER, N. R. **Empirical model-building and response surfaces**. New York: Wiley, 1987.

BOYE, J. I., RAMASWAMY, H., RAGHAVAN, V. G. S. Interactive effects of factors affecting gelation of whey proteins. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 1, p. 57-65, 1997.

BRANDENBERG, A. H., MORR, C. V., WELLER, C. L. Gelation of commercial whey protein concentrates: effect of removal of low-molecular-weight components. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 2, p. 427-432, 1992.

CAPELLAS, M., NEEDS, E. Physical properties of yogurt prepared from pressure-treated concentrated or fortified milks. **Milchwissenschaft**, v. 58, n. 1-2, p. 46-48, 2003.

COOPER, H. R., HUGHES, I. R., MATTHEWS, M. E. Application of response surface methodology to the evaluation of whey protein gels systems. **New Zealand Journal of Dairy Science and Technology**, v. 12, n. 4, p. 248-252, 1977.

DUGGAN, E., WAGHORNE, E. Long-term evaluation of production protocols for stirred yoghurts produced using two different cultures. **Milchwissenschaft**, v. 58, n. 1-2, p. 52-55, 2003.

EL-SALAM, M. H., EL-SHIBINY, S., MAHFOUZ, M. B., EL-DEIN, H. F., EL-ATIRBY, H. M., ANTILA, V. Preparation of whey protein concentrate from salted whey and its use in yogurt. **Journal of Dairy Research**, v. 58, p. 503-510, 1991.

ELOFSSON, C., DEJMAK, M., PAULSSON, M., BURLING, H. Characterization of a cold-gelling whey protein concentrate. **International Dairy Journal**, v. 7, p. 601-608, 1997.

FRIEDMAN, H. H., WHITNEY, J. E., SZCZESNIAK, A. S. The texturometer – a new instrument for objective texture measurement. **Journal of Food Science**, v. 28, n.4, p. 390-396, 1963.

GOSSET, P. W., RIZVI, S. S. H., BAKER, R. C. Qualitative analysis of gelation in egg protein systems. **Food Technology**, v. 38, n. 5, p. 67-74, 96, 1984.

GUIRGUIS, N., BROOME, M. C., HICKEY, M. W. The effect of partial replacement of skim milk powder with whey protein concentrate on the viscosity and syneresis of yoghurt. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 91, n. 1, p. 33-35, 1984.

JAROS, D., ROHM, H., HAQUE, A., BONAPARTE, C., KNEIFEL, W. Influence of the starter culture on the relationship between dry matter content and physical properties of set-style yogurt. **Milchwissenschaft**, v. 57, n. 6, p. 325-328, 2002.

JAUREGUI, C. A., REGENSTEIN, J. M., BAKER, R. R. A simple centrifugal method for measuring expressible moisture, a water-binding property of muscle foods. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 4, p. 1271-1273, 1981.

KINSELLA, J. E. Milk proteins: physicochemical and functional properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 21, n. 2, p. 197-262, 1984.

LANARA. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. Ministério da Agricultura, Brasília, 1981.

MANGINO, M. E. Physicochemical aspects of whey protein functionality. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 11, p. 2711-2722, 1984.

MANGINO, M. E., KIM, J. H., DUNKERLEY, J. A., ZADOW, J. G. Factors important to the gelation of whey protein concentrates. **Food Hydrocolloids**, v. 1, n. 4, p. 277-282, 1987.

MANGINO, M. E. Gelation of whey protein concentrates. **Food Technology**, v. 46, n. 1, p. 114-117, 1992.

MOLDER, H. W., EMMONS, D. B. Properties of whey protein concentrate prepared by heating under acidic conditions. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 2, p. 177-184, 1976.

MORR, C. V., HA, Y. W. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. **Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 431-476, 1993.

MOTTA, E. M. P. **A influência de íons cálcio nas características de solubilidade, textura e capacidade de retenção e água de géis de concentrados e isolados protéicos de soro de leite**. 2002.77f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

MULVIHILL, D. M., KINSELLA, J. E. Gelation characteristics of whey proteins and β -lactoglobulin. **Food Technology**, v. 41, n. 9, p. 102-111, 1987.

NETO, B. B., SCARMINIO, I. S., BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de processos**. Campinas, SP: Editora da UNICAMP (Série Manuais), 1995.

OAKENFULL, D., PEARCE, J., BURLEY, R. W. Protein gelation. In: DAMODARAN, S., PARAF, A. (Eds). **Food proteins and their applications**. 1997. New York: Marcel Dekker, p.111-142, 1997.

RATTRAY, W., JELEN, P. Thermal stability of skim milk/whey protein solution blends. **Food Research International**, v. 30, n. 5, p. 327-334, 1997.

RIBEIRO, H. S. **Obtenção e aplicação de concentrado protéico de soro de leite bovino em produtos cárneos**. 2001. Tese (Doutorado), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 194f. 2001.

SCHMIDT, R. H., ILLINGWORTH, B. L., AHMED, E. M. Heat-induced gelation of peanut protein/whey protein blends. **Journal of Food Science**, v. 43, n 2, p. 613-615, 1978.

SHIMADA, K., CHEFTEL, J. C. Texture characteristics, protein solubility, and sulphhydryl group/disulfide bond content of heat-induced gels of whey protein isolate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 36, n. 5, p. 1018-1025, 1988.

SHIMADA, K., CHEFTEL, J. C. Sulfhydryl group/disulfide bond interchange reaction during heat-induced gelation of whey protein isolate. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 37, n.1, p. 161-168, 1989.

TAMIME, A. Y., ROBINSON, R. K. **Yogur ciencia y tecnologia**, 1991. Zaragoza: Acribia, 367p.

ZIEGLER, G. R., FOEGEDING, E. A. The gelation of proteins. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 34, p. 203-298, 1990.

SEGUNDO ESTUDO

CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO DE LEITE NA PRODUÇÃO DE IOGURTE NATURAL DESNATADO DE CONSISTÊNCIA FIRME

RESUMO

A aceitação de iogurte desnatado é prejudicada pela dessoragem e baixa firmeza do produto. O concentrado protéico de soro de leite (CPS) tem sido utilizado como agente substituinte de gordura em produtos de reduzido teor calórico e é alternativa interessante para aplicação em iogurtes, especialmente por ser de origem lática. Avaliaram-se adições de 3, 4 e 5% de proteína em diferentes combinações de leite em pó desnatado (LPD) e CPS (1:0; 1,5:0,5; 1:1; 0,5:1,5; e 0:1; proteína:proteína) na produção de iogurte desnatado de consistência firme visando alcançar propriedades de textura e dessoragem semelhante às do iogurte integral adicionado apenas de LPD. O perfil de textura foi medido em texturômetro TAXT2 e a suscetibilidade à sinérese obtida pela drenagem de cerca de 50 g de iogurte sobre peneira de aço inoxidável com malha 120 *mesh*. Os resultados foram estatisticamente analisados através da comparação das médias com a utilização do teste de Tukey no nível de significância de 5%. O iogurte desnatado adicionado de 5% de proteína, sendo LPD:CPS na relação de 1,5:0,5 apresentou dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade e sinérese equivalentes ao integral adicionado apenas de leite em pó desnatado, nas mesmas condições.

Palavras-chave: iogurte natural desnatado de consistência firme, concentrado protéico do soro do leite, perfil de textura, sinérese.

SUMMARY

Fat-free yogurt acceptability is impaired by syneresis and poor consistency. This problem can be solved preparing the yogurt with whey protein concentrate (WPC). The aim of the present work was to evaluate the protein addition of 3, 4 and 5% by making blends of skim milk powder (SMP) and WPC (1:0; 1.5:0.5; 1:1; 0.5:1.5; and 0:1; protein:protein) to produce set skim yogurt, to achieve texture attributes and syneresis similar to full-fat yogurt added only by SMP. The texture profile was evaluated by TAXT2 texturometer and the susceptibility to syneresis by placing 50 g of yogurt in a 120-mesh stainless steel screen. The results were statistically analyzed by Tukey's test at 5% level of significance. The fat-free yogurt with 5% of protein from SMP/WPC at 1.5:0.5 was similar to the control (made with whole milk plus of SMP) in hardness, springiness, cohesiveness, gumminess and syneresis of full-fat yogurt with addition of SMP at the same conditions.

Key words: set skim yogurt, whey protein concentrate, texture profile, syneresis.

1. INTRODUÇÃO

As mais importantes propriedades estruturais de iogurtes de consistência firme são a textura do coalho e sua habilidade de imobilizar água (Dannerberg e Kessler, 1988).

A aceitação do iogurte desnatado é prejudicada, entre outros motivos, pela sua frágil consistência e baixa capacidade de reter o soro. No estudo de Kähkönen e Tuorila (1999), foi detectada menores preferências e intenção de compra para iogurte desnatado.

Para melhorar a consistência/viscosidade do iogurte geralmente é feita adição de leite em pó desnatado, concentração do leite e/ou adição de concentrado protéico do soro de leite (Fox e Mccsweeney, 1998, Tamime e Deeth, 1980). Embora seja comum o uso de espessantes com essa finalidade, os iogurtes chamados “naturais” devem apresentar hidrocolóides à base de proteínas ou sólidos do leite (Modler *et al.*, 1983).

O concentrado protéico de soro (CPS) tem sido apontado como ingrediente funcional que confere melhora de consistência e reduz a sinérese de iogurtes (Guirguis *et al.*, 1984, Maistro, 1999, Augustin *et al.* 1999, Lima, 2001).

As quatro principais frações protéicas que compõem o CPS são: β -lactoglobulina, α -lactoalbumina, albumina do soro bovino e imunoglobulinas. Segundo Batt (1997) a textura de iogurtes é altamente dependente da incorporação de β -lactoglobulina na rede. Quando o leite é aquecido entre 85 e 90°C ocorre desnaturação das proteínas do soro e a β -lactoglobulina agrega-se à micela de caseína formando complexo com a κ -caseína, protegendo a micela de coalescência excessiva durante a fermentação, o que favorece a formação de estrutura firme com menor suscetibilidade à dessoragem (Kaláb e Emmons, 1976; Batt, 1997; Penna *et al.*, 1997).

A produção mundial estimada de soro de leite é de cerca de 86 milhões de toneladas ao ano, o que corresponde à aproximadamente 600 mil toneladas de proteínas (Morr e Ha, 1993), sendo a maior parte dela descartada pelas indústrias sem tratamento adequado. Esse descarte, além de ecologicamente incorreto, é

questionável do ponto de vista social, especialmente em países com grandes índices de desnutrição protéica. As proteínas do soro de leite apresentam elevado valor nutricional, especialmente devido ao alto teor de aminoácidos sulfurados. O estudo de suas aplicações pode despertar o interesse da indústria de laticínios que se beneficiaria agregando valor ao soro do leite, reduzindo a emissão de efluentes e melhorando as características de produtos confeccionados (CPS pode ser empregado como agente gelatinizante, substituinte de gordura, estabilizador de emulsões e espumas e outros).

No leite integral os lipídios interagem com as proteínas para formação do gel. Segundo Schmidt e Morris (1984), o gel lácteo consiste em rede contínua de agregados de micelas de caseína contendo glóbulos de gordura aprisionados. Com a diminuição do pH, durante o processo fermentativo, ocorre aproximação do ponto isoeletrico da caseína (pH 4,6 - 4,7), desencadeando máxima firmeza da rede, que envolve os glóbulos de gordura e proteínas residuais do soro (Afonso e Maia, 1999). Não é bem elucidada, no entanto, a maneira como o CPS interage substituindo a gordura na formação do gel.

O presente trabalho objetivou fazer uma triagem de percentuais de adição de proteína (3, 4 e 5%) e de combinações de concentrado protéico do soro e leite em pó desnatado, com relação proteína:proteína de 1:0; 1,5:0,5; 1:1; 0,5:1,5; e 0:1, na produção de iogurte desnatado de consistência firme buscando atingir características de textura e sinérese similares às do iogurte integral.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Leite UHT desnatado e integral, e leite em pó desnatado (LPD) de marcas comerciais.

Concentrado protéico de soro de leite (CPS) AlacenTM 392, adquirido da empresa NZMP (New Zealand Milk Products), obtido a partir de soro doce (pH 6-6,8) ultrafiltrado, diafiltrado e seco por *spray drying*, conforme fabricante.

Cultura mista de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* da marca MYE, gentilmente cedida pela Rhodia.

2.2 Métodos

2.2.1 Composição Centesimal dos Ingredientes

As matérias primas foram analisadas quanto a sua composição química básica segundo A. O. A. C. (1996): sólidos totais por secagem em estufa a 105°C (leites fluidos), umidade por secagem em estufa a 105°C (ingredientes em pó), proteína total por micro-Kjeldahl, gordura pelo método Mojonnier e cinzas pelo método de incineração em mufla a 550°C. O percentual de lactose foi determinado por Felhing, de acordo com Lanara (1981). Dos leites UHT foram determinados ainda: pH em potenciômetro digital e acidez titulável por titulação com NaOH 1 N (Bradley *et al*, 1992).

2.2.2 Preparo dos Iogurtes

Os leites integral e desnatado foram acrescidos de 3, 4 ou 5% de proteína por combinações de LPD e CPS segundo Tabela 1 e homogeneizados. Seguiu-se aquecimento a 85°C por alguns segundos (± 3 s). A intenção inicial era de manter essa temperatura por 20 minutos, no entanto, algumas amostras (com maior proporção de CPS) gelatinizavam durante o tratamento térmico, inviabilizando o processo. Posteriormente os leites foram esfriados e inoculados com fermento láctico. As culturas lácticas foram reativadas no dia anterior, ou seja, adicionadas à leite desnatado na quantidade recomendada pelo fabricante e incubadas a 43°C até pH 4,6 ($\pm 0,1$) e estocadas em geladeira. Esse fermento foi empregado no volume de 2% (v/v) a mistura-base. Seguiu-se fracionamento em copos plásticos e incubação a 45°C até pH 4,6 ($\pm 0,05$). Posteriormente os iogurtes foram armazenados sobre refrigeração a 6°C em B.O.D..

O fluxograma de preparo das amostras está ilustrado na Figura 2.1.

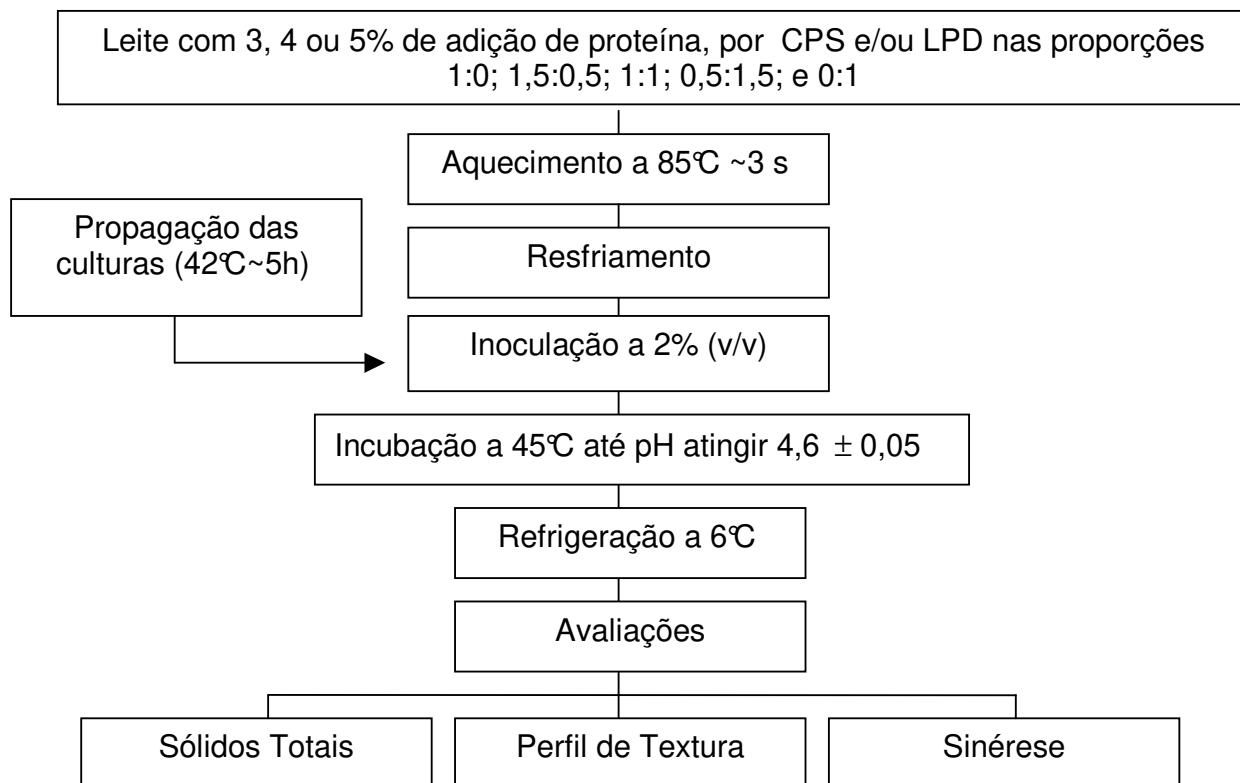


Figura 2.1: Fluxograma do preparo e avaliações dos iogurtes preparado por mistura-base de leite com concentrado protéico de soro do leite e/ou leite em pó desnatado.

2.2.3 Avaliações dos iogurtes

2.2.3.1 Sólidos Totais

O percentual de sólidos totais dos iogurtes foi determinado por secagem em estufa a 105°C ($\pm 3^\circ\text{C}$) até peso constante, segundo descrito A. O. A. C (1996).

Tabela 2.1 Código dos iogurtes, percentual de adição de proteína, proporção (proteína:proteína) e quantidade em gramas (produto:produto) de adição leite em pó desnatado (LPD) e concentrado protéico de soro (CPS)

Código do iogurte	Adição proteína (%)	Proporção LPD:CPS	Adição LPD:CPS (g.100mL ⁻¹ leite)
Y31*	3	1:0	8,48 : 0
Y32	3	1:0	8,48 : 0
Y33	3	1,5:0,5	6,36 : 0,95
Y34	3	1:1	4,24 : 1,90
Y35	3	0,5:1,5	2,12 : 2,85
Y36	3	0:1	0 : 3,81
Y41*	4	1:0	11,31 : 0
Y42	4	1:0	11,31 : 0
Y43	4	1,5:0,5	8,48 : 1,27
Y44	4	1:1	5,65 : 2,54
Y45	4	0,5:1,5	2,82 : 3,81
Y46	4	0:1	0 : 5,09
Y51*	5	1:0	13,74 : 0
Y52	5	1:0	13,74 : 0
Y53	5	1,5:0,5	10,30 : 1,59
Y54	5	1:1	6,87 : 3,18
Y55	5	0,5:1,5	3,43 : 4,77
Y56	5	0:1	0 : 6,36

* iogurte feito com leite integral

2.2.3.2 Perfil de Textura

O perfil de textura foi avaliado segundo Rawson e Marshall (1997), em texturômetro universal TAXT2, com probe cilíndrico de fundo chato de 35 mm de diâmetro (A/BE 35) e os resultados obtidos com auxílio do programa Texture Expert versão 1.11 para TPA (Texture Profile Analysis). As amostras de 50 mL

fermentadas em copos plásticos de 9,2 cm de altura e diâmetro interno superior e inferior de 6,6 e 5 cm, respectivamente, foram analisadas imediatamente após serem retiradas da B.O.D. (onde se encontravam a 6°C), em seis replicatas dentro do recipiente, tomando-se os três resultados de menor desvio. As condições de medida foram padronizadas em calibre do probe 60 mm, força de penetração de 15 g e velocidade de compressão de 3 mm.s⁻¹. As características de interesse para o iogurte foram dureza, coesividade, elasticidade e gomosidade (produto das duas primeiras).

2.2.3.3 Sucetibilidade à Sinérese

A suscetibilidade à sinérese foi obtida pelo método Guirguis *et al.* (1984), pela drenagem, em seis replicatas, do iogurte sobre peneira de aço inoxidável com tela 120 *mesh*, colocada sobre funil acoplado à proveta graduada. Sinérese (mL.100g⁻¹) foi expressa com volume de exudato coletado após 2 horas de refrigeração a 6°C.

2.2.4 Análise Estatística

Os resultados foram analisados através da comparação das médias dos tratamentos, com a utilização do teste de Tukey estabelecendo-se $p < 0,05$ como nível de significância. O programa estatístico utilizado foi o SAS versão VIII.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As matérias primas apresentaram composição química semelhante aos valores expressos nos respectivos rótulos comerciais. O concentrado protéico de soro (CPS) comparado ao leite em pó desnatado (LPD) apresenta o dobro do percentual de proteínas e cerca de três vezes mais gordura, enquanto o LPD é mais rico em cinzas e lactose (Tabela 2.2).

Tabela 2.2 Características físicas e químicas das matérias primas para preparo dos iogurtes

Parâmetro	Leite UHT desnatado	Leite UHT integral	LPD	CPS
Umidade (%)	Nd	Nd	3,8 ($\pm 0,1$)	5,7 ($\pm 0,3$)
Sólidos totais (%)	8,73 ($\pm 0,03$)	11,43 ($\pm 0,08$)	Nd	Nd
pH	6,76 ($\pm 0,01$)	6,63 ($\pm 0,02$)	Nd	Nd
Acidez titulável*	0,09 ($\pm 0,005$)	0,13 ($\pm 0,02$)	Nd	Nd
Proteína Total (%)	3,34 ($\pm 0,009$)	3,09 ($\pm 0,03$)	36,3 ($\pm 0,6$)	78,5 ($\pm 0,6$)
Gordura (%)	0,11 ($\pm 0,007$)	3,17 ($\pm 0,02$)	1,60 ($\pm 0,00$)	5,9 ($\pm 0,1$)
Lactose (%)	4,70 ($\pm 0,04$)	4,34 ($\pm 0,09$)	46,4 ($\pm 0,5$)	6,4 ($\pm 0,1$)
Cinzas (%)	0,74 ($\pm 0,005$)	0,81 ($\pm 0,02$)	8,02 ($\pm 0,01$)	2,62 ($\pm 0,02$)

* Expresso em % de ácido láctico

Nd Não determinado

Os resultados de perfil de textura, suscetibilidade à sinérese e percentual de sólidos totais encontram-se expressos na Tabela 2.3.

Considerando-se o percentual duas vezes maior de proteína do CPS, comparado ao LPD, o aumento do percentual do primeiro no preparo dos iogurtes, dentro de cada faixa de adição de proteína (3, 4 ou 5%), implicou na diminuição dos sólidos totais, como pode ser observado na Tabela 2.3.

No que se refere suscetibilidade à sinérese, tanto quantidade como qualidade da proteína (proporção proteínas do soro/caseínas) foram relevantes (Tabela 2.3). As menores dessoragens foram encontradas nos iogurtes com maiores fortificações de proteína e vice-versa, concordando com os resultados encontrados por Modler *et al.* (1983). Confirmando a capacidade da β -lactoglobulina de reter grandes quantidades de água, comparada a outras proteínas lácticas, obteve-se, dentro de cada nível de enriquecimento protéico, as menores sinéreses nas maiores proporções de adição de CPS.

Quanto à dureza, definida como a força necessária para se obter deformação, supõe-se que a gordura apresente a propriedade de intensificar a firmeza dos produtos. Comparando-se os valores de dureza encontrados para iogurtes integrais e desnatados adicionados apenas de LPD, constata-se resultados maiores para os primeiros ($Y31 > Y32$, $Y41 > Y42$, $Y51 > Y52$).

Tabela 2.3 Sólidos totais, sinérese e perfil de textura dos iogurtes contendo adições de 3, 4 ou 5% de proteína por diferentes combinações de CPS e LPD

Iogurte	Sólidos	Sinérese	Perfil de Textura			
	Totais (%)	(mL.100g ⁻¹)	Dureza (g)	Elasticidade **	Coesividade **	Gomosidade **
Y31*	17,76 ^e	20,55 ^{b,c}	268,97 ^{g,h}	0,938 ^a	0,373 ^{a,b,c}	100,42 ^{c,d,e,f}
Y32	15,05 ⁱ	19,68 ^{b,c,d}	234,32 ^{h,i}	0,931 ^a	0,361 ^{b,c,d,e}	79,62 ^{e,f,g}
Y33	16,25 ^g	26,18 ^a	181,24 ^j	0,933 ^a	0,404 ^a	73,23 ^{f,g}
Y 34	13,06 ^l	23,87 ^{a,b}	178,05 ^j	0,939 ^a	0,373 ^{a,b,c}	66,33 ^g
Y 35	12,56 ^m	20,01 ^{b,c}	214,91 ^{i,j}	0,931 ^a	0,370 ^{a,b,c}	79,62 ^{e,f,g}
Y 36	11,52 ⁿ	17,56 ^{c,d}	269,78 ^{g,h}	0,932 ^a	0,383 ^{a,b}	103,43 ^{c,d,e}
Y 41*	19,83 ^b	16,93 ^{c,d}	371,05 ^e	0,913 ^{a,b}	0,327 ^e	121,51 ^c
Y 42	17,22 ^f	17,65 ^{c,d}	311,84 ^{f,g}	0,869 ^{a,b}	0,352 ^{b,c,d,e}	109,97 ^{c,d}
Y 43	16,30 ^g	14,99 ^{e,d}	238,80 ^{h,i}	0,930 ^a	0,365 ^{b,c,d}	87,13 ^{d,e,f,g}
Y 44	15,21 ^{h,i}	11,56 ^{e,f}	295,04 ^{f,g}	0,912 ^{a,b}	0,358 ^{b,c,d,e}	105,73 ^{c,d,e}
Y 45	14,11 ^k	11,18 ^{e,f}	324,50 ^f	0,820 ^{b,c}	0,341 ^{c,d,e}	110,51 ^{c,d}
Y 46	13,29 ^l	3,13 ^{g,h}	458,70 ^d	0,853 ^{a,b,c}	0,369 ^{a,b,c}	169,77 ^b
Y 51*	21,19 ^a	5,09 ^{g,h}	498,83 ^{c,d}	0,336 ^e	0,181 ^f	92,59 ^{d,e,f,g}
Y 52	19,47 ^c	7,25 ^{f,g}	327,26 ^{e,f}	0,456 ^d	0,333 ^{d,e}	96,42 ^{c,d,e,f}
Y 53	18,31 ^d	3,31 ^{g,h}	531,75 ^c	0,345 ^e	0,196 ^f	104,03 ^{c,d,e}
Y 54	17,05 ^f	1,69 ^h	980,91 ^b	0,346 ^e	0,197 ^f	193,84 ^b
Y 55	15,42 ^h	2,23 ^h	1.063,22 ^a	0,757 ^c	0,352 ^{b,c,d,e}	373,95 ^a
Y 56	14,50 ^j	0,70 ^h	1.024,43 ^{a,b}	0,276 ^e	0,179 ^f	183,27 ^b

* Iogurte feito com leite integral

** Valores adimensionais

Médias seguidas pela(s) mesma(s) letra(s) não diferiram entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância para cada atributo.

A dureza foi diretamente proporcional à fortificação protéica (3%<4%<5%). Denota-se ainda que, nos iogurtes adicionados de 5% de proteína, o CPS

potencializou a dureza, observando-se os maiores valores nas amostras com maior proporção CPS/LPD.

Elasticidade, que é a velocidade com que um material deformado volta ao seu estado original depois de removida a força deformante, foi maior nas amostras com menores teores de proteína e vice-versa, tendo sido pouco, ou nada afetada pelo agente de enriquecimento.

Contrariando o esperado, a coesividade – relacionada com força das ligações internas que conferem consistência ao produto – apresentou valores menores na faixa de adição de 5% .

Gomosidade, energia requerida para desintegrar um alimento semi-sólido a um estado em que possa ser deglutido, tendeu a acompanhar o aumento da proporção de CPS para os iogurtes feitos com leite desnatado.

Relacionando-se sinérese com dureza e cada uma dessas variáveis independentes com o percentual de sólidos totais foi observada correlação significativa apenas entre a dureza e sinérese, conforme Figura 2.2, com tendência bem ajustada ($R^2 = 0,87$) por equação de potência.

A baixa correlação do percentual de sólidos totais com a sinérese ($R^2 = 0,04$), e com a dureza ($R^2 = 0,05$) pode ser explicada pela variação qualitativa dos sólidos presentes, ou seja, pela diferente proporção entre proteínas do soro, caseínas, gordura, lactose e minerais nas amostras. Na Figura 2.2 C, por exemplo, os iogurtes adicionados de 5% de proteína por combinações de LPD:CPS de 1:1 (Y 54), 0,5:1,5 (Y 55) e 0:1 (Y 56) apresentaram valores de duas a três vezes maiores de dureza que os demais iogurtes com mesmo percentual de adição protéica, no entanto, não diferiram estatisticamente entre si. Excluindo-se esses três pontos do gráfico, ainda assim, o coeficiente de correlação melhora, mas continua baixo ($R^2 = 0,32$).

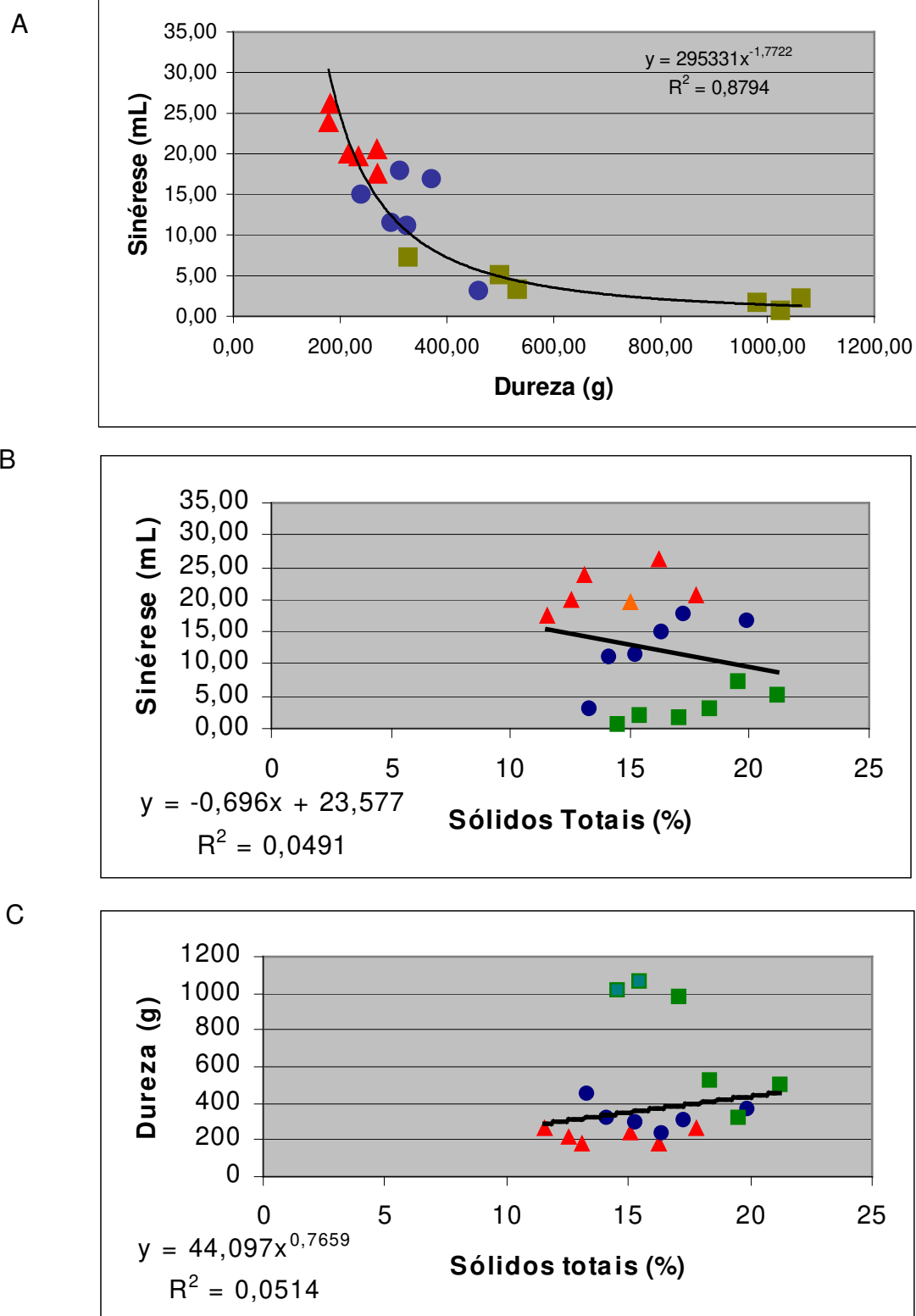


Figura 2.2 Correlação entre sinérese e dureza (A), sinérese e percentual de sólidos totais (B) e dureza e percentual de sólidos totais (C) dos iogurtes desnatados adicionados de combinações de CPS e LPD (iogurtes com 3% ▲ , 4% ● e 5% ■ de adição de proteína).

