



STELLA MAGDA BITENCOURT TEIXEIRA

**UTILIZAÇÃO DE LEITELHO NO
DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA
SIMBIÓTICA**

**LAVRAS - MG
2013**

STELLA MAGDA BITENCOURT TEIXEIRA

**UTILIZAÇÃO DE LEITELHO NO DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA
LÁCTEA SIMBIÓTICA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Ciência dos Alimentos, para a
obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dr. Luiz Ronaldo de Abreu

**LAVRAS - MG
2013**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Teixeira, Stella Magda Bitencourt.

Utilização de leiteiro no desenvolvimento de bebida láctea
simbiótica / Stella Magda Bitencourt Teixeira. – Lavras : UFLA,
2013.

171 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Luiz Ronaldo de Abreu.

Bibliografia.

1. Leiteiro. 2. Bebida láctea - Qualidade. 3. Bebida láctea -
Aproveitamento de subprodutos. I. Universidade Federal de Lavras.
II. Título.

CDD – 663.64

STELLA MAGDA BITENCOURT TEIXEIRA

**UTILIZAÇÃO DE LEITELHO NO DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA
LÁCTEA SIMBIÓTICA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Ciência dos Alimentos, para a
obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 31 de julho de 2013

Dr. João de Deus Souza Carneiro	UFLA
Dra. Mônica Elisabeth Torres Prado	UFLA
Dra. Roberta Hisdorf Piccoli	UFLA
Dr. Pedro Henrique Ferreira Tomé	IFTM

Dr. Luiz Ronaldo de Abreu
Orientador

**LAVRAS – MG
2013**

“Em todas estas coisas, porém, somos mais que vencedores por meio daquele que nos amou” (Romanos 8:37).

À minha filha Laryssa e à minha família pelo amor, carinho, compreensão ao longo da minha carreira acadêmica e profissional e acima de tudo por acreditarem em mim.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois sem Ele nada disso teria sido possível!

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela contribuição na minha formação acadêmica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Itapina, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

Ao Laticínio Ipê pela concessão da matéria-prima para a fabricação das bebidas lácteas durante o desenvolvimento do experimento.

Ao meu orientador, professor Luiz Ronaldo de Abreu, por me conceder mais uma oportunidade de aprendizado nesta pesquisa, pela confiança, compreensão e paciência no desenvolvimento deste trabalho.

À professora Ana Carla, pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho e pela amizade construída.

Ao professor João de Deus pelos ensinamentos e contribuição na finalização deste trabalho.

À professora Roberta, pela amizade, disponibilidade e auxílio nas análises microbiológicas.

Aos amigos do DCA, Dieyckson, Tassyana, Aline, Lorena, Kamilla, Camila Menezes, Ranieli, Marcel, Sérgio, Helô pela força e mais uma amizade construída e em especial à Creuza mais que uma técnica..amiga.. irmã.. mãe..sempre pronta a ajudar.

À minha amiga Elisângela (Elís) pelo suporte na escrita do artigo o qual serei eternamente grata, pela força e por mais uma amizade construída.

Ao meu grande amigo Fausto, pela amizade, apoio, força e auxílio nas análises reológicas do trabalho.

Ao professor Pedro, do Instituto Federal do Triângulo Mineiro, pela amizade e pela participação na avaliação deste trabalho.

Aos meus sobrinhos Lucas, Tiago, Ana Alice e Manu que em gestos de inocência trouxeram momentos de risos e descontração, ao meu sobrinho e afilhado Ju (Juarez Paulo) pelo carinho, ajuda, paciência e atenção nos momentos de convívio.

À minha cunhada Elaine pela força, incentivo, sempre disposta a ajudar nos momentos de dúvidas e decisões.

Aos meus felinos: Paco, Ziah, Raquel, Nany e Shitara sempre à espera mostrando que um gesto de carinho sincero vale mais que palavras.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização e conclusão deste trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO GERAL

Objetivou-se avaliar a aptidão tecnológica do leiteiro na elaboração de bebidas lácteas fermentadas. A bebida foi elaborada utilizando 50% de leite integral, 50% de mistura leiteiro/soro lácteo em concentrações variadas, açúcar, inulina, fruto-oligossacarídeo e culturas lácticas probióticas. Foram elaboradas bebidas com diferentes concentrações leiteiro/soro lácteo e inulina, empregando-se culturas mesofílica contendo *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* e *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* e probiótica *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12, 10% de açúcar, 1% FOS, 4% de polpa de fruta sabor morango, com fermentação a 20°C. Um Delineamento Central Composto Rotacional (DCCR) foi utilizado para avaliar a influência das formulações nas propriedades físicas, físico-químicas e sensoriais. Aumento no teor de leiteiro reduziu a cor vermelha, cinzas aumentaram os escores de aceitação sensorial para textura e impressão global. Aumento do teor de inulina proporcionou: aumento de sólidos totais e diminuição da umidade. Maiores escores sensoriais para sabor ocorreram em concentrações intermediárias de leiteiro e inulina. O aroma de morango foi mais pronunciado em maiores concentrações de leiteiro e inulina. Concentrações de leiteiro entre 10% e 40% e 1% a 3,5% de inulina foram adequadas para a aceitação do produto. Viabilidade probiótica não foi atingida nas formulações, portanto a bebida pode ser considerada apenas como prebiótica. Assim, optou-se por cultura probiótica de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 com temperatura de 37°C. Reduziu-se a concentração de açúcar de 10 para 8% sem saborizante. Utilizando o mesmo delineamento avaliou-se a aceitação sensorial e viabilidade probiótica. Todas as formulações atenderam a legislação, apresentando viabilidade probiótica mínima de 8,66 log UFC/mL, embora o tempo para atingir o pH estabelecido foi excessivamente longo (13 horas e meia). Superfícies de resposta foram geradas para aparência, sabor e impressão global com diferentes regiões com tendência a ampla faixa de aceitação com no máximo 50% de leite, 40% de leiteiro, 10% de soro lácteo, 1,5% de inulina, 1% FOS e 8% de açúcar, sendo selecionada para a avaliação da estabilidade do produto durante o armazenamento. Para esta avaliação a bebida foi elaborada com 50% de leite integral, 40% de leiteiro, 10% de soro lácteo, 8% de açúcar, 1,5% de inulina e 1% de fruto-oligossacarídeo (FOS) e fermentada por cultura mista contendo *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* LA 5 e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e submetida às análises físico-químicas, viabilidade probiótica, sensoriais e reológicas durante armazenamento refrigerado. A bebida apresentou variação no pH e estabilidade nos valores de acidez titulável, viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* LA 5 entre 10^{10} e 10^9 UFC/mL e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 entre 10^9 e 10^7

UFC/mL durante armazenamento, atendendo aos padrões da legislação. O produto obteve boa aceitação em relação à aparência, aroma, sabor, textura e impressão global pelos consumidores. Resultados reológicos revelaram redução da viscosidade do produto a partir de 14 dias de armazenamento e características pseudoplásticas com comportamento não-Newtoniano. Face ao exposto pode-se concluir que foi possível formular uma bebida láctea fermentada simbiótica com substituição parcial do soro lácteo por leiteiro.

Palavras-chave: Aproveitamento de Subprodutos. Leiteiro. Bebida láctea. Qualidade.

GENERAL ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the technological aptitude of buttermilk in the preparation of fermented dairy beverages. The beverage was prepared using 50% of whole milk, 50% of a buttermilk/whey mixture of varied concentrations, sugar, inulin, fructooligosaccharides and active probiotic cultures. Beverages with different buttermilk/whey and inulin concentrations were prepared using mesophilic cultures containing *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* e *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* and probiotic *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12, 10% sugar, 1% FOS, 4% strawberry flavor fruit pulp, with fermentation at 20°C. A Central Composite Design (CCD) was used to evaluate the influence of the formulas on the physical, physical-chemical and sensorial characteristics. An increase in the buttermilk content reduced the colors red and gray and increased the scores for texture and global impression. An increase in inulin content led to: increase in total solids and decrease in humidity. Higher sensory scores for flavor occurred with intermediate concentrations of buttermilk and inulin. Buttermilk concentrations between 10% and 40% and 1% to 3.5% of inulin were adequate for product acceptance. Probiotic viability was not achieved in the formulas, therefore, the beverage could only be considered prebiotic. Hence, probiotic culture of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 at 37°C was chosen. Sugar concentration was reduced from 10% to 8% without flavoring. Using the same design, sensory acceptance and probiotic viability were evaluated. All formulas met legislation standards presenting minimum probiotic viability of 8.66 log UFC/mL although time to achieve established pH was excessively long (13 hours and a half). Surface answers were created for appearance, flavor and global impression with different regions with a tendency to wide range of acceptance with a maximum of 50% milk, 40% buttermilk, 10% whey, 1.5% of inulin, 1% FOS and 8% sugar being selected for evaluation of stability during storage. For this evaluation, the beverage was prepared with 50% whole milk, 40% buttermilk, 10% whey, 8% sugar, 1.5% inulin and 1% fructooligosaccharides (FOS) and fermented with mixed culture containing *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* LA 5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 and submitted to physical-chemical, probiotic viability, sensory and rheological analysis during refrigerated storage. The beverage presented variations in pH and stability in titratable acidity values, viability of *Lactobacillus acidophilus* LA 5 between 10^{10} and 10^9 UFC/mL and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 between 10^9 and 10^7 UFC/mL during storage, meeting legislation patterns. The product obtained good acceptance from the consumers in relation to appearance, aroma, flavor, texture and global impression. Rheological results showed a

reduction in product viscosity after 14 days of storage and pseudo plastic characteristics with non-Newtonian behavior. Therefore, it is possible to conclude that we were able to prepare a symbiotic dairy fermented beverage with partial substitution of whey with buttermilk.

Key words: Sub product usage. Buttermilk. Dairy beverage. Quality.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1	Fluxograma das principais etapas do processo de fabricação de bebida láctea fermentada.....	31
Figura 2	Estrutura química da inulina e oligofrutose	38
Figura 3	Curva de fluxo de alguns tipos de fluidos (a) independentes do tempo (b) dependentes do tempo	50

CAPÍTULO 2

Figura 1	Fluxograma para a obtenção das bebidas lácteas fermentadas.....	69
Figura 2	Superfície de resposta para o parâmetro de cor a^* da bebida láctea fermentada adicionada de leiteiro em relação à base láctea e inulina.....	83
Figura 3	Superfície de resposta para os teores de (a) sólidos totais, (b) umidade e (c) cinzas da bebida láctea fermentada adicionada de leiteiro em relação à base láctea e inulina.....	85
Figura 4	Superfície de resposta para o atributo aroma de morango da bebida láctea fermentada adicionada de leiteiro em relação à base láctea e inulina	87
Figura 5	Superfície de resposta para a aceitação dos atributos (a) sabor, (b) textura e (c) impressão global da bebida láctea fermentada adicionada de leiteiro em relação à base láctea e inulina	89

CAPÍTULO 3

Figura 1	Fluxograma para a obtenção das bebidas lácteas fermentadas.....	103
----------	---	-----

Figura 2	Superfície de resposta para o atributo de aceitação aparência da bebida láctea simbiótica fermentada por <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12 adicionada de diferentes concentrações de leiteiro em relação à base láctea e inulina.....	114
Figura 3	Superfície de resposta para o atributo de aceitação sabor da bebida láctea simbiótica fermentada por <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12 adicionada de diferentes concentrações de leiteiro em relação à base láctea e inulina.....	117
Figura 4	Superfície de resposta para o atributo de aceitação impressão global da bebida láctea simbiótica fermentada por <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12 adicionada de diferentes concentrações de leiteiro em relação à base láctea e inulina.....	119

CAPÍTULO 4

Figura 1	Fluxograma de obtenção das bebidas lácteas para o teste preliminar.....	134
Figura 2	Fluxograma de obtenção da bebida láctea	135
Figura 3	pH da bebida láctea fermentada durante os 28 dias de armazenamento a 4°C.....	142
Figura 4	Viabilidade de <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA 5 em bebida láctea fermentada durante os 28 dias de armazenamento a 4°C.....	143
Figura 5	Viabilidade de <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12 em bebida láctea fermentada durante os 28 dias de armazenamento a 4°C.....	144

Figura 6	Reogramas da bebida láctea fermentada obtidos a partir da relação entre taxa e tensão de cisalhamento durante o armazenamento, curvas ascendentes (A) e curvas descendentes (B)	145
----------	---	-----

LISTA DE GRÁFICOS E QUADRO

CAPÍTULO 1

Quadro 1	Inulina e Oligofrutose em plantas utilizadas na alimentação humana	35
----------	--	----

CAPÍTULO 2

Quadro 1	Termos descritores para definição do perfil sensorial e materiais de referência.....	73
----------	--	----

CAPÍTULO 2

Gráfico 1	MSE plot dos 10 provadores treinados.....	78
Gráfico 2	MEAN & SDT Plot dos dez provadores treinados.....	79

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1	Composição do leiteiro comparada à do leite desnatado	28
Tabela 2	Micro-organismos utilizados comercialmente como probióticos	38

CAPÍTULO 2

Tabela 1	Delineamento experimental Composto Central para a elaboração das bebidas lácteas com diferentes teores de leiteiro e inulina.....	66
Tabela 2	Coeficientes de regressão do modelo completo para as variáveis: análises físicas (cor a*), análises químicas (sólidos totais, cinzas, umidade), perfil sensorial (aroma de morango) e teste de aceitação (sabor, textura e impressão global)	80
Tabela 3	Resultado da análise de variância para as variáveis: cor a* (análises físicas), sólidos totais, cinzas, umidade (análises químicas), aroma de morango (perfil sensorial) e sabor, textura, impressão global (teste de aceitação) a 95% de confiança.....	82

CAPÍTULO 3

Tabela 1	Delineamento experimental Composto Central para a elaboração das bebidas lácteas com diferentes teores de leiteiro e inulina.....	101
Tabela 2	Tempo de fermentação, pH, acidez titulável e contagem de células viáveis de <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12 das onze formulações de bebida láctea simbiótica	

	fermentada com diferentes concentrações de leiteiro em relação à base láctea e inulina 107
Tabela 3	Médias de aceitação em relação aos atributos aparência, aroma, sabor, textura e impressão global das onze formulações de bebida láctea simbiótica fermentada por <i>Bifidobacterium</i> <i>animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12 com diferentes concentrações de leiteiro em relação à base láctea e inulina, segundo o delineamento composto central rotacional (DCCR)..... 110
Tabela 4	Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo completo para as variáveis respostas da aceitação sensorial..... 111
Tabela 5	Análise de variância para os atributos de aceitação sensorial aparência, aroma, sabor, textura e impressão global a 95% de confiança..... 112
Tabela 6	Equações de regressão com variáveis codificadas e coeficientes de determinação para variáveis respostas aparência, sabor e impressão global 113
Tabela 7	Notas para os atributos de aceitação aparência, sabor e impressão global na concentração fixa de 1,5% de inulina 120

CAPÍTULO 4

Tabela 1	Valores médios das notas atribuídas pelos provadores para os atributos de aceitação sensorial sabor e textura da bebida láctea fermentada durante o período de 28 dias de armazenamento refrigerado a 4°C..... 146
----------	---

Tabela 2	Parâmetros reológicos da bebida láctea fermentada para o modelo da Lei da Potência ao longo dos 28 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.....	148
----------	---	-----

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 Introdução geral	22
1	INTRODUÇÃO	23
2	REFERENCIAL TEÓRICO	25
2.1	Geração de resíduos na indústria de laticínios	25
2.1.1	Soro lácteo	26
2.1.2	Leitelho	27
2.2	Bebidas lácteas.....	29
2.3	Alimentos Funcionais	32
2.3.1	Probióticos	34
2.3.2	Prebióticos	37
2.3.3	Simbióticos.....	40
2.4	Análise sensorial	41
2.4.1	Análise descritiva quantitativa (ADQ).....	41
2.4.1.1	Recrutamento e pré-seleção de provadores	42
2.4.1.2	Levantamento dos termos descritivos	44
2.4.1.3	Treinamento e seleção final dos provadores.....	44
2.4.1.4	Tabulação e análise dos resultados	45
2.5	Teste de aceitação: escala hedônica.....	45
2.6	Reologia	47
	REFERÊNCIAS	52
	CAPÍTULO 2 Efeito da adição de leitelho e inulina nas	
	propriedades físicas, físico-químicas e sensoriais de	
	bebida láctea fermentada	61
1	INTRODUÇÃO	64
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	66
2.1	Delineamento experimental e análise estatística.....	66

2.2	Elaboração das bebidas lácteas	68
2.3	Análises físico-químicas.....	69
2.3.1	Gordura	69
2.3.2	Proteína.....	70
2.3.3	Umidade.....	70
2.3.4	Sólidos totais	70
2.3.5	Cinzas.....	70
2.3.6	Carboidratos.....	70
2.3.7	Determinação do pH.....	71
2.4	Análise instrumental de cor	71
2.5	Análises microbiológicas	71
2.5.1	Quantificação de coliformes	71
2.5.2	Viabilidade da cultura probiótica	72
2.6	Análise sensorial	72
2.6.1	Análise descritiva quantitativa.....	72
2.6.2	Teste de aceitação	76
3	RESULTADO E DISCUSSÃO	77
3.1	Análises microbiológicas	77
3.2	Propriedades físicas, físico-químicas e sensoriais	77
4	CONCLUSÃO	91
5	CONSIDERAÇÕES	92
	REFERÊNCIAS	93
	CAPÍTULO 3 Aceitabilidade de bebida láctea simbiótica	
	fermentada por <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	
	Bb-12 elaborada com diferentes concentrações de leiteinho	
	e inulina	96
1	INTRODUÇÃO	99
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	101

2.1	Delineamento experimental.....	101
2.2	Elaboração das bebidas lácteas	102
2.3	Determinação do tempo de fermentação, pH e acidez titulável	103
2.4	Análises microbiológicas	104
2.4.1	Quantificação de coliformes	104
2.4.2	Viabilidade da cultura probiótica	104
2.5	Análise sensorial	104
2.6	Análise estatística dos resultados	105
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	107
3.1	Tempo de fermentação, pH, Acidez titulável e viabilidade probiótica.....	107
3.3	Avaliação sensorial	110
4	CONCLUSÃO	121
	REFERÊNCIAS	122
	CAPÍTULO 4 Estabilidade de bebida láctea fermentada simbiótica formulada com leiteiro durante o armazenamento refrigerado.....	127
1	INTRODUÇÃO	130
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	132
2.1	Teste de aceitação preliminar	132
2.1.1	Elaboração das bebidas lácteas	133
2.2	Estabilidade da bebida láctea durante o armazenamento.....	134
2.2.1	Análise sensorial: teste de aceitação.....	135
2.2.2	Determinação de pH e acidez titulável.....	136
2.2.3	Análises microbiológicas	136
2.2.3.1	Quantificação de coliformes	137
2.2.3.2	Contagem total de fungos filamentosos e leveduras	137

2.2.3.3	Viabilidade de culturas probióticas	137
2.2.4	Análises reológicas.....	138
2.2.5	Análise estatística	139
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	140
3.1	Teste de aceitação preliminar	140
3.2	Estabilidade da bebida láctea durante o armazenamento.....	140
3.2.1	Acidez titulável e pH.....	140
3.2.2	Viabilidade probiótica.....	142
3.2.3	Avaliação sensorial	145
3.2.4	Avaliação reológica.....	147
4	CONCLUSÃO	152
	REFERÊNCIAS	153
	APÊNDICE.....	158

CAPÍTULO 1 Introdução geral

1 INTRODUÇÃO

A cadeia agroindustrial do leite ocupa posição de destaque no Brasil. Porém, essa indústria gera uma grande quantidade de resíduos, os quais em grande parte podem ser considerados subprodutos, tais como o soro proveniente da fabricação de queijos e o leitelho da fabricação da manteiga.

O soro lácteo tem sido objeto de pesquisa e de utilização industrial, entretanto o leitelho não tem recebido atenção equivalente. Contudo, esse subproduto da fabricação da manteiga contém todos os componentes do leite, tais como proteínas, lactose, minerais, com baixo teor de gordura. Sua composição média é semelhante a do soro, tornando-o altamente poluente. A diferença entre leitelho e soro está basicamente no volume produzido, sendo este último significativamente maior. No Brasil o leitelho é geralmente descartado, não tendo uma utilização nobre, por exemplo, como ingrediente na elaboração de produtos lácteos.

Portanto, o uso de leitelho na forma líquida para elaboração de bebidas lácteas seria uma das mais atrativas opções para a indústria devido à simplicidade do processo e ao uso de acessórios, equipamentos e mão de obra já existentes na usina de beneficiamento do leite.

O Regulamento de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea (BRASIL, 2005) define bebida láctea como o produto obtido a partir de leite (in natura, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado e em pó) adicionado ou não de produto(s) alimentício(s) ou substância(s) alimentícia(s), gordura vegetal, leite(s) fermentado(s), fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos, onde a base láctea representa pelo menos 51% (m/m) do total de ingredientes do produto.

A bebida láctea é o produto mais conveniente para a utilização do leiteiro podendo, inclusive, ser adicionada de probióticos e prebióticos, gerando produto simbiótico e de menor preço o qual apresenta crescente demanda comercial no Brasil. Além disso, o leiteiro possui composição similar ao soro lácteo não impactando negativamente os aspectos sensoriais da bebida.