Sendo o objetivo do presente estudo a busca de formulação de iogurte desnatado com características de textura e dessoragem de iogurte integral, foi observado que na faixa de adição de 5% de proteína o iogurte Y53 não apresentou diferença estatisticamente significativa de perfil de textura e dessoragem do integral (Y51). Esse iogurte apresenta 25% da adição de proteína na forma de CPS ($1,59\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$ iogurte).

Guirguis *et al.* (1984) estudaram o efeito da substituição de 25% de LPD por CPS na manufatura de iogurtes com 14, 16 e 18% de sólidos totais. Dentre os resultados obtidos, a fortificação com CPS (contendo 45% de proteína) levou a melhora da viscosidade e redução da sinérese dos produtos.

Comparando-se grupos diferentes de adição de proteína, o Y44 (4% de adição) não diferiu do Y31 (3%), excetuando-se no valor de sinérese, no qual Y44 apresentou valor melhor (mais baixo). Sendo o Y44 enriquecido por 50% de CPS ($2,54\cdot 100\text{mL}^{-1}$ iogurte) e o concentrado protéico do soro com 80% de proteínas de custo elevado, sugere-se o iogurte Y53 como o mais interessante.

O percentual de adição de 5% de proteína é reconhecidamente elevado. Na indústria de laticínios a prática usual é de acrescentar 3% (m/v) de leite em pó desnatado combinado ou não com outros ingredientes de corpo. Caso tivesse sido possível aplicar maiores temperaturas e/ou tempos de aquecimento, possivelmente obter-se-ia melhores resultados com quantidades menores de CPS. Greig e Kan (1984) descrevem floculação das proteínas do CPS durante o aquecimento da mistura-base para iogurte. Segundo os autores citados quando a concentração de CPS adicionada é alta recomenda-se diminuir a temperatura (abaixo de 82°C) e aumentar o tempo de tratamento térmico.

4. CONCLUSÕES

O concentrado protéico do soro do leite agiu como ingrediente funcional modificando as propriedades de textura e dessoragem dos produtos.

Observou-se correlação significativa entre os parâmetros dureza e sinérese nos iogurtes avaliados.

As características de dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade e sinérese do iogurte desnatado adicionado de 5% de proteína, sendo LPD:CPS na proporção de 1,5:0,5 não diferiram ($p>0,05$) do iogurte integral com o mesmo percentual de adição protéica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFONSO, I. M., MAIA, J. M. Rheological monitoring of structure evolution and development in stirred yogurt. **Journal of Food Engineering**, v. 42, n. 4, p. 183-190, 1999.
- A. O. A. C. 1996. **Official methods of analysis**, Association of Official Analytical Chemists, Washington D. C.
- AUGUSTIN, M. A., CHENG, L. J., CLARKE, P. T. Effects of preheat treatment of milk powder on the properties of reconstituted set skim yogurts. **International Dairy Journal**, v. 9, n. 3-6, p. 415-416, 1999.
- BATT, C. A. Genetic engineering of food proteins of food proteins. In: DAMODARAN, S., PARAF, A. (Ed.). **Food proteins and their applications**, 1997. New York: Marcel Dekker, p. 425-441.
- BRADLEY, R. L. *et al.* Chemical and physical methods. In: MARSHALL, R. T. (Ed.) **Standard methods for the examination of dairy products**, 16th edition, 1992, American Public Health Association, Washington, DC, p. 433-529.
- DANNENBERG, F., KESSLER, H. G. Effect of denaturation of β -lactoglobulin on texture properties of set-style nonfat yogurt. 1. Syneresis. **Milchwissenschaft**, v. 43, n. 10, p. 632-635, 1988.
- FOX, P. F., McSWEENEY, P. L. H. **Dairy chemistry and biochemistry**, 1998. Chapman & Hall, 478p.
- GUIRGUIS, N., BROOME, M. C., HICKEY, M. W. The effect of partial replacement of skim milk powder with whey protein concentrate on the viscosity and syneresis of yoghurt. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 91, n. 1, p. 33-35, 1984.
- GREIG, R. I. W., KAN, J. V. Effect of whey protein concentrate on fermentation of yogurt. **Dairy Industries International**, v. 49, n. 10, p. 28-29, 1984.

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, n. 2, p. 83-91, 1999.

KALAB, M., EMMONS, D. B. Milk gel structure: Microstructure of yogurt as related to the heating of milk. **Milchwissenschaft**, v. 31, n. 7, 1976.

LANARA. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. Ministério da Agricultura, Brasília, 1981.

LIMA, S. C. G. **Efeito da adição de concentrado protéico de soro de leite e leite em pó desnatado na fabricação de iogurte firme**. 2001. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 77f. 2001.

MAISTRO, L. C. **Aplicação de concentrado protéico de soro de leite bovino em iogurtes**. Campinas, 1999. 107f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição Aplicada a Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP.

MODLER, H. W., LARMOND, M. E., LIN, C. S., FROEHLINCH, D. EMMONS, D. B. Physical and sensory properties of yogurt stabilized with milk proteins. **Journal of Dairy Science**, v. 66, n. 3, p.422-429, 1983.

MORR, C. V., HA, Y. W. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. **Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 431-476, 1993.

PENNA, A. L. B., BARUFFALDI, R., OLIVEIRA, M. N. Optimization of yogurt production using demineralized whey. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 4, p. 846-850, 1997.

RAWSON, H. L., MARSHALL, V. M. Effect of “ropy” strains of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* on rheology of stirred yogurt. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 32, n.3, p.213-220, 1997.

SCHMIDT, R. H., MORRIS, H. A. Gelation properties of milk proteins, soy proteins, and blended proteins systems. **Food Technology**, v. 38, n. 5, p. 85-96, 1984.

TAMIME, A. Y., DEETH, H. C. Yogurt: technology e biochemistry. **Journal of Food Protection**, v. 43, n. 12, p. 939-977, 1980.

TERCEIRO ESTUDO

PROPRIEDADES QUÍMICAS, FÍSICAS, MICROESTRUTURAIS E SENSORIAIS DE IOGURTE DESNATADO ESTABILIZADO COM CONCENTRADO PROTÉICO DO SORO DE LEITE

RESUMO

Avaliou-se a adição de combinações de concentrado protéico do soro de leite (CPS) e leite em pó desnatado (LPD) nas propriedades químicas, físicas, microestruturais e sensoriais de iogurtes desnatados de consistência firme. Os iogurtes desnatados foram feitos com adições 5% de proteína por combinações de LPD/CPS nas proporções de 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1 (proteína:proteína). Iogurte integral com adição de LPD/CPS a 1:0 foi o controle. A microestrutura dos iogurtes avaliados foi semelhante para todas as amostras, no entanto, aquelas com maior proporção de CPS apresentaram estrutura levemente mais compacta. A adição de CPS resultou em iogurtes mais firmes, coesos, com maior capacidade de reter água e de tempo de fermentação reduzido. O iogurte desnatado com adição de LPD/CPS a 1,5:0,5 não diferiu do controle no teste de preferência do consumidor, nos atributos aparência, sabor, textura e impressão global ($p>0,05$).

Palavras-chave: iogurte, concentrado protéico do soro de leite, textura, sinérese, propriedades sensoriais.

SUMMARY

The aim of the present work was to evaluate fat-free yogurt stabilized with skimmed milk powder (SMP) and whey protein concentrate (WPC) blends on chemical, physical, microstructural and sensorial properties of the products. The fat-free yogurts were made with SMP/WPC addition at 1:0, 1.5:0.5, 1:1, 0.5:1.5 and 0:1 (protein:protein). Whole yogurt with SMP/WPC addition at 1:0 was used as the control. Microscopy studies suggested that all the yogurts were similar, however the samples with high proportion of WPC showed a slightly more compact structure. The addition of WPC resulted in harder and more cohesive texture, higher water holding capacity and reduced fermentation time. The fat-free yogurt with SMP/WPC at 1.5:0.5 did not differed from the control in preference test in the attributes appearance, flavor, texture and overall impression ($p>0.05$).

Key words: yogurt, whey protein concentrate, microstructure, texture, syneresis, sensory properties.

1. INTRODUÇÃO

O iogurte é um “leite fermentado vivo” (Guyot, 1992).

Por décadas o soro de leite foi considerado um efluente da indústria lática, e devido ao grande volume liberado (cerca de 90 bilhões de litros anuais, no mundo) e por sua alta demanda biológica de oxigênio, constitui-se num sério problema ambiental (Regeister *et al.* 1996). As propriedades funcionais fisiológicas e tecnológicas do concentrado protéico do soro de leite têm despertado o interesse da indústria de alimentos por aplicá-lo em diversos produtos, especialmente os reduzidos em calorias (*light*).

O soro de leite representa uma fonte de proteínas funcionais que são ingredientes em potencial para diversos produtos tradicionais e novos (Kinsella e Whitehead, 1989). As proteínas do soro do leite podem ser aplicadas aos alimentos conferindo melhora de textura, aparência geral, gelatinização, formação de espuma, emulsificação, entre outros.

Do ponto de vista nutricional o soro do leite é facilmente digerido e apresenta alta eficiência metabólica, proporcionando proteínas de alto valor biológico, ricas em aminoácidos sulfurados (Regeister *et al.*, 1996).

O iogurte é obtido do leite através da ação protooperativa das duas bactérias homofermentativas *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* que transformam lactose em ácido láctico (Rasic e Kurmann, 1978). A acidificação provoca dois processos: o fosfato de cálcio é liberado da micela de caseína alterando sua estrutura, e o pH quando se aproxima de 5,0 leva a precipitação isoeletrica das caseínas (Dalgeish, 1997). Os dois fenômenos estão envolvidos na formação do gel característico do iogurte.

A fortificação com proteína e o tratamento térmico são os parâmetros que afetam mais fortemente as propriedades de textura do iogurte (Lucey *et al.*, 1999; Augustin *et al.*, 1999). Durante o aquecimento do leite varias reações ocorrem, incluindo agregação e formação de complexos entre as proteínas do soro, caseínas e glóbulos de gordura (Corredig e Dalgleish, 1999). O incremento nos sólidos totais leva a redução do tempo de coagulação e pode ser feito por adição

de leite em pó, concentração do leite e/ou adição de concentrado protéico do soro de leite (Tamime e Deeth, 1980; Morr e Ha, 1993).

Muitos pesquisadores têm estudado o efeito do concentrado protéico do soro de leite na fermentação, características de textura, sinérese, microestrutura e propriedades sensoriais de iogurtes (Augustin *et al.*, 1999, Bhullar, *et al.*, 2002, Broome *et al.*, 1982, Dannenberg e Kessler, 1988, Davies *et al.*, 1978, El-salam *et al.*, 1991, Martini *et al.*, 1987, Modler *et al.*, 1983, Modler e Kálab, 1983, Parnell-Clunies *et al.*, 1986).

Tamine e Deeth (1980) pesquisaram diversos ingredientes como estabilizadores de iogurtes. De acordo com esses autores o soro em pó confere sabor indesejável, enquanto que a fortificação com leite em pó desnatado pode levar a produção excessiva de ácido prejudicando o sabor. Por outro lado, Penna *et al.* (1997) indicaram a possibilidade de uso do soro em pó desmineralizado na substituição do leite em pó desnatado sem diminuir a aceitabilidade do iogurte.

A proposta deste trabalho foi avaliar a adição de 5% de proteína em diferentes combinações de CPS (concentrado protéico do soro de leite) e LPD (leite em pó desnatado) na curva de fermentação, perfil de textura, sinérese, capacidade tamponante, microestrutura e propriedades sensoriais de iogurte natural desnatado de consistência firme.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Foram utilizados leite integral e desnatado UHT, leite em pó desnatado (LPD) obtido no comércio local, concentrado protéico do soro de leite (CPS) AlacenTM 392 adquirido da empresa New Zealand Milk Products (NZMP) e culturas lácticas de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* EZAL MYE, gentilmente cedidos pela Rhodia.

2.2 Metodologia

2.2.1 Preparo de iogurte

Os leites integral e desnatado foram adicionados de 5% de proteína por combinações de LPD e CPS de acordo com a Tabela 3.1.

Tabela 3.1 Códigos dos iogurtes, proporção de adição (proteína:proteína) e percentual (produto:produto) de adição de leite em pó desnatado (LPD) e concentrado protéico de soro (CPS)

iogurte	Proporção LPD:CPD	Adição LPD:CPS (g.100mL ⁻¹ leite)
Y 51*	1,0:0,0	13,74 : 0,0
Y 52	1,0:0,0	13,74 : 0,0
Y 53	1,5:0,5	10,30 : 1,59
Y 54	1,0:1,0	6,87 : 3,18
Y 55	0,5:1,5	3,43 : 4,77
Y 56	0,0:1,0	0,0 : 6,36

* iogurte preparado com leite integral (controle)

A metodologia para produção de iogurte está descrita na Figura 3.1. Após o período de fermentação as amostras foram refrigeradas a 6°C em B.O.D. e as seguintes determinações foram procedidas: pH, acidez titulável, perfil de textura, capacidade tamponante, microestrutura e análise sensorial.

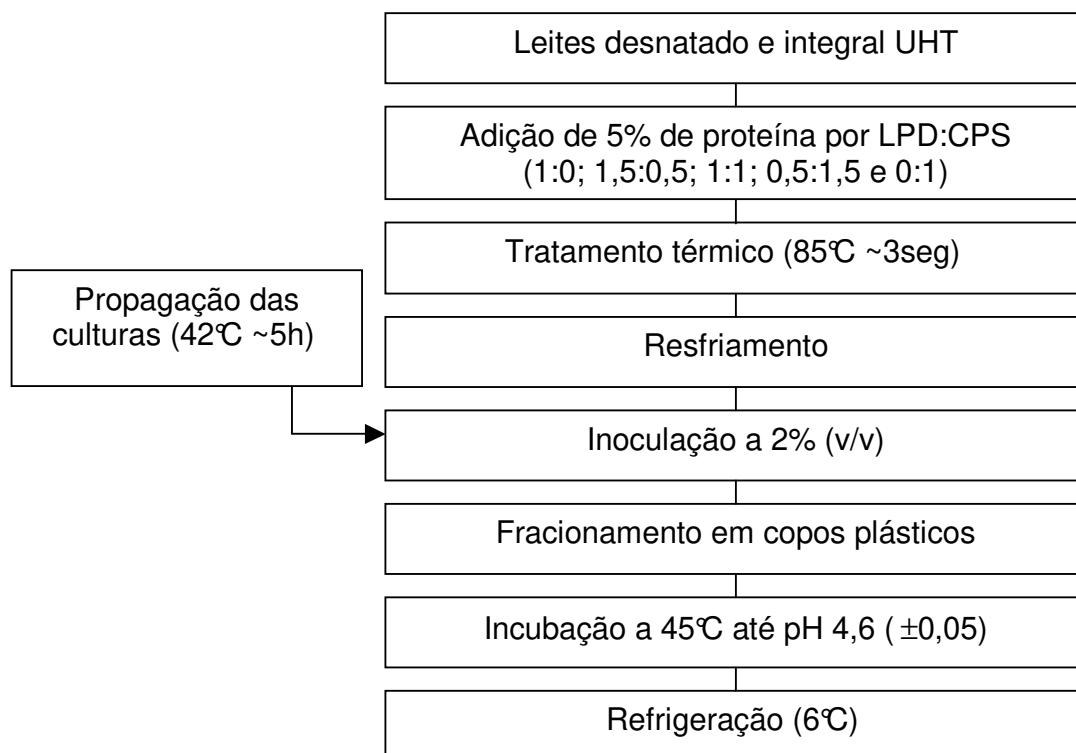


Figura 3.1 Fluxograma do preparo de iogurte de consistência firme adicionados de leite em pó desnatado (LPD) e/ou concentrado protéico do soro de leite (CPS).

2.2.2 Composição Química Básica

Sólidos totais, proteína, lipídios e cinzas dos leites UHTs e dos iogurtes foram determinados segundo metodologias descritas pela A. O. A. C. (1996). O percentual de lactose foi obtido conforme o método de Fehling (Lanara, 1981).

2.2.3 Cinética de Fermentação

Durante a incubação o pH e percentual de ácido láctico foram monitorados a cada 15 minutos; o primeiro por leitura direta em potenciômetro digital, e o segundo por titulação com NaOH 0,1N conforme Bradley *et al*, (1992). Fixou-se pH 4,6 (±0,05) como o término da fermentação.

2.2.4 Perfil de Textura (TPA)

O perfil de textura foi avaliado segundo Rawson e Marshall (1997), em texturômetro universal TAXT2, com probe cilíndrico de fundo chato de 35 mm de diâmetro (A/BE 35) e os resultados obtidos com auxílio do programa Texture Expert versão 1.11 para TPA (Texture Profile Analysis). As amostras de 50 mL fermentadas em copos plásticos de 9,2 cm de altura e diâmetro interno superior e inferior de 6,6 e 5 cm, respectivamente, foram analisadas imediatamente após serem retiradas da B.O.D. (onde se encontravam a 6°C), em seis replicatas dentro do recipiente, tomando-se os três resultados de menor desvio. As condições de medida foram padronizadas em calibre do probe 60 mm, força de penetração de 15 g e velocidade de compressão de 3 mm.s⁻¹. As características de interesse para o iogurte foram dureza, coesividade, elasticidade e gomosidade (produto das duas primeiras).

2.2.5 Suscetibilidade à Sinérese

A suscetibilidade à sinérese foi obtida pelo método de Guirguis *et al.* (1984), pela drenagem, em seis replicatas (tomando-se os três resultados de menor desvio), do iogurte sobre peneira de aço inoxidável com tela 120 *mesh*, colocada sobre funil acoplado à proveta graduada. Sinérese (mL.100g⁻¹) foi expressa com volume de exudato coletado após 2 horas de refrigeração a 6°C.

2.2.6 Capacidade Tamponante

A capacidade tamponante dos iogurtes foi medida de acordo com Martini *et al.* (1987) pela titulação de amostras de cerca de 50 mL iogurte (diluídas em 50mL de água destilada e homogeneizadas por 30 minutos) com HCl 1,0 N em até a diminuição do pH de 4,6 até 2,0 (monitorada em potenciômetro digital).

2.2.7 Microestrutura

Para a análise da microestrutura dos iogurtes foi empregada Microscopia Eletrônica de Varredura ou MEV (Scanning Electron Microscopy ou SEM). As amostras de iogurte de consistência firme (estocadas pelo período de uma semana) foram cortadas em cubos com cerca de 2 x 2 x 2 mm, cerca de 1cm abaixo da superfície (Yazici *et al.*, 1997). Posteriormente foram fixadas seqüencialmente em solução de glutaraldeído a 1,4% (em tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 7,2) e a 2,5% (em tampão fosfato de sódio 0,1 M) por 3 horas com cada uma das soluções a 6°C. Os cubos fixados foram enxa guados em tampão fosfato de sódio 0,1 M a cada 15 minutos por duas vezes.

Seguiu-se pós-fixação em solução de tetróxido de ósmio a 1% (em tampão fosfato de sódio 0,1 M, pH 7,2) por 15 horas a 6°C. No dia seguinte procedeu-se novamente o enxágüe das porções em tampão fosfato de sódio 0,1 M a cada 15 minutos por duas vezes. Iniciou-se a desidratação utilizando gradiente em álcool etílico a seguir: etanol 50%, 70% e 90% (2 x de 15 minutos), etanol 95% (2 x de 10 minutos), etanol absoluto (3 x de 10 minutos) terminando com acetona 100% (2 x de 30 minutos).

As amostras, imersas no meio de transição (acetona P. A.) foram transferidas para o aparelho de ponto crítico de CO₂ da marca CPD-030 Balzers, procedendo-se à secagem usando o método do ponto crítico (Souza, 1998).

Posteriormente os espécimens foram recobertos por 240s/40mA com ouro no sistema *sputtering* em metalizador Sputter Coter SCD-050.

A observação microscópica e o registro das imagens foram procedidos a 5 kV e 10 kV de aceleração no microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-5800 LV. As fotografias foram obtidas em filme de 120 mm.

2.2.8 Análise Sensorial

Teste de aceitação foi realizado com 30 provadores, consumidores de iogurte natural, utilizando-se escala hedônica não estruturada de 9 cm (ver

apêndice B). O objetivo principal dessa análise foi verificar se a presença de CPS poderia comprometer a aceitação do produto. A amostra Y53 – escolhida em experimento prévio por apresentar características de textura instrumental e dessoragem semelhantes às do iogurte integral – foi submetida à avaliação juntamente com dois iogurtes adicionados apenas de LPD: iogurte integral (Y51) e iogurte desnatado (Y52). As amostras foram oferecidas com mel e apresentadas monadicamente. Aos julgadores solicitou-se avaliarem os atributos aparência, sabor, textura e impressão global, bem como, que indicassem a intenção de compra do produto caso o encontrassem à venda no mercado.

2.2.9 Análise Estatística

Os resultados foram analisados por ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$) para a comparação das médias, com o programa SAS (v. 8.2, 2001).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição Química Básica

A composição centesimal dos leites UHT integral e desnatado, bem como dos iogurtes confeccionados à partir deles, encontram-se, respectivamente, nas Tabelas 3.2 e 3.3.

Tabela 3.2 Composição química básica dos leites UHT integral e desnatado

Leite	pH	Ácido Lático (%)	Sólidos Totais (%)	Proteínas* (%)	Lactose (%)	Lipídios (%)	Cinzas (%)
Integral	6,60	0,10 ($\pm 0,01$)	11,54 ($\pm 0,04$)	3,10 ($\pm 0,02$)	4,71 ($\pm 0,07$)	3,14 ($\pm 0,01$)	0,77 ($\pm 0,00$)
Desnatado	6,62	0,13 ($\pm 0,01$)	8,74 ($\pm 0,04$)	2,87 ($\pm 0,05$)	4,48 ($\pm 0,01$)	0,15 ($\pm 0,00$)	0,79 ($\pm 0,01$)

Médias $\pm$ desvio padrão; * N x 6,38

Conforme expresso na Tabela 3.3, o percentual de proteína dos iogurtes foi semelhante, no entanto, o percentual de sólidos totais variou amplamente devido

às diferentes proporções de proteína encontradas no LPD e CPS (cerca de 35 e de 80%, respectivamente). As amostras Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 apresentaram baixa quantidade de gordura, adequando-se a legislação brasileira em vigor, que estabelece valor máximo de 0,5% de gordura para iogurtes desnatados (BRASIL, 2000).

Tabela 3.3 Composição química básica dos iogurtes

logurte	pH	Ácido Lático (%)	Sólidos Totais (%)	Proteínas** (%)	Lactose (%)	Lipídios (%)	Cinzas (%)
Y 51 *	4,64	1,22 (±0,00)	21,8 (±0,3)	7,19 (±0,03)	10,9 (±0,10)	3,1 (±0,1)	1,62 (±0,02)
Y 52	4,64	1,20 (±0,01)	19,9 (±0,2)	7,24 (±0,02)	11,1 (±0,30)	0,34 (±0,02)	1,61 (±0,01)
Y 53	4,65	1,12 (±0,03)	18,6 (±0,2)	7,36 (±0,06)	9,84 (±0,09)	0,37 (±0,00)	1,52 (±0,03)
Y 54	4,60	1,23 (±0,01)	17,9 (±0,1)	7,61 (±0,02)	8,48 (±0,06)	0,47 (±0,00)	1,29 (±0,01)
Y 55	4,65	1,14 (±0,04)	15,3 (±0,2)	7,72 (±0,08)	6,34 (±0,00)	0,43 (±0,02)	1,06 (±0,02)
Y 56	4,60	0,94 (±0,01)	13,8 (±0,2)	7,6 (±0,1)	4,92 (±0,04)	0,48 (±0,02)	0,88 (±0,02)

* logurte preparado com leite integral (controle)

** N x 6,38

Médias ± desvio padrão

3.2 Cinética de Fermentação

Nas Figuras 3.2 e 3.3 estão ilustradas as cinéticas de fermentação dos iogurtes experimentais. Os iogurtes adicionados de maiores proporções de CPS apresentaram redução no tempo de fermentação (Figura 3.2). Penna *et al.* (1997), observaram correlação entre tempo de fermentação e quantidade adicionada de soro de leite desmineralizado em pó para manufatura de iogurte. O acréscimo deste ingrediente - segundo eles – levou à diminuição do tempo de fermentação.

Ainda que os iogurtes com maior adição de CPS tenham atingido o pH fixado para término do processo fermentativo mais rapidamente, eles não apresentaram maiores quantidades finais de ácido láctico (Figura 3.3). Esse resultado confirma o obtido por Rodrigues-Serrano *et al.* (2002) que o atribui à menor capacidade tamponante do soro em comparação ao leite. Cristianini e Roig

(1987) relataram, da mesma forma, que amostras de iogurte contendo sólidos de soro de queijo atingiram pH menor mais rapidamente que amostra controle, no entanto, nesses iogurtes os autores observaram desenvolvimento mais rápido de acidez – de maneira tanto mais rápida quanto maior a adição desses sólidos – divergindo do resultado encontrado no presente trabalho.

Na curva de fermentação ilustrada na Figura 3.2 pode ser observado que os iogurtes com maiores proporções de adição de CPS (Y54, Y55 e Y56) apresentaram queda brusca de pH entre os tempos de 75 e 135 minutos de fermentação, seguida de pequeno platô na faixa de pH 5,2 a 5,0. Nesse momento esses iogurtes já apresentavam consistência firme e já poderia ser interrompido o processo fermentativo. O iogurte Y53 apresentou curva muito semelhante às dos iogurtes apenas adicionados de LPD, atingindo a faixa acima referida de pH com 150 minutos de incubação, 15 minutos antes do padrão (Y51). Contudo, em pH 5,2 as ligações que entre micelas de caseína são frágeis e apenas com a diminuição do pH é que ocorre aumento nas interações eletrostáticas para que as micelas permaneçam unidas de forma mais estável no gel (Walstra, 1990).

3.2 Perfil de Textura, Sinérese, Capacidade Tamponante e Percentual de Sólidos Totais

Conforme as Figuras 3.4 a 3.10, o CPS agiu como ingrediente funcional que modificou as propriedades de textura e capacidade de retenção de água dos iogurtes.

Vale ressaltar, contudo, que iogurtes feitos com leite UHT apresentam menores consistência e viscosidade (Rasic e Kurman, 1978, Labropoulos *et al*, 1984, Parnell-Clunies, *et al*, 1986). Melhores resultados de perfil de textura seriam obtidos, provavelmente, se utilizado leite pasteurizado convencionalmente.

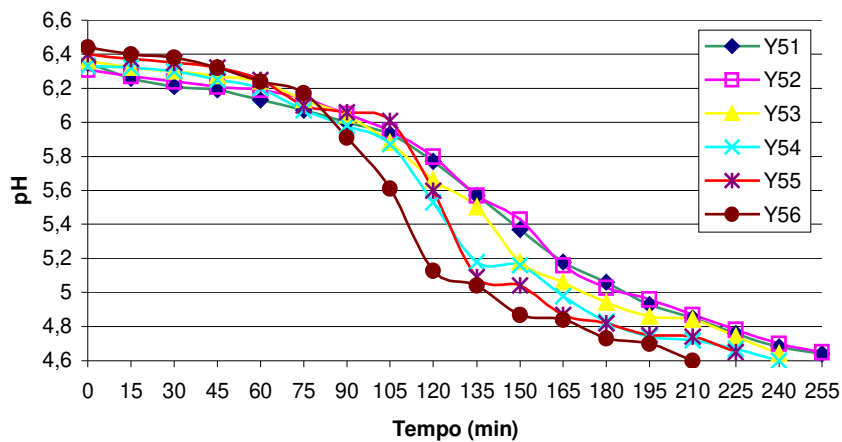


Figura 3.2 Curvas de pH durante fermentação dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados) estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente.

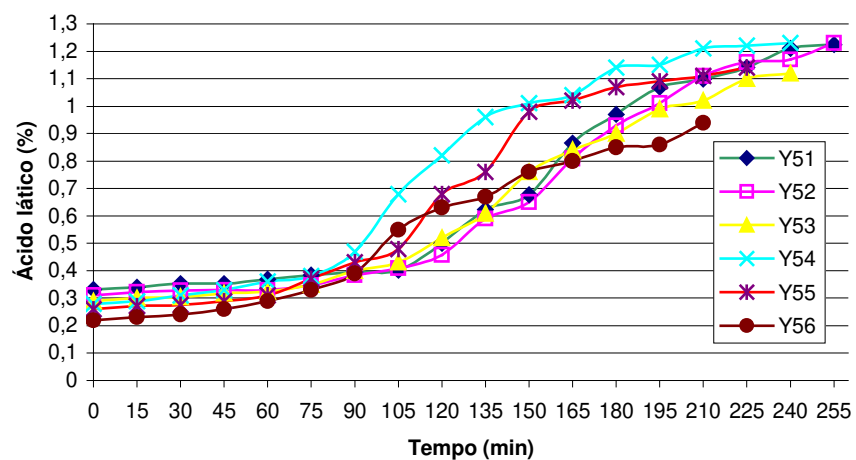


Figura 3.3 Produção de ácido láctico durante fermentação dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados) estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente.

Dureza e gomosidade tenderam a aumentar significativamente ($p < 0,05$) nos iogurtes fortificados com maiores proporções de CPS (Figuras 3.4 e 3.5, respectivamente). Conforme o esperado, iogurtes integral e desnatado adicionados de LPD (Y51 e Y52, respectivamente), diferiram entre si em firmeza (ou dureza). No entanto, os valores de firmeza e gomosidade obtidos pelo iogurte Y53, adicionado de LPD:CPS na proporção de 1,5:0,5 não diferiu do controle (Y51) a 95% de confiança.

Os perfis de elasticidade e coesividade das diferentes formulações de iogurte foram semelhantes entre si como pode ser visualizado nas Figura 3.6 e 3.7. Os maiores valores, para ambos os atributos, foram obtidos pelas amostras Y52 e Y55. Resultados obtidos pelas amostras Y53, Y54 e Y56, para os dois parâmetros, não diferiram do controle.

A susceptibilidade à sinérese dos iogurtes tendeu a diminuir com a presença de CPS de forma diretamente proporcional (Figuras 3.8). O menor valor de dessoragem ($0,7 \text{ mL} \cdot 100\text{g}^{-1}$ iogurte) foi obtido com amostra estabilizada apenas por CPS (Y56). Por outro lado, o iogurte desnatado ao qual apenas LPD foi acrescido como agente estabilizador (Y52) apresentou sinérese cerca de dez vezes maior ($7,5 \text{ mL} \cdot 100\text{g}^{-1}$ iogurte).

Os autores Guirguis *et al.* (1984) estabeleceram valor de dessoragem menor que $10 \text{ mL} \cdot 100\text{g}^{-1}$ iogurte como aceitável. Nenhum dos iogurtes do presente estudo ultrapassou esse limite.

Embora possuindo menores quantidades de sólidos totais (Figura 3.9) os iogurtes nos quais predominou adição de CPS apresentaram maiores resultados de dureza e capacidade de retenção de água (Figuras 3.4 e 3.8). Esse resultado atribui-se provavelmente ao grande acréscimo de β -lactoglobulina na rede, que complexa com κ -caseína das micelas durante o aquecimento, alterando o grau de coalescência das micelas durante a fermentação (Davies *et al.*, 1978).

O estudo da capacidade tamponante no iogurte tem importância tecnológica e fisiológica. Do ponto de vista tecnológico, alta capacidade tamponante melhora a viabilidade das bactérias lácticas durante a vida-de-prateleira do produto, especialmente das culturas probióticas que são sensíveis ao pH. Do ponto de vista

de saúde humana, o consumo de iogurte representa uma alternativa alimentar para pessoas com intolerância à lactose, contanto que a β -galactosidase dos fermentos mantenha sua atividade durante o processo digestivo. A β -galactosidase das bactérias lácticas é estável em pH 4,0, sendo inativada em valores mais baixos de pH (Martini *et al.*, 1987). Segundo esses autores, embora a acidez do estômago desnature irreversivelmente a maioria das enzimas de origem alimentar, alguns fatores estão envolvidos na preservação funcional desta enzima durante o consumo de iogurte, tais como a excelente capacidade tamponante das proteínas lácteas e a integridade da membrana e parede celular microbiana.

A adição de concentrado protéico de soro de leite influenciou na capacidade tamponante dos iogurtes, conforme ilustrado na Figura 3.10.

De acordo com a literatura esperava-se obter melhores valores de capacidade tamponante para as amostras de iogurte contendo CPS, devido à presença das proteínas do soro, fosfatos e sais como citrato (Kailasapathy e Supriadi, 1996, Kailasapathy *et al.*, 1996). No entanto, conforme Figura 3.10, os iogurtes com maiores proporções CPS:LPD, apresentaram valores significativamente menores de capacidade tamponante.

A maior capacidade tamponante obtida pelos iogurtes contendo proporções mais elevadas de LPD pode justificar a diminuição mais gradual do pH das amostras Y51 e Y52, obtida nas curvas de fermentação (Figura 3.2).

O teor de sólidos totais e a capacidade tamponante aumentaram de forma diretamente proporcional, confirmando os resultados de Kailasapathy *et al.* (1996). Segundo Lima (2001) aumentando-se o teor de sólidos totais na mistura base, aumenta-se a acidez titulável, portanto, a maior capacidade tamponante dos iogurtes com maior proporção de LPD pode ser devida pelo maior teor de sólidos totais destas amostras.

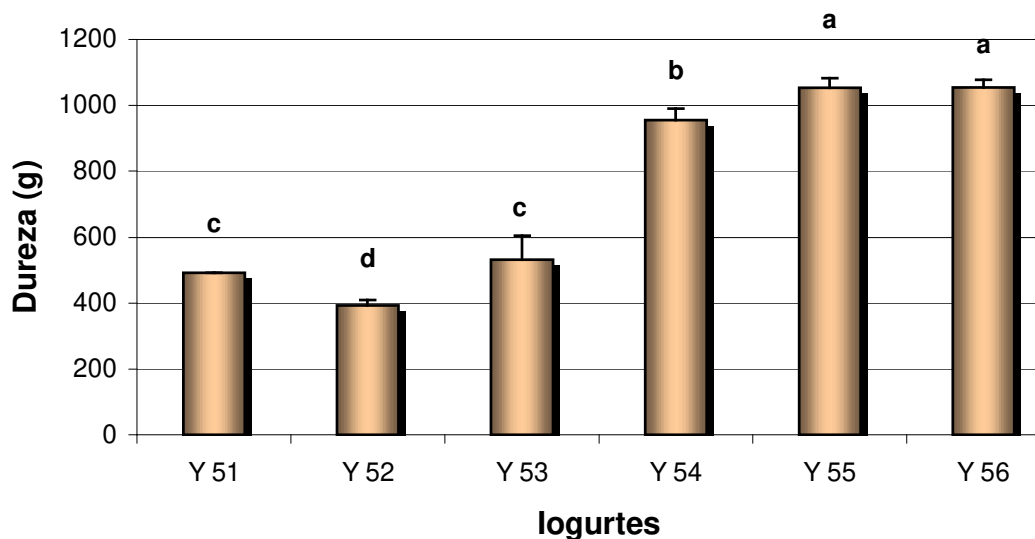


Figura 3.4 Dureza dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados), estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente. Médias com letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

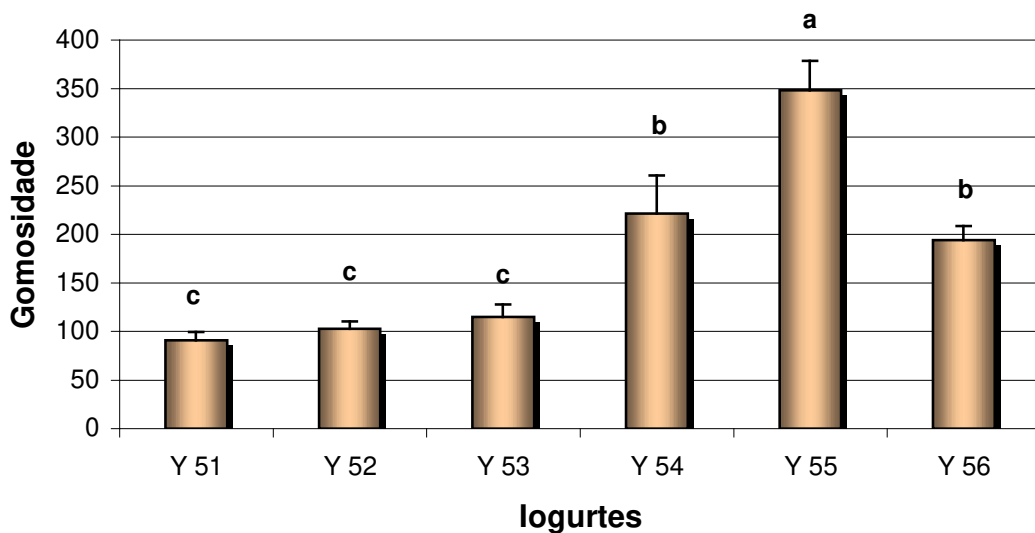


Figura 3.5 Gomosidade dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados), estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente. Médias com letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

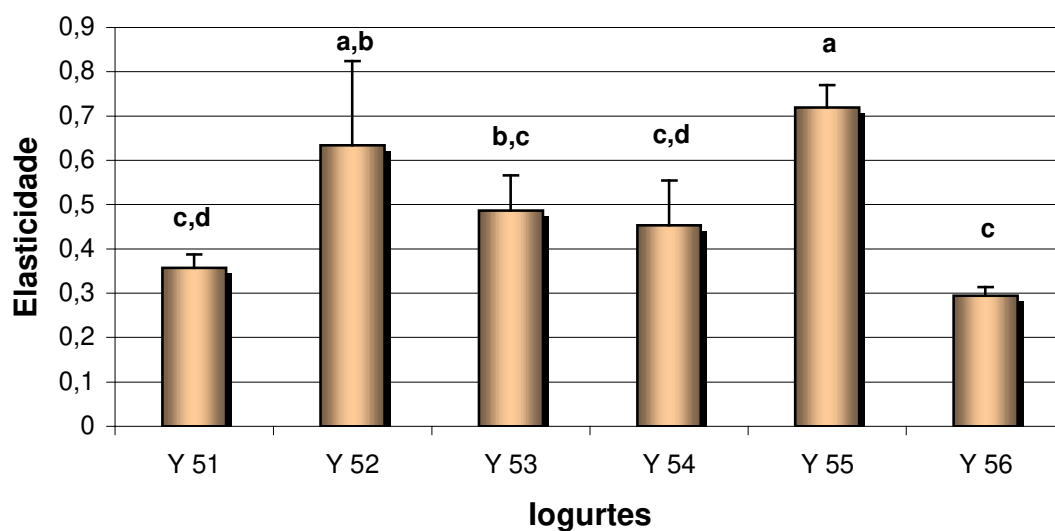


Figura 3.6 Elasticidade dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados), estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente. Médias com letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

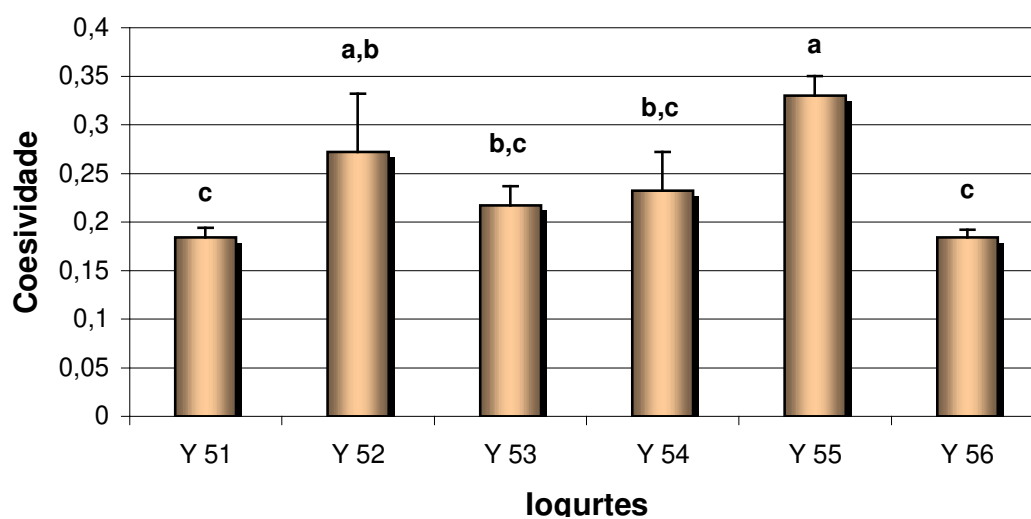


Figura 3.7 Coesividade dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados), estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente. Médias com letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

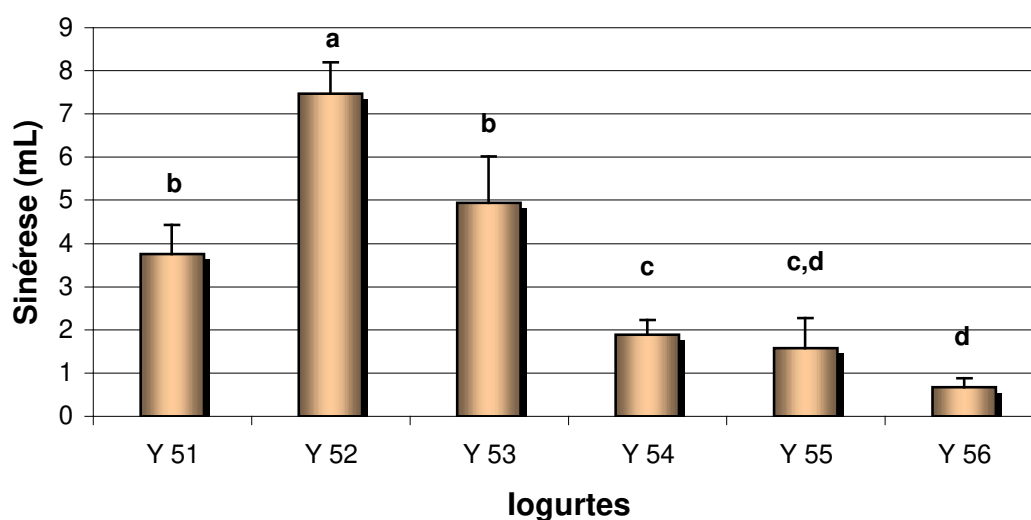


Figura 3.8 Sinérese dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados), estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente. Médias com letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

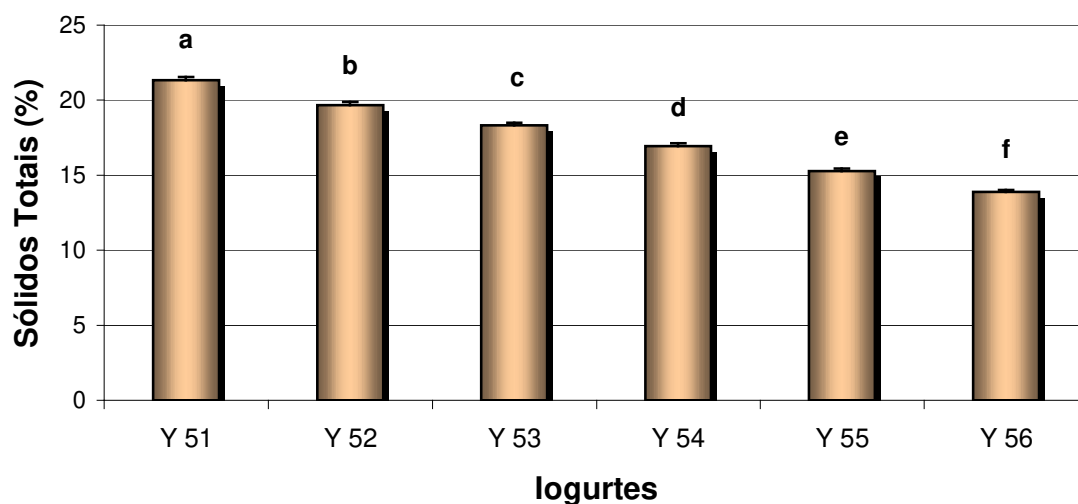


Figura 3.9 Sólidos totais dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados), estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente. Médias com letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

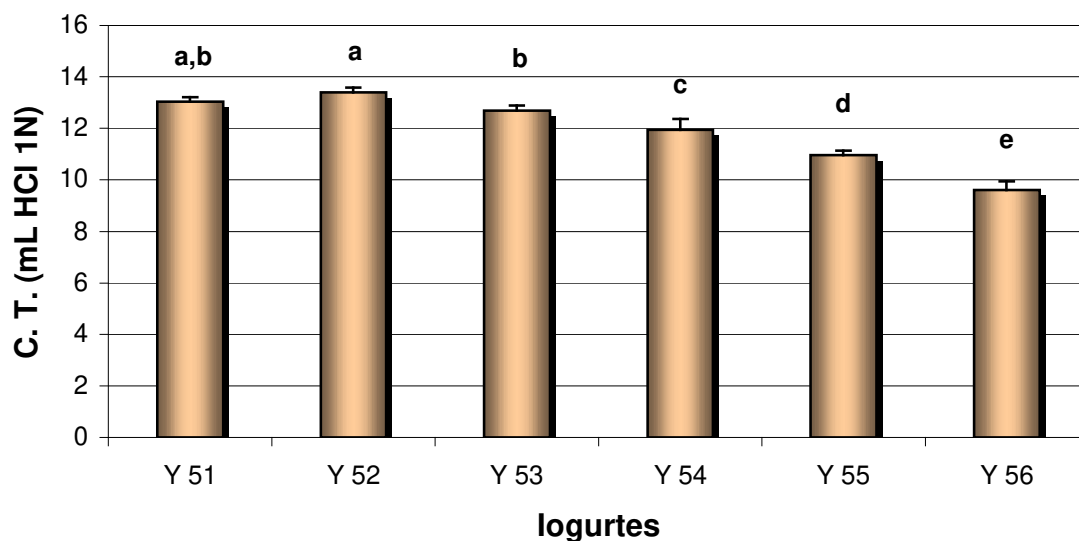


Figura 3.10 Capacidade tamponante (C. T.) dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados), estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente. Médias com letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

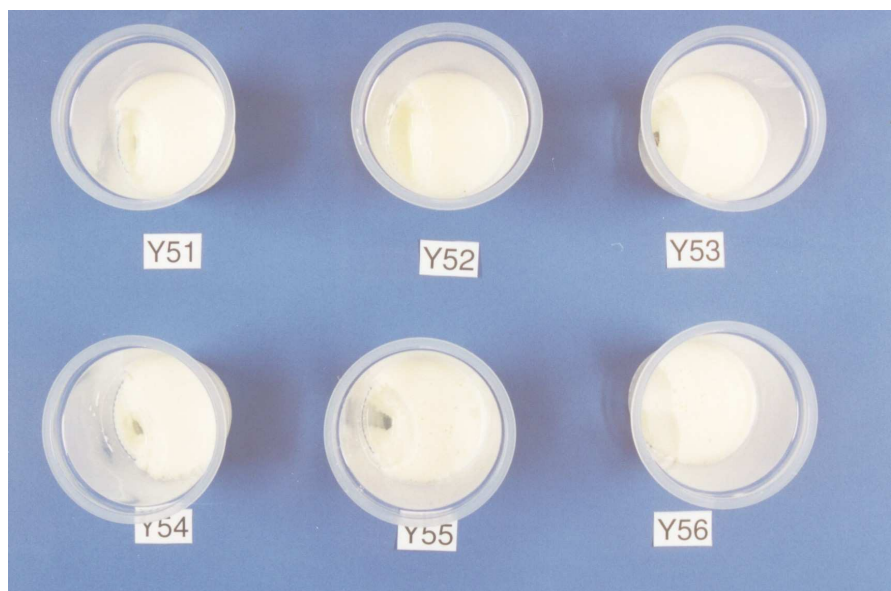


Figura 3.11 Aparência dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados), estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente.

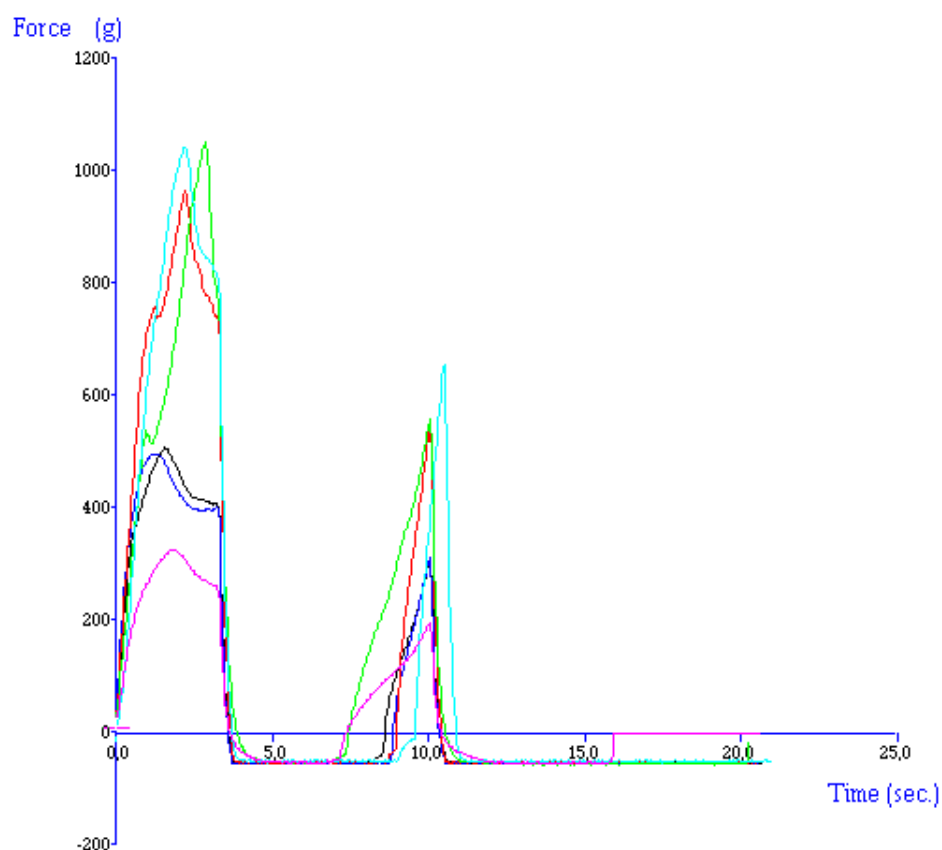


Figura 3.12 Gráfico de perfil de textura dos iogurtes integral Y51 (—), e desnatados Y52 (—), Y53 (—), Y54 (—), Y55 (—) e Y56 (—), estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente.

A Figura 3.12 ilustra a curva instrumental do perfil de textura obtida pelos iogurtes avaliados. Essa curva é resultante de dois ciclos de penetração que são relativos a parâmetros mecânicos da amostra.

Evidencia-se na referida figura que o iogurte desnatado adicionado apenas de LPD (amostra Y52) apresentou perfil de textura diferente do iogurte integral (Y51). Na amostra Y53, observou-se sinergismo positivo entre o CPS (adicionado na proporção de 25%) e o LPD, resultando em grande similaridade entre a curva obtida por esse iogurte e pelo padrão. Quando a proporção de adição de CPS passou para 50%, houve aumento importante na dureza que quase duplicou de valor. Em contrapartida, os aumentos sucessivos de adição de CPS não refletiram em aumentos importantes deste atributo reológico.

3.3 Macro e Microestrutura

A aparência dos iogurtes experimentais pode ser observada na Figura 3.11. A amostra de iogurte desnatado adicionado apenas de LPD (Y52) apresentou dessoragem forte. A presença do CPS, mesmo nas proporções mais elevadas (Y54, Y55 e Y56) não levou à alteração perceptível na cor dos produtos.

Os iogurtes de consistência firme caracterizaram-se por microestrutura reticulada, constituída por rede tridimensional composta por cadeias de micelas de caseína interconectadas, como pode ser visto nas Figuras 3.13, 3.14, 3.15 e 3.16.

A formação de malha protéica desses iogurtes ocorreu, resumidamente, pela seguinte sucessão de eventos: a) desnaturação térmica das proteínas do soro presentes nos leite UHT e LPD, e no CPS, expondo grupamentos reativos (sítios hidrofóbicos, sulfidrilas e outros); b) interação entre β -Lg e κ -caseína durante aquecimento dos ingredientes; c) acidificação do leite pela liberação de ácido láctico durante o processo fermentativo, fazendo com que o fosfato de cálcio (um dos agentes estabilizadores das micelas de caseína) fosse dissolvido; d) precipitação isoeletrica das caseínas e das proteínas do soro desnaturadas formando coalho.

O uso de diferentes combinações de LPD e CPS resultou em diferenças discretas entre as amostras. Os iogurtes com maior proporção de CPS apresentaram matriz levemente mais densa e com menores espaços intersticiais, confirmando resultado obtido por Bhullar (2002). Alguns glóbulos de gordura puderam ser identificados nas imagens, porém parte deles (especialmente no iogurte integral) ficaram envoltos por agregados de caseína.

Modler e Kaláb (1983) estudaram a estabilização de iogurtes desnatados por diversos ingredientes à base de caseína e proteínas do soro do leite por microscopia eletrônica de varredura (SEM) e de transmissão (TEM), encontrando dissimilaridades entre as amostras. Os iogurtes fortificados com leite em pó desnatado e proteínas do leite concentradas apresentaram as micelas de caseína unidas por poucas ligações; enquanto caseinato de sódio induziu a formação de micelas extensivamente coalescidas. Por outro lado, os iogurtes preparados com concentrados protéicos do soro do leite diferiram dos demais pela presença de espaços intermicelares com proteínas floculadas.

A Figura 3.14 letra A ilustra uma falha de homogeneização dos ingredientes observada apenas em uma pequena porção da amostra do iogurte desnatado Y55, caracterizando-se por grande quantidade de glóbulos de gordura dispersos livremente, sem fazer parte da matriz protéica. O referido iogurte apresentou cerca de 0,43% ($\pm 0,02$) de gordura. Em contrapartida, na mesma figura, letra B, observa-se o iogurte integral (Y51), que contém teor de lipídios cerca de sete vezes maior (Tabela 3.3). Nessa amostra não se observou, contudo, quantidade expressiva de glóbulos de gordura. Supõe-se que a maior parte de seus lípidos estejam finamente homogeneizados na forma de pequenos glóbulos fazendo parte da estrutura protéica no coalho láctico, não sendo distinguíveis nos aumentos alcançados e pela técnica utilizada. Parlnell-Clunies *et al.* (1986) observaram por Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM) glóbulos de gordura de reduzido diâmetro envolvidos por agregados de caseína. Segundo Cho *et al.* (1999) os glóbulos de gordura podem se apresentar nos géis lácteos – após o aquecimento do leite – cobertos por moléculas de caseinato de sódio ou por proteínas do soro desnaturadas, ou ainda livres na matriz.

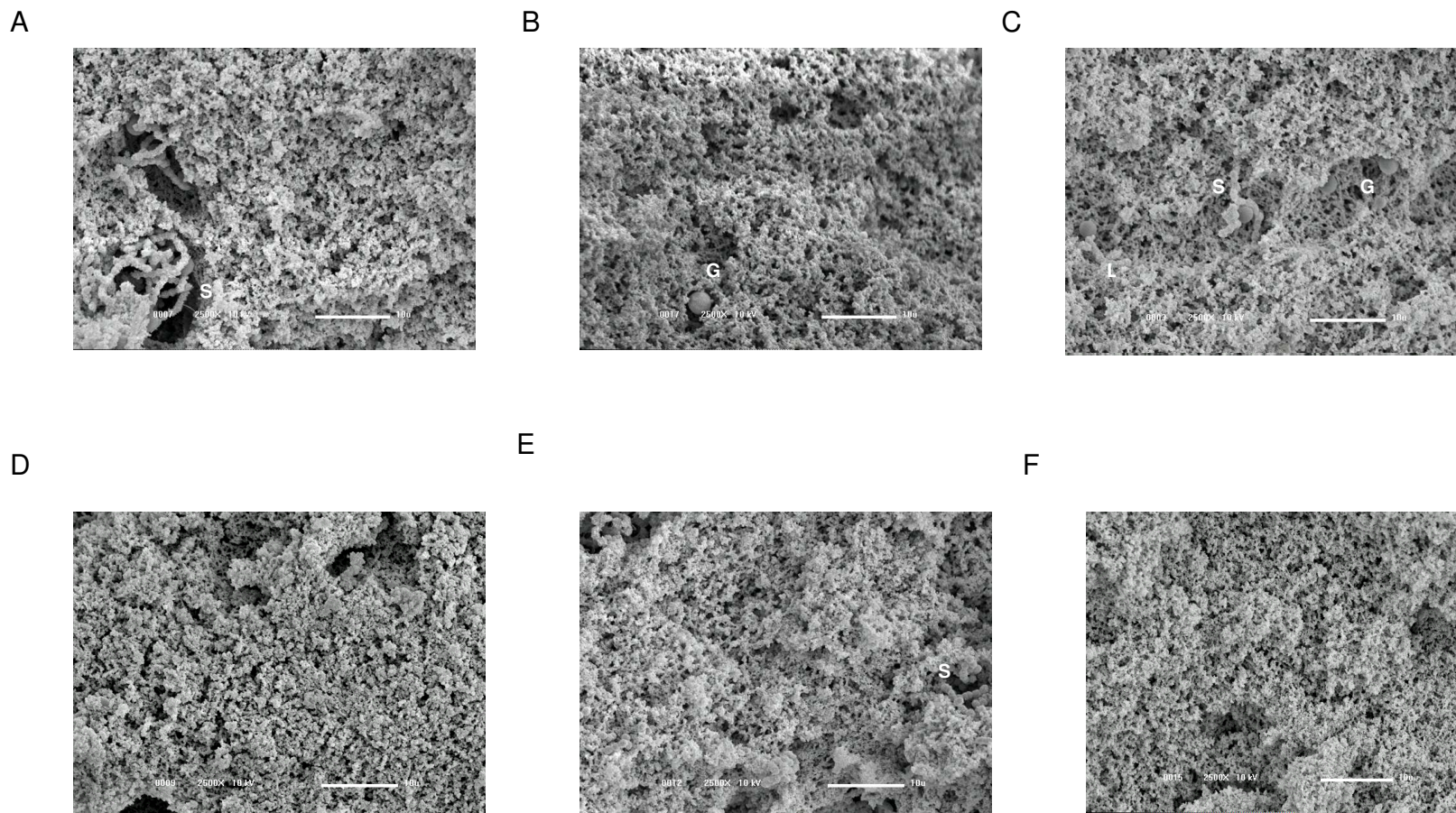
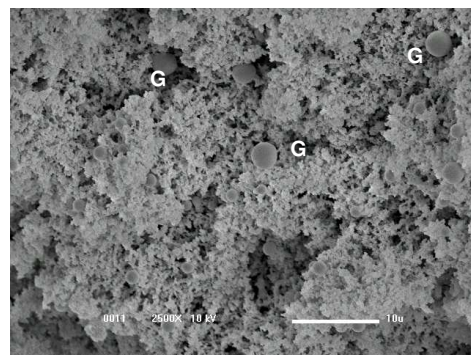


Figura 3.13 Microscopia eletrônica de varredura dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados), estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente, 10kV (A, C, D, E e F) ou 5kV (B), aumento de 2500x. G = glóbulos de gordura, S = *Streptococcus*, L = *Lactobacillus*.

A



B

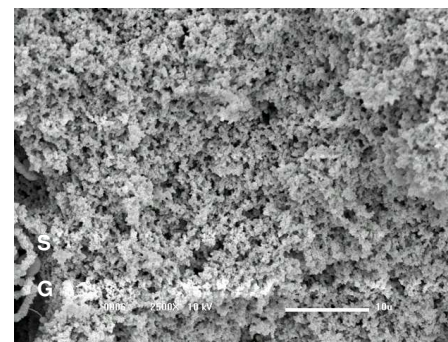


Figura 3.14 Microscopia eletrônica de varredura do iogurte desnatado Y55 com adição LPD:CPS na proporção de 0,5:1,5 (A) e iogurte integral com adição de LPD (B), 10kV, aumento de 2500x. G = glóbulos de gordura, S = *Streptococcus*.

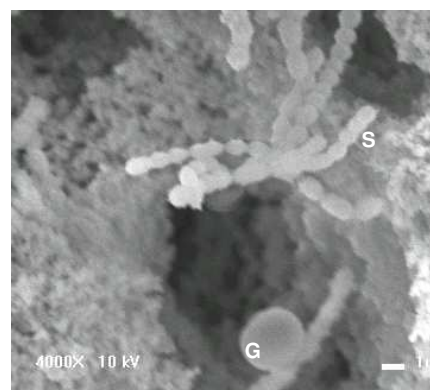


Figura 3.15 Detalhe dos *Streptococcus thermophilus* formando “colar” e glóbulo de gordura (G). Iogurte controle, 10kV, 4000x.

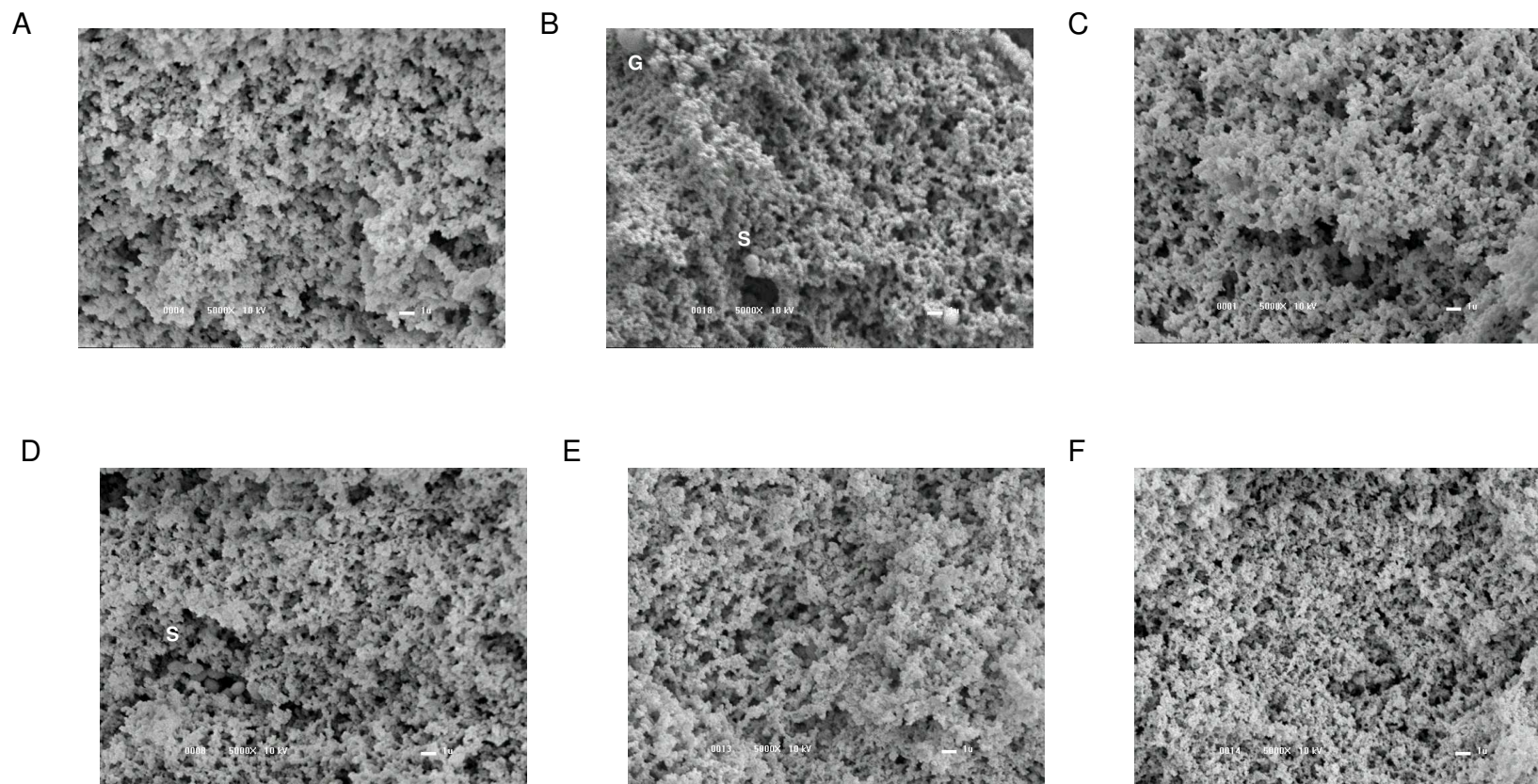


Figura 3.16 Microscopia eletrônica de varredura dos iogurtes Y51 (integral), Y52, Y53, Y54, Y55 e Y56 (desnatados), estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções 1:0, 1:0, 1,5:0,5, 1:1, 0,5:1,5 e 0:1, respectivamente, 10kV (A, C, D, E e F) ou 5kV (B), aumento de 5000x. G = glóbulos de gordura, S = *Streptococcus*.