Alimentos probióticos, prebióticos e simbióticos, como qualquer alimento, têm a sua aceitabilidade influenciada por seus atributos sensoriais, como o aroma, sabor, textura e aparência. No entanto, o conhecimento das características sensoriais, físicas, físico-químicas, microbiológicas e reológicas da bebida láctea é fundamental para que a bebida possa ser consumida e apreciada.

Diante desse contexto e visando aproveitar o subproduto lácteo da produção de manteiga ainda pouco valorizado, o objetivo geral deste trabalho foi o desenvolvimento de um produto lácteo fermentado simbiótico com substituição parcial do soro lácteo por leiteiro adicionado de inulina. Como objetivos específicos, avaliar o efeito do leiteiro e inulina nas propriedades físicas, físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e reológicas do produto e verificar a sua estabilidade durante os 28 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Geração de resíduos na indústria de laticínios

No Brasil, a indústria de laticínios representa uma atividade de grande importância no setor alimentício, tanto do ponto de vista econômico quanto social. Segundo estimativa da Embrapa Gado de Leite (2009), o Brasil, em 2007, registrou produção de 26,4 bilhões de litros de leite.

A cadeia agroindustrial do leite no Brasil demonstra um alto grau de concentração de mão de obra, superando diversas outras importantes atividades, como a produção de calçados, construção civil, entre outros, como também na geração de renda dentro da economia (VIANA; FERRAS, 2007).

O segmento da indústria nacional é amplo e diversificado e neles estão presentes indústrias de laticínios de vários portes, desde pequenas fábricas a multinacionais.

O Estado de Minas Gerais é o principal produtor de leite do Brasil, com aproximadamente 30% da produção nacional e abriga as maiores e mais modernas empresas do setor lácteo, como Nestlé, Danone, Vigor, Cotochés, Barbosa e Marques, entre outras (INDI, 2009).

O efluente líquido é considerado um dos principais responsáveis pela poluição causada pelas indústrias de laticínios. Entretanto, considerando o grande número de empresas que lançam seus efluentes sem nenhum tipo de tratamento nos cursos d'água, a contribuição dessas indústrias em termos de poluição hídrica, principalmente com relação à carga orgânica, é bastante significativa (MACHADO et al., 2002).

O volume de efluente gerado pelas usinas de beneficiamento de leite varia de acordo com cada processo e produto produzido. No beneficiamento de produtos mais elaborados tais como queijo e manteiga, os efluentes líquidos

industriais podem ainda vir a ter subprodutos como o soro de leite proveniente da fabricação de queijo e o leitelho da produção de manteiga (BRIÃO 2000; MACHADO et al., 2002).

2.1.1 Soro lácteo

O soro do leite é obtido através do processamento do queijo, onde a caseína torna-se insolúvel no seu ponto isoelétrico pela ação da renina, sendo o líquido remanescente denominado de soro doce, como também pode ser obtido por precipitação ácida originando o soro ácido, ambos com composições diferentes (PELEGRINE; CARRASQUEIRA, 2008). De acordo com a sua origem, os soros são classificados como: soro doce, obtido a partir da fabricação de queijo tipo cheddar, suíço e similar; soro ácido, obtido a partir da fabricação de queijo tipo cottage ou de caseína e soro desproteínizado, obtido a partir da coagulação das proteínas a quente (RICHARDS, 1997).

O soro, de modo geral representa aproximadamente 80 a 90% do volume de leite e retém 55% dos nutrientes do leite, apresentando em torno de 6,9% de sólidos totais. Entre os sólidos totais se destacam lactose (4,5 – 5% p/v), proteínas solúveis (0,6 – 0,9% p/v), lipídios (0,3 – 0,5% p/v), sais minerais (0,6% p/v) e ácido láctico (0,1%), além de outros nutrientes presentes em menores concentrações como as vitaminas do grupo B (SANTOS; FERREIRA, 2001).

As proteínas do soro em maior concentração são a β -lactoglobulina e α -lactoalbumina, elas constituem de 70 a 80% das proteínas totais do soro (MATTILA-SANDHOLM; SAARELA, 2003).

O soro é um dos efluentes líquidos que mais contribuem para a alta carga poluidora das indústrias de laticínios. A demanda bioquímica de oxigênio (DBO_5) do soro varia de 25.000 a 120.000 mg L^{-1} , sendo que nela está contida

metade dos sólidos do leite integral representado por lactose, proteínas solúveis e sais (FUNDAÇÃO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE - FEAM, 2003).

No Brasil, a estimativa de queijo produzido para o ano de 2008 foi de 640.000 toneladas, o que corresponde a uma produção de aproximadamente 5.760.000 toneladas de soro (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2008).

2.1.2 Leitelho

Denomina-se leitelho o leite líquido resultante da bateção do creme para a fabricação da manteiga, adicionado ou não de leite desnatado e acidificado ou não biologicamente por fermentos selecionados com desdobramento parcial da lactose e rico em ácido láctico, proteínas e sais minerais. Pode ser exposto ao consumo no estado fresco ou em pó (BRASIL, 1950).

No processo de fabricação da manteiga o creme é submetido à maturação física, que consiste no seu resfriamento após a pasteurização, com a finalidade de solidificar a gordura, facilitando a inversão de fase e diminuindo, conseqüentemente, a perda de gordura no leitelho (MULVANY, 1970).

Durante a bateção do creme de leite doce ou fermentado a baixas temperaturas, a membrana do glóbulo de gordura do leite é danificada, liberando os triglicerídeos presentes no interior dos glóbulos. Esses lipídios parcialmente cristalizados devido à baixa temperatura começam a se unir e formar grânulos de gordura, separando-se da fase aquosa na forma de manteiga. A fase aquosa é chamada de leitelho e contém resíduos de triglicerídeos e todos os componentes hidrossolúveis do creme, tais como proteínas, lactose, minerais e o material presente na membrana do glóbulo de gordura (CORREDIG; ROESCH; DALGLEISH, 2003).

Como pode ser observada na tabela 1 a composição do leiteiro quando puro é bastante semelhante ao do leite desnatado, com exceção de quantidades consideráveis de materiais (fosfolipídios e proteínas) derivadas da membrana do glóbulo de gordura (MALIN et al., 1994; MISTRY et al., 1996). No leiteiro fluido a concentração de fosfolipídeos totais é de sete a nove vezes maior do que no leite fluido desnatado, 120 a 180 mg por 100g de leiteiro fluido contra 15 a 20 mg por 100 g de leite fluido desnatado (CHRISTIE; NOBLE; DAVIES, 1987; RESMINI et al., 1988). No entanto ele é produzido frequentemente diluído, em razão da introdução da água durante a bateção e lavagem da manteiga. Além disso, sua composição média também é semelhante a do soro, de onde se conclui que é também elevada a sua DBO, pois o mesmo possui um elevado conteúdo de matéria orgânica, responsável pelo consumo de oxigênio nos cursos d'água, tornando o leiteiro altamente poluente. A diferença entre os dois está basicamente no volume produzido, sendo o soro significativamente maior (MINAS AMBIENTE / CETEC, 1998).

Tabela 1 Composição do leiteiro comparada a do leite desnatado

Componentes	Leiteiro	Leite Desnatado
	(%)	(%)
Água	91,0	90,9
Estrato Seco	9,0	9,1
Matéria gorda	0,2-0,6	< 0,05
E.S.D.	8,6	9,05
Proteínas	3,2	3,4
Lactose	3,9	4,75
Ácido Láctico	0,6	-
Citratos	0,2	0,4
Outros sais	0,7	0,7
Densidade a 20°C	1, 029	1, 033
Acidez (°D)	50-70	16-18
Fosfolipídios	0,12 – 0,18	0, 015 – 0,020

Fonte: Martins (1978); Resmini et al., (1988).

No Brasil são poucos os registros de volume de leiteiro produzido, estima-se cerca de 34.000 litros/dia no período da safra. Esse valor é questionável, devido à falta de controle do registro de produção e o fato de ser procedimento correto misturar indiscriminadamente leiteiro e soro, como também o simples descarte desse subproduto nas redes coletoras de esgoto e cursos d'água.

No estado de Minas Gerais o leiteiro possui destinos isolados, dentre eles: a) a doação/venda aparece como a principal, com um total de 19.000 litros/dia (56% do total); b) o lançamento de leiteiro nos cursos d'água ocorre como segunda alternativa utilizada, sendo de aproximadamente 6.800 litros/dia na safra (20% do total); c) a utilização para o desnate, produção de requeijão e ricota, alimentação animal e devolução ao produtor, volume pouco significativo. (MINAS AMBIENTE / CETEC, 1998)

Devido aos elevados valores nutritivos e pela sua elevada carga orgânica, tanto o soro como o leiteiro não devem ser misturados aos demais efluentes da indústria. O descarte nos efluentes líquidos da respectiva indústria significa dupla perda nutricional e financeira, uma vez que se deixa de ganhar pelo produto a mais que poderia ser vendido e, a outra, pelo gasto a mais com o tratamento de maiores volumes e maiores cargas poluidoras que esses desperdícios incorporam aos efluentes líquidos.

2.2 Bebidas lácteas

A denominação de bebida láctea fermentada é o produto lácteo resultante da mistura do leite (in natura, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado e em pó) adicionado ou não de produto(s) alimentício(s) ou substância(s) alimentícia(s),

gordura vegetal, leite(s) fermentado(s), fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos, fermentado mediante a ação de cultivo de micro-organismos específicos e que não poderá ser submetido a tratamento térmico após a fermentação.

Assim sendo, a bebida láctea fermentada deve conter no mínimo 51% de base láctea em sua formulação e a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10^6 UFC g⁻¹ no produto final, para o(s) cultivo(s) láctico(s) específico(s) empregado(s) durante todo o prazo de validade. A classificação de bebida láctea fermentada com adição refere-se ao produto adicionado de leite, soro de leite, leites fermentados por micro-organismos específicos, adicionado de produtos ou substâncias alimentícias e outros produtos na sua formulação. Tal condição deverá apresentar um teor de proteína de origem láctea mínimo da ordem de 1,6 g para cada 100g de bebida láctea (BRASIL, 2005).

Normalmente os equipamentos para secagem e obtenção do soro em pó não estão disponíveis nos laticínios de médio e pequeno porte. Por outro lado, a elaboração de bebidas com soro líquido envolve equipamentos e acessórios comuns, encontrados na maioria dos laticínios. Portanto, a fabricação de bebidas lácteas com soro líquido tornou-se uma opção atrativa no Brasil (SIVIERI; OLIVEIRA, 2002).