A Figura 3.15 ilustra um detalhe do iogurte padrão com ampliação de 4.000 vezes. Segundo Afonso e Maia (1999), a rede protéica apresenta espaços intersticiais contendo fase líquida e também espaços vazios nos quais as culturas lácticas estão presentes, como evidenciado na referida figura.

Embora os iogurtes formulados tenham apresentado importantes variações qualitativas e quantitativas de sólidos totais (13,8 a 21,8%), a microestrutura observada em maior resolução (aumento de 5.000 vezes) foi muito similar entre as amostras (Figura 3.16).

As características microestruturais e físicas dos iogurtes correlacionaram-se. Os iogurtes com maiores valores de dureza e menores sinéreses apresentaram matriz levemente mais agregada.

3.3 Análise Sensorial

Na Figura 3.17 observam-se os valores médios de aparência, sabor, textura e impressão global dos iogurtes, atribuídos pelos julgadores.

Contrariando o esperado, o iogurte desnatado com adição de LPD (Y52) foi tão aceito quanto o integral (Y51), não diferindo estatisticamente deste em nenhum dos atributos avaliados a 95% de confiança.

Geralmente é observado que o teor de gordura interfere nas propriedades de textura, aroma e sabor dos alimentos.

Segundo Kähkönen e Tuorila (1999) os consumidores relacionam a diminuição dos lipídios a modificações no perfil sensorial e menor apreciação dos produtos. No estudo de Gardini *et al.* (1999) as melhores propriedades sensoriais foram obtidas em leites fermentados contendo maiores níveis de gordura, pois, segundo Michalski *et al.* (2002) a gordura contribui fortemente nas características de textura dos produtos lácticos, tais como iogurtes.

O iogurte desnatado adicionado de CPS (Y53) também não diferiu dos demais, indicando que o CPS não conferiu propriedades sensoriais desagradáveis ao produto.

A distribuição das notas dos iogurtes encontra-se nos histogramas da Figura 3.18.

Embora as médias de aparência, sabor, textura e impressão global não tenham diferido significativamente entre as amostras, as melhores notas, especialmente do primeiro atributo, foram designadas por percentuais maiores de provadores para amostra Y52. Cabe ressaltar, no entanto, que a análise sensorial foi realizada com o produto fermentado no dia anterior e que durante o armazenamento há tendência do produto – especialmente a versão desnatado – sofrer dessoragem, diminuindo a sua aceitação. Segundo Dannenberg e Kessler (1988) durante a estocagem a sinérese é intensificada devido ao aumento de forças atrativas entre as partículas de caseína, levando a formação de ligações intermoleculares adicionais, contração do gel e expulsão de água.

Os CPSs comerciais geralmente desenvolvem *off-flavor* o que prejudica a sua aplicação em alimentos (Morr e Ha, 1993). No entanto, o concentrado protéico contendo 80% de proteínas, aplicado nas condições anteriormente descritas no trabalho, não interferiu no sabor dos iogurtes. Conforme a Figura 3.18 C aproximadamente 46% dos provadores atribuíram pontuação entre as faixas de 6 a 9 para o sabor do iogurte Y53.

Os comentários apontados pelos provadores referiram-se em sua maioria à textura dos produtos. Algumas pessoas descreveram apreciar a consistência do iogurte contendo CPS (n=3), enquanto que outras indicaram que essa amostra apresentava-se mais firme que o ideal (n=5) e arenosa (n=1).

Modler *et al.* (1983) encontraram valores instrumentais semelhantes para a firmeza e a sinérese de iogurtes estabilizados por LPD e por CPS-UF (ultrafiltrado, contendo 53% proteína) na proporção de adição de 1,5%. No entanto, na análise sensorial, os julgadores também relataram maior firmeza para iogurte contendo CPS-UF.

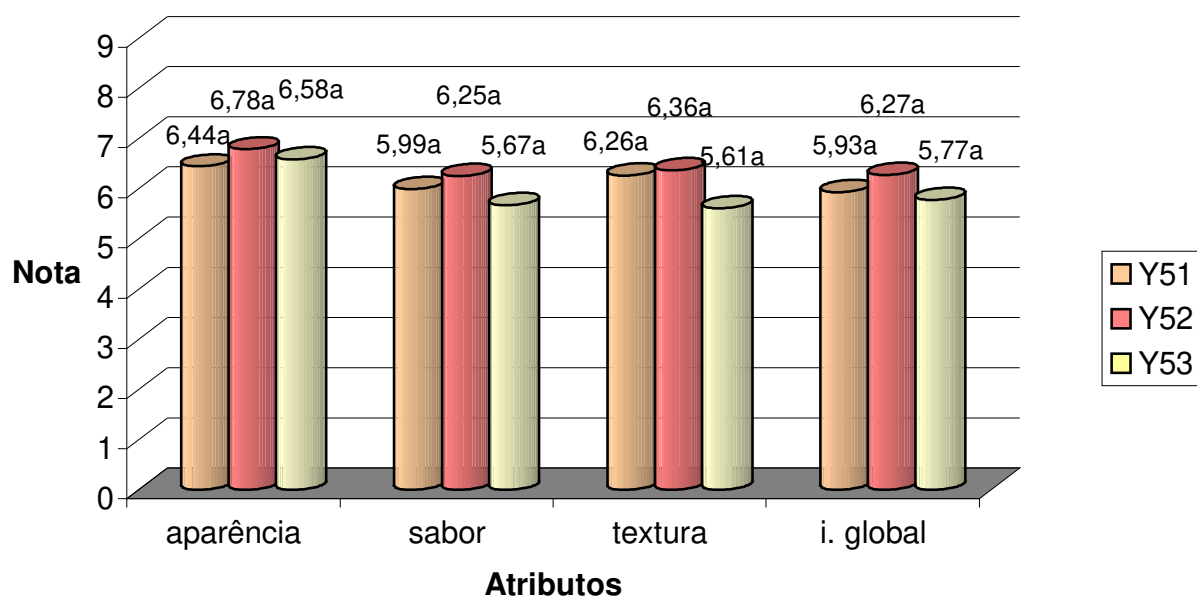


Figura 3.17 Valores médios de aparência, sabor, textura e impressão global dos iogurtes Y51 (integral), Y52 e Y53 (desnatados), estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções de 1:0, 1:0 e 1,5:0,5. Médias seguidas de mesma letra, para o mesmo atributo, não diferem à 5% de significância.

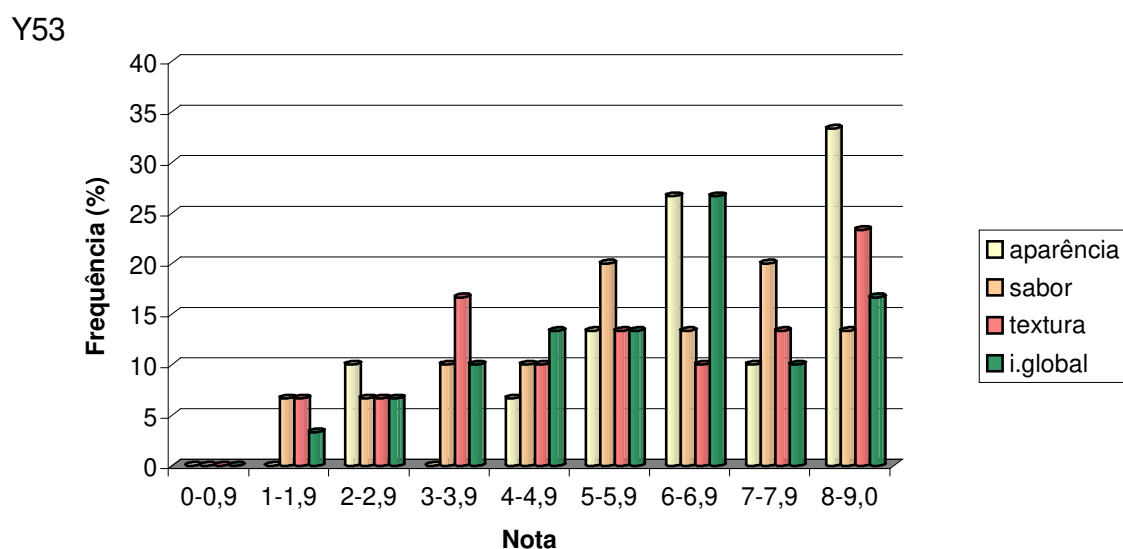
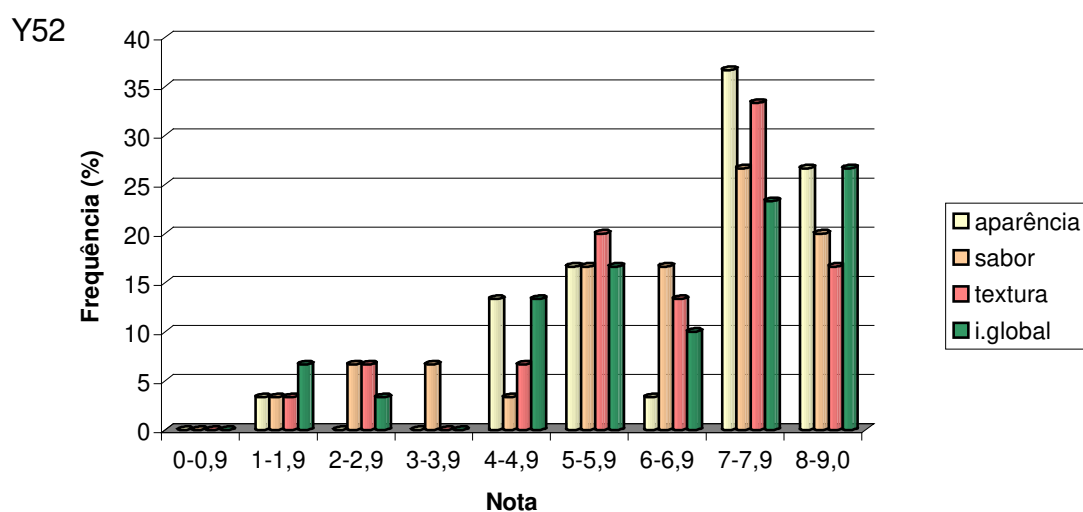
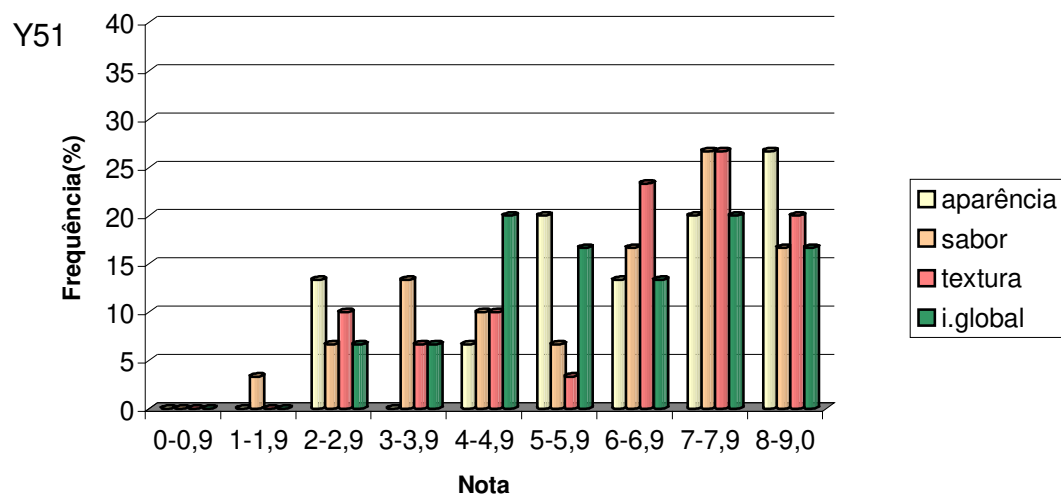


Figura 3.18 Distribuição de notas para os atributos aparência, sabor, textura e impressão global dos iogurtes Y51 (integral), Y52 e Y53 (desnatados), estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções de 1:0, 1:0 e 1,5:0,5.

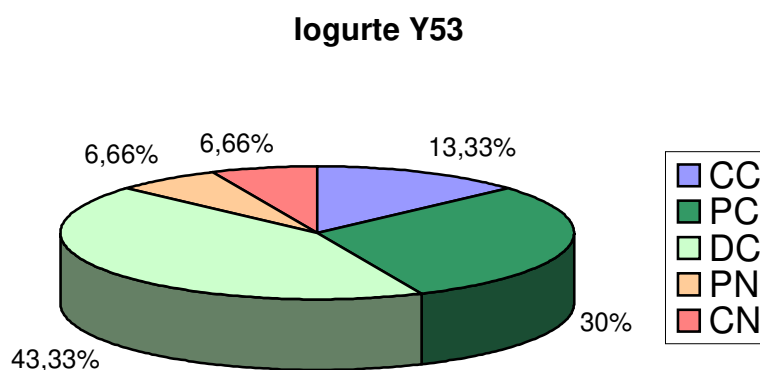
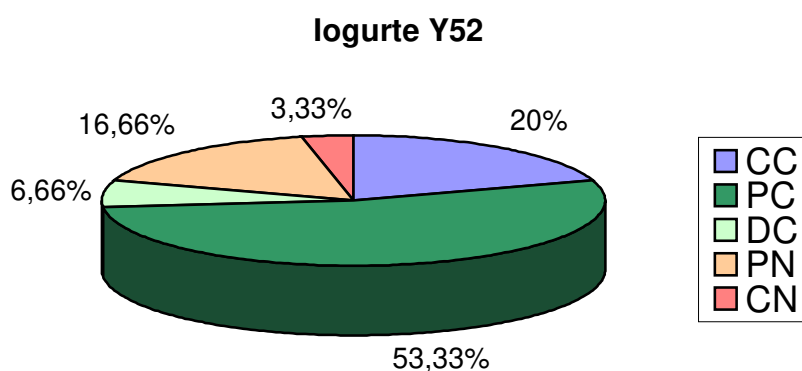
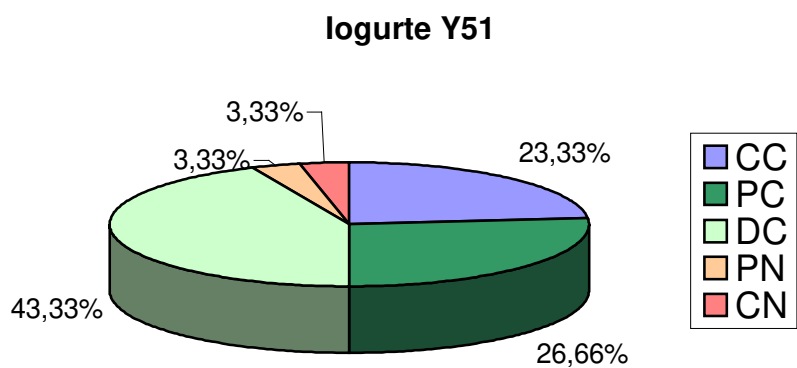


Figura 3.19 Intenção de compra dos iogurtes Y51 (integral), Y52 e Y53 (desnatados), estabilizados por combinações de LPD/CPS nas proporções de 1:0, 1:0 e 1,5:0,5; sendo: CC – certamente compraria, PC – provavelmente compraria, DC – dúvida se compraria, PN – provavelmente não compraria, CN - certamente não compraria.

Os provadores também foram solicitados a responder ao questionamento de qual seria sua atitude se encontrassem no mercado os produtos sob avaliação; as respostas apresentam-se graficadas na Figura 3.19. Contrariando o esperado, a maior parte dos provadores (cerca de 73%) teria a intenção de comprar (certamente compraria + provavelmente compraria) o iogurte desnatado com adição apenas de LPD (Y52).

A aceitação dos iogurtes desnatado com CPS e integral com LPD foi muito semelhante (somando-se aqueles que certamente ou provavelmente comprariam, obtêm-se 49,99% e 43,33%, para Y51 e Y52, respectivamente; e provadores que tinham dúvida se comprariam, 43,33% para ambos).

No estudo de McGill (1983) sobre aceitabilidade dos consumidores a iogurtes comerciais foi verificada preferência pela versão desnatado e natural devido aos apelos publicitários.

A introdução de iogurte natural desnatado, com propriedades de textura e dessoragem semelhantes às do iogurte integral, no mercado pode encontrar grande aceitabilidade entre os consumidores que estariam se beneficiando do consumo de um produto de reduzido teor de lipídios, mas com propriedades sensoriais preservadas.

4. CONCLUSÕES

Através dos resultados obtidos foi possível concluir que o CPS interferiu no tempo de fermentação, propriedades de textura e capacidade de retenção de água dos iogurtes.

Iogurtes adicionados de maiores proporções de CPS apresentaram redução no tempo de fermentação, sem, contudo possuírem percentuais maiores de ácido láctico.

A adição de CPS resultou em iogurtes mais firmes e com menor dessoragem.

Microestruturalmente todas as formulações de iogurtes foram semelhantes, no entanto, amostras com maior proporção de CPS apresentaram rede levemente mais compacta e com menores espaços intersticiais.

O CPS não conferiu propriedades sensoriais desagradáveis ao produto. O iogurte desnatado com adição de LPD/CPS a 1,5:0,5 não diferiu do controle no teste sensorial de preferência do consumidor, nos atributos aparência, sabor, textura e impressão global ($p>0,05$).

Caso estivesse no mercado a intenção de compra do iogurte desnatado com CPS seria muito semelhante à do integral com LPD.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFONSO, I. M., MAIA, J. M. Rheological monitoring of structure evolution and development in stirred yogurt. **Journal of Food Engineering**, v. 42, n. 4, p. 183-190, 1999.

A. O. A. C. 1996. **Official methods of analysis**, Association of Official Analytical Chemists, Washington D. C.

AUGUSTIN, M. A., CHENG, L. J., CLARKE, P. T. Effect of preheat treatment of milk powder on the properties of reconstituted set skim yogurts. **International Dairy Journal**, v. 9, p. 415-416, 1999.

BRADLEY, R. L. *et al.* Chemical and physical methods. In: MARSHALL, R. T. (Ed.) **Standard methods for the examination of dairy products**, 16th edition, 1992, American Public Health Association, Washington, DC, p. 433-529.

BRASIL, 2000. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Resolução nº5, de 13 de novembro de 2000. Disponível em: <<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei>> Acesso em: 04 jun 2004.

BROOME, M. C., WILLMAN, N., ROGINSKI, H., HICKEY, M. W. The use of cheese whey protein concentrate in the manufacture of skim milk yoghurt. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 37, n.4, p.139-142, 1982.

BHULLAR, Y. S., UDDIN, M. A., SHAH, N. P. Effects of ingredient supplementation on textural characteristics and microstructure of yogurt. **Milchwissenschaft**, v. 57, n. 6, p. 328-332, 2002.

CHO, Y. H., LUCEY, J. A., SINGH, H. Rheological properties of acid milk gels as affected by the nature of fat globule surface material and heat treatment of milk. **International Dairy journal**, v. 9, p. 537-545, 1999.

CORREDIG, M., DALGLEISH, D. G. The mechanisms of the heat-induced interaction of whey proteins with casein micelles in milk. **International Dairy Journal**, v. 9, p. 233-236, 1999.

CRISTIANINI, M., ROIG, S. M. Uso de sólidos de soro de queijo na fabricação de iogurte. **Revista do Instituto Cândido Tostes**, v. 42, n. 250, p. 41-44, 1987.

DANNENBERG, F., KESSLER, H. G. Effect of denaturation of β -lactoglobulin on texture properties of set-style nonfat yogurt. 1. Syneresis. **Milchwissenschaft**, v. 43, n. 10, p. 632-635, 1988.

DAVIES, F. L., SHANKAR, P. A., BROOKER, B. E., HOBBS, D. G. J. Heat induced change in ultrastructure of milk and its effect on gel formation in yogurt. **Dairy Research**, v.45, n.1, p. 53-58, 1978.

DALGLEISH, D. G. Structure-function relationships of whey proteins. *In*: DAMODARAN, S., PARAF, A. (Eds). **Food proteins and their applications**. 1997. New York: Marcel Dekker, p. 199-224, 1997.

EL-SALAM, M. H. A., EL-SHIBINY, S., MAHFOUZ, M. B., EL-DEIN, H., EL-ATRIBI, H. M., ANTILA, V. Preparation of whey protein concentrate from salted whey and its use in yogurt. **Journal of Dairy Research**, v. 58, n.4, p. 503-510, 1991.

GARDINI, F. LANCIOTTI, R., GUERZONI, M. E., TORRIANI, S. Evaluation of aroma production and survival of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *L. acidophilus* in fermented milks. **International Dairy Journal**, v. 9, n. 2, p. 125-134, 1999.

GUIRGUIS, N., BROOME, M. C., HICKEY, M. W. The effect of partial replacement of skim milk powder with whey protein concentrate on the viscosity and syneresis of yoghurt. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 39, n.1, p. 33-35, 1984.

GUYOT, A. Les yoghourts. **Le Lait et Nous**, n. 2, p. 6-12, 1992.

SOUZA, W. **Técnicas básicas de microscopia eletrônica aplicadas às ciências biológicas**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia, 1998. 179 p.

LABROPOULOS, A. E., COLLINS, W. F., STONE, W. S. Effects of ultra-high temperature and vat processes on heat-induced rheological properties of yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 2, p. 405-409, 1983.

LANARA. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. Ministério da Agricultura, Brasília, 1981.

LIMA, S. C. G. **Efeito da adição de concentrado protéico de soro de leite e leite em pó desnatado na fabricação de iogurte firme.** 2001. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 77f. 2001.

LUCEY, J. A., MUNRO, P. A., SING, H. Effects of heat treatment and whey protein addition on the rheological properties and structure of acid skim milk. **International Dairy Journal**, v. 9, p. 275-279, 1999.

KÄHKÖNEN, P., TUORILA, H Consumer responses to reduce and regular fat content in different products: effect of gender, involvement and health concern. **Food Quality and Preference**, v.10, n. 2, p. 83-91, 1999.

KAILASAPATHY, K., SUPRIADI, D. Effect of whey protein concentrate on the survival of *Lactobacillus acidophilus* in lactose hydrolyzed yoghurt during refrigerated storage. **Milchwissenschaft**, v. 51, n. 10, p. 565-569, 1996.

KAILASAPATHY, K., SUPRIADI, D., HOURIGAN, J. A. Effect of partially replacing skim milk powder with whey protein concentrate on buffering capacity of yoghurt. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 51 p. 89-93, 1996.

KINSELLA, J. E., WHITEHEAD, D. M. Proteins in whey: chemical, physical, and functional properties. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 33, p. 343-438, 1989.

MARTINI, M. C., BOLLWEG, G. L., LEVITT, M. D., SAVAIDANO, D. A. Lactose digestion by yogurt β -galactosidase: influence of pH and microbial cell integrity. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.45, n. 2, p. 432-436, 1987.

McGILL, A. E. J. Evaluation and prediction of the consumer acceptability of commercially manufactured yogurt. **South African Journal of Dairy Technology**, v. 15, n. 4, 1983.

MICHALSKI, M. C., CARIOU, R., MICHEL, F., GARNIER, C. Native vs. damaged milk fat globules: membrane properties affect the viscoelasticity of milk gels. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2451-2461, 2002.

MODLER, H. W., LARMOND, M. E., LIN, C. S., FROEHLINCH, D., EMMONS, D. B. Physical and sensory properties of yogurt stabilized with milk proteins. **Journal of Dairy Science**, v. 66, n. 3, p.423-429, 1983.

MODLER, H. W., KALAB, M. Microstructure of yogurt stabilized with milk proteins. **Journal of Dairy Science**, v.66, n.3, p. 430-437, 1983.

MORR, C. V., HA, Y. W. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. **Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 431-476, 1993.

PARNELL-CLUNIES, E. M., KAKUDA, Y., MULLEN, K., ARNOTT, D. R., DEMAN, J. M. Physical properties of yogurt: a comparison of vat versus continuous heating systems of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 69, p. 2593-2603, 1986.

PENNA, A. L. B., BARUFFALDI, R., OLIVEIRA, M. N. Optimization of yogurt production using demineralized whey. **Journal Food Science**, v. 62, n.4, p. 846-850, 1997.

RASIC, J. L., KURMANN, J. A. **Yogurt: scientific grounds, technology, manufacture and preparations**. v. 1, 1978. Technical Dairy Publishing House, p. 428.

RAWSON, H. L., MARSHALL, V. M. Effect of "ropy" strains of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* on rheology of stirred yogurt. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 32, n.3, p.213-220, 1997.

REGESTER, G. O., McINTOSH, G. H., LEE, V. W. K., SMITHERS, G. W. Whey proteins as nutritional and functional food ingredients. **Food Australia**, v. 48, n. 3, p. 123-127, 1996.

RODRIGUES-SERRANO, G., PEREZ-HERNANDEZ, G., GALLARDO, F., GOMEZ- RUIZ, L., GARCIA-GARIBAY, M. Performance of yogurt cultures during the fermentation of whey concentrate by ultrafiltration for the elaboration of a fermented beverage. **Milchwissenschaft**, v. 57, n. 9/10, p. 540-543, 2002.

TAMIME, A. Y., DEETH, H. C. Yogurt: technology and biochemistry. **Journal of Food Protection**, v. 43, n.12, p. 939-977, 1980.

YAZICI, F., ALVAREZ, V. B., HANSEN, P. M. T. Fermentation and properties of calcium-fortified soy milk yogurt. **Journal of Food Science**, v. 62, n.3, p. 457-461, 1997.

WALSTRA, P. On the stability of casein micelles. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 8, p. 1965-1979, 1990.

QUARTO ESTUDO

**PERFIL DE TEXTURA, SINÉRESE, PROPRIEADES SENSORIAIS E
VIABILIDADE DAS CULTURAS DE IOGURTES DESNATADOS
PROBIÓTICOS ADICIONADOS DE CONCENTRADO PROTÉICO DO
SORO DE LEITE**

RESUMO

Por se tratar de um produto metabolicamente ativo, o iogurte sofre modificações ao longo da estocagem, tais como pós-acidificação e perda de viabilidade das culturas. Objetivou-se avaliar a ação do concentrado protéico do soro de leite (CPS) na viabilidade das culturas, perfil de textura, pós-acidificação e dessoragem durante o armazenamento dos iogurtes desnatados, bem como analisar características sensoriais dos produtos. O CPS proporcionou iogurtes mais firmes e gomosos, com menores valores de sinérese, características essas potencializadas durante o armazenamento. O iogurte com cultura probiótica *L. acidophilus* apresentou maior dessoragem, no entanto, a adição de CPS compensou essa tendência. Não foi observada variação significativa na pós-acidificação dos iogurtes conferida pela adição de CPS, mas sim pela diminuição da cultura *L. bulgaricus*. O CPS não exerceu influência nas culturas lácticas clássicas, no entanto, melhorou crescimento e viabilidade dos microrganismos *L. acidophilus* e *B. longum*, especialmente do primeiro. Os provadores não identificaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) nas características globais dos iogurtes em função da presença de culturas probióticas, mas, identificaram leve diferença em função do CPS adicionado.

Palavras-chave: iogurte probiótico, concentrado protéico do soro de leite, *L. acidophilus*, *B. longum*, vida-de-prateleira.

SUMMARY

As a metabolically active product the yogurt shows modifications throughout its shelf life, such as postacidification and loss of starter viability. The aim of this research was to evaluate the effect of the addition of whey protein concentrate (WPC) on the viability of *L. acidophilus* and *B. longum* and on postacidification throughout the shelf life of fat-free yogurts, and also to analyze the sensory characteristics of the products. The WPC increased hardness and gumminess of the yogurts, and decreased the syneresis. These characteristics were intensified during the storage. The probiotic yogurt with *L. acidophilus* showed strong wheying-off, however, the WPC addition decreased that tendency. Postacidification was not significantly changed by the addition of WPC. However postacidification was a function of the concentration of *L. bulgaricus* added to the culture. The WPC did not influence the viability of lactic-acid bacteria, but it improved the growth and survival of the microorganisms *L. acidophilus* and *B. longum*, especially the former. The panelists did not identify significant differences ($p < 0.05$) on the global characteristics of the yogurts due the probiotics, otherwise, they identified small difference due to the addition of WPC.

Key words: probiotic yogurt, whey protein concentrate, *L. acidophilus*, *B. longum*, shelf life.

1. INTRODUÇÃO

A palavra “probiótico” deriva do grego e significa “para a vida” (Lourens-Hattingh, 2001). Os probióticos são alimentos ou suplementos alimentares contendo lactobacilos e/ou bifidobacterias viáveis, administrados na dieta com o objetivo de colonizar o intestino, promover um balanceamento entre as diferentes espécies naturais e garantir uma população funcional capaz de promover efeitos benéficos sobre o metabolismo (Gibson e Roberfroid, 1995).

Os iogurtes e leites fermentados além de possuírem grande aceitação pelo público em geral, e apresentarem excelente valor nutritivo, são os “veículos” mais utilizados para o consumo de probióticos.

Para exercerem efeitos fisiológicos funcionais, as linhagem consideradas probióticas necessitam sobreviver no trato gastrointestinal, resistindo às condições acídicas (pH de 1 a 4) e ricas em proteases do estômago e a presença dos sais biliares do intestino delgado, e ainda, colonizarem o intestino humano (Tuomola *et al.*, 2001). Para a colonização é necessário que as bactérias tenham a capacidade de aderir aos enterócitos e as linhagens probióticas parecem apresentar forte capacidade de adesão (Salminen *et al.*, 1998).

Na produção de iogurte são utilizadas as culturas lácticas de *Streptococcus thermophilus* (St) e *Lactobacillus bulgaricus* (Lb) que possuem a capacidade de utilizar a lactose como substrato energético com liberação de ácido láctico. Essas culturas não resistem às condições adversas do trato digestivo (são sensíveis à bile) e são incapazes de colonizar o intestino humano. Ao contrário, as culturas probióticas, fornecem efeitos terapêuticos ao homem. Para isso precisam estar viáveis no alimento durante a vida-de-prateleira dos produtos e serem ingeridas com frequência (Schrezenmeir e Vrese, 2001). Existe uma tendência no mercado de empregar culturas de acidófilos e bifidobactérias na produção de iogurtes funcionais (Tamime e Deeth, 1980).

As bifidobactérias são gram-positivas, estritamente anaeróbias e freqüentemente apresentam formato de Y, ou forma “bífida” (Mitsuoka, 1990, Arunachalam, 1999). O gênero *Bifidobacterium* é amplamente distribuído em

diversos nichos ecológicos e no trato gastrointestinal e genitourinário humano, constituindo a microflora predominante em crianças logo após o nascimento (Gomes e Malcata, 1999). A proliferação desses microrganismos é estimulada pela glicoproteína κ -caseína presente no colostro humano e em menor quantidade no leite maduro (Gomes e Malcata, 1999). A população de bifidobactérias presentes na microbiota intestinal é influenciada pela idade e dieta dos indivíduos. Mitsuoka (1990) afirma que *B. infantis* e *B. breve*, típicos da fase de infância, são substituídos por *B. adolescentis* em adultos, enquanto que *B. longum* persiste permanentemente.

O gênero *Lactobacillus* é encontrado no trato gastrointestinal e genital e sua ocorrência é influenciada por diversos fatores ambientais, tais como pH, presença de oxigênio e interações com outras bactérias (Gomes e Malcata, 1999). Os lactobacilos são gram-positivos, não formadores de esporos, não flagelados, aerotolerantes ou anaeróbicos e estritamente fermentativos (Charteris *et al.*, 1997, Gomes & Malcata, 1999).

Não está estabelecida a quantidade ótima de bactérias probióticas necessária para promover benefícios nutricionais aos consumidores (Gilliland *et al.*, 2002). Viderola e Reinheimer (2000) sugerem níveis acima de 10^7 UFC por grama ou mililitros do produto para serem garantidos efeitos funcionais fisiológicos. Outros autores preconizam número mínimo de células viáveis de 10^5 UFC.g⁻¹ (Shah *et al.* 1995, Samona e Robinson, 1991). Possivelmente essas contagens sejam ainda efetivas no caso de produtos lácteos consumidos com frequência regular (Viderola e Reinheimer, 2000). A legislação brasileira estabelece que iogurtes devem apresentar contagens de bactérias lácticas totais de 10^7 UFC.g⁻¹ e no caso de menção ao uso de bifidobactérias a contagem mínima destas deve ser de 10^6 UFC.g⁻¹ (BRASIL, 2000).

Barreto *et al.* (2003), quantificando culturas probióticas de 15 marcas comerciais de iogurtes e leites fermentados vendidos no Brasil, observaram que grande parte apresentava contagem total de bactérias dentro dos limites mínimos recomendados. No entanto, a maioria dos produtos que declaravam a presença de *L. acidophilus* e bifidobactérias apresentavam contagens inferiores a 10^5 UFC.g⁻¹.

As bactérias probióticas crescem lentamente no leite pela sua baixa atividade proteolítica e a prática usual é de adicionar bactérias láticas para reduzir o tempo de fermentação (Shihata e Shah, 2000). As culturas láticas têm, portanto, a dupla função de acidificar o meio - para que seja atingido o ponto isoelétrico da caseína, ocorrendo formação da rede - e a liberação de aminoácidos e peptídeos para promover a multiplicação das culturas probióticas. Além destes motivos citados as bactérias láticas conferem sabor e aroma característicos do iogurte.

Outra tendência da indústria de laticínios é de adicionar prebióticos em iogurtes e leites fermentados contendo fermentos probióticos. Prebióticos são substâncias não hidrolisadas e não absorvidas pelo intestino delgado que servem como substrato para microrganismos específicos no intestino grosso (Berg, 1998). Segundo Borges (2001) qualquer alimento que atinja o cólon pode, teoricamente, ser considerado prebiótico. No entanto, segundo a autora, até o momento somente a inulina e oligofrutose são atribuídos efeito bifidogênico, isto é, que estimula o crescimento intestinal das bifidobactérias. Os produtos que contêm probióticos e prebióticos são denominados de simbióticos (Schrezenmeir & De Verse, 2001).

O iogurte sofre modificações ao longo da estocagem, tais como pós-acidificação, perda de viabilidade das culturas, sinérese e mudanças de textura.

A pesquisa de Lankaputhra *et al.* (1996) confirmou a hipótese de que peróxido de hidrogênio (produzido pelas bactérias láticas, especialmente *Lb* e condições ácidas (típicas do iogurte) apresentam efeito sinérgico na inibição de bifidobactérias. O *L. bulgaricus* segue produzindo ácido láctico durante a estocagem refrigerada do produto – processo conhecido como pós-acidificação – afetando a viabilidade das culturas probióticas (Dave e Shah, 1998). Segundo Rasic e Kurmann (1978), durante o armazenamento refrigerado a produção de ácido pelo estreptococo é extinta em pH 4,3 – 3,9 e do lactobacilo de pH 3,8 – 3,5. Abaixo do pH 4,0 o lactobacilo contribui mais expressivamente para a acidificação.

As proteínas do soro de leite podem melhorar o crescimento dos fermentos empregados, através de fatores promotores de crescimento que são, aparentemente, peptídios contendo cisteína (Ibrahim e Bezkorovainy, 1994).

Conseqüentemente, o tempo de fermentação é diminuído. Outro possível atributo desejável do CPS é o de aumentar a viabilidade das culturas devido a sua capacidade tamponante conferida pelas proteínas, fosfatos e sais, tal como o citrato (Kailasapathy e Supriadi, 1996).

Saxelin *et al.* (1999) afirmam que os produtos lácticos com probióticos apresentam propriedades organolépticas bem aceitáveis pelos consumidores.

O concentrado protéico de soro de leite modifica as propriedades de textura e dessoragem dos produtos aos quais é aplicado aumentando a firmeza de iogurtes desnatados (Antunes *et al.*, 2004a, Antunes *et al.*, 2004b).

Este estudo objetivou avaliar a influência da adição de concentrado protéico do soro de leite no crescimento e viabilidade das culturas lácticas e probióticas, no perfil de textura e na dessoragem, ao longo da vida-de-pateleira dos iogurtes. Objetivou-se também analisar sensorialmente os produtos de interesse.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Foram empregados leite UHT e em pó, ambos desnatados e obtidos no comércio local, e concentrado protéico de soro de leite (contendo cerca de 80% de proteínas) adquirido da empresa NZMP.

Utilizou-se quatro lotes de leite UHT, designados pelas letras A, B, C e D.

Culturas isoladas de bactérias lácticas *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (LB 340) e *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (TA 072); e probióticas *Lactobacillus acidophilus* (LAC 4) e *Bifidobacterium longum* (BL) foram utilizadas. Os sachês contendo as culturas liofilizadas foram gentilmente cedidos pela Rhodia.

2.2 Métodos

2.2.1 Composição Química Básica

Os leites UHTs empregados na manufatura dos iogurtes foram analisados quanto a sua composição centesimal. Sólidos totais, proteínas, lipídios e cinzas foram determinados segundo metodologias descritas pela A. O. A. C. (1996). O percentual de lactose foi obtido conforme o método de Fehling (Lanara, 1981). Os iogurtes foram analisados apenas quanto ao percentual de sólidos totais.

2.2.2 Seletividade dos Meios de Cultura

Avaliaram-se alguns meios de cultura citados na literatura para verificar se proporcionavam crescimento seletivo de cada uma das culturas empregadas, (Tabela 4.1).

Tabela 4.1 Indicações bibliográficas dos meios e condições de cultivo das culturas

Cultura	Meio de cultura	Incubação	T (°C)	t (h)	Referência
<i>L. bulgaricus</i>	MRS-A	anaeróbica	43	72	Dave e Shah (1996)
<i>S. thermophilus</i>	ST-Agar	aeróbica	37	24	Dave e Shah (1996)
<i>L. acidophilus</i>	MRS-B	aeróbica	37	72	Viderola e Reinheimer (1999)
<i>B. longum</i>	MRS-LP	anaeróbica	37	72	Lapierre <i>et al</i> (1992), modificado por Zacarchenco (2003)

2.2.3 Determinação da Contagem Inicial das Culturas

Para fixar a proporção de cada cultura liofilizada para produção dos iogurtes foram determinadas as UFCs (unidades formadoras de colônias) por grama de liofilizado contido nos sachês.

A contagem inicial foi determinada conforme descrito a seguir: pesagem de 0,1g de cada fermento e suspensão em 9 mL de água peptonada (0,1%) estéril e repouso de 30 minutos para completa dispersão das células (essa foi a diluição 10^{-2}), seguindo-se diluições decimais seriadas até 10^{-9} , plaqueamento em profundidade, em duplicata, nos meios de cultura descritos na Tabela 4.1. Após o

período de incubação procedeu-se contagem total das células viáveis na placas que continham entre 25 e 250 colônias.

2.2.4 Reativação dos Fermentos

A reativação dos fermentos foi padronizada e quantificada para conter 1.10^{10} UFC. Pesou-se quantidade de cada fermento que correspondesse a este número de células e adicionou-se em leite desnatado reconstituído, previamente aquecido a 90°C e resfriado a aproximadamente 40°C. As culturas foram adicionadas ao leite e incubadas conforme descrito na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 Condições de incubação para reativação das culturas

Culturas	Temperatura de Incubação (°C)	Tempo de Incubação (h)	pH final
<i>St + Lb</i> *	42	4-5	4,6
<i>La</i>	37	15-17	5,0
<i>Bl</i>	37	15-17	5,0

* devem crescer em simbiose

Quando atingido o pH fixado para o final do processo fermentativo, as culturas reativadas foram estocadas em refrigeração (6°C) pelo período máximo de 24 horas.

2.2.5 Preparo dos iogurtes

Os iogurtes foram identificados com letras, indicando o tipo de combinação de fermentos, e com números, indicando a adição de CPS e/ou leite em pó desnatado (LPD), conforme expresso na tabela a seguir e preparados conforme a descrição da Figura 4.1.

Tabela 4.3 Códigos dos iogurtes, proporção de adição de proteínas de leite em pó desnatado (LPD) e concentrado protéico do soro de leite (CPS) e de adição de culturas lácticas

logurte	LPD/CPS	Fermentos lácticas
A1	1,5:0,5	<i>S. thermophilus</i> e <i>L. bulgaricus</i> (1:1)
A2	1,0:0,0	<i>S. thermophilus</i> e <i>L. bulgaricus</i> (1:1)
B1	1,5:0,5	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> e <i>L. acidophilus</i> (1:1:1)
B2	1,0:0,0	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> e <i>L. acidophilus</i> (1:1:1)
C1	1,5:0,5	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> e <i>B. longum</i> (1:1:1)
C2	1,0:0,0	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> e <i>B. longum</i> (1:1:1)
D1	1,5:0,5	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> e <i>L. acidophilus</i> e <i>B. longum</i> (1:0,3:1:1)
D2	1,0:0,0	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> e <i>L. acidophilus</i> e <i>B. longum</i> (1:0,3:1:1)

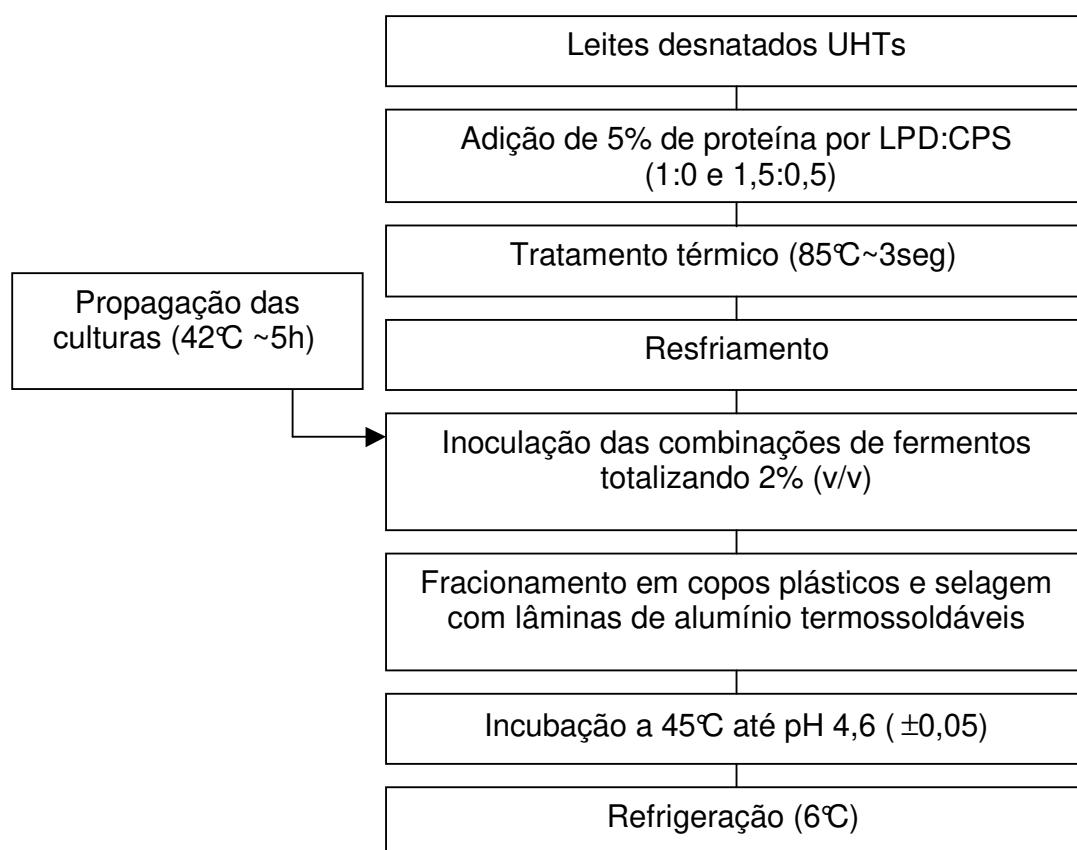


Figura 4.1 Fluxograma do preparo dos iogurtes adicionados de concentrado protéico de soro do leite (CPS) e/ou leite em pó desnatado (LPD).

As seguintes determinações foram realizadas nos iogurtes produzidos: cinética de fermentação, percentual de sólidos totais, perfil de textura, susceptibilidade à sinérese, viabilidade das culturas e pós-acidificação dos iogurtes.

2.2.6 Cinética de Fermentação

Durante o período de incubação o pH e o percentual de ácido láctico foram monitorados a cada 15 minutos; o primeiro por leitura direta em potenciômetro digital, e o segundo por titulação com NaOH 0,1N conforme Bradley *et al*, (1992). Fixou-se pH 4,6 ($\pm 0,05$) como o término da fermentação.

2.2.7 Pós-acidificação

Durante o período de armazenamento (estabelecido como 21 dias) o pH e o percentual de ácido láctico foram monitorados semanalmente; o primeiro por leitura direta em potenciômetro digital, e o segundo por titulação com NaOH 0.1N conforme Bradley *et al*, (1992).

2.2.8 Perfil de Textura (TPA)

O perfil de textura foi avaliado segundo Rawson e Marshall (1997), em texturômetro universal TAXT2, com probe cilíndrico de fundo chato de 35mm de diâmetro (A/BE 35) e os resultados obtidos com auxílio do programa Texture Expert versão 1.11 para TPA (Texture Profile Analysis). As amostras de 50 mL fermentadas em copos plásticos de 9,2 cm de altura e diâmetro interno superior e inferior de 6,6 e 5 cm, respectivamente, foram analisadas imediatamente após serem retiradas da B.O.D. (onde se encontravam a 6°C), em seis replicatas dentro do recipiente, tomando-se os três resultados de menor desvio. As condições de medida foram padronizadas em calibre do probe 60 mm, força de penetração de

15 g e velocidade de 3 mm.s^{-1} . As características de interesse para o iogurte foram dureza, coesividade, elasticidade e gomosidade (produto das duas primeiras).

2.2.9 Susceptibilidade à Sinérese

A suscetibilidade à sinérese foi obtida pelo método de Guirguis *et al.* (1984), pela drenagem, em seis replicatas (tomando-se os três resultados de menor desvio), do iogurte sobre peneira de aço inoxidável com tela 120 *mesh*, colocada sobre funil acoplado à proveta graduada. Sinérese (mL.100g^{-1}) foi expressa com volume de exudato coletado após 2 horas de refrigeração a 6°C .

2.2.10 Crescimento e Viabilidade das Culturas

A contagem do número de unidades formadoras de colônias dos fermentos lácticos foi realizada segundo Dave e Shah (1996). *L. bulgaricus* foi quantificado no meio Ágar MRS acidificado ($\text{pH } 5,2$) e incubação anaeróbica a 43°C por 72 horas; e *S. thermophilus* em Ágar ST e incubação aeróbica a 37°C por 24 horas. Os ingredientes para o preparo de 1L de meio Ágar ST são: 10g de triptona, 10g de sacarose, 5g de extrato de levedura e 2g de K_2HPO_4 dissolvidos em 1L de água destilada. O pH foi ajustado para $6,8 \pm 0,1$ e adicionado 6 mL de azul de bromocresol e 12 g de ágar.

As UFCs dos fermentos probióticos foram determinadas com os seguintes meios de cultura: *L. acidophilus* em meio Ágar MRS adicionado de 0,15% bile ($\text{pH } 6,8 \pm 0,02$) e incubação aeróbica a 37°C por 72 horas conforme Viderola e Reinheimer (1999); *B. longum* em meio Ágar MRS com 0,9% de propionato de sódio e 0,6% cloreto de lítio ($\text{pH } 6,7 \pm 0,02$), incubação anaeróbica a 37°C por 72 horas conforme Lapierre *et al.* (1992) e modificado na quantidade de agentes inibitórios por de Zacarchenco (2003).

Para gerar atmosfera pobre em oxigênio, necessária para as incubações anaeróbicas, foi utilizado Anaerobac (Probac).

2.2.11 Análise Sensorial

A análise sensorial dos iogurtes foi realizada em duas etapas distintas.

A primeira consistiu em Teste de Diferença do Controle para avaliar se os provadores seriam capazes de identificar diferença entre as amostras devido à presença de CPS e de fermentos probióticos. Os iogurtes confrontados foram A1, A2, D1 e D2 (conforme Tabela 4.1). Essa análise foi realizada com 20 provadores consumidores de iogurte natural aos quais se solicitou provarem as amostras de iogurte natural comparando-as ao padrão (A2) em termos globais através de uma escala de 0 a 9. O número 0 da escala assinalava que não existiam diferenças entre as amostras e o 9 que as amostras eram extremamente diferentes, podendo ser inferido que o número 3 corresponderia a diferença leve e o 6 diferença moderada entre as amostras. A ficha de aplicação do teste encontra-se no apêndice 3.

Posteriormente foi realizado Teste de Aceitação com 30 julgadores, consumidores de iogurte natural, utilizando-se escala hedônica não estruturada de 9 centímetros (ver anexos). O objetivo dessa análise era verificar a aceitação dos iogurtes probióticos com e sem adição de CPS (D1 e D2). Por se tratar de um produto que geralmente não é consumido puro, aos provadores foram oferecidas as opções de acrescentarem mel, açúcar, adoçante ou geléia de frutas (conforme fosse o consumo habitual dos indivíduos). As amostras foram apresentadas monadicamente. Os julgadores avaliaram os atributos aparência, sabor, textura e impressão global, e indicaram a intenção de compra do produto caso o encontrassem à venda no mercado.

2.2.12 Análise Estatística

Os resultados foram analisados por ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$) para a comparação das médias e Dunnett ($p < 0,05$) - especificamente para o Teste de Diferença do Controle - com o programa SAS (v. 8.2, 2001).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição Química Básica

Diversos lotes de leite foram necessários para confeccionar as oito diferentes amostras, avaliadas no início e final do período de armazenamento, em dois experimentos completos independentes. A intenção original era de utilizar-se um único lote de leite pasteurizado para que o lote não se tornasse mais uma variável da pesquisa. Entretanto, optou-se pelo leite UHT pela conveniência (não necessitar de refrigeração) e pelo fato do congelamento também acarretar algumas alterações no leite.

Conforme a Tabela 4.4 os lotes de leite apresentaram diferenças nos percentuais de macro e micronutrientes. O lote B, em especial, apresentou percentual estatisticamente menor de gordura (0,06%) e maior de proteína (3,18%), diferindo dos demais.

Tabela 4.4 Composição química básica dos diferentes lotes de leite UHTs desnatados empregados no preparo dos iogurtes

Componentes (%)	Lotes de leite			
	A ^{1,2}	B ^{3,5,6}	C ^{7,4}	D ⁸
Sólidos totais	8,94 ($\pm 0,02$) ^a	8,89 ($\pm 0,04$) ^a	8,72 ($\pm 0,02$) ^b	8,65 ($\pm 0,03$) ^b
Proteínas*	2,80 ($\pm 0,01$) ^c	3,18 ($\pm 0,01$) ^a	2,98 ($\pm 0,01$) ^b	2,81 ($\pm 0,01$) ^c
Lipídios	0,32 ($\pm 0,01$) ^a	0,06 ($\pm 0,00$) ^c	0,21 ($\pm 0,00$) ^b	0,23 ($\pm 0,03$) ^b
Lactose	4,94 ($\pm 0,01$) ^a	4,85 ($\pm 0,08$) ^a	4,73 ($\pm 0,05$) ^b	4,85 ($\pm 0,00$) ^{a,b}
Cinzas	0,72 ($\pm 0,00$) ^{b,c}	0,74 ($\pm 0,01$) ^a	0,70 ($\pm 0,00$) ^c	0,73 ($\pm 0,00$) ^{a,b}

1- iogurtes A1 e A2; 2- iogurtes B1 e B2; 3- iogurtes C1 e C2; 4- iogurtes D1 e D2; 5- repetição dos iogurtes A1 e A2; 6- repetição dos iogurtes B1 e B2; 7- repetição dos iogurtes C1 e C2; 8- repetição dos iogurtes D1 e D2

* N x 6,38

Médias $\pm$ desvio padrão com letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente ($p > 0,05$).

3.2 Seletividade dos Meios de Cultura

De acordo com a Tabela 4.5 os meios MRS-B e MRS-LP foram eficazes para o crescimento seletivo dos fermentos *L. acidophilus* e *B. longum*, respectivamente. No entanto, os meios ST-Ágar e MRS-A proporcionam o crescimento de duas ou mais culturas diferentes. Em decorrência disso, optou-se por fazer apenas contagens de microrganismos probióticos nos iogurtes B₁, B₂, C₁, C₂, D₁ e D₂.

Tabela 4.5 Seletividade dos meios para contagens isoladas de culturas lácticas e probióticas

Microrganismo	Meios de cultura			
	ST-Agar	MRS-A	MRS-B	MRS-LP
<i>S. thermophilus</i>	+	-	-	-
<i>L. bulgaricus</i>	-	+	-	-
<i>L. acidophilus</i>	+	+	+	-
<i>B. longum</i>	-	+	-	+

+ houve crescimento

- não houve crescimento

3.3 Cinética de Fermentação

As curvas de fermentação dos iogurtes estabilizados por CPS e/ou LPD e fermentados por diferentes combinações de culturas encontram-se ilustradas na Figura 4.2.

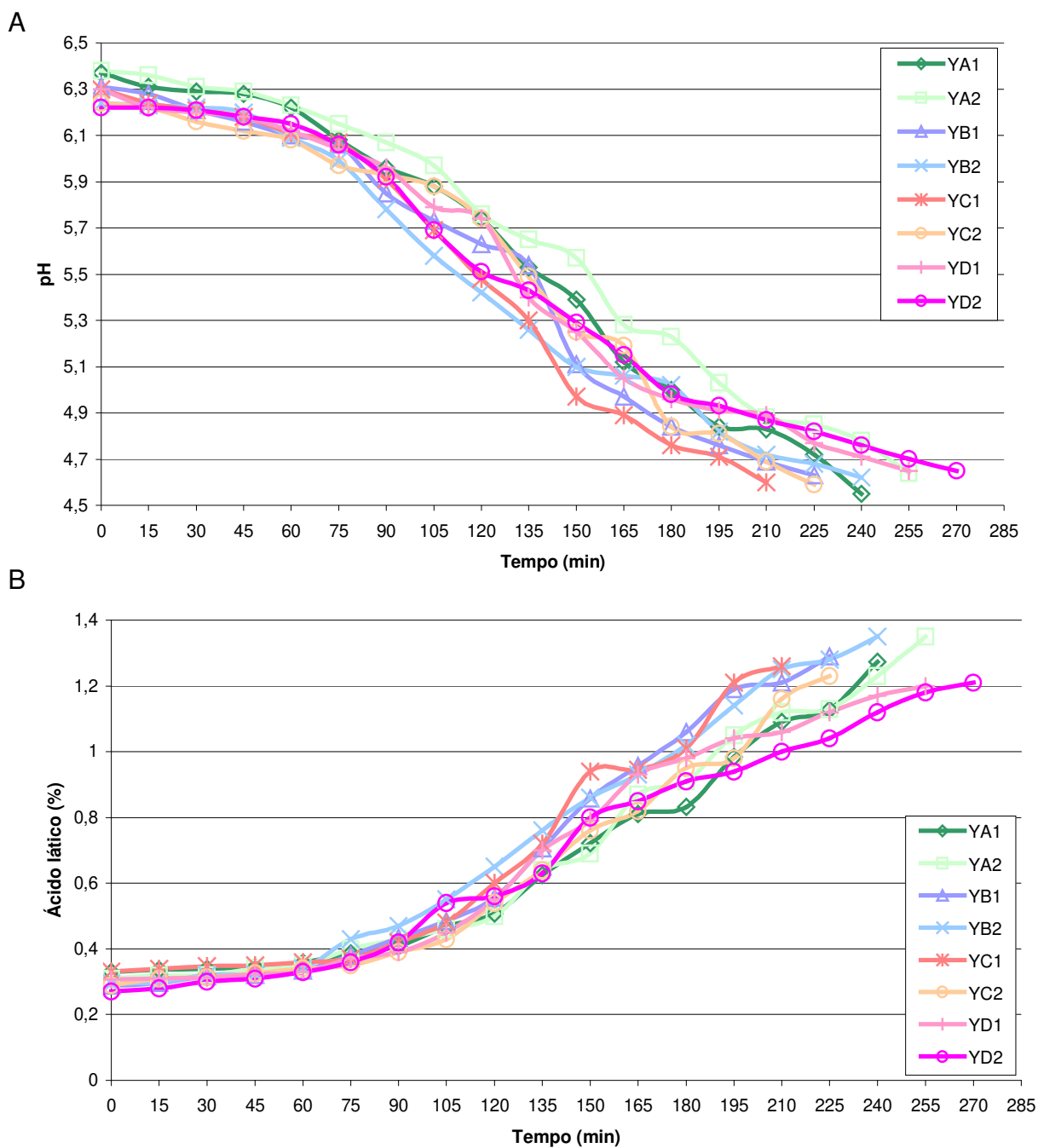
Concordando com os resultados obtidos em trabalho anterior (Antunes *et al.*, 2004a), os iogurtes adicionados de CPS apresentaram tempo de incubação menor; cerca de 15 minutos de vantagem em relação às amostras acrescidas apenas de LPD e fermentadas com combinação de culturas equivalente. Dave e Shah (1998), também observaram queda mais rápida do pH em iogurtes contendo CPS ou soro de leite em pó.

A combinação *St*, *Lb* e *Bl* (nas proporções de 1:1:1) acelerou a acidificação. Os iogurtes C1 e C2 atingiram pH 4,6 cerca de 30 minutos antes que A1 e A2, respectivamente. De forma semelhante, as amostras B1 e B2 (fermentadas por *St*, *Lb* e *La*, em proporções iguais) também favoreceram a diminuição do pH, desta vez em 15 minutos, utilizando amostras A1 e A2 como referência. Pereira (2002) utilizando as culturas tradicionais (*St* e *Lb*) e probióticas (*L. acidophilus* e *B. lactis*) observou que o tipo de cultura afetou significativamente o tempo de fermentação dos iogurtes. A pesquisadora relatou que os produtos fermentados apenas pelas culturas tradicionais apresentaram maior tempo de fermentação.

Confirmando trabalho anterior (Antunes *et al.*, 2004a), observou-se que embora o CPS tenha proporcionado iogurtes de fermentação mais rápida, a quantidade de ácido láctico destes produtos tendeu a ser inferior à encontrada nos iogurtes com LPD apenas, como pode ser verificado na Figura 4.2 (B). Modler *et al.* (1983), reportaram menor acidez titulável em iogurtes estabilizados por CPS (obtido por eletrodialise) do que nos produtos estabilizados por LPD.

O CPS, sendo excelente agente gelatinizante, conferia consistência típica de iogurte após cerca de 3h de fermentação, enquanto que nos iogurtes não adicionados de CPS, o mesmo ocorria em torno de 3:30h. Alguns laticínios estabelecem o fim do processo fermentativo tão logo se evidencie o aspecto de gel lácteo. Uma das vantagens desta prática é produzir iogurtes mais suaves - nas condições deste trabalho em pH levemente abaixo de 4,9 observava-se gel característico de iogurte. No entanto, quando a fermentação prossegue até pH 4,6 a estabilidade do produto potencializa-se.

O concentrado protéico de soro, portanto, proporcionou iogurtes com fermentação mais rápida e menor teor final de ácido láctico.



3.4 Pós- acidificação

A pós-acidificação de iogurtes, por definição, é a produção de ácido láctico durante sua refrigeração e estocagem (Rasic e Kurmann, 1978).

Na Figura 4.3 está ilustrada a pós-acidificação dos iogurtes experimentais durante o período de 21 dias de armazenamento.

O *L. bulgaricus* é o principal responsável pela pós-acidificação dos iogurtes, mas por outro lado ele contribui consideravelmente para a produção de compostos aromáticos, especialmente o acetaldeído, característico do iogurte (Rasic e Kurmann, 1978, Guyot, 1992). Além disso, quando os leites acidificados apresentam *L. acidophilus* são caracterizados por aroma pobre devido ao fato desse microrganismo produzir uma álcool desidrogenase que converte o acetaldeído em álcool (Marshall e Cole, 1983).

No sétimo dia de armazenamento o pH de todos os iogurtes caiu em média para 4,35, com exceção das amostras D1 e D2 que apresentaram neste período pH em torno de 4,51 (Figura 4.3 A). Isto se deve, presumivelmente, à menor proporção de *L. bulgaricus* adicionadas a estes dois iogurtes (Tabela 4.3).

Segundo a Figura 4.3 B, os primeiros 7 dias de estocagem se caracterizaram por importante produção de ácido láctico para todas as amostras, exclusive o iogurte D1. O referido iogurte tendeu a discreto aumento no percentual de lactato durante a vida-de-prateleira, finalizando esse período com total de 1,34%, valor equivalente ao obtido no final do processo fermentativo dos iogurtes A2 e B2.

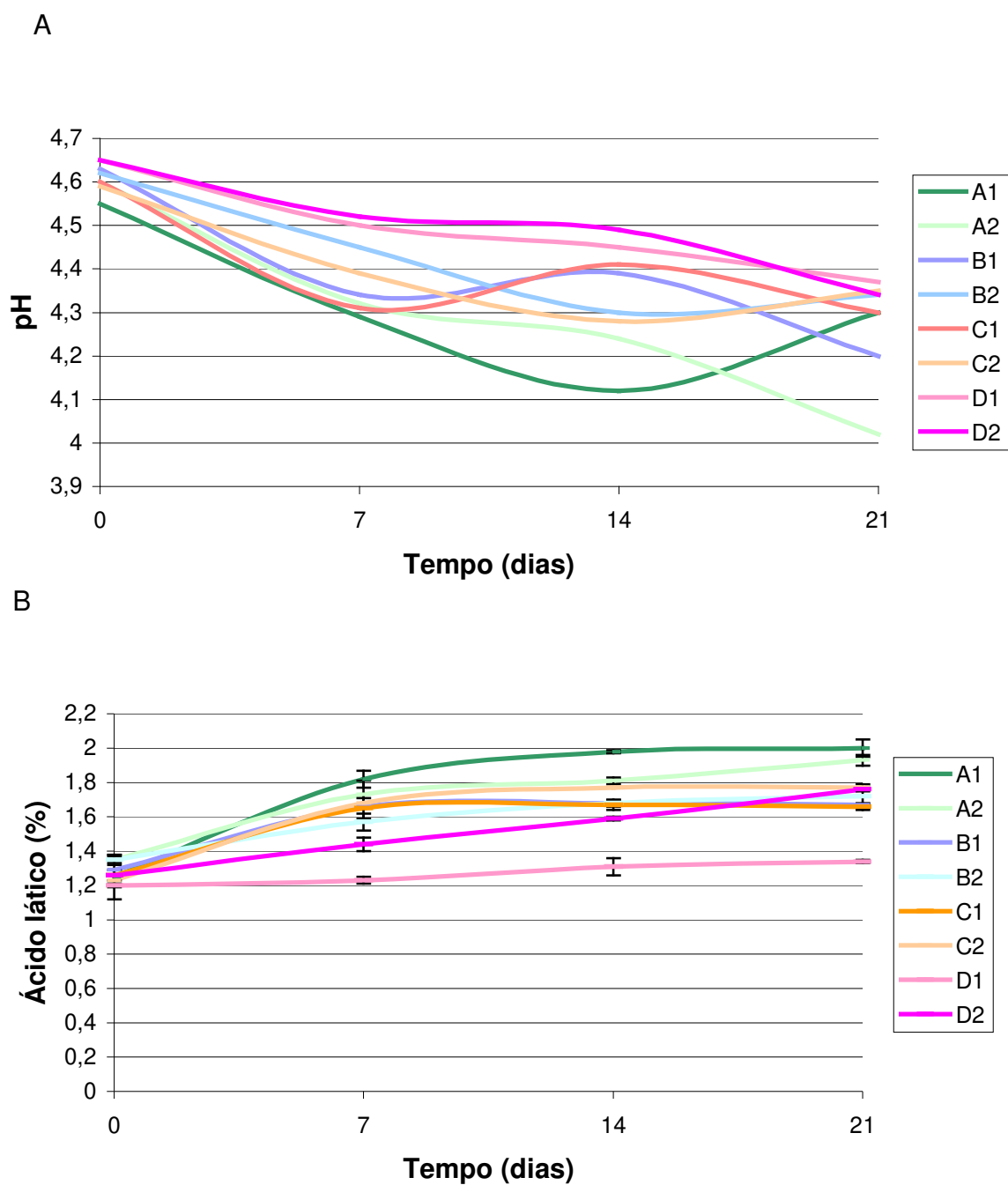
Nas semanas subseqüentes a atividade metabólica das culturas lácticas reduziu consideravelmente a julgar pela menor produção de ácido láctico, à partir do 7º dia (Figura 4.3 B). Dave e Shah (1997), observaram que após o 5º dia de estocagem a 4°C a acidez titulável apresentou-se constante até o 35º dia, independentemente da combinação de fermentos empregada.