De acordo com Damin, Sivieri e Lannes (2009) as etapas básicas para a tecnologia de fabricação de bebidas lácteas fermentadas pode ser resumida no pré-tratamento do leite e do soro, inoculação, fermentação, adição de ingredientes, mistura e envase. Dois processos são utilizados pelas indústrias: a produção de leite fermentado com adição posterior da base da bebida e a fermentação da base da bebida láctea, sendo este o mais utilizado, onde o processo parte da chamada base branca, ou seja, uma mistura de leite, soro,

açúcar, espessante e estabilizante de acordo com a formulação, numa seqüência de etapas conforme Figura 1.

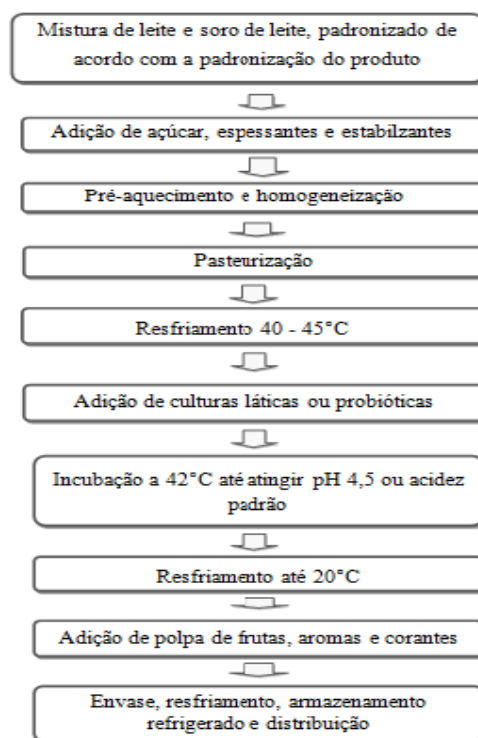


Figura 1 Fluxograma das principais etapas do processo de fabricação de bebida láctea fermentada
Fonte: Damin, Sivieri e Lannes (2009)

No Brasil, uma das principais opções de aproveitamento do soro de leite é a produção de bebidas lácteas, sendo as mais comercializadas as bebidas fermentadas, com características sensoriais semelhantes ao iogurte e bebidas lácteas não fermentadas (NAKAMAE, 2004; NEVES, 2001).

As principais regiões consumidoras de bebidas lácteas no Brasil são o Sudeste, Sul e Nordeste. Por ser um alimento fresco, de sabor e textura agradáveis, rico em cálcio, proteínas e vitaminas, o consumo de bebida láctea vem crescendo (ALMEIDA; BONASSI; ROÇA, 2001). Segundo Penna,

Oliveira e Tamine (2003) este tipo de bebida atinge cerca de um terço do mercado brasileiro de iogurtes e leites fermentados.

2.3 Alimentos Funcionais

O conceito de alimento funcional ainda não é consensual, mas de forma geral são caracterizados como alimentos similares em aparência aos alimentos convencionais, consumidos como parte de uma dieta normal, mas que fornecem benefícios relacionados à saúde além de suprir as necessidades nutricionais básicas. O Japão foi o primeiro país do mundo a determinar uma definição jurídica e um processo de aprovação regulamentar para alimentos funcionais. Os produtos devem ser licenciados como *Foods for Specified Health Use* (FOSHU) e são certificados com um selo de aprovação pelo Ministério de Saúde e Bem-Estar do Japão (HASLER, 1998; MORAES, 2006).

No Brasil, a Portaria nº 398 de 30 de abril de 1999, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde – ANVISA (BRASIL, 1999a) fornece a definição legal de alimento funcional: "todo aquele alimento ou ingrediente, que além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica".

A legislação sobre alimentos funcionais é recente e regulamentada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA) sendo:

A Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999 aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e/ou de saúde alegadas na rotulagem de alimentos.

A Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999 aprova o regulamento técnico de procedimentos para registro de alimentos com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde em sua rotulagem. (BRASIL, 1999b, 1999c).

Um alimento pode ser considerado naturalmente funcional se contiver algum componente alimentar que modifique uma ou mais funções no organismo, que sejam benéficas. Os alimentos também podem tornar-se funcionais pela adição de certos componentes como, por exemplo, os probióticos, prebióticos, fibras dietéticas, vitaminas, minerais ou pela substituição de componentes por outros mais desejáveis que exercem efeito benéfico para a saúde (ROBERFROID, 2000).

A preocupação dos consumidores com a saúde é um fenômeno crescente nos últimos anos. Cerca de 85% dos consumidores acreditam que a dieta pode reduzir o risco de certas patologias e 60% desses consumidores buscam produtos que possam ajudar no controle ou na redução do risco de uma doença específica (CASTRO, 2003).

Atualmente, os alimentos funcionais industrializados estão basicamente distribuídos em cinco segmentos: bebidas e produtos lácteos, produtos de confeitaria, produtos de panificação e cereais matinais. A expansão desse mercado está garantida pelo consumidor que busca uma alimentação equilibrada que possa controlar sua própria saúde e bem-estar. Segundo dados do Euromonitor - Instituto Internacional de Pesquisas, estima-se que o mercado de alimentos funcionais movimente cerca de US\$ 50 bilhões, com um ritmo de crescimento de 10% ao ano, índice três vezes maior que o de produtos alimentícios convencionais (COSTA, 2007).

2.3.1 Probióticos

A palavra probióticos deriva do grego “pro bios” que significa “para a vida”. Historicamente o conceito de probiótico se desenvolveu na virada do século 20 quando o cientista russo Elie Metchnikoff associou a vida longa e saudável dos búlgaros ao consumo regular de leites fermentados. Ao mesmo tempo Henry Tissier, médico francês, isolou Bifidobacterias de um lactente alimentado no peito e verificou que elas eram o componente predominante da microbiota intestinal (FAO/WHO, 2001; LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001).

Ao longo do tempo, essa definição teve diferentes acepções. Atualmente o termo probiótico aceito internacionalmente é definido como suplementos alimentares que contêm micro-organismos vivos ou componentes microbianos que, quando ingeridos em quantidades adequadas, conferem benefícios sobre a saúde e bem-estar do hospedeiro (FAO/WHO, 2001).

O critério de seleção e avaliação dos micro-organismos probióticos foi resultado das pesquisas institucionais e de universidades com as indústrias de alimentos. A linhagem de bactérias para se classificarem como probióticas devem atender a alguns requisitos como, entre outros, ser autóctone, ou seja, habitante natural do trato gastrointestinal; não ser patogênica ao hospedeiro; ter viabilidade e resistência durante o processamento do alimento; permanecer em grande quantidade, número mínimo exigido para um produto durante a vida de prateleira; suportar o trato gastrointestinal, apresentando características de tolerância a ácidos, sucos gástricos e à bile; ter habilidade de aderir à superfície epitelial e persistir no gastrointestinal; apresentar atividade antagônica a patógenos; fornecer qualidades organolépticas desejáveis; possuir identificação taxonômica exata; produção de substâncias antimicrobianas, incluindo

bacteriocinas, peróxido de hidrogênio e ácidos orgânicos (SAARELA, 2000; SUSKOVIC et al., 2001).

As bactérias lácticas estão entre os micro-organismos probióticos mais importantes, particularmente os gêneros associados com o trato gastrointestinal humano como os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, que preenchem as condições para um bom probiótico (COLLINS; THORNTON; SULLIVAN, 1998). Atualmente, culturas probióticas têm sido intensamente estudadas e empregadas em diversos tipos de alimentos. O Quadro 1 apresenta uma relação das principais espécies de micro-organismos utilizados comercialmente como probióticos.

Quadro 1 Microrganismos utilizados comercialmente como probióticos

Gênero <i>Lactobacillus</i>	Gênero <i>Bifidobacterium</i>	Outras bactérias ácido láticas	Bactérias não ácido láticas
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus cereus</i> var. <i>toyoi</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i> cepa <i>nissle</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. delbruekii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	
<i>L. gasseri</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>L. johnsonii</i>			
<i>L. paracasei</i>			
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			

Fonte: Holzapfel et al. (1998)

Os probióticos fazem parte dos chamados Alimentos Funcionais, cujo principal alvo é a mucosa intestinal e a sua microbiota, estando inclusos neste grupo sobremesas à base de leite, leites fermentados, leite em pó, sorvetes, iogurte e diversos tipos de queijos, além de produtos na fórmula de cápsulas ou produtos em pó para serem dissolvidos e bebidas frias, sucos fortificados, alimentos de origem vegetal fermentado e maionese (CAPRILES; SILVA; FISBERG, 2005; SAAD, 2006).

Para assegurar os benefícios funcionais desejados, as bactérias probióticas devem estar presentes em quantidades adequadas nos produtos, porém, esse número não está, ainda, bem estabelecido pela literatura. Os autores Gilliland, Reilly e Kim (2002) recomendam a ingestão mínima semanalmente de 300 a 500 g de produtos lácteos contendo entre 10^6 e 10^7 UFC/mL, enquanto Vinderola, Prosello, Ghiberto e Reinheimer (2000) sugerem níveis entre 10^7 e 10^8 UFC por grama ou mililitros do produto, no momento do consumo, como também durante a sua vida útil, garantindo a viabilidade e eficácia para que consigam povoar o intestino humano.

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2002), a quantidade mínima diária de micro-organismos probióticos viáveis que devem ser ingeridos para efeitos terapêuticos é de 10^8 a 10^9 UFC, o que equivale ao consumo de 100 g de produto contendo entre 10^6 a 10^7 UFC de micro-organismos probióticos. Valores menores podem ser aceitos, desde que comprovada sua eficácia, mediante a apresentação do laudo de análise do produto que comprove a quantidade mínima viável do micro-organismo até o final do prazo de sua validade. A quantidade do probiótico em unidades formadoras de colônia (UFC), contida na porção diária do produto pronto para consumo, deve ser declarada no rótulo.

2.3.2 Prebióticos

Prebióticos são componentes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro por estimularem seletivamente a proliferação ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon. Adicionalmente, o prebiótico pode inibir a multiplicação de patógenos, pois quando fermentado estimula o crescimento das bifidobactérias e lactobacilos, garantindo benefícios adicionais à saúde do hospedeiro. Esses componentes atuam mais frequentemente no intestino grosso, embora eles possam ter também algum impacto sobre os micro-organismos do intestino delgado (FERREIRA, 2003; SAAD, 2006).

Ingredientes alimentares classificados como prebióticos geralmente devem seguir os seguintes critérios: (a) não sofrer hidrólise e nem ser absorvido na parte superior do trato gastrointestinal; (b) ser um substrato seletivo para um número limitado de bactérias potencialmente benéficas do cólon, que são estimuladas para crescerem e desenvolverem atividade metabólica, e; (c) ser capaz de promover uma microbiota intestinal saudável e, conseqüentemente, induzir efeitos no lúmen que beneficiem o hospedeiro. (GIBSON; FULLER, 2000).