Pereira (2002) observou que o uso de culturas probióticas oferece a vantagem de uma menor pós-acidificação dos iogurtes. O mesmo resultado foi constatado neste trabalho.

Segundo Hughes e Hoover (1991) e Guyot (1992) o *S. thermophilus* e as bifidobacterias produzem unicamente ácido láctico L (+) enquanto que o *L. bulgaricus* e *L. acidophilus* produzem ácido láctico D (-). Os iogurtes muito ácidos contêm maior quantidade de ácido láctico D (-), devido à atividade remanescente do *Lb* e, sendo este dissacarídeo oxidado muito lentamente pela via enzimática, é inconveniente para o metabolismo, especialmente de crianças (Hughes e Hoover, 1991, Guyot, 1992).

Tem havido um aumento na preferência dos consumidores por iogurte *Mild* (com menos acidez), sobretudo para o tipo branco, ou seja, sem adição de frutas e/ou açúcar (Chaves, 2002). Dentre as vantagens do iogurte *Mild* os pesquisadores Kneifel *et al.* (1992) citam a menor pós-acidificação do produto. O iogurte “suave” representa conjuntamente uma alternativa para a indústria aumentar a viabilidade das culturas quando se trata de iogurte probiótico.

No entanto, o iogurte de baixa acidez (pH > 4,6) pode sofrer separação intensa de soro porque o gel não foi suficientemente formado (Pinheiro *et al.*, 2002). As modificações nos ingredientes (substituição parcial do leite em pó por concentrado protéico do soro do leite, por exemplo) poderiam contornar esse problema proporcionando produtos com qualidade tecnológica assegurada.



3.5 Perfil de Textura, Sinérese e Sólidos Totais

As variações no perfil de textura e sinérese dos iogurtes em função da adição dos CPS, da combinação de fermentos lácteos e do tempo de armazenamento dos iogurtes podem ser observadas nas Figuras 4.4 a 4.8.

Em linhas gerais, a textura dos iogurtes não foi influenciada pela combinação das culturas empregadas, mas dependeu do tipo de suplementação e do tempo de estocagem, confirmando os resultados observados por Oliveira *et al.* (2001) e Jaros *et al.* (2002).

Para todas as amostras ocorreu aumento da dureza ao longo do armazenamento, conforme Figura 4.4. Barrantes *et al.* (1994) observaram igualmente aumento da firmeza de iogurtes em decorrência da estocagem. No entanto, esta variação só foi estatisticamente significativa para as amostras B1 e C2. A presença do CPS tendeu a conferir iogurtes mais firmes, assim como em trabalho anterior (Antunes *et al.*, 2003b). O tipo de combinação de culturas lácticas não influenciou nesta variável independente.

Durante estocagem ocorreu diminuição da gomosidade dos iogurtes, com exceção das amostras fermentadas por *St*, *Lb* e *Bl* (iogurtes C1 e C2), que mantiveram valores semelhantes entre os dois períodos (Figura 4.5). A suplementação dos iogurtes com concentrado protéico do soro de leite proporcionou aumento de gomosidade estatisticamente significativo ($p < 0,05$), comparando-se os iogurtes A1 com A2, B1 com B2, C1 com C2 e D1 com D2.

Elasticidade e coesividade das amostras apresentaram tendência contrária a dureza, diminuindo ao longo do armazenamento.

A Figura 4.8 ilustra a sinérese dos iogurtes. A adição de CPS resultou em iogurtes com capacidade de retenção de água significativamente maiores. O armazenamento proporcionou maior estabilidade à dessoragem dos iogurtes, corroborando com os resultados observados por Barrantes *et al.* (1994). No entanto, Dannenberg e Kessler (1988) afirmam que durante a estocagem ocorre aumento de sinérese.

No estudo de Saxelin *et al* (1999) foi observada maior sinérese nos leites fermentados por linhagens probióticas. No presente trabalho os iogurtes B2 e D2 diferiram estatisticamente do A2 indicando maior dessoragem para os iogurtes com *L. acidophilus*. Porém, quando aplicado CPS (A1, B1 e D1) não foi observada diferença estatisticamente significativa na sinérese dos iogurtes como pode ser verificado na Figura 4.8.

Em trabalho anterior (Antunes *et al.*, 2003a) observou-se que a umidade espremível é maior nos géis de CPS de pH 4,0 comparados aos de pH 4,6. Isto sugere que durante a pós-acidificação ocorreria melhora da capacidade de retenção de água nos iogurtes adicionados de CPS, no entanto, como os referidos iogurtes apresentaram pequena diminuição de pH durante a estocagem (Figura 4.3 B), não foi possível confirmar esse resultado.

O teor de sólidos totais dos iogurtes contendo CPS (A1, B1, C1 e D1) ficou em torno dos 17%, enquanto dos iogurtes contendo apenas LPD (A2, B2, C2 e D2), em torno dos 18% (Figura 4.9).

Sinérese e dureza não estiveram diretamente relacionadas ao percentual de sólidos, portanto estas características relacionaram-se mais à qualidade dos sólidos do que à sua quantidade, confirmando trabalho anterior (Antunes *et al.*, 2004).

Oliveira e Damin (2002) observaram que os leites contendo maiores teores de sólidos totais apresentaram maior acidez total, independente da co-cultura (*St*, *Lb*, *La* ou *L. rhamnosus*) usada. Neste trabalho a acidez final dos iogurtes fermentados por combinações de *St*, *Lb* e *La*, foi igualmente maior nos iogurtes com maior percentual de sólidos totais, no entanto, nos iogurtes com combinações de fermento incluindo *B. longum* não se observou a mesma tendência.

As Figuras 4.10 a 4.13 ilustram de forma gráfica as curvas instrumentais de perfil de textura dos iogurtes.

Evidencia-se na Figura 4.10 que o ao término do período de estocagem (21º dia) ocorreu aumento na dureza (correspondente ao primeiro pico) dos iogurtes representados (A1 e A2), especialmente no iogurte adicionado de CPS.

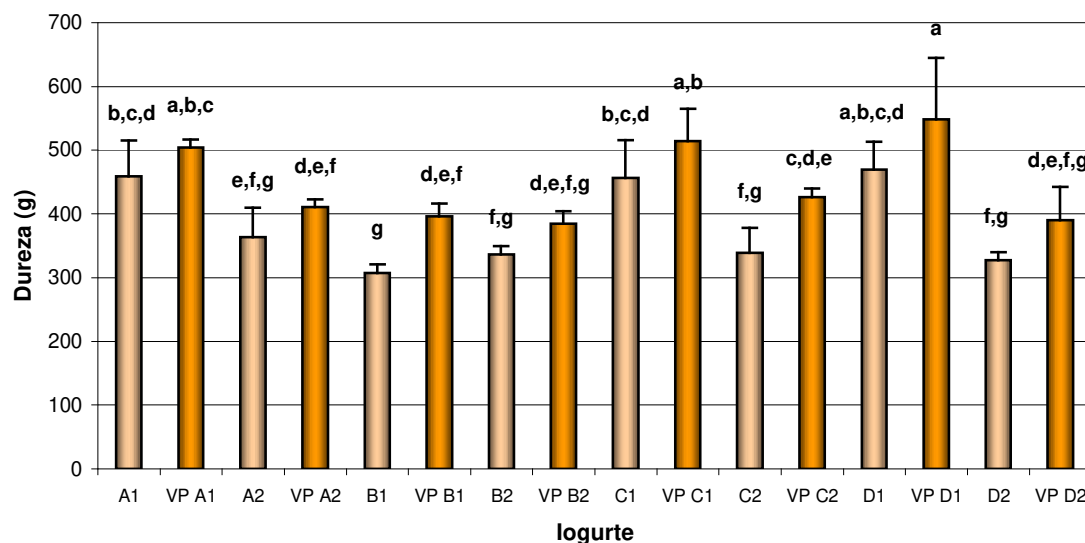


Figura 4.4 Dureza dos iogurtes adicionados de CPS e LPD (A1, B1, C1 e D1) e apenas LPD (A2, B2, C2, D2); e fermentados por *St* e *Lb* (A1 e A2), por *St*, *Lb* e *La* (B1 e B2), por *St*, *Lb* e *Bl* (C1 e C2), e por *St*, *Lb*, *La* e *Bl* (D1 e D2) no início e final da vida de prateleira (VP). Médias com letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

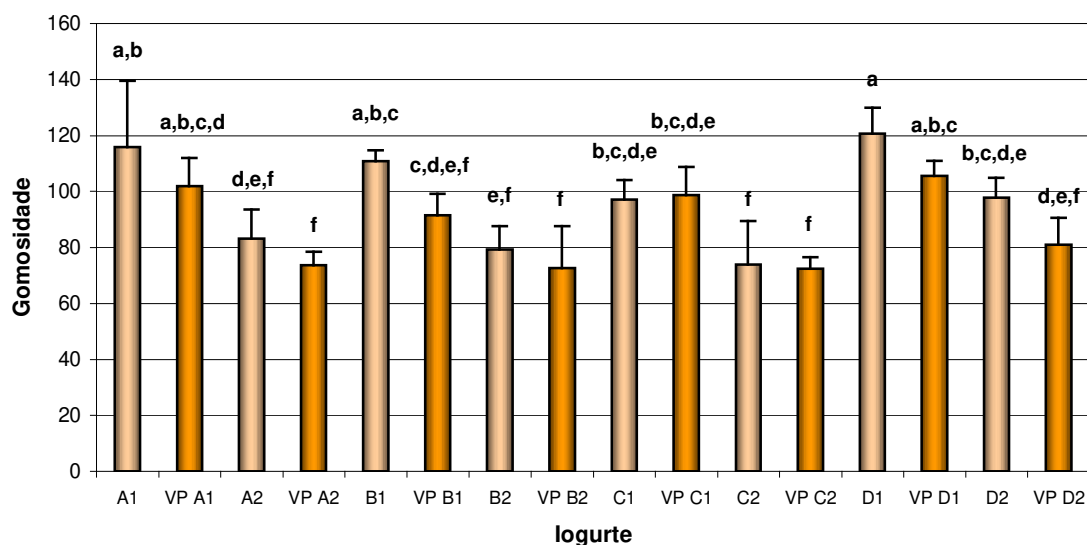


Figura 4.5 Gomosidade dos iogurtes adicionados de CPS e LPD (A1, B1, C1 e D1) e apenas LPD (A2, B2, C2, D2); e fermentados por *St* e *Lb* (A1 e A2), por *St*, *Lb* e *La* (B1 e B2), por *St*, *Lb* e *Bl* (C1 e C2), e por *St*, *Lb*, *La* e *Bl* (D1 e D2) no início e final da vida de prateleira (VP). Médias com letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

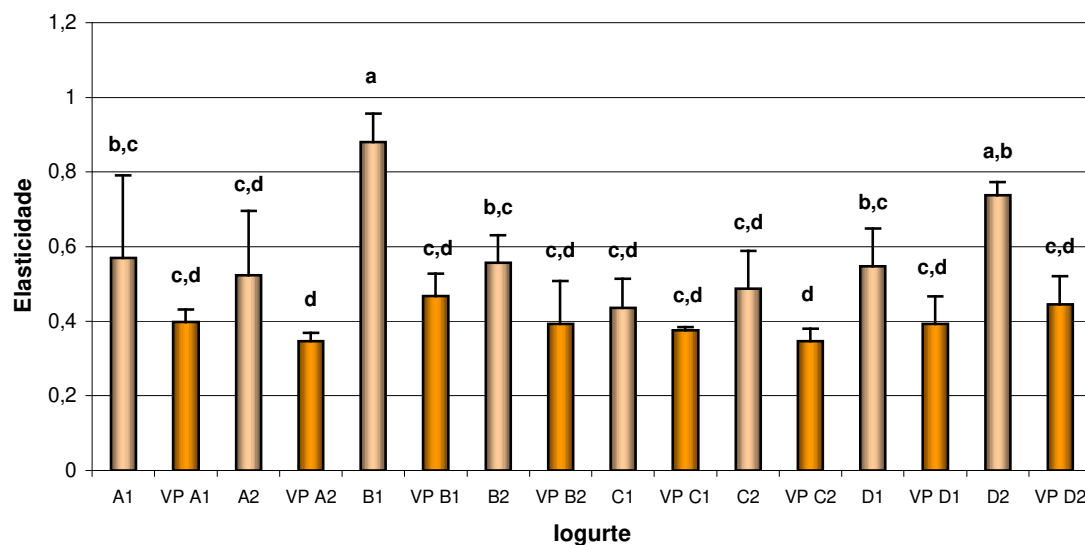


Figura 4.6 Elasticidade dos iogurtes adicionados de CPS e LPD (A1, B1, C1 e D1) e apenas LPD (A2, B2, C2, D2); e fermentados por *St* e *Lb* (A1 e A2), por *St*, *Lb* e *La* (B1 e B2), por *St*, *Lb* e *Bl* (C1 e C2), e por *St*, *Lb*, *La* e *Bl* (D1 e D2) no início e final da vida de prateleira (VP). Médias com letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

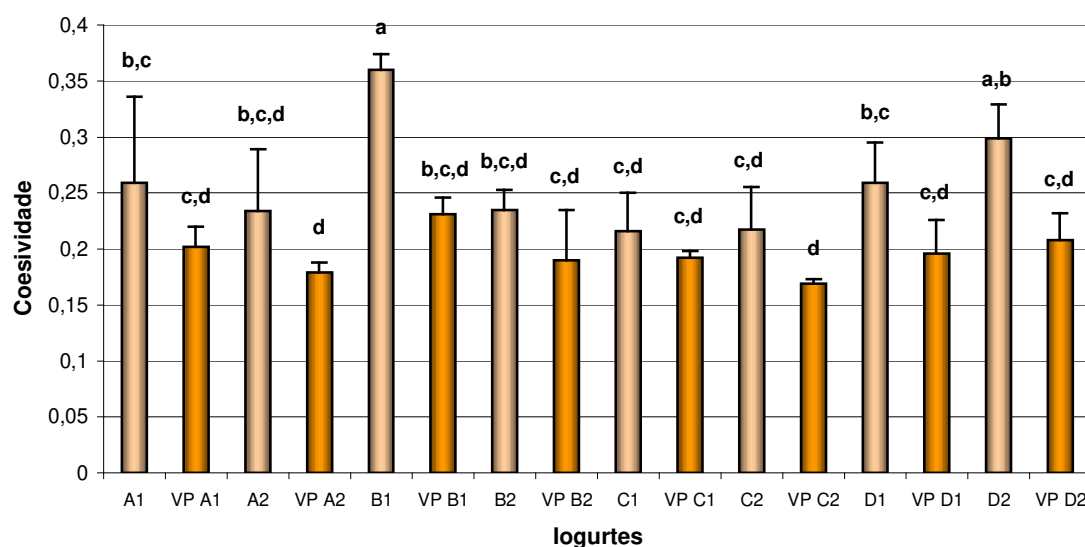


Figura 4.7 Coesividade dos iogurtes adicionados de CPS e LPD (A1, B1, C1 e D1) e apenas LPD (A2, B2, C2, D2); e fermentados por *St* e *Lb* (A1 e A2), por *St*, *Lb* e *La* (B1 e B2), por *St*, *Lb* e *Bl* (C1 e C2), e por *St*, *Lb*, *La* e *Bl* (D1 e D2) no início e final da vida de prateleira (VP). Médias com letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

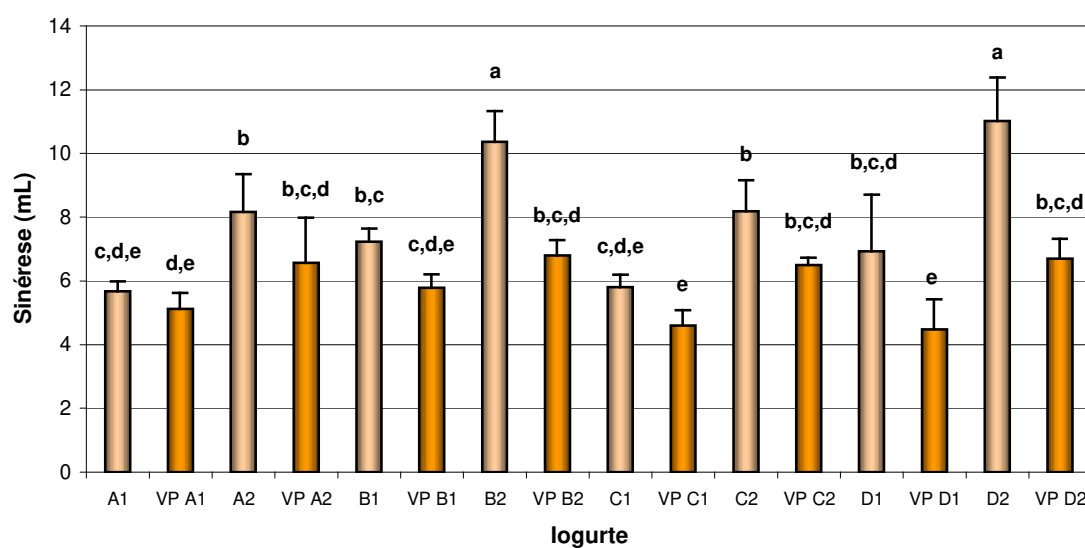


Figura 4.8 Sinérese dos iogurtes adicionados de CPS e LPD (A1, B1, C1 e D1) e apenas LPD (A2, B2, C2, D2); e fermentados por *St* e *Lb* (A1 e A2), por *St*, *Lb* e *La* (B1 e B2), por *St*, *Lb* e *Bl* (C1 e C2), e por *St*, *Lb*, *La* e *Bl* (D1 e D2); no início e final da vida de prateleira (VP). Médias com letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

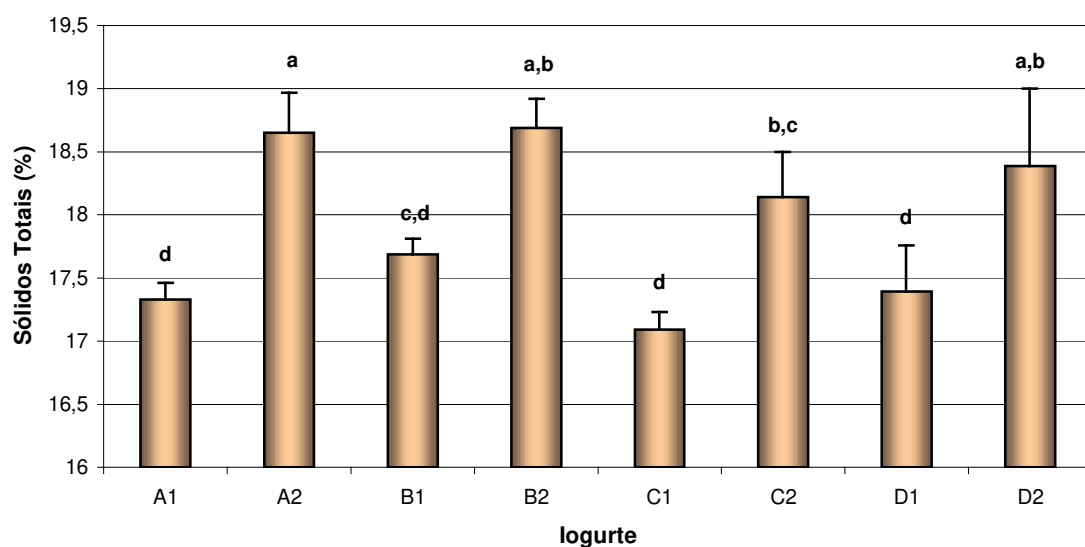


Figura 4.9 Sólidos totais dos iogurtes adicionados de CPS e LPD (A1, B1, C1 e D1) e apenas LPD (A2, B2, C2, D2); e fermentados por *St* e *Lb* (A1 e A2), por *St*, *Lb* e *La* (B1 e B2), por *St*, *Lb* e *Bl* (C1 e C2), e por *St*, *Lb*, *La* e *Bl* (D1 e D2). Médias com letras iguais não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

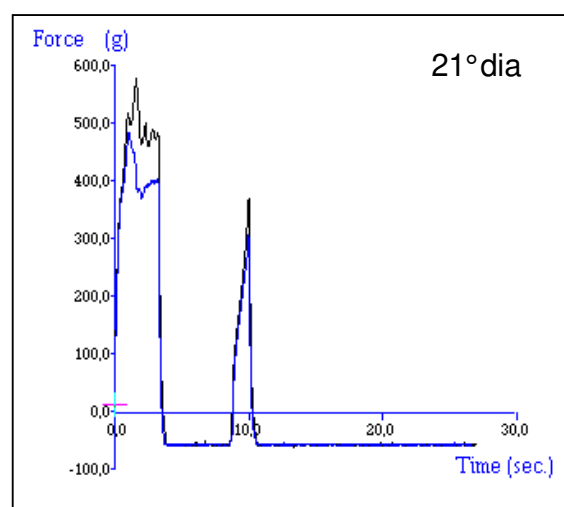
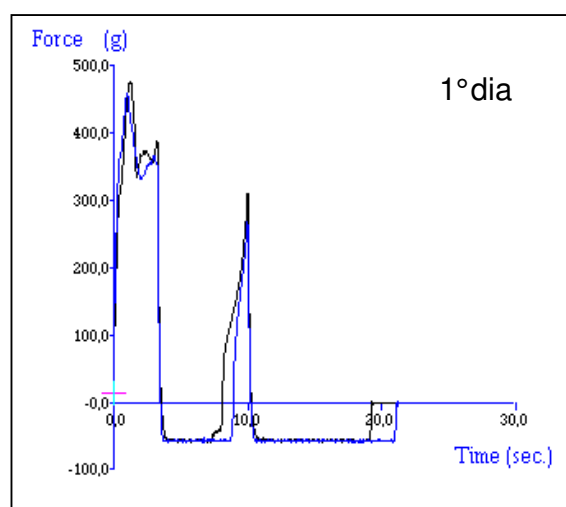


Figura 4.10 Perfil de textura dos iogurtes A1 e A2 adicionados de LPD e CPS (—) e apenas LPD (- - -), fermentados por *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*, avaliados no início (1º dia) e final (21º dia) da vida-de-prateleira.

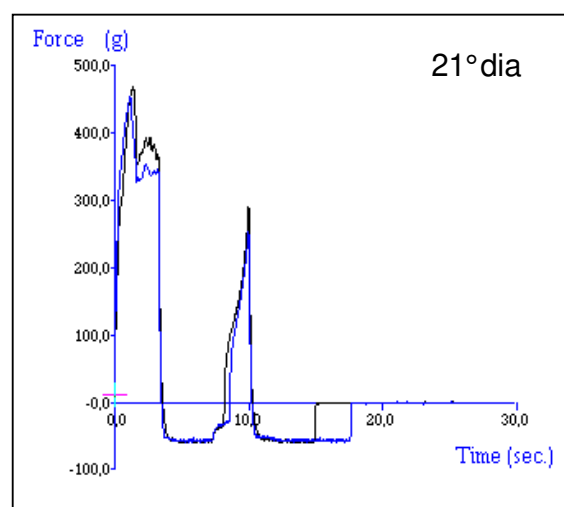
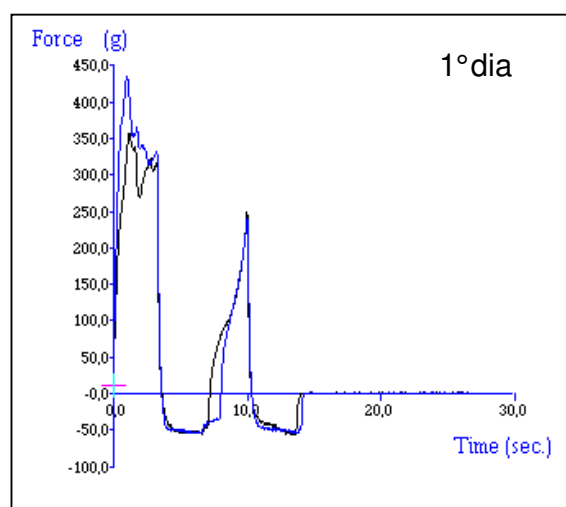


Figura 4.11 Perfil de textura dos iogurtes B1 e B2 adicionados de LPD e CPS (—) e apenas LPD (- - -), fermentados por *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* e *L. acidophilus*, avaliados no início (1º dia) e final (21º dia) da vida-de-prateleira.

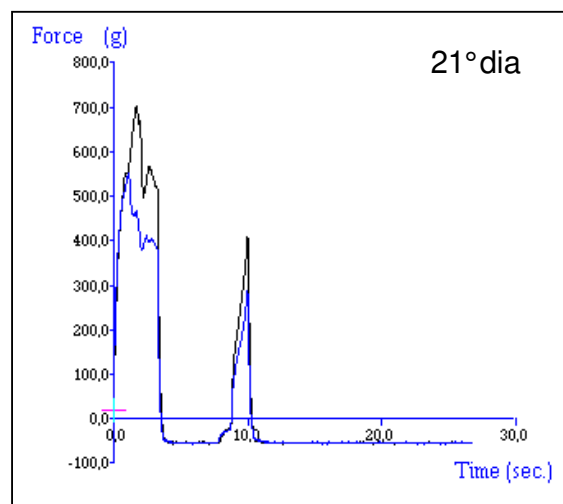
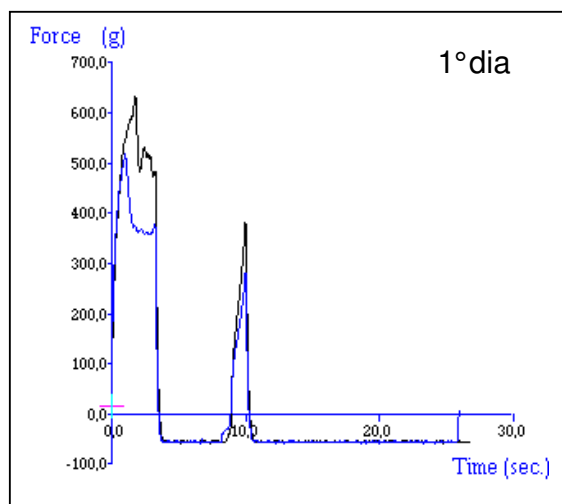


Figura 4.12 Perfil de textura dos iogurtes C1 e C2 adicionados de LPD e CPS (____) e apenas LPD (____), fermentados por *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *B. longum*, avaliados no início (1º dia) e final (21º dia) da vida-de-prateleira.

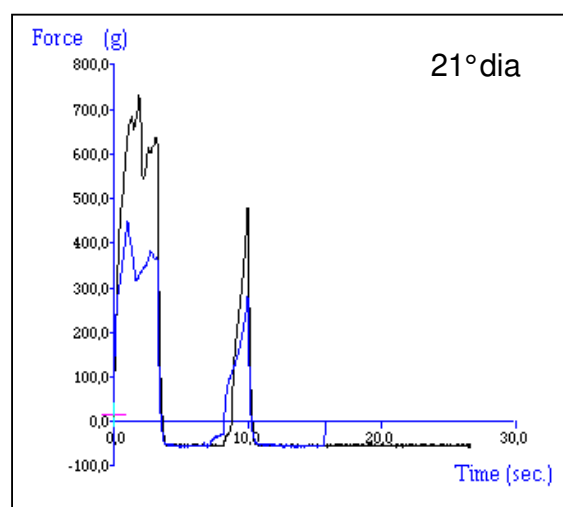
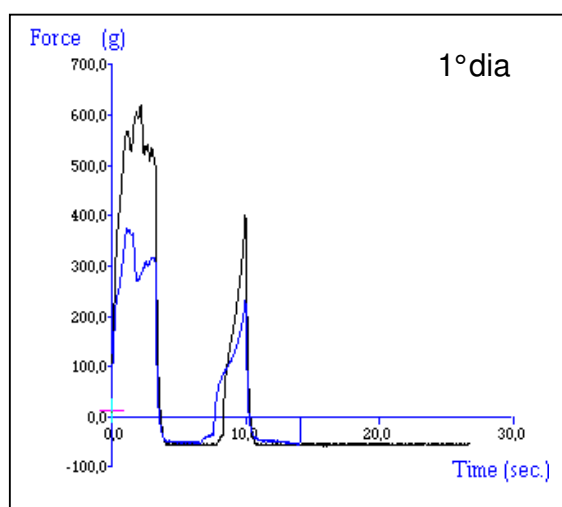


Figura 4.13 Perfil de textura dos iogurtes D1 e D2 adicionados de LPD e CPS (____) e apenas LPD (____), fermentados por *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* e *B. longum*, avaliados no início (1º dia) e final (21º dia) da vida-de-prateleira.

Os iogurtes B1 e B2 apresentaram perfis de textura semelhantes entre si nos dois momentos da avaliação (Figura 4.11).

A adição de CPS aumentou expressivamente a dureza dos iogurtes fermentados pelas combinações de *St* + *Lb* + *Bl* (Figura 12) e *St* + *Lb* + *La* + *Bl* (Figura 4.13).

3.6 Crescimento e Viabilidade das Culturas

Os iogurtes com e sem adição de CPS foram produzidos no mesmo dia, utilizando-se o mesmo inóculo, para permitir a avaliação do efeito desse ingrediente no crescimento e viabilidade das culturas. As contagens das culturas foram feitas no 1º dia da produção dos iogurtes e a o 21º dia (final da vida-de-prateleira) e encontram-se na Figura 4.14.

As condições de preparo, inoculação e incubação resultaram em crescimento equilibrado de *St* e *Lb* nos iogurtes A1 e A2 (em torno de 10^8 UFCs para ambos, mantendo-se a mesma contagem até o final do armazenamento).

Alguns dos fatores que influenciam na proporção de *St* e *Lb* ao final do processo fermentativo, segundo Rasic e Kurman (1978) são: temperatura de incubação, que sendo maior ou menor que 45°C favorece, respectivamente, *Lb* e *St*; tempo de incubação, que longo (mais de 5 horas) favorece *Lb* e curto (cerca de 2 a 3 horas) é favorável ao *St*; e quantidade de inóculo, que alta (maior que 5%) estimula *Lb*, enquanto que pequena (0,5 a 1%) estimula *St*.

O CPS adicionado não pareceu exercer influência alguma no crescimento das culturas lácticas. Bury *et al.* (1998), por outro lado, observaram estímulo do crescimento dessas bactérias causado pelo acréscimo de CPS. Da mesma forma, Champanhe *et al.* (1996) avaliaram a adequabilidade do CPS como meio de crescimento para produção de culturas lácticas, obtendo maiores contagens de bactérias do que quando leite foi empregado em seu lugar.

Devido ao fato de terem sido iogurtes de fermentação mais rápida (ver Figura 4.2), os iogurtes adicionados de CPS poderiam apresentar contagens menores de culturas lácticas e probióticas, no entanto, isto não foi observado.

Focando a atenção nos iogurtes B e C, observou-se que a adição de CPS melhorou a viabilidade dos fermentos *L. acidophilus* e *B. longum*, especialmente do primeiro, que apresentou contagem de 1,9 ciclo logarítmico maior comparando-se a vida-de-prateleira do iogurte B2 com B1. A cultura de *L. acidophilus* foi mais sensível do que a de *B. longum*, nos iogurtes B e C, respectivamente. Este resultado confirma os dados de Dave e Shah (1997) que apontaram rápida diminuição de *La*, possivelmente pela produção de peróxido de hidrogênio pelo *Lb*. Os autores também relataram maior estabilidade para as bifidobactérias durante o armazenamento. Gilliland e Speck (1977) encontraram perdas maiores de 99% (correspondente a dois ciclos logarítmicos) na viabilidade de *L. acidophilus* após a manufatura de iogurte de consistência firme.

A sobrevivência de *L. acidophilus* e *B. bifidum* é prejudicada por baixo pH (Shah *et al.* 1995) tal como ocorre durante a pós-acidificação. Peróxido de hidrogênio produzido por *L. bulgaricus* apresenta efeito antimicrobiano, afetando o crescimento de bactérias probióticas (Dave e Shah, 1997; Dave e Shah, 1998). Samona e Robinson (1994), citam ainda a secreção de bacteriocinas por *L. bulgaricus*, podendo comprometer a sobrevivência de bifidobactérias. Outros fatores que podem causar injúria celular aos probióticos são: temperatura de estocagem inadequada, presença de oxigênio, concentração de ácido láctico e acético muito elevada, presença de conservantes devido à adição de frutas e outros ingredientes, antagonismo entre os fermentos, etc... (Dave e Shah, 1997; Dave e Shah, 1998).

Para contornar o problema da pós-acidificação dos iogurtes a tendência é usar fermentos desprovidos de *L. bulgaricus*, tais como ABT (*L. acidophilus*, bifidobactéria e *S. thermophilus*), conforme Dave e Shah (1998). Contudo, considerando-se que o termo iogurte é definido como o produto resultante da fermentação do leite por cultura mista de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* (BRASIL, 2000), neste trabalho optamos apenas por diminuir a proporção deste microrganismo nos iogurtes D1 e D2.