Atualmente, dentre os carboidratos não digeríveis, identificados como prebiótico, estão a lactulose, lactitol, lactosacarose, rafinose, fruto-oligossacarídeos e polissacarídeos como a inulina e o amido resistente (CONWAY, 2001).

Os frutanos tipo inulina e oligofrutose são os principais compostos mais estudados e utilizados em alimentos (NITSCHKE; UMBELINO, 2002) e estão amplamente distribuídos na natureza, presentes em diversas plantas que fazem parte da dieta humana, conforme Tabela 2.

Tabela 2 Inulina e Oligofrutose em plantas utilizadas na alimentação humana

Plantas	Parte comestível	Inulina (%)	Oligofrutose (%)
Cebola	Bulbo	2 – 6	2 - 6
Alcachofra de Jerusalém	Tubérculo	16 – 20	10 - 15
Chicória	Raiz	15 – 20	5 - 10
Alho-poró	Bulbo	3 – 10	2 - 5
Alho	Bulbo	9 – 16	3 - 6
Banana	Fruta	0,3 - 0,7	0,3 - 0,7
Yacon	Raiz	3 – 19	3 - 19
Trigo	Cereal	1 – 4	1 - 4

Fonte: Van Loo et al. (1995); Moshfegh et al.(1999)

A inulina e a oligofrutose não tem uma composição química definida. Eles são uma mistura de frutanos de diferentes tamanhos, ligadas entre si por ligações β 2→1 e finalizadas com uma molécula de glicose (Figura 2). A diferença entre o FOS e a inulina é definida pelo número de moléculas de frutose que compõem essas cadeias, também chamado grau de polimerização (DP). A inulina apresenta em sua estrutura de 2 a 60 unidades de frutose, enquanto na oligofrutose são menores as quantidades, de 2 a 10 unidades sendo produzida por hidrólise parcial da inulina (HAULY; MOSCATTO, 2002; NINESS, 1999).

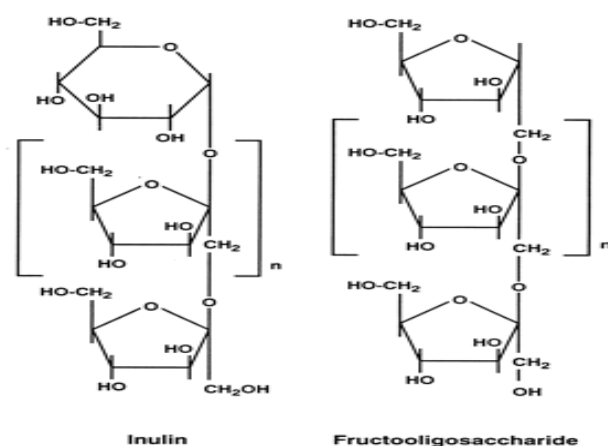


Figura 2 Estrutura química da inulina e Oligofrutose

Fonte: Niness (1999)

Os frutanos inulina e oligofrutose apresentam propriedades similares, caracterizadas pela diferença no tamanho das cadeias, o que permite também diferenças nos atributos funcionais tecnológicos destes compostos.

Devido ao fato de apresentar cadeia maior, a inulina é menos solúvel que as oligofrutoses e tem a habilidade de formar microcristais imperceptíveis quando misturada em água ou leite. A interação entre estes microcristais formam uma textura cremosa que promove, na boca, uma sensação semelhante à da gordura. Essas propriedades permitem o seu uso como substitutos de gorduras em vários produtos alimentares como bolos, chocolates, embutidos, produtos lácteos e de panificação (NEVEN, 2001; NINESS, 1999; NITSCHKE; UMBELINO, 2002). A oligofrutose apresenta alta solubilidade e propriedades funcionais que permitem o seu uso como substituto de açúcares. Contribui para o corpo de produtos lácteos e humectância para produtos de panificação, reduz o ponto de congelamento de sobremesas congeladas, fornece crocância a biscoitos de baixo teor de gordura e atua como agente ligante em barras nutricionais de granola (FRANCK, 2002; HAULY; MOSCATTO, 2002).

A inulina e a oligofrutose extraídas da chicória são reconhecidas legalmente como ingredientes alimentícios naturais e são classificados como fibra alimentar em quase todos os países europeus e, nos Estados Unidos possuem o status GRAS (Generally Recognized As Safe) (NEVEN, 2001). Devido a gama de apelos saudáveis da inulina e oligofrutose, esses produtos vêm sendo incorporados como fibra alimentar em uma ampla variedade de alimentos como balas e confeitos, preparações com frutas, sobremesas lácteas, queijos frescos, pães, chocolates, sorvetes, molhos e nas preparações de xarope de frutose (KAUR; GUPTA, 2002).

Os prebióticos, quando não são fermentados, são capazes de exercer um efeito osmótico no trato gastrointestinal e quando fermentados aumentam a produção de gases. Teoricamente, o consumo elevado de prebióticos pode

aumentar os riscos de ocorrência de diarreias, além de sua baixa tolerância por pacientes com síndrome do intestino irritável. Entretanto, a dose de intolerância é bastante alta, permitindo uma faixa de dose terapêutica bastante ampla. Além disso, esses sintomas gastrintestinais subjetivos são dificilmente mensuráveis (SAAD, 2006; HOLZAPFEL et al., 2002).

Segundo Anjo (2004), doses de 4-5 g de inulina e/ou oligofrutose com valor calórico de 1,5 kcal/g³ ao dia é suficiente para estimular o crescimento das bifidobactérias. Já a ingestão de 20-30g por dia geralmente desencadeia o início de um desconforto severo no indivíduo, sendo o ideal seguir as doses recomendadas de cerca de 10g dia⁻¹ por pessoa (PASSOS; PARK, 2003).

Recentemente, Roberfroid (2007) afirmou que a dose diária de prebióticos não é um determinante do efeito prebiótico. Segundo o autor, esse efeito é principalmente influenciado pela concentração de bifidobactérias nas fezes antes do início da suplementação da dieta com o prebiótico. Ainda segundo o autor, o “argumento dose” não possui embasamento científico e leva o consumidor a enganos. O autor propõe um índice prebiótico, definindo-o como “um aumento da quantidade absoluta de bifidobactérias expresso dividido pela dose diária de prebiótico ingerido”.

2.3.3 Simbióticos

O termo simbiótico é utilizado quando o ingrediente alimentar contém tanto os probióticos quanto os prebióticos que afetam o hospedeiro de maneira benéfica. O sinergismo pode ser alcançado *in vivo* pela ingestão dos lactobacilos e também pelo estímulo do crescimento das bifidobactérias nativas. Desta forma, um produto com a combinação de oligofrutose e bifidobactérias quanto a outro contendo oligofrutose e *Lactobacillus casei*, por exemplo, encaixam-se na definição de simbióticos (SCHREZENMEIR; VRESE, 2001).

A interação entre o probiótico e o prebiótico *in vivo* pode ser favorecida por uma adaptação do probiótico ao substrato prebiótico anterior ao consumo, podendo, em alguns casos, resultar em uma vantagem competitiva para o probiótico, se ele for consumido juntamente com o prebiótico (SAARELA et al., 2000). Alternativamente, esse efeito simbiótico pode ser direcionado às diferentes regiões do trato gastrointestinal. O consumo de probióticos e de prebióticos selecionados apropriadamente pode aumentar os efeitos benéficos de cada um deles, uma vez que o estímulo de cepas probióticas conhecidas leva à escolha dos pares simbióticos substrato-micro-organismos ideais (SAAD, 2006).

Os produtos simbióticos proporcionam a ação conjunta de prebióticos e probióticos, podendo ser classificados como componentes dietéticos funcionais que podem aumentar a sobrevivência dos probióticos durante a passagem pelo trato digestivo superior, pelo fato de seu substrato específico estar disponível para fermentação (CHARALAMPOPOULOS et al., 2002).

O consumo desses produtos beneficia a população de modo geral e a ampla variedade de aplicações que podem ser encontradas indica seu consumo em todas as faixas etárias.

2.4 Análise sensorial

2.4.1 Análise descritiva quantitativa (ADQ)

A análise descritiva quantitativa foi especialmente criada para treinar e selecionar pessoas para identificar, descrever e medir sensorialmente as características de um produto com precisão em termos matemáticos (GILLETE, 1984; MOSKOWITZ, 1988). Sua metodologia permite quantificar a intensidade dessas características e comparar diferentes produtos ou tratamentos por

intermédio de uma técnica apropriada de mensuração, utilizando métodos de escalas e é principalmente empregada para avaliar atributos sensoriais de um produto, como a aparência, aroma, sabor e textura (MAGALHÃES, 1996).

O método proporciona uma completa descrição de todas as propriedades sensoriais de um produto, representando um dos métodos mais sofisticados para a caracterização sensorial dos atributos importantes (STONE; SIDEL, 2004). Requer uma equipe de 6 a 12 provadores treinados que tenham familiaridade com as características sensoriais dos produtos, pois, desta forma, haverá maior desenvoltura por ocasião da descrição das características avaliadas, além de facilitar a precisão e o detalhamento das percepções sensoriais (GILLETTE, 1984; STONE; SIDEL, 2004).

O método para a análise descritiva quantitativa contém basicamente as seguintes etapas: recrutamento e pré-seleção de provadores, levantamento dos termos descritores, treinamento e seleção de provadores, procedimento do teste ADQ e tabulação e análise dos resultados.

2.4.1.1 Recrutamento e pré-seleção de provadores

Os candidatos para a ADQ podem ser recrutados de duas formas: entre o próprio pessoal da empresa ou entre consumidores. É necessário recrutar de 2 a 3 vezes o número de candidatos que se deseja treinar (MAGALHÃES, 1996).

Para o recrutamento de provadores aplica-se um questionário contendo perguntas a respeito do estado de saúde do candidato e fatos que possam limitar a percepção, disponibilidade de tempo, verificar a familiaridade do provador com termos descritivos de aparência, sabor, aroma e textura e sua habilidade em quantificar os atributos sensoriais utilizando a escala de intensidade (DELLA MODESTA, 1994).

Vários métodos são recomendados para a seleção de uma equipe sensorial. Moskowitz (1988) recomenda dois métodos do tipo discriminatório: o triangular e o duo-trio. No método triangular o provador recebe três amostras e lhe é informado que duas amostras são iguais, sendo-lhe solicitado que identifique a amostra diferente. Neste método a probabilidade de acertar por acaso é reduzido a um terço quando comparada ao método duo-trio, que é de um meio. No método duo-trio são apresentadas três amostras ao provador, sendo uma delas rotulada com a letra R – referência e é solicitado ao provador que indique qual das duas amostras é igual a ela. Nestes dois métodos os candidatos são selecionados por meio de uma percentagem mínima de respostas corretas, dependendo da complexidade do produto-teste.