Nos iogurtes D, fermentados por combinação de *St*, *Lb*, *La* e *Bl* (1:0,3:1:1) foi identificado maior crescimento de células e melhora da sua viabilidade para

ambos os microrganismos probióticos, especialmente para *L. acidophilus* com acréscimo de 1,8 ciclo logaritmo, comparando-se a vida-de-prateleira dos iogurtes D1 com D2. Oliveira *et al.* (2001) avaliando uso de soro de leite em pó, hidrolisado de caseína e proteínas do leite em pó (com 16, 70 e 43% de proteína, respectivamente) para enriquecimento de leites fermentados, obtiveram manutenção do número de células de *L. acidophilus* somente com o primeiro produto, enquanto que para os outros dois produtos ocorreu diminuição das contagens. Kailasapathy e Supriadi (1996) concluíram através de sua pesquisa que a substituição parcial de LPD por CPS permitiu que um grande número de *L. acidophilus* permanecesse viável durante os 21 dias de estocagem.

As variáveis pH e percentual de ácido láctico não pareceram ser responsáveis pela diminuição de viabilidade dos fermentos probióticos nos iogurtes adicionados de LPD. Comparando-se a pós-acidificação dos iogurtes B2, C2 e D2 (Figura 4.3) observou-se valor semelhante de pH e percentual de lactato para todos no último dia de armazenamento, embora as contagens de *La* e *Bl* tenham diferido entre iogurtes B2 e C2 comparados com D2. No estudo de Dave e Shah (1998), a diminuição do pH e aumento da acidez titulável não pareceu ser fator decisivo na viabilidade das bifidobactérias durante a estocagem refrigerada dos iogurtes.

As espécies de Bifidobacteria tais como *B. longum* são muito exigentes, requerendo fatores de crescimento específicos para crescimento (Shah *et al.* 1995). Ibrahim e Bezkorovainy (1994), demonstraram que α -lactoalbumina e β -lactoglobulina, principais proteínas do soro do leite, são excelentes agentes promotores de crescimento para *B. longum*. No presente trabalho observou-se discreta interação positiva entre CPS e *B. longum*. Mas, Dave e Shah (1998) obtiveram aumento >3 ciclos logarítmicos na contagem de bifidobactérias nos iogurtes (fermentados com cultura ABT) suplementados com CPS.

Zacarchenco (2003) utilizou os mesmos fermentos probióticos desta pesquisa (EZAL LAC4 e BL) na elaboração de leites fermentados com combinação de culturas ABT. Ao término de 21 dias de estocagem ela observou que as contagens de *Bl* permaneciam constantes ou haviam reduzido 1 ciclo

logarítmico, enquanto que as contagens de células viáveis de *La* apresentavam redução de 1 a 2 ciclo logarítmicos.

O efeito favorável do CPS nas culturas probióticas pode ser atribuído ao fato deste produto representar uma fonte de peptídeos e aminoácidos quando tratado termicamente na pré-mistura do iogurte, além disso, as proteínas do soro são ricas em aminoácidos sulfurados, os quais são liberados, conjuntamente no aquecimento, diminuindo o potencial redox (Dave e Shah, 1998).

Cabe ressaltar que embora as contagens de *L. acidophilus* tenham permanecido acima de 10^6 UFC.mL⁻¹ ao final do período de armazenamento nos iogurtes contendo CPS, os referidos iogurtes não atenderam a legislação brasileira em vigor quanto ao número de bifidobactérias.

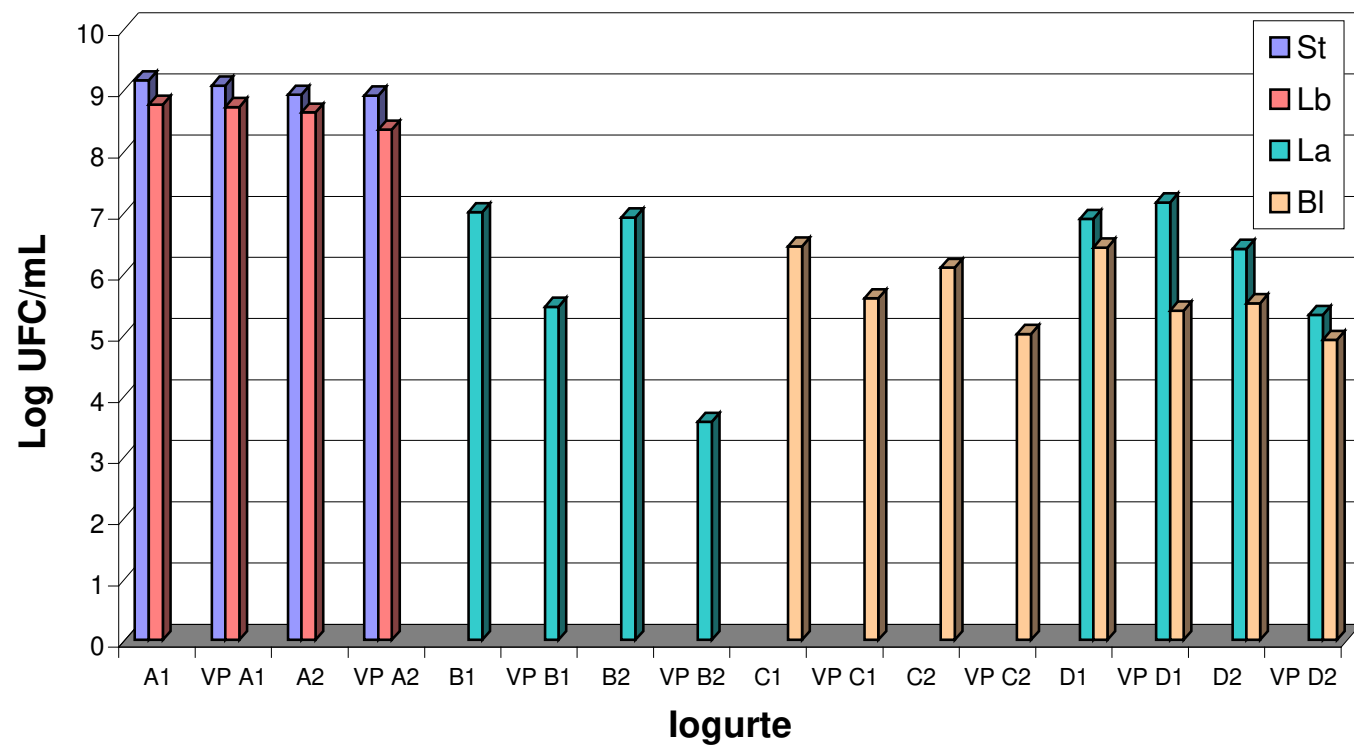


Figura 4.14 Viabilidade dos fermentos (expresso em $\log_{10}$ UFC/mL) nos iogurtes frescos e ao final da vida-de-prateleira (VP).

3.7 Análise Sensorial

As características sensoriais dos leites fermentados representam um importante aspecto para aceitação dos produtos por parte dos consumidores (Gardini *et al.* 1999).

A análise sensorial foi realizada em duas etapas: a primeira por Teste de Diferença do Controle, utilizando-se os iogurtes naturais A1 e A2 e naturais probióticos D1 e D2; a segunda por Teste de Aceitação avaliando-se D1 e D2.

3.7.1 Diferença do Controle

Nesta primeira etapa objetivou-se avaliar se os provadores seriam capazes de identificar diferença entre as amostras devido à presença de CPS e de culturas probióticas. Fixou-se iogurte A2 como o padrão, por tratar-se do produto com o qual os consumidores estão mais habituados (adicionado apenas de LPD e fermentado pelas culturas lácticas tradicionais). Os resultados, analisados por teste de Dunnett encontram-se expressos na Tabela 4.6.

Tabela 4.6 Comparação entre iogurte padrão (A2) e iogurtes adicionados de CPS (A1 e D1) e fermentados por probióticos (D1 e D2).

Comparação de amostras	Diferença entre médias
A2 e A1	1,85*
A2 e D1	2,55*
A2 e D2	0,95

* Diferença significativa ($p < 0,05$)

Concluiu-se por esse teste que os provadores foram capazes de identificar que o iogurte adicionado de CPS diferia dos não adicionados desse ingrediente. No entanto, eles não foram capazes de identificar diferenças pela presença de culturas probióticas nas amostras.

Saxelin *et al.* (1999) afirmam que em geral, não são observadas diferenças de sabor nos produtos contendo linhagens probióticas.

Na pesquisa de Gardini *et al.* (1999) o nível de inoculação de *L. acidophilus* variando de 0,5 a 2,5%, não resultou em mudança na qualidade sensorial geral. Por outro lado, Zacarchenco (2003) observou baixa aceitabilidade para leites fermentados por *S. thermophilus* e *L. acidophilus* (10^8 UFC.mL⁻¹). A pesquisadora relatou que os provadores preferiram os produtos feitos com combinações iniciais de *B. longum* e *L. acidophilus* nas proporções de 10^8 e 10^7 UCF.mL⁻¹, respectivamente, e apenas *B. longum* (10^8 UCF.mL⁻¹).

Na comparação entre as médias dos iogurtes pelo teste de Dunnett foi obtido valor de 1,85 entre as amostras A1 e A2, e de 2,55, entre A2 e D1. Essas diferenças percebidas entre as amostras em função da adição de CPS são leves, considerando a escala empregada no teste (0= nenhuma diferença e 9= extremamente diferentes, conforme ficha de avaliação sensorial que se encontra no apêndice C).

3.7.2 Teste de Aceitação

O Teste de Aceitação foi aplicado para o novo produto que se buscou desenvolver: iogurte natural desnatado probiótico. Foram avaliadas as amostras de iogurtes probióticos com e sem adição de CPS (D1 e D2).

Conforme a Figura 4.15 não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) na aparência, sabor, textura e impressão global dos iogurtes adicionados ou não de CPS, confirmando trabalho anterior (Antunes *et al.*, 2004a).

Os dados apresentados na Figura 4.16 ilustram o histograma da distribuição das notas dos iogurtes avaliados.

As notas do iogurte D1 apresentaram-se espalhadas na escala, indicando que os provadores não demonstraram opiniões consensuais em relação aos atributos avaliados (Figura 4.16 A). Se por um extremo a amostra recebeu pontuações muito baixas para os quatro atributos avaliados por cerca de 3% dos provadores, por outro recebeu pontuações máximas por cerca de 30% dos julgadores para os mesmos atributos.

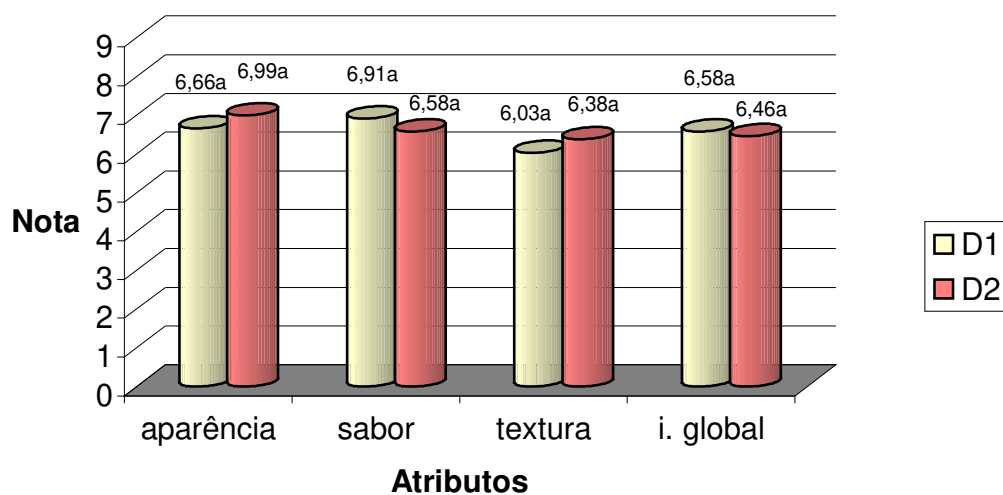


Figura 4.15 Aparência, sabor, textura e impressão global dos iogurtes D1 e D2. Médias seguidas de mesma letra, para o mesmo atributo, não diferem a 5% de significância.

Para o iogurte D2 (Figura 4.16 B) a maior parte das notas referentes à textura e impressão global concentraram-se na faixa de 6 a 6,9 (30% dos provadores) e para aparência e sabor, na faixa de 8 a 9 (38 e 27%, respectivamente).

Entre os comentários registrados pelos provadores foi descrito que ambos os iogurtes apresentavam textura de “mingau”; que o iogurte D1 era pouco ácido (resultado coerente com a menor acidez titulável obtida por este produto) e que o D2 tinha aroma agradável.

Através do Teste de Atitude do Consumidor foi observado que caso os produtos fossem comercializados a maioria dos consumidores possivelmente compraria os iogurtes D1 (46%) e D2 (42%) conforme Figura 4.17.

Observou-se que as intenções de compra dos dois produtos foram muito semelhantes, ratificando os resultados observados nas escalas hedônicas, não ocorrendo diferenças estatisticamente significativas na aparência, sabor, textura e impressão global das amostras com e sem CPS.

4. CONCLUSÃO

O CPS proporcionou iogurtes de fermentação mais rápida, porém com menor teor de lactato. A combinação das culturas lácticas com *L. acidophilus* ou *B. longum* nas proporções de 1:1:1, igualmente acelerou o processo fermentativo.

A pós-acidificação dos iogurtes foi atenuada quando se diminuiu a proporção de *L. bulgaricus* do inóculo.

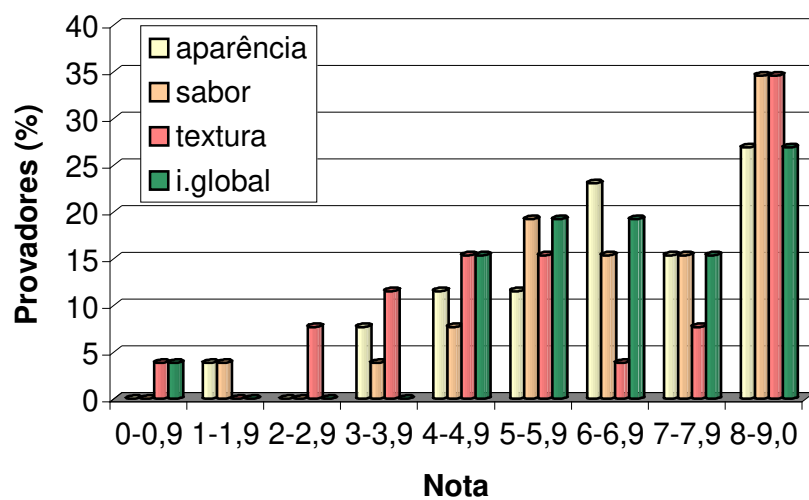
A textura dos produtos não foi influenciada pela combinação de culturas empregadas. Embora o *L. acidophilus* juntamente com as demais culturas lácticas tenha proporcionado iogurtes com maior sinérese, a presença de CPS foi capaz de reter a dessoragem. A suplementação com CPS tendeu a conferir iogurtes mais firmes, gomosos e com maior capacidade de reter água. Durante a vida-de-prateleira os produtos com e sem CPS ficaram mais firmes e estáveis à dessoragem, e menos gomosos, elásticos e coesos.

O CPS não exerceu influência no crescimento e viabilidade das culturas láticas, no entanto, potencializou o crescimento e viabilidade dos probióticos.

Os provadores foram capazes de identificar diferença leve nas características globais dos iogurtes com e sem CPS, porém não perceberam diferença devido à presença de probióticos. Quando os provadores avaliaram os iogurtes nas condições em que estão habituados (com mel, açúcar, adoçante ou geléia de frutas) não foram evidenciadas diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre as amostras com e sem CPS.

O CPS interagiu com os demais ingredientes e com os fermentos probióticos proporcionando iogurtes com maior estabilidade física e microbiológica e com propriedades sensoriais agradáveis.

A



B

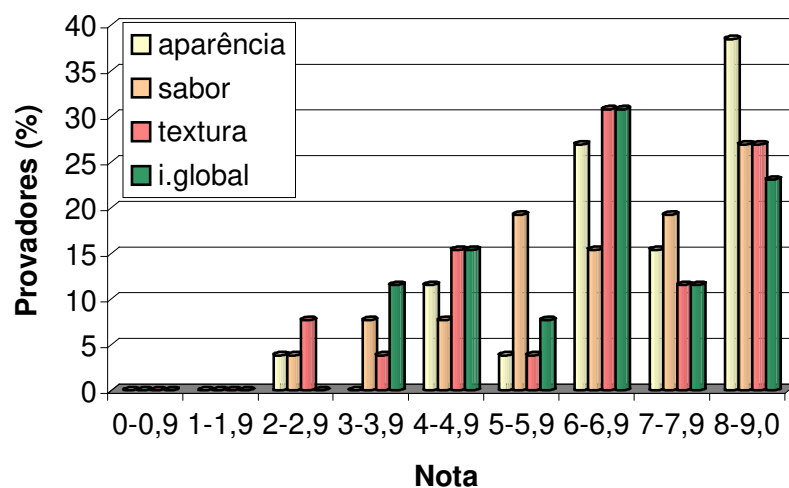
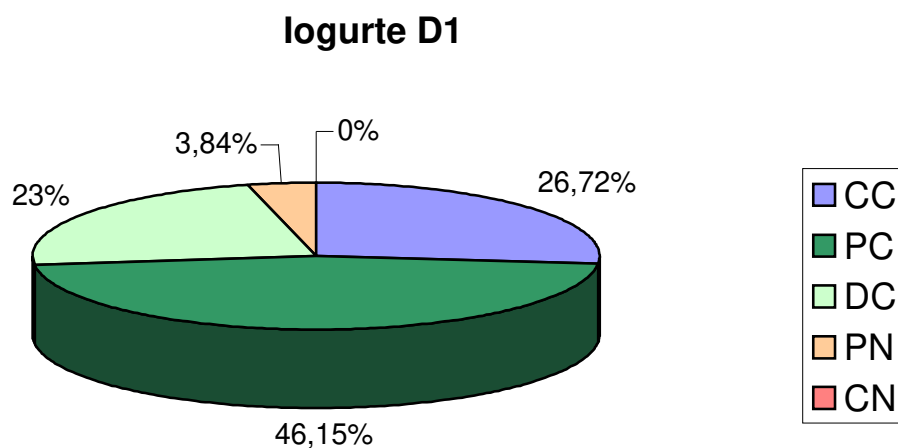


Figura 4.16 Distribuição de notas para os atributos aparência, sabor, textura e impressão global dos iogurtes probióticos D1 (A) e D2 (B).

A



B

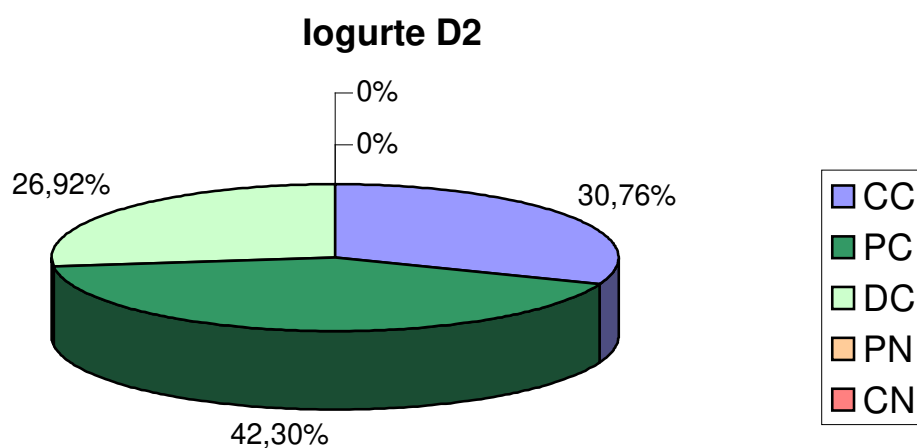


Figura 4.17 Intenção de compra dos iogurtes probióticos D1 (A) e D2 (B), sendo: CC – certamente compraria; PC – provavelmente compraria, DC – dúvida se compraria, PN – provavelmente não compraria, CN - certamente não compraria.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTUNES, A. E. C., MOTTA, E. M. P., ANTUNES, A. J. Perfil de textura e capacidade de retenção de água de géis ácidos de concentrado protéico de soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 183-189, 2003. Suplemento.
- ANTUNES, A. E. C., ANTUNES, A. J., CARDELLO, H. M. A. B. Chemical, physical microstructural and sensory properties of set fat-free yogurts stabilized with whey protein concentrate. **Milchwissenschaft**, v. 59, n. 3-4, p. 161-165, 2004a.
- ANTUNES, A. E. C., ANTUNES, A. J., SILVA, K., CARDELLO, H. M. A. B. Elaboración de yogurt descremado con perfil de textura y syneresis similares al yogurt integral. **Alimentaria**, 2004b, aceito para publicação.
- ARUNACHALAM, K. D. Role of bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. **Nutrition Research**, v. 19, n. 10, pp. 1559-1597, 1999.
- A. O. A. C. 1996. **Official methods of analysis**, Association of Official Analytical Chemists, Washington D. C.
- BARRANTES, E., TAMIME, A. Y., MUIR, D. D., SWORD, A. W. The effect of substitution of fat microparticulate whey protein on the quality of set-type, natural yogurt. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v. 47, n. 2, 1994.
- BARRETO, G. P. M., SILVA, N., SILVA, E. N., BOTELHO, L., YIM, D. K., ALMEIDA, C. G., SABA, G. L. Quantificação de *Lactobacillus acidophilus*, bifidobactérias e bactérias totais em produtos probióticos comercializados no Brasil. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, p. 119-126, 2003.
- BRADLEY, R. L. *et al.* Chemical and physical methods. In: Marshall, R. T. (Ed.) **Standard methods for the examination of dairy products**, 16th edition, 1992, American Public Health Association, Washington, DC, p. 433-529.
- BERG, R. D. Probiotics, prebiotics or “conbiotics”? **Trends in Microbiology**, v. 6, n. 3, pg. 89-92, 1998.
- BORGES, V. C. Alimentos funcionais: prebióticos, probióticos, fitoquímicos e simbióticos. In: WAITZBERG, D. (Ed). **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. São Paulo: Atheneu, 3^a edição, 2001. p. 1495-1509.
- BRASIL, 2000. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Resolução nº5, de 13 de novembro de 2000. Disponível em: <<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei>> Acesso em: 04 jun 2004.

BURY, D., JELEN, P., KIMURA, K. Whey protein concentrate as a nutrient supplement for lactic acid bacteria. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 149-151, 1998.

CHAMPAGNE, C. P., GELAIS, D. S. T., AUDET, P. Starter produced on whey protein concentrates. **Milchwissenschaft**, v. 51, n. 10, p. 561-564, 1996.

CHAVES, A. C. S. D. Engenharia metabólica de *Streptococcus thermophilus* para produção de acetaldeído em leites fermentados. 2002. Tese (doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 161f. 2002.

CHARTERIS, W. P., KELLY, P. M., MORELLI, L., COLLINS, J. K. Selective detection, enumeration, and identification of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in mixed bacterial populations. **International Journal of Food Microbiology**, v. 35, n. 1, p. 1-27, 1997.

DANNENBERG, F., KESSLER, H. G. Effect of denaturation of β -lactoglobulin on texture properties of set-style nonfat yogurt. 1. Syneresis. **Milchwissenschaft**, v. 43, n. 10, p. 632-635, 1988.

DAVE, R. I., SHAH, N. P. Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* and bifidobacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 9, p. 1529-1536, 1996.

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

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

GARDINI, F., LANCIOTTI, R., GUERZONI, M. E., TORRIANI, S. Evaluation of aroma production and survival of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *L. acidophilus* in fermented milks. **International Dairy Journal**, v. 9, n. 2, p. 125-134, 1999.

GIBSON, G. R., ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v. 125, p. 1401-1412, 1995.

GILLILAND, S. E., SPECK, M. L. Instability of *Lactobacillus acidophilus* in yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 60, n. 9, p. 1394-1398, 1977.

GILLILAND, S. E., REILLY, S. S., KIM, G. B., KIM, H. S. Viability during storage of selected probiotic lactobacilli and bifidobacterias in a yogurt-like product. **Food Microbiology and Safety**, v. 67, n. 8, p. 3091-3095, 2002.

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

GUYOT, A. Les yoghourts. **Le Lait et Nous**, n. 2, p. 6-12, 1992.

HUGES, D. B., HOOVER, D. G. Bifidobacteria: their potential for use in American dairy products. **Food Technology**, v. 45, n. 4, p. 74, 1991.

IBRAHIM, S. A., BEZKOROVAINY, A. Growth-promoting factors for *Bifidobacterium longum*, **Journal of Food Science**, v. 59, n. 1, p. 189-191, 1994.

JAROS, D., ROHM, H., HAQUE, A., BONAPARTE, C., KNEIFEL, W. Influence of the starter culture on the relationship between dry matter content and physical properties of set-style yogurt. **Milchwissenschaft**, v. 57, n. 6, p. 325-327, 2002.

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.

KAILASAPATHY, K., SUPRIADI, D. Effect of whey protein concentrate on the survival of *Lactobacillus acidophilus* in lactose hydrolyzed yoghurt during refrigerated storage. **Milchwissenschaft**, v. 51, n. 10, p. 565-569, 1996.

KNEIFEL, W., ULBERTH, F., ERHARD, F., JAROS, D. Aroma profiles and sensory properties of yogurt and yogurt-related products. I. Screening of commercially available starter cultures. **Milchwissenschaft**, v. 47, n. 6, p. 362-365, 1992.

LANARA. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. Ministério da Agricultura, Brasília, 1981.

LANKAPUTHRA, W. E. V., SHAH, N. P., BRITZ, M. L. Survival of bifidobactérias during refrigerated storage in the presence of acid and hydrogen peroxide. **Milchwissenschaft**, v. 51, n. 2, p. 65-70, 1996.

LAPIERRE, L., UNDELAND, P., COX, L. J. Lithium chloride-sodium propionate agar for the enumeration of Bifidobacteria in fermented dairy products. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n. 5, p. 1192-1196, 1992.

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

MARSHALL, V. M., COLE, W. M. Threonine aldolase and alcohol dehydrogenase activities in *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* and their contribution to flavour production in fermented milks. **Journal of Dairy Research**, v. 50, n. 3, p. 375-379, 1983.

MITSUOKA, T. Bifidobacteria and their role in human health. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 6, n. 4, p. 263-267, 1990.

MODLER, H. W., LARMOND, M. E., LIN, C. S., FROEHLINCH, D., EMMONS, D. B. Physical and sensory properties of yogurt stabilized with milk proteins. **Journal of Dairy Science**, v. 66, n. 3, p.423-429, 1983.

OLIVEIRA, M. N., DAMIN, M. R. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação e na viabilidade de bactérias do iogurte e das probióticas em leite fermentado. In: XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimento, 07 de agosto, Porto Alegre, 2002. p. 3015-3018. **Anais...2002**.

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

PEREIRA, M. A. G. **Efeito do teor de lactose e do tipo de cultura na acidificação e pós-acidificação de iogurtes** 2002. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 86f. 2002.

PINHEIRO, M. V. S., CASTRO, L. P., HOFFMANN, F. L., PENNA, A. L. B. Avaliação de iogurtes probióticos. In: XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimento, 07 de agosto, Porto Alegre, 2002. p. 2781-2784. **Anais...2002**.

RASIC, J. L., KURMANN, J. A. **Yogurt: scientific grounds, technology, manufacture and preparations**. v.1, 1978. Technical Dairy Publishing House, p.428.

RAWSON, H. L., MARSHALL, V. M. Effect of "ropy" strains of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* on rheology of stirred yogurt. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 32, n.3, p.213-220, 1997.

SAXELIN, M., GRENOV, B., SVENSSON, U., FONDÉN, R., RENIERO, R., MATTILA-SANDHOLM, T. The technology of probiotics. **Food Science and Technology**, v. 10, n.12, p. 387-392, 1999.

SAMONA, A., ROBINSON, R. K. Enumeration of bifidobacteria in dairy products. **Journal of the society of Dairy Technology**, v. 44, n. 3, p. 64-66, 1991.

SAMONA, A., ROBINSON, R. K. Effect of yogurt cultures on the survival of bifidobacteria in fermented milks. **Journal of Society of Dairy Technology**, v. 47, n. 2, p. 58-60, 1994.

SALMINEN, S., OUWEHAND, A. C., ISOLAURI, E. Clinical applications of probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 8., n. 5-6, p. 563-572, 1998.

SHAH, N. P., LANKAPUTHRA, W. E. V., BRITZ, M. L., KYLE, W. S. A. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. **International Dairy Journal**, v. 5, n. 5, p. 515-521, 1995.

SCHREZENMEIR, J., DE VERSE, M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics – approaching a definition. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, suppl., p. 361s-364s, 2001. Suplemento.

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

TAMIME, A. Y., DEETH, H. C. Yogurt: technology and biochemistry. **Journal of Food Protection**, v. 43, n.12, p. 939-977, 1980.

TUOMOLA, E., CRITTENDEN, R., PLAYNE, M., ISOLAURI, E. SALMINEN, S. Quality assurance criteria for probiotic bacteria. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 393s-398s, 2001. Suplemento.

VIDEROLA, C. G., REINHEIMER, J. A. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. **International Dairy Journal**, v. 10, n. 4, p. 271-275, 2000.

ZACARCHENCO, P. B. **Leites fermentados por *Streptococcus thermophilus* adicionados de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium longum*: isolamento diferencial dos microrganismos, multiplicação em diferentes condições e efeitos nas características sensoriais dos leites fermentados naturais ou modificados.** 2003. Tese (Doutorado), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 181f. 2003.

CONCLUSÕES GERAIS

Através desta pesquisa foi possível concluir que:

- Os maiores valores de dureza, coesividade, elasticidade e capacidade de retenção de água dos géis ácidos de concentrado protéico do soro de leite (CPS) foram obtidos, de maneira geral, nas faixas de concentração de proteína de 11-12%, temperatura e tempo de desnaturação de 87-89°C e 24-27 min.
- Géis de CPS com pH 4,0 apresentaram-se mais elásticos e com maiores capacidades de retenção de água, enquanto que os géis formados em pH 4,9-5,2 foram mais firmes, coesos e gomosos.
- A variação de pH, na faixa estudada, acarretou variações importantes no aspecto visual dos géis de CPS. No pH 4,0 os géis apresentaram-se opacos e de coloração amarelada e no pH 5,2, foram obtidos géis, brilhantes e com expressivo dessoramento.
- Perfil de textura instrumental, sinérese, propriedades sensoriais (aparência, sabor, textura e impressão global) similares às do iogurte padrão (integral adicionado de LPD) foram obtidas com a formulação de iogurte desnatado adicionado de 5% de proteína, sendo a relação dos ingredientes LPD:CPS de 1,5:0,5.
- Com o aumento da relação CPS:LDP adicionados aos iogurtes, ocorreu aumento da dureza, coesividade e diminuição da dessoragem, do tempo de fermentação e da capacidade tamponante.
- A microestrutura dos iogurtes com 13,8 até 21,8% de sólidos totais não variou de forma evidente; amostras com maiores proporções de CPS apresentaram estrutura levemente mais compacta, com menores espaços intersticiais.
- Nos iogurtes probióticos a textura não foi influenciada pela combinação de culturas lácticas.

- Durante a vida-de-prateleira todos os iogurtes avaliados tenderam a ficar mais firmes e estáveis à dessoragem, perdendo, no entanto, gomosidade, elasticidade e coesividade.
- O CPS potencializou o crescimento e viabilidade dos fermentos probióticos, sem interferir nas lácticas.
- Os provadores não foram capazes de identificar diferenças estatisticamente significativas nas características globais dos iogurtes em função do tipo de fermentos empregados (presença ao não de probióticos), no entanto, identificaram diferença leve nos iogurtes em função do acréscimo de CPS.
- No teste de consumidor, no qual os provadores avaliaram os iogurtes nas condições em que estão habituados a consumi-lo (com mel, açúcar, adoçante ou geléia de frutas), não foram observadas diferenças significativas entre as amostras com e sem CPS.