Chaves e Sproesser (1999) descreveram outros dois métodos para a seleção de provadores: método de amplitude – escala e método sequencial. O método amplitude-escala consiste no preparo de amostras de soluções variando as concentrações gradativamente dentro do lote. Atribuem-se notas arbitrárias a cada concentração e as amostras são servidas aos candidatos numa sessão preliminar, para memorização. As amostras são codificadas com números aleatórios e apresentadas aos candidatos em cabine individualizada, solicitando-lhes que atribuam notas de acordo com o padrão anteriormente apresentado. A habilidade do candidato é medida pela razão entre a amplitude das somas e a soma das amplitudes das notas atribuídas pelo candidato e pela soma dos desvios. O método sequencial é uma técnica estatística e possibilita quantificar os riscos de se selecionar um candidato inadequado ou de se rejeitar um bom candidato. Nesse tipo de análise o número de julgamentos realizado para cada candidato não é pré-determinado e a decisão de encerrar o teste depende do desempenho do provador.

2.4.1.2 Levantamento dos termos descritivos

Os atributos sensoriais percebidos e que definem o produto são referidos por termos como características, termos descritivos, descritores ou terminologia (DELLA MODESTA, 1994). Vários métodos são indicados para a obtenção dos termos descritores, dentre os quais discussão aberta, método de rede, associação controlada e lista prévia (DAMASIO; COSTELL, 1991).

No método de discussão aberta os provadores provam diversas amostras e relatam as sensações mais percebidas no produto através de um sistema de mesa-redonda. O método de rede consiste na apresentação das amostras a serem avaliadas, aos pares, descrevendo os termos que especificam as similaridades e diferenças entre as amostras. No método de associação controlada em cabines individuais, solicita-se aos provadores a confecção de uma lista de palavras que estejam associadas às características ou atributos do produto. No método de lista prévia uma lista é elaborada previamente para o produto em questão, através de literatura especializada e é solicitado ao provador que provem as amostras e avaliem como críticos e não críticos, pedindo a retirada ou mudança de um ou mais termos e também complementando a lista (DAMÁSIO, 1990; MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999).

2.4.1.3 Treinamento e seleção final dos provadores

É uma parte importante da ADQ pois é realizada com materiais de referência e produtos a serem avaliados (MAGALHÃES, 1996).

Entre os principais objetivos do treinamento de provadores destacam-se: familiarizar o provador com os procedimentos dos testes, aperfeiçoar sua habilidade em reconhecer e identificar atributos sensoriais nos alimentos, melhorar a capacidade sensitiva da memória e obter julgamentos precisos e

consistentes, através de respostas apropriadas das medidas sensoriais, a fim de que os resultados possam ser reproduzidos (DELLA MODESTA, 1994).

Após o treinamento, por intermédio do teste preliminar, é feita uma nova seleção dos provadores, com o objetivo de verificar se o provador apresenta boa discriminação entre as amostras, boa reprodutibilidade e resultados consensuais com a equipe sensorial (DAMASIO; COSTELL, 1991). Esta parte do teste ocorre em cabines individuais onde cada provador faz sua avaliação de forma independente, utilizando-se de uma ficha-resposta.

2.4.1.4 Tabulação e análise dos resultados

De posse de todas as fichas de respostas já preenchidas pelos provadores, essas devem ser organizadas e separadas por provador. A obtenção dos escores é feita medindo-se a distância que vai desde a extremidade esquerda até a marca feita pelo provador. Os resultados são tabulados em forma de escores para cada característica sensorial avaliada, para cada tratamento, em um quadro de dupla entrada de provadores versus tratamentos (MAGALHÃES, 1996). Os resultados são analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) e comparação de médias e, para uma melhor visualização dos resultados pode ser realizada uma representação gráfica utilizando Análise de Componente Principal ou gráfico-aranha (CARNEIRO, 2001).

2.5 Teste de aceitação: escala hedônica

A determinação da aceitação pelo consumidor é de extrema importância no processo de desenvolvimento ou melhoramento de produtos. Os testes de aceitação são testes afetivos que têm por objetivo avaliar o grau em que os consumidores gostam ou desgostam de um determinado produto. Em condições

laboratoriais a análise requer provadores não treinados, com grande número de participantes (≥ 50) que representem a população de consumidores atuais ou potenciais do produto. Para uma triagem ou avaliação preliminar da aceitação, esse número pode ficar na faixa de 30 a 50 provadores não treinados, não podendo ser inferior a 100 quando se quer uma avaliação mais profunda, ou seja, representativa (CHAVES, 2005). Os testes realizados em laboratório possuem as vantagens de homogeneizar o preparo e a apresentação das amostras, controlar as condições externas e ambientais e ter baixo custo; suas desvantagens são as informações limitadas (STONE; SIDEL, 2004).

A escala hedônica pode ser utilizada em nível de laboratório com o objetivo de se obter informações sobre a provável aceitação de produtos pelo consumidor, nas fases iniciais de desenvolvimento, ou quando se deseja fazer algumas alterações em um produto já aceito, como alteração/inclusão de ingredientes ou modificações nos processos, matérias-primas, embalagem, condições de estocagem e tempo de conservação (CHAVES, 2005).

Há diferentes tipos de escala hedônica, como as verbais: gosta extremamente/desgosta extremamente, excelente/péssimo e a escala gráfica ou facial. Entre os métodos mais empregados para a medida de aceitação de produtos está a escala hedônica, devido à sua fácil compreensão. Nesta escala o provador expressa sua aceitação pelo produto, seguindo uma escala previamente estabelecida que varia gradativamente com base nos atributos “gosta” ou “desgosta”. Neste caso a preferência será implícita (CHAVES; SPROESSER, 1999).

A escala hedônica pode ter forma e amplitude variáveis e existem escalas de três, cinco, sete e nove pontos, porém, a mais utilizada é a escala descritiva de nove pontos: gosta extremamente, gosta muito, gosta moderadamente, gosta ligeiramente, indiferente (não gosta/nem desgosta),

desgosta ligeiramente, desgosta moderadamente, desgosta muito e desgosta extremamente (CHAVES, 2005; MINIM, 2010).

A seleção dos indivíduos participantes foi realizada de maneira aleatória. A pesquisa foi encaminhada para o CEP - Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Lavras para aprovação.

Foi necessário que os participantes da análise sensorial destes experimentos respondessem algumas perguntas; não foi realizado nenhum procedimento que trouxesse qualquer desconforto ou risco à vida destes indivíduos; eles puderam ter todas as informações que quisessem e optar em não participar da pesquisa ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo aos direitos no projeto. Os participantes não receberam qualquer valor em dinheiro, mas tiveram a garantia de que todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa não seriam de sua responsabilidade; seus nomes não apareceram em qualquer momento do estudo, pois foram identificados com um número.

2.6 Reologia

Reologia é definida como a ciência que estuda a deformação e o escoamento dos materiais, ou seja, avalia a forma como os materiais respondem à aplicação de uma determinada tensão ou deformação externa (STEFFE, 1996; TONELI, MURR, PARK, 2005).

Segundo Fischer e Windhab (2011), a reologia de alimentos pode ser dividida em categorias, sendo a primeira delas a tecnologia de alimentos, diretamente ligada ao desenvolvimento de novos produtos, que envolve propriedades sensoriais, de estabilidade, visuais e nutricionais. A outra categoria, em concordância com Steffe (1996), envolve os processos de engenharia de alimentos.

O conhecimento das propriedades reológicas de alimentos, como os produtos lácteos fermentados, é de grande importância no planejamento de processos, pois, além de obter informações sobre a estrutura dos alimentos determina a funcionalidade dos ingredientes utilizados no desenvolvimento dos produtos, estudos no controle de qualidade e validade do produto bem como na correlação de resultados com a avaliação sensorial (DEBON, 2009; TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005).

A viscosidade é um parâmetro essencial no comportamento reológico dos alimentos que abrange, além dos líquidos, os sólidos e semissólidos, sendo considerada fundamental para caracterizar a textura do fluido e que podem influenciar na qualidade e aceitabilidade de novos produtos alimentícios (ALONSO et al., 1990; SILVA, et al., 2009).

A viscosidade é dada pela relação entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação, o que caracteriza o comportamento de fluxo de alimentos fluidos em newtonianos e não newtonianos (TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005; MACHADO, 2002).

Nos fluidos newtonianos a viscosidade do sistema independe da taxa de deformação aplicada, ou seja, a taxa de deformação ($\dot{\gamma}$) é proporcional à tensão de cisalhamento (τ). Água, solução de sacarose, sucos de fruta filtrados e leite são exemplos de fluidos newtonianos (SHARMA; MULVANEY; RIZVI, 2000; RAO, 1999; VIDAL, 2000). Porém, nos fluidos não newtonianos a viscosidade depende da taxa de deformação e podem ser dependentes ou independentes do tempo de cisalhamento. Dentre os fluidos alimentícios independentes do tempo estão os pseudoplásticos, quando a viscosidade aparente diminui com o aumento da taxa de deformação (sucos de frutas concentrado, purê de frutas e vegetais, pasta de amido e proteína), os dilatantes, quando a viscosidade aparente aumenta com o aumento da taxa de deformação (mel, soluções de amido, ingredientes de confeitaria) e os plásticos de Bingham que necessitam de uma

tensão inicial para iniciar o escoamento (molhos de tomate, maionese e margarina) (CAMPOS, 1989; HOLDSWORTH, 1993; MACHADO, 2002; STEFFE, 1996; TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005).

Os fluidos não-newtonianos dependentes do tempo são classificados em tixotrópicos, no qual há um decréscimo na viscosidade aparente com o aumento do tempo de aplicação da tensão de cisalhamento, implicando na progressiva quebra da estrutura (pastas de frutas, gelatinas e manteigas) e em reopéticos que exibem comportamento oposto (ABU-JDAYIL, 2003; HOLDSWORTH, 1993; MACHADO, 2002). Este tipo de comportamento não é comum em alimentos, mas pode ocorrer em soluções de amido altamente concentradas (COSTA, 2006). Os fluidos viscoelásticos possuem características intermediárias entre um fluido viscoso e um fluido sólido elástico. Neste quando cessa a tensão de cisalhamento ocorre certa recuperação da deformação (TONELI, MURR, PARK, 2005). Clara de ovo é um exemplo típico de comportamento viscoelástico (VIDAL et al., 2000). A Figura 3 mostra os reogramas para os fluidos independentes e dependentes do tempo.

O grau tixotrópico é definido como uma diminuição contínua da viscosidade aparente com o tempo a uma determinada tensão e subsequente recuperação da viscosidade quando se interrompe o fluxo e, para que este possa ser medido, os fluidos devem ser submetidos a processos ascendentes e descendentes de tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação (KOKSOY; KILIC, 2004; SCHRAMM, 2006).

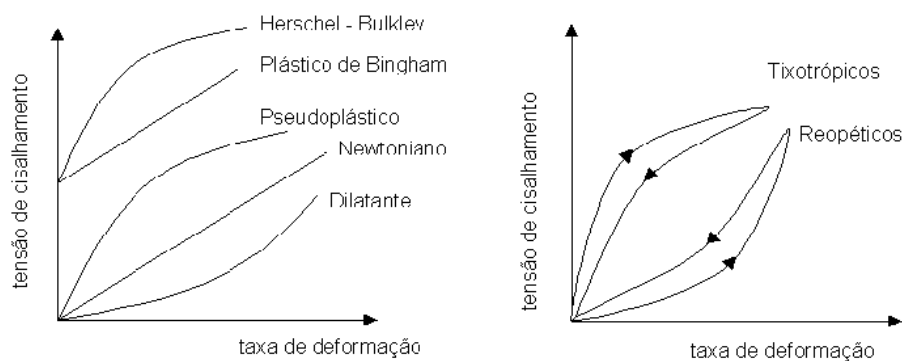


Figura 3 Curva de fluxo de alguns tipos de fluidos: (a) independentes do tempo e (b) dependentes do tempo

Fonte: Sharma, Mulvaney e Rizvi (2000)

Dentre os diversos modelos capazes de representar as propriedades reológicas dos fluidos, o modelo de Ostwald-de Waele, também conhecido como Lei da Potência, é um dos mais utilizados, devido à sua simplicidade e ampla aplicabilidade (LEAL, 2005). A apresentação matemática do modelo é dada pela equação 1, onde σ é a tensão de cisalhamento (Pa), K é o índice de consistência (Pa.s^n), $\dot{\gamma}$ é a taxa de deformação (s^{-1}) e n é o índice de comportamento de fluxo.

$$\sigma = K \dot{\gamma}^n \quad (\text{equação 1})$$

O valor de n é uma medida da pseudoplasticidade do fluido. Quando n é maior que 1, o fluido apresenta comportamento dilatante. Se n é menor que 1, o material apresenta um comportamento pseudoplástico e, ainda, quanto menor o valor de n , maior a pseudoplasticidade do fluido. Para valores de n igual a unidade, o fluido se comporta como Newtoniano e $n = k$ (SANTOS, 2004).

A composição do leite utilizado, temperatura e tempo do tratamento térmico, tipo e quantidade de cultura utilizada na inoculação, temperatura de

fermentação e condições de estocagem do produto até o final da vida de prateleira são fatores tecnológicos que afetam significativamente as medidas reológicas dos produtos lácteos fermentados (XU et al., 2008).

REFERÊNCIAS

ABU-JDAYIL, B. Modelling the time-dependent rheological behavior of semisolid foodstuffs. **Journal of Food Engineering**, v.57, p.97-102, 2003.

ALMEIDA, K. E.; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo Minas frescal. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, p.187-192, 2001.

ALONSO, M. L.; GARZÓN, E.; MELCÓN, B.; ZAPICO, J. Diseño experimental em reologia de alimentos líquidos e semilíquidos: I. comportamiento de flujo inicial de alimentos infantiles preparados. **Alimentaria**, Madrid, v. 27, n. 213, p. 53-57, 1990.

BRASIL. Lei n. 1.283, de 18 de dezembro de 1950, art. 687. Dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária dos produtos de origem animal. Diário Oficial (da República Federativa do Brasil), Brasília, DF, 19 de dezembro de 1950.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº. 16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 24 agosto 2005, sec. 1, p. 7.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 398, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 03 maio. 1999a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº. 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. Brasília 1999b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 19, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem. Brasília 1999c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional ou de Saúde, Resolução RDC nº2, 7 de janeiro de 2002.

BRIÃO, V. B. Estudo de prevenção à poluição em uma indústria de laticínios. Maringá, 2000. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Estadual de Maringá, 2000.

CAMPOS, S.D.S. Reologia e textura em alimentos. Campinas: ITAL, 1989.84p.

CAPRILES, V.D.; SILVA, K. E. A.; FISBERG, M. Prebióticos, Probióticos e Simbióticos: novas tendências no mercado de alimentos funcionais. **Nutrição Brasil**, Rio de Janeiro, v.4, n.6, p. 327-335, Nov/Dez.2005.

CARNEIRO, J.C.S. **Processamento industrial de feijão e avaliação sensorial, descritiva e mapa de preferência**. Viçosa: UFV, 2001, 90 p. Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 2001.

CASTRO, I. A. Desenvolvimento de alimentos funcionais. In: **ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**, 8., 2003 Curitiba. Alimentos, tecnologia e cidadania. Curitiba, PR: SBC-TA/PPGTA/UFPR/PUCPR, 2003. Disponível em: <<http://people.ufpr.br>>. Acesso em: 22 out. 2009.

CHARALAMPOPOULOS, D.; WANG, R.; PANDIELLA, S.S.; WEBB, C. Application of cereals components in functional foods: a review. **International Journal Food Microbiology**, v.79, p. (1-2): 131-41, 2002.

CHAVES, J. B. **Métodos de diferença em Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas**. Viçosa: UFV, 2005. 91p.

CHAVES, J. B.; SPROESSER, R.L. Práticas de laboratório de **Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas**. Viçosa: UFV, 1999. 81p.

CHRISTIE, W.W.; NOBLE, R.C.; DAVIES, G. Phospholipids in milk and dairy products. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v.40, p. 10 -12, 1987.

COLLINS, J. K.; THORNTON, G.; SULL IVAN, G. O. Selection of probiotics of strains for humans applications. **International Dairy Journal**, v.8, p.487-490, 1998.

CONWAY, P. Prebiotics and human health: the state –of-the-art and future perspectivas. **Scandinavian Journal of Clinical Nutrition**, v. 45, p. 13-21, 2001.

CORREDIG, M.; ROESCH, R. R.; DALGLEISH, D. G. Production of a novel ingredient from buttermilk. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2744-2750, 2003.

COSTA, T. L. Características físicas e físico-químicas do óleo de duas cultivares de mamona. 113 fs. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola)**, Universidade Federal de Campina Grande, 2006.

COSTA, M. 2007. Muito mais que comida. **Exame**, São Paulo, 31. Jan. Disponível em: <http://portalexame.abril.com.br/revista/exame/edicoes/0885/marketing>. Acesso em: 23. Out. 2009.

DAMÁSIO, M.H. Medidas das propriedades mecânicas e da textura de géis mistos de k-carragenato goma garrufim e goma guar: influência da composição e relação entre os dados instrumentais e sensoriais. Campinas, SP, 263 p. **Tese de Doutorado**. Universidade estadual de Campinas, 1990.

DAMÁSIO, M.H., COSTELL, E. Análisis sensorial descriptive: Generación de descriptores y selección de catadores. **Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos**, n.31, v.2, p.165-178, 1991.

DAMIN, M.R.; SIVIERI, K.; LANNES, S.C.S. Bebidas lácteas fermentadas e não-fermentadas e seu potencial funcional In: OLIVEIRA, M.N. (Ed). **Tecnologia de produtos lácteos funcionais**. São Paulo: Editora Atheneu, 2009, p. 321-344.

DEBON, J. **Emprego da microfiltração tangencial na obtenção de leite fermentado prebiótico**. 2009. 102 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

DELLA MODESTA, R.C. **Manual de análise sensorial de alimentos e bebidas**. EMBRAPA-CTAA, Rio de Janeiro, 1994. 114 p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA.
Disponível em: <
<http://www.cnpqgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/industria/tabela0422.php>>. Acesso em: Out. 2009.

FERREIRA, C. L. L. F. **Prebióticos e Probióticos: Atualização e Prospecção**, Viçosa-MG, v. 01, p. 26, 2003.

FISCHER, P.; WINDHAB, E.J. Rheology of food materials. Current Opinion in Colloid; Interface Science. V.16, p.36-40, 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba, 2001. 34p. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2009. [Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation].

FRANCK, A. Technological functionality of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v.87, n.2, p.287-291, 2002.

FUNDAÇÃO ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE. FEAM. **Iniciação ao desenvolvimento sustentável**. Belo Horizonte: FEAM, 2003, p.349.

GIBSON, G. R.; FULLER, R. Symposium - Probiotic bacteria: implications for human health. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 391S-395S, 2000.

GILLETE, M. Applications of descriptive analysis. **Journal of Food Protection**, v.47, n.5, p.403-409, 1984.

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.

HASLER, C. M. Functional foods: their role in disease in: developing new food products for a changing prevention and health promotion. **Food Technology**. v. 52, n. 2. p. 57-62, 1998.

HAULY, M. C. O.; MOSCATTO, A. J. Inulina e Oligofrutoses: uma revisão sobre propriedades funcionais, efeito prebiótico e importância na indústria de alimentos. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 105-118, dez. 2002.

HOLDSWORTH, S. D. Rheological models used for the prediction of the flow properties of food products: a literature review. Transactions of the Institution of Chemical Engineers, v.71, part C, p.139-179, 1993.

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

INDI. A indústria de laticínios brasileira e mineira em números. Disponível em: < <http://www.indi.mg.gov.br/publicacoes/Laticinios> >. Último acesso: 20/06/2009.

KAUR, N.; GUPTA, A.K. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. **Journal Bioscience**, Bangalore, v. 27, p.703-714, 2002.

KOKSOY, A.; KILIC, M. Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yoghurt drink, ayran. **Food Hydrocolloids**, v.18, p. 593-600, 2004.

LEAL, A.B. estudo do escoamento de fluidos não-newtonianos Em dutos. Dissertação de mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2005. 101p.

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

MACHADO, J.C.V. Reologia e escoamento de fluidos: ênfase na indústria do petróleo. Rio de Janeiro: Interciência: PETROBRÁS, 2002. 257p.

MACHADO, R. M. G., FREIRE, V. H., SILVA P. C.; FIGUEIREDO, D. V., FERREIRA, P. E. **Controle ambiental em pequenas e médias indústrias de laticínios**, Belo Horizonte, 224p, 2002.

MAGALHÃES, F.A.R. **Métodos descritivos e avaliação sensorial de doce de leite pastoso**. Viçosa: UFV, 1996, 83 p. Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 1996.

MALIN, E. L.; BASCH, J. J.; SHIEH, J. J.; SULLIVAN; B. C.; HOLSINGER, V. H. Detection of adulteration of buttermilk powder by gel electrophoresis. **Journal Dairy Science**, v.77, n.8, p. 2199-2206, Aug, 1994.

MARTINS, A. C. H. Frulati – Bebida carbonatada a base de leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, p. 35, março-abril, 1978.

MATTILA-SANDHOLM, T.; SAARELA, M. **Functional Dairy Products**. Woodhead Publishing, England, 392p., 2003.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. Sensory evaluation techniques. 3. ed., Boca Raton, FL.: CRC Press, 1999. 387p.

MINAS AMBIENTE / CETEC. Pesquisa tecnológica para controle ambiental em pequenos e médios laticínios de Minas Gerais: estado da arte. Belo Horizonte: Minas Ambiente/CETEC, 1998. v. 2 – Processo Industrial.

MINIM, V.P.R. **Análise sensorial: estudo com consumidores**. 2ª Edição, Editora UFV, 225 p, 2010.

MISTRY, V. V.; METZGER, L. E.; MAUBOIS, J. L. Use of ultrafiltered sweet butter-milk in the manufacture of reduced fat Cheddar cheese. **Journal Dairy Science**, v.79, n. 7, p. 1137-1145, July, 1996.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006.

MOSHFEGH, A. L.; FRIDAY, J. E.; GOLDMAN, J.P.; CHUG, A. J. K. Presence of Inulin and Oligofructose in the diets of americans. **Journal of Nutrition**, jul, v. 129, n.7, p.1407S- 1411S, 1999.

MOSKOWITZ, H. R. **Applied sensory analysis of foods**. Boca Ratton: CRC Press, 1988, v.1, 259 p.

MULVANY, J. L. **Indústria da manteiga**. Juiz de Fora: Instituto de Laticínios Cândido Tostes, 1970. 111 p.

NAKAMAE, I.J. (Ed.). **Anualpec 2004**: anuário da pecuária brasileira. São Paulo: FNP, 2004. p.191-232.

NEVEN, E. Inulina e oligofrutose – ingredients multifuncionais para o desenvolvimento de produtos lácteos. **Revista Leite e Derivados**, v.11, n.6, 2001.

NEVES, B.S. Aproveitamento de subprodutos da indústria de laticínios. In: EMBRAPA GADO DE LEITE. **Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil: qualidade e segurança alimentar**. Juiz de Fora, MG, 2001. p.97-108.

NINESS, K.R. Inulin and oligofructose. What are they? **Journal of Nutrition**, v.129, p. 1402s-1406s, 1999.

NITSCHKE, M.; UMBELINO, D.C. Frutooligossacarídeos: novos ingredientes funcionais. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.36, n.1, p.27-34, 2002.

PASSOS, LML, PARK YK. Frutooligossacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**, Santa Maria v.33, n.2, p385-390, 2003.

PELEGRINE, D. H. G.; CARRASQUEIRA, R. L. Aproveitamento do soro de leite no enriquecimento nutricional de bebidas. **Brazilian Journal Food Technology**, VII BMCFB, p. 145-151, dez., 2008.

PENNA, A. L. B.; OLIVEIRA, M. N.; TAMIME, A. Y. Influence of carrageenan and total solids content on the rheological properties of lactic beverage made with yogurt and whey. **Journal of Texture Studies**, Malden, v. 34, n. 1, p. 95-113, 2003.

RAO, M.A. Rheology of fluid and semisolid foods: Principles and applications. New York: An Aspen Publication, 1999. 433p.

RAVAL, D. M.; MISTRY, V. V. Application of ultrafiltered sweet buttermilk in the manufacture of reduced fat process cheese. **Journal Dairy Science**, n. 82, p.2334-2343, 1999.

RESMINI, P.; PELLEGRINO, L.; HOGENBOOM, J. A.; SADINI, V.; RAMPILLI, M. Detection of buttermilk solids in skim Milk powder by HPLC quantification of aminophospholipids. **Scienza Tecnica Lattiero - Casearia**, v. 39, p. 395-412, 1988.

RICHARDS, N. S. P. S. Emprego racional do soro láctico. Indústria de laticínios. p. 67-69. mai / jun 1997.

ROBERFROID, M. B. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n.6, p.1660S-1664s, 2000.

ROBERFROID, M.B. Prebiotics: the concept revisited. **Journal Nutrition**. v.137, p.830S-837S, 2007.

SAAD, S. M. I. Probióticos e Prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, p.1-16, 2006.

SAARELA, M.; MOGENSEN, G.; FOND, N. R.; MATTO, J.; MATILLA-SANDHOLM, T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, v. 84, p. 197-215, 2000.

SANTOS, F. J. C. Análise de reologia e filtração de fluidos de fraturamento hidráulico e sua influência na otimização de projetos. **Dissertação de mestrado**, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2004. 105p.

SANTOS, J. P. V.; FERREIRA, C. L. L. F. Alternativas para o aproveitamento de soro de queijo nos pequenos e médios laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 56, n. 321, p.44-50, 2001.

SCHRAMM, G. Reologia e Reometria: fundamentos teóricos e práticos. São Paulo: Artliber, 2006. 237p.

SCHREZENMEIER, J.; DE VRESE, M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics - approaching a definition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, p.361- 364, 2001.

SHARMA, S. K., MULVANEY, S. J., RIZVI, S. S. H. Food processing engineering: theory and laboratory experiments. United States of America : Wiley-Interscience. 2000. 348p.

SILVA, K.F.N.L.; SANTOS, D.C.; SILVA, C.T.S. ; QUEIROZ, A.J.M.; LIMA, A.O.N.. Aspectos reológicos de amostras de méis de *apis mellifera* do município de Limoeiro do Norte-Ce. **Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil)**, v.4, n.4, p. 90 - 95 out./dez., 2009.

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

STEFFE, J.F. Rheological methods in food process engineering. Michigan: Freeman Press, 1996. 428p.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices**. 3rd ed. London: Academic Press, Inc., 2004. 408p.

SUSKOVIC, J.; KOS, B.; GORETA, J.; MATOSIC, S. Role of lactic acid bacteria and bifidobacteria in symbiotic effect. **Food Technology and Biotechnology**, v. 39, n. 3, p. 227-235, 2001.

TABILO-MUNIZAGA, G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Rheology for the food industry. **Journal of Food Engineering**, v.67, p.147-156, 2005.

TONELI, J. T. C. L.; MURR, F. E. X.; PARK, K. J. Review: estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 7, n. 2, p. 181–204, 2005.

VAN LOO, J.; COUSSEMENT, P.; DE LEENHEER, L.; HOEBREGS, H.; SMITS, G. On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the Western diet. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** Nov, v.35, n.6, p.525–552, 1995.

VIANA, G.; FERRAS, R.P.R. A cadeia produtiva do leite: um estudo sobre a organização da cadeia e sua importância para o desenvolvimento regional. **Revista Capital Científico**, v.5, n.1, jan./dez. 2007 ISSN 1679-1991, Guarapuava – PR.

VIDAL, J. R. M. B. Comportamento reológico da polpa de manga (*Mangífera indica* LKeitt) – Campinas, SP, 159p. (Tese de Doutorado), 2000.

VIDAL, J.R.M.B.; GASPARETTO, C.A.; GRANDIN, A. Efeito da temperatura no comportamento reológico da polpa de manga. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v.1, n.2, p.69-76, 2000.

VINDEROLA, C. G., PROSELLO, W.; GHIBERTO, D.; REINHEIMER, J. A. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in Argentinian fresco cheese. **Journal Dairy Science**, v.83, p.1905-1911, 2000.

XU, Z.M.; EMMANOUELIDOU, U.D.; RAPHAELIDES, S.N.; ANTONIOU, K.D. Effects of heating temperature and fat content on the development of set yogurt. **Journal of Food Engineering**, v.85, p.590-597, 2008.

CAPÍTULO 2 Efeito da adição de leitelho e inulina nas propriedades físicas, físico-químicas e sensoriais de bebida láctea fermentada

RESUMO

Com o objetivo de se avaliar o efeito da adição de leiteiro e inulina nas propriedades físicas, físico-químicas e sensoriais de bebidas lácteas fermentadas, as bebidas foram elaboradas com diferentes concentrações de leiteiro em relação à base láctea e adicionadas de inulina, utilizando o Delineamento Central Composto Rotacional (DCCR). O aumento do teor de inulina proporcionou aumento de sólidos totais com consequente diminuição da umidade e aumento dos escores sensoriais. Os maiores valores de escores de aceitação sensorial para o atributo sabor ocorreram em concentrações intermediárias, tanto de leiteiro quanto de inulina. Concentrações crescentes de leiteiro elevaram os escores sensoriais dos atributos de aceitação, textura e impressão global, diminuindo o teor de cinzas. As concentrações de leiteiro entre 10% e 40% e 1% a 3,5% de inulina foram adequadas para a aceitação do produto. A viabilidade probiótica não foi atingida em nenhuma das formulações, portanto, as bebidas podem ser consideradas apenas como prebióticas.

Palavras-chave: Prebióticos. Produtos lácteos. Qualidade. Perfil sensorial.

ABSTRACT

With the objective of evaluating the effect of the addition of buttermilk and inulin to fermented dairy beverages on physical, physical-chemical and sensory properties, beverages were prepared with different concentrations of buttermilk in relation to the milk basis and inulin was added, using Central Composite Design (CCD). The increase in inulin content led to: increase in total solids with consequent decrease in humidity and increase in sensory scores. The highest sensory acceptance scores occurred in intermediate concentrations of buttermilk and inulin. Increasing concentrations of buttermilk elevated sensory scores of texture acceptance and global impression decreasing the content of grays. Buttermilk concentrations between 10% and 40% and inulin concentrations between 1% to 3.5% were adequate for product acceptance. Probiotic viability was not achieved with any of the formulas, therefore, the beverages could be considered only prebiotic.

Key words: Prebiotics. Dairy products. Quality. Sensory profile.

1 INTRODUÇÃO

As indústrias de laticínios geram vários subprodutos na forma de resíduos líquidos como, por exemplo, o soro resultante da fabricação de queijos e o leiteiro resultante da fabricação de manteiga.

O lançamento “in natura” desses tipos de resíduos em mananciais de água contamina drasticamente corpos receptores, podendo, em situações críticas, causar grande mortalidade de peixe devido ao excessivo consumo do oxigênio da água. A minimização do volume e da carga poluidora dos despejos é o ponto crucial no que diz respeito ao controle do impacto gerado pelos efluentes das indústrias de laticínios. O aproveitamento dos subprodutos obtidos no beneficiamento do leite apresenta-se como uma alternativa prática e economicamente viável na redução do volume de efluentes gerados. Dentre os subprodutos gerados pela indústria de laticínios o leiteiro é um dos menos utilizados, entretanto, sua composição química permite que o mesmo possa ser utilizado como matéria-prima ou ingrediente na elaboração de uma grande variedade