APÊNDICE - A

Tabela A1. Efeitos das variáveis independentes na dureza dos géis de CPS

	Efeito	Erro padrão	t (2)	p	Limite de confiança -95%	Limite de confiança +95%
Mean/Interc.	102,3872	0,141393	724,1305	1,91E-06	101,7788	102,9955
(1)PROT	46,49179	0,308159	150,8693	4,39E-05	45,16588	47,81769
(2)TEMPER	52,46821	0,308159	170,2632	3,45E-05	51,14231	53,79412
(3)TEMPO	25,25096	0,308159	81,94122	0,000149	23,92506	26,57687
(4)PH	23,48671	0,308159	76,2161	0,000172	22,16081	24,81262
1 by 2	9,907963	0,308159	32,15206	0,000966	8,582059	11,23387
1 by 3	2,376713	0,308159	7,712606	0,016399	1,050809	3,702616
1 by 4	9,784963	0,308159	31,75292	0,00099	8,459059	11,11087
2 by 3	8,249788	0,308159	26,77116	0,001392	6,923884	9,575691
2 by 4	-25,3155	0,308159	-82,1505	0,000148	-26,6414	-23,9896
3 by 4	-7,59571	0,308159	-24,6486	0,001642	-8,92162	-6,26981

% Variação explicada (R^2) = 0,98

Tabela A2. Coeficiente de regressão da variável dureza dos géis de CPS (SS Residual)

	Coeficiente de regressão	Erro padrão	t (12)	p	Limite de confiança -95%	Limite de confiança +95%
Mean/Interc.	103,604	5,674844	18,25671	4,03E-10	91,23958	115,9684
(1)PROT (L)	21,86601	2,00636	10,89835	1,4E-07	17,49453	26,2375
PROT (Q)	2,965274	2,128066	1,393412	0,188767	-1,67138	7,601932
(2)TEMPER (L)	24,96582	2,00636	12,44334	3,22E-08	20,59434	29,3373
TEMPER (Q)	-1,62573	2,128066	-0,76395	0,459658	-6,26238	3,010932
(3)TEMPO (L)	15,59807	2,00636	7,774312	5,03E-06	11,22659	19,96955
TEMPO (Q)	-1,41973	2,128066	-0,66714	0,517304	-6,05638	3,216932
(4)PH (L)	11,94924	2,00636	5,955679	6,66E-05	7,577754	16,32072
PH (Q)	-0,5921	2,128066	-0,27823	0,785569	-5,22876	4,044557
1L by 2L	4,953981	2,457279	2,016043	0,066748	-0,39997	10,30793
1L by 3L	1,188356	2,457279	0,483606	0,63737	-4,1656	6,542308
1L by 4L	4,892481	2,457279	1,991015	0,069745	-0,46147	10,24643
2L by 3L	4,124894	2,457279	1,678643	0,11905	-1,22906	9,478846
2L by 4L	-12,6577	2,457279	-5,15112	0,000241	-18,0117	-7,30378
3L by 4L	-3,79786	2,457279	-1,54555	0,148166	-9,15181	1,556096

Variáveis em negrito – estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

% Variação explicada (R^2) = 0,97

Tabela A3. Coeficiente de regressão da variável dureza géis de CPS (Erro Puro)

	Coeficiente de regressão	Erro padrão	t (2)	p	Limite de confiança -95%	Limite de confiança +95%
Mean/Interc.	103,604	0,355832	291,16	1,18E-05	102,073	105,135
(1)PROT (L)	21,86601	0,125806	173,808	3,31E-05	21,32471	22,40731
PROT (Q)	2,965274	0,133437	22,22228	0,002019	2,391141	3,539407

(2)TEMPER (L)	24,96582	0,125806	198,4477	2,54E-05	24,42452	25,50712
TEMPER (Q)	-1,62573	0,133437	-12,1835	0,00667	-2,19986	-1,05159
(3)TEMPO (L)	15,59807	0,125806	123,9855	6,5E-05	15,05677	16,13937
TEMPO (Q)	-1,41973	0,133437	-10,6397	0,008718	-1,99386	-0,84559
(4)PH (L)	11,94924	0,125806	94,98178	0,000111	11,40794	12,49054
PH (Q)	-0,5921	0,133437	-4,43731	0,04722	-1,16623	-0,01797
1L by 2L	4,953981	0,15408	32,15206	0,000966	4,29103	5,616933
1L by 3L	1,188356	0,15408	7,712606	0,016399	0,525405	1,851308
1L by 4L	4,892481	0,15408	31,75292	0,00099	4,22953	5,555433
2L by 3L	4,124894	0,15408	26,77116	0,001392	3,461942	4,787845
2L by 4L	-12,6577	0,15408	-82,1505	0,000148	-13,3207	-11,9948
3L by 4L	-3,79786	0,15408	-24,6486	0,001642	-4,46081	-3,1349

Variáveis em negrito – estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

% Variação explicada (R^2) = 0,97

Tabela A4. Análise de variância da dureza dos géis de CPS

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F
Regressão	40003,99	14	2857,42	29,57
Resíduo	1159,32	12	96,61	
F. ajuste	1158,57	10	115,857	30,50
Erro puro	0,7597	2	0,37985	
Total	41163,31	26		

% Variação explicada (R^2) = 0,97

Tabela A5. Efeitos das variáveis independentes na elasticidade dos géis de CPS

	Efeito	Erro padrão	t (2)	p	Limite de confiança -95%	Limite de confiança +95%
Mean/Interc.	0,799911	0,002718	294,3322	1,15E-05	0,788217	0,811604
(1)PROT	0,022163	0,005923	3,741694	0,064584	-0,00332	0,047648
(2)TEMPER	0,046663	0,005923	7,878029	0,015733	0,021177	0,072148
(3)TEMPO	0,017087	0,005923	2,884882	0,102086	-0,0084	0,042573
(4)PH	-0,03591	0,005923	-6,06311	0,026141	-0,0614	-0,01043
1 by 2	-0,01484	0,005923	-2,50501	0,129189	-0,04032	0,010648
1 by 3	-0,00391	0,005923	-0,66055	0,576809	-0,0294	0,021573
1 by 4	-0,00991	0,005923	-1,67353	0,236198	-0,0354	0,015573
2 by 3	0,018088	0,005923	3,053712	0,092585	-0,0074	0,043573
2 by 4	-0,05491	0,005923	-9,27088	0,011436	-0,0804	-0,02943
3 by 4	-0,02684	0,005923	-4,53097	0,045417	-0,05232	-0,00135

% Variação explicada (R^2) = 0,81

Tabela A6. Coeficiente de regressão da variável elasticidade dos géis de CPS (SS Residual).

	Coeficiente de regressão	Erro padrão	t (12)	p	Limite de confiança -95%	Limite de confiança +95%
Mean/Interc.	0,841667	0,013498	62,35362	1,92E-16	0,812256	0,871077
(1)PROT (L)	0,015638	0,004772	3,276679	0,006621	0,005239	0,026036
PROT (Q)	-0,00538	0,005062	-1,0633	0,308574	-0,01641	0,005647
(2)TEMPER (L)	0,018971	0,004772	3,975145	0,001842	0,008573	0,029369

TEMPER (Q)	-0,02588	0,005062	-5,1132	0,000256	-0,03691	-0,01485
(3)TEMPO (L)	0,002446	0,004772	0,512499	0,617603	-0,00795	0,012844
TEMPO (Q)	-0,01338	0,005062	-2,64375	0,021425	-0,02441	-0,00235
(4)PH (L)	-0,0143	0,004772	-2,99729	0,011123	-0,0247	-0,00391
PH (Q)	-0,00876	0,005062	-1,73006	0,10923	-0,01979	0,002272
1L by 2L	-0,00742	0,005845	-1,26926	0,228412	-0,02015	0,005316
1L by 3L	-0,00196	0,005845	-0,33469	0,743635	-0,01469	0,010779
1L by 4L	-0,00496	0,005845	-0,84796	0,413056	-0,01769	0,007779
2L by 3L	0,009044	0,005845	1,547282	0,147752	-0,00369	0,021779
2L by 4L	-0,02746	0,005845	-4,69745	0,000517	-0,04019	-0,01472
3L by 4L	-0,01342	0,005845	-2,29579	0,040505	-0,02615	-0,00068

Variáveis em negrito – estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

% Variação explicada (R^2) = 0,88

Tabela A7. Coeficiente de regressão da variável elasticidade dos géis de CPS firmeza (Erro Puro)

	Coeficiente de regressão	Erro padrão	t (2)	p	Limite de confiança -95%	Limite de confiança +95%
Mean/Interc.	0,841667	0,006839	123,061	6,6E-05	0,812239	0,871094
(1)PROT (L)	0,015638	0,002418	6,466846	0,023087	0,005233	0,026042
PROT (Q)	-0,00538	0,002565	-2,09853	0,170731	-0,01642	0,005653
(2)TEMPER (L)	0,018971	0,002418	7,845337	0,015862	0,008567	0,029375
TEMPER (Q)	-0,02588	0,002565	-10,0914	0,009677	-0,03692	-0,01485
(3)TEMPO (L)	0,002446	0,002418	1,011468	0,418261	-0,00796	0,01285
TEMPO (Q)	-0,01338	0,002565	-5,2177	0,034824	-0,02442	-0,00235
(4)PH (L)	-0,0143	0,002418	-5,91545	0,027408	-0,02471	-0,0039
PH (Q)	-0,00876	0,002565	-3,41443	0,076112	-0,01979	0,002278
1L by 2L	-0,00742	0,002962	-2,50501	0,129189	-0,02016	0,005324
1L by 3L	-0,00196	0,002962	-0,66055	0,576809	-0,0147	0,010786
1L by 4L	-0,00496	0,002962	-1,67353	0,236198	-0,0177	0,007786
2L by 3L	0,009044	0,002962	3,053712	0,092585	-0,0037	0,021786
2L by 4L	-0,02746	0,002962	-9,27088	0,011436	-0,0402	-0,01471
3L by 4L	-0,01342	0,002962	-4,53097	0,045417	-0,02616	-0,00068

Variáveis em negrito – estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

% Variação explicada (R^2) = 0,88

Tabela A8. Análise de variância da elasticidade dos géis de CPS

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F
Regressão	0,0479	7	0,0068	11,72
Resíduo	0,0111	19	0,00058	
F. ajuste	0,010847	17	0,00063	4,5
Erro puro	0,000281	2	0,00014	
Total	0,059043	26		

Variáveis em negrito – estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

% Variação explicada (R^2) = 0,88

Tabela A9. Efeitos das variáveis independentes na coesividade dos géis de CPS

	Efeito	Erro padrão	t (2)	p	Limite de confiança -95%	Limite de confiança +95%
Mean/Interc.	0,395947	0,003709	106,762	8,77E-05	0,37999	0,411905
(1)PROT	0,01275	0,008083	1,577403	0,255428	-0,02203	0,047528
(2)TEMPER	0,04225	0,008083	5,227082	0,034706	0,007472	0,077028
(3)TEMPO	0,0285	0,008083	3,525961	0,071871	-0,00628	0,063278
(4)PH	0,09225	0,008083	11,41298	0,00759	0,057472	0,127028
1 by 2	0,0045	0,008083	0,556731	0,633694	-0,03028	0,039278
1 by 3	-0,01375	0,008083	-1,70112	0,231026	-0,04853	0,021028
1 by 4	0,007	0,008083	0,866025	0,477767	-0,02778	0,041778
2 by 3	0,01925	0,008083	2,38157	0,14017	-0,01553	0,054028
2 by 4	-0,028	0,008083	-3,4641	0,07418	-0,06278	0,006778
3 by 4	-0,01675	0,008083	-2,07228	0,174014	-0,05153	0,018028

% Variação explicada (R^2) = 0,92

Tabela A10. Coeficiente de regressão da variável coesividade dos géis de CPS (SS Residual)

	Coeficiente de regressão	Erro padrão	t (12)	p	Limite de confiança -95%	Limite de confiança +95%
Mean/Interc.	0,407667	0,020482	19,90318	1,48E-10	0,363039	0,452294
(1)PROT (L)	0,005417	0,007242	0,747988	0,468874	-0,01036	0,021195
PROT (Q)	-0,00356	0,007681	-0,46381	0,651084	-0,0203	0,013173
(2)TEMPER (L)	0,026917	0,007242	3,716923	0,002943	0,011138	0,042695
TEMPER (Q)	-0,01006	0,007681	-1,31006	0,214699	-0,0268	0,006673
(3)TEMPO (L)	0,01275	0,007242	1,760648	0,103736	-0,00303	0,028528
TEMPO (Q)	-0,01269	0,007681	-1,65182	0,124478	-0,02942	0,004048
(4)PH (L)	0,03925	0,007242	5,420033	0,000155	0,023472	0,055028
PH (Q)	0,000187	0,007681	0,024411	0,980926	-0,01655	0,016923
1L by 2L	0,00225	0,008869	0,253688	0,804031	-0,01707	0,021574
1L by 3L	-0,00688	0,008869	-0,77516	0,453252	-0,0262	0,012449
1L by 4L	0,0035	0,008869	0,394625	0,700044	-0,01582	0,022824
2L by 3L	0,009625	0,008869	1,085219	0,299145	-0,0097	0,028949
2L by 4L	-0,014	0,008869	-1,5785	0,140435	-0,03332	0,005324
3L by 4L	-0,00838	0,008869	-0,94428	0,363651	-0,0277	0,010949

Variáveis em negrito – estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

% Variação explicada (R^2) = 0,82

Tabela A11. Coeficiente de regressão da variável coesividade dos géis de CPS (Erro Puro)

	Coeficiente de regressão	Erro padrão	t (2)	p	Limite de confiança -95%	Limite de confiança +95%
Mean/Interc.	0,407667	0,009333	43,67857	0,000524	0,367509	0,447825
(1)PROT (L)	0,005417	0,0033	1,641498	0,242391	-0,00878	0,019615
PROT (Q)	-0,00356	0,0035	-1,01786	0,415838	-0,01862	0,011497

(2)TEMPER (L)	0,026917	0,0033	8,156982	0,014699	0,012719	0,041115
TEMPER (Q)	-0,01006	0,0035	-2,875	0,102685	-0,02512	0,004997
(3)TEMPO (L)	0,01275	0,0033	3,863833	0,060925	-0,00145	0,026948
TEMPO (Q)	-0,01269	0,0035	-3,625	0,068386	-0,02775	0,002372
(4)PH (L)	0,03925	0,0033	11,89455	0,006994	0,025052	0,053448
PH (Q)	0,000187	0,0035	0,053571	0,962146	-0,01487	0,015247
1L by 2L	0,00225	0,004041	0,556731	0,633694	-0,01514	0,019639
1L by 3L	-0,00688	0,004041	-1,70112	0,231026	-0,02426	0,010514
1L by 4L	0,0035	0,004041	0,866025	0,477767	-0,01389	0,020889
2L by 3L	0,009625	0,004041	2,38157	0,14017	-0,00776	0,027014
2L by 4L	-0,014	0,004041	-3,4641	0,07418	-0,03139	0,003389
3L by 4L	-0,00838	0,004041	-2,07228	0,174014	-0,02576	0,009014

Variáveis em negrito – estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

% Variação explicada (R^2) = 0,82

Tabela A12. Análise de variância da coesividade dos géis de CPS

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F
Regressão	0,0543617	2	0,02718	20,62
Resíduo	0,031641	24	0,001318	
F. ajuste	0,0311183	22	0,001414	5,43
Erro puro	0,0005227	2	0,00026	
Total	0,0860027	26		

% Variação explicada (R^2) = 0,82

Tabela A13. Efeitos das variáveis independentes na gomosidade dos géis de CPS

	Efeito	Erro padrão	t (2)	p	Limite de confiança -95%	Limite de confiança +95%
Mean/Interc.	0,40687	103,1478	9,4E-05	40,21708	43,71832	0,40687
(1)PROT	0,886752	22,54375	0,001962	16,17533	23,8061	0,886752
(2)TEMPER	0,886752	27,237	0,001345	20,33708	27,96785	0,886752
(3)TEMPO	0,886752	14,84157	0,004509	9,345402	16,97617	0,886752
(4)PH	0,886752	19,29067	0,002676	13,29065	20,92142	0,886752
1 by 2	0,886752	5,894306	0,027597	1,411402	9,042173	0,886752
1 by 3	0,886752	0,511375	0,659952	-3,36192	4,268848	0,886752
1 by 4	0,886752	8,079162	0,014977	3,348827	10,9796	0,886752
2 by 3	0,886752	6,667267	0,021764	2,096827	9,727598	0,886752
2 by 4	0,886752	-11,5523	0,00741	-14,0594	-6,42865	0,886752
3 by 4	0,886752	-4,24043	0,051366	-7,5756	0,055173	0,886752

% Variação explicada (R^2) = 0,96

Tabela A14. Coeficiente de regressão da variável gomosidade dos géis de CPS (SS Residual)

	Coeficiente de regressão	Erro padrão	t (12)	p	Limite de confiança -95%	Limite de confiança +95%
Mean/Interc.	42,27267	2,997878	14,10086	7,86E-09	35,74085	48,80448
(1)PROT (L)	9,143654	1,05991	8,626821	1,72E-06	6,834308	11,453

PROT (Q)	0,813066	1,124204	0,723236	0,483394	-1,63637	3,262497
(2)TEMPER (L)	11,8819	1,05991	11,21029	1,03E-07	9,572558	14,19125
TEMPER (Q)	-0,73018	1,124204	-0,64951	0,528244	-3,17962	1,719247
(3)TEMPO (L)	7,095513	1,05991	6,694448	2,21E-05	4,786167	9,404858
TEMPO (Q)	-1,59793	1,124204	-1,42139	0,180667	-4,04737	0,851497
(4)PH (L)	8,169179	1,05991	7,707427	5,49E-06	5,859833	10,47852
PH (Q)	0,126191	1,124204	0,112249	0,912482	-2,32324	2,575622
1L by 2L	2,613394	1,298119	2,013215	0,06708	-0,21497	5,441753
1L by 3L	0,226731	1,298119	0,174661	0,864258	-2,60163	3,055091
1L by 4L	3,582106	1,298119	2,759458	0,017297	0,753747	6,410466
2L by 3L	2,956106	1,298119	2,277222	0,041888	0,127747	5,784466
2L by 4L	-5,12202	1,298119	-3,94572	0,001943	-7,95038	-2,29366
3L by 4L	-1,88011	1,298119	-1,44833	0,173145	-4,70847	0,948253

Variáveis em negrito – estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

% Variação explicada (R^2) = 0,96

Tabela A15. Coeficiente de regressão da variável gomosidade dos géis de CPS (Erro Puro)

	Coeficiente de regressão	Erro padrão	t (2)	p	Limite de confiança -95%	Limite de confiança +95%
Mean/Interc.	42,27267	1,023933	41,2846	0,000586	37,86704	46,67829
(1)PROT (L)	9,143654	0,362015	25,25767	0,001564	7,586029	10,70128
PROT (Q)	0,813066	0,383975	2,117497	0,168412	-0,83904	2,465176
(2)TEMPER (L)	11,8819	0,362015	32,82158	0,000927	10,32428	13,43953
TEMPER (Q)	-0,73018	0,383975	-1,90165	0,197572	-2,38229	0,921926
(3)TEMPO (L)	7,095513	0,362015	19,60005	0,002593	5,537888	8,653137
TEMPO (Q)	-1,59793	0,383975	-4,16156	0,053178	-3,25004	0,054176
(4)PH (L)	8,169179	0,362015	22,56586	0,001958	6,611554	9,726804
PH (Q)	0,126191	0,383975	0,328643	0,773646	-1,52592	1,778301
1L by 2L	2,613394	0,443376	5,894306	0,027597	0,705701	4,521087
1L by 3L	0,226731	0,443376	0,511375	0,659952	-1,68096	2,134424
1L by 4L	3,582106	0,443376	8,079162	0,014977	1,674413	5,489799
2L by 3L	2,956106	0,443376	6,667267	0,021764	1,048413	4,863799
2L by 4L	-5,12202	0,443376	-11,5523	0,00741	-7,02971	-3,21433
3L by 4L	-1,88011	0,443376	-4,24043	0,051366	-3,7878	0,027587

Variáveis em negrito – estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

% Variação explicada (R^2) = 0,96

Tabela A16. Análise de variância da gomosidade dos géis de CPS

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F
Regressão	9.078,9875	8	1134,8734	41,59
Resíduo	491,06753	18	27,281529	
F. ajuste	484,7769	16	30,298556	9,584
Erro puro	6,290633	2	3,1453165	
Total	9.570,055	26		

% Variação explicada (R^2) = 0,96

Tabela A17. Efeitos das variáveis independentes na umidade espremível dos géis de CPS

	Efeito	Erro padrão	t (2)	p	Limite de confiança -95%	Limite de confiança +95%
Mean/Interc.	66,31	0,053361	1242,674	6,48E-07	66,08041	66,53959
(1)PROT	-6,165	0,116297	-53,0108	0,000356	-6,66539	-5,66461
(2)TEMPER	-0,4575	0,116297	-3,93389	0,058961	-0,95789	0,042886
(3)TEMPO	-0,775	0,116297	-6,66397	0,021785	-1,27539	-0,27461
(4)PH	0,6225	0,116297	5,352673	0,033176	0,122114	1,122886
1 by 2	1,2575	0,116297	10,81283	0,008445	0,757114	1,757886
1 by 3	0,475	0,116297	4,084369	0,055042	-0,02539	0,975386
1 by 4	0,5625	0,116297	4,836753	0,040187	0,062114	1,062886
2 by 3	1,0725	0,116297	9,222075	0,011555	0,572114	1,572886
2 by 4	1,395	0,116297	11,99515	0,006878	0,894614	1,895386
3 by 4	0,3075	0,116297	2,644092	0,118206	-0,19289	0,807886

% Variação explicada (R^2) = 0,94

Tabela A18. Coeficiente de regressão da variável umidade espremível dos géis de CPS (SS Residual)

	Coeficiente de regressão	Erro padrão	t (12)	p	Limite de confiança -95%	Limite de confiança +95%
Mean/Interc.	67,31	0,939935	71,61136	3,66E-17	65,26206	69,35794
(1)PROT (L)	-2,67833	0,332317	-8,05957	3,48E-06	-3,40239	-1,95428
PROT (Q)	0,018958	0,352475	0,053786	0,957991	-0,74902	0,786936
(2)TEMPER (L)	-0,30833	0,332317	-0,92783	0,371783	-1,03239	0,415723
TEMPER (Q)	0,002708	0,352475	0,007684	0,993996	-0,76527	0,770686
(3)TEMPO (L)	-0,325	0,332317	-0,97798	0,347388	-1,04906	0,399057
TEMPO (Q)	-0,43354	0,352475	-1,22999	0,242269	-1,20152	0,334436
(4)PH (L)	0,8725	0,332317	2,625505	0,022159	0,148443	1,596557
PH (Q)	-0,58854	0,352475	-1,66974	0,120829	-1,35652	0,179436
1L by 2L	0,62875	0,407004	1,544827	0,148341	-0,25803	1,515535
1L by 3L	0,2375	0,407004	0,583533	0,57034	-0,64928	1,124285
1L by 4L	0,28125	0,407004	0,691026	0,502698	-0,60553	1,168035
2L by 3L	0,53625	0,407004	1,317556	0,212254	-0,35053	1,423035
2L by 4L	0,6975	0,407004	1,713744	0,112265	-0,18928	1,584285
3L by 4L	0,15375	0,407004	0,377761	0,712205	-0,73303	1,040535

Variáveis em negrito – estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

% Variação explicada (R^2) = 0,87

Tabela A19. Coeficiente de regressão da variável elasticidade dos géis de CPS (Erro Puro)

	Coeficiente de regressão	Erro padrão	t (2)	p	Limite de confiança -95%	Limite de confiança +95%
Mean/Interc.	67,31	0,134288	501,2352	3,98E-06	66,7322	67,8878
(1)PROT (L)	-5,35667	0,094956	-56,412	0,000314	-5,76523	-4,9481
PROT (Q)	0,037917	0,100716	0,37647	0,742754	-0,39543	0,471263
(2)TEMPER (L)	-0,61667	0,094956	-6,49423	0,022899	-1,02523	-0,2081
TEMPER (Q)	0,005417	0,100716	0,053781	0,961998	-0,42793	0,438763
(3)TEMPO (L)	-0,65	0,094956	-6,84527	0,020681	-1,05856	-0,24144
TEMPO (Q)	-0,86708	0,100716	-8,60918	0,013225	-1,30043	-0,43374
(4)PH (L)	1,745	0,094956	18,37691	0,002948	1,336437	2,153563
PH (Q)	-1,17708	0,100716	-11,6871	0,007242	-1,61043	-0,74374
1L by 2L	1,2575	0,116297	10,81283	0,008445	0,757114	1,757886
1L by 3L	0,475	0,116297	4,084369	0,055042	-0,02539	0,975386
1L by 4L	0,5625	0,116297	4,836753	0,040187	0,062114	1,062886
2L by 3L	1,0725	0,116297	9,222075	0,011555	0,572114	1,572886
2L by 4L	1,395	0,116297	11,99515	0,006878	0,894614	1,895386
3L by 4L	0,3075	0,116297	2,644092	0,118206	-0,19289	0,807886

Variáveis em negrito – estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

% Variação explicada (R^2) = 0,87

Tabela A20. Análise de variância da umidade espremível dos géis de CPS

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F
Regressão	226,99092	10	22,6990	10,974
Resíduo	33,09388	16	2,06836	
F. ajuste	32,98568	14	2,35612	43,551
Erro puro	0,1082	2	0,0541	
Total	260,0848	26		

% Variação explicada (R^2) = 0,87

APÊNDICE - B

Nome: _____ Data: _____

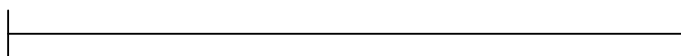
Número da amostra: _____

Por favor, pegue uma porção do iogurte natural com a colher, observe, aspire e prove, indicando nas escalas abaixo o que você acha:

Em relação à aparência:

Desgostei muitíssimo

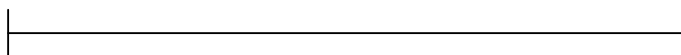
Gostei muitíssimo



Em relação ao sabor:

Desgostei muitíssimo

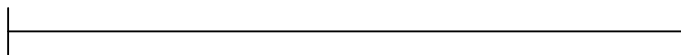
Gostei muitíssimo



Em relação à textura:

Desgostei muitíssimo

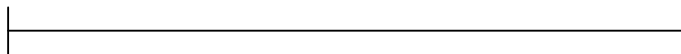
Gostei muitíssimo



Em relação à impressão global:

Desgostei muitíssimo

Gostei muitíssimo



Se este produto estivesse à venda, qual seria sua atitude:

- () Eu certamente compraria
- () Eu provavelmente compraria
- () Eu tenho dúvida se compraria
- () Eu provavelmente não compraria
- () Eu certamente não compraria

O que você mais gostou no produto? _____

O que você menos gostou no produto? _____

Tabela B1. ANOVA da aparência dos iogurtes pelo teste de consumidor

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Soma dos Quadrados Médios	F
Tratamento	2	1,8248	0,9124	1,00
Provador	29	277,3328	9,5632	10,56
Resíduo	58	52,5217	0,9055	
TOTAL	89	331,6795		

Sendo $F_{cal} = 1,00$ e F_{tab} (GL amostra = 2 e GL resíduo = 58) = 3,15, $F_{cal} < F_{tab}$, portanto as amostras não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) em aparência.

Tabela B2. ANOVA do sabor dos iogurtes pelo teste de consumidor

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Soma dos Quadrados Médios	F
Tratamento	2	4,9486	2,4743	1,25
Provador	29	254,8693	8,7885	4,46
Resíduo	58	114,2380	1,9696	
TOTAL	89			

Sendo $F_{cal} = 1,25$ e F_{tab} (GL amostra = 2 e GL resíduo = 58) = 3,15, $F_{cal} < F_{tab}$, portanto as amostras não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) em sabor.

Tabela B3. ANOVA da textura dos iogurtes pelo teste de consumidor

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Soma dos Quadrados Médios	F
Tratamento	2	10,0435	5,0217	1,75
Provador	29	205,6448	7,0912	2,47
Resíduo	58	166,4031	2,8690	
TOTAL	89			

Sendo $F_{cal} = 1,75$ e F_{tab} (GL amostra = 2 e GL resíduo = 58) = 3,15, $F_{cal} < F_{tab}$, portanto as amostras não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) em textura.

Tabela B4. ANOVA da impressão global dos iogurtes pelo teste de consumidor

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Soma dos Quadrados Médios	F
Tratamento	2	3,8562	1,9281	0,96
Provador	29	226,7782	7,8199	3,92
Resíduo	58	115,4637	1,9907	
TOTAL	89			

Sendo $F_{\text{cal}} = 0,96$ e F_{tab} (GL amostra = 2 e GL resíduo = 58) = 3,15, $F_{\text{cal}} < F_{\text{tab}}$, portanto as amostras não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) em impressão global.

APÊNDICE – C

Ficha de Avaliação Sensorial

Nome:

Data:

Você está recebendo uma amostra padrão (P) e 4 amostras codificadas de iogurte natural desnatado. Por favor, prove a amostra padrão e em seguida cada uma das amostras codificadas, da esquerda para a direita, e avalie, na escala abaixo, o quanto cada amostra codificada difere, em termos GLOBAIS, da amostra padrão.

0 = nenhuma diferença

1

2

3

4

5

6

7

8

9 = extremamente diferente

Amostra	Grau de diferença	Comentários
---------	-------------------	-------------

_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

Nome: _____ Data: _____

Número da amostra: _____

Você está recebendo amostras de iogurte natural desnatado. Por favor, adicione o sabor de sua preferência, pegue uma porção do iogurte com a colher, observe, aspire e prove, indicando nas escalas abaixo o que você acha:

Em relação à aparência:

Desgostei muitíssimo _____ Gostei muitíssimo

Em relação ao sabor:

Desgostei muitíssimo _____ Gostei muitíssimo

Em relação à textura:

Desgostei muitíssimo _____ Gostei muitíssimo

Em relação à impressão global:

Desgostei muitíssimo _____ Gostei muitíssimo

Se este produto estivesse à venda, qual seria sua atitude:

- () Eu certamente compraria
- () Eu provavelmente compraria
- () Eu tenho dúvida se compraria
- () Eu provavelmente não compraria
- () Eu certamente não compraria

O que você mais gostou no produto? _____

O que você menos gostou no produto? _____

Tabela C1. ANOVA da impressão global dos iogurtes pelo teste de diferença do controle

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Soma dos Quadrados Médios	F
Tratamento	3	73,4375	24,4791	6,51
Provador	19	147,6375	7,7703	2,06
Resíduo	57	214,3125	3,7598	
TOTAL	79			

Sendo $F_{cal} = 6,51$ e F_{tab} (GL amostra = 3 e GL resíduo= 57) = 2,76, $F_{cal} > F_{tab}$, portanto existe diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre ao menos duas amostras em impressão global.

Tabela C2. ANOVA da aparência dos iogurtes pelo teste de consumidor

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Soma dos Quadrados Médios	F
Tratamento	1	1,3894	1,3894	1,03
Provador	25	145,2817	5,8112	4,31
Resíduo	25	33,6355	1,3454	
TOTAL	51			

Sendo $F_{cal} = 0,96$ e F_{tab} (GL amostra = 1 e GL resíduo= 25) = 4,24, $F_{cal} < F_{tab}$, portanto as amostras não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) em aparência.

Tabela C3. ANOVA do sabor dos iogurtes pelo teste de consumidor

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Soma dos Quadrados Médios	F
Tratamento	1	1,4555	1,4555	0,49
Provador	25	100,6748	4,0269	1,37
Resíduo	25	73,2994	2,9319	
TOTAL	51			

Sendo $F_{cal} = 0,49$ e F_{tab} (GL amostra = 1 e GL resíduo= 25) = 4,24, $F_{cal} < F_{tab}$, portanto as amostras não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) em sabor.

Tabela C4. ANOVA da textura dos iogurtes pelo teste de consumidor

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Soma dos Quadrados Médios	F
Tratamento	1	1,6276	1,6276	0,71
Provador	25	186,5630	7,4625	3,25
Resíduo	25	57,3623	2,2944	
TOTAL	51			

Sendo $F_{\text{cal}} = 0,71$ e F_{tab} (GL amostra = 1 e GL resíduo = 25) = 4,24, $F_{\text{cal}} < F_{\text{tab}}$, portanto as amostras não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) em textura.

Tabela C5. ANOVA da impressão global dos iogurtes pelo teste de consumidor

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Soma dos Quadrados Médios	F
Tratamento	1	0,1969	0,1969	0,10
Provador	25	124,3323	4,9732	2,45
Resíduo	25	50,7430	2,0297	
TOTAL	51			

Sendo $F_{\text{cal}} = 0,10$ e F_{tab} (GL amostra = 1 e GL resíduo = 25) = 4,24, $F_{\text{cal}} < F_{\text{tab}}$, portanto as amostras não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) em impressão global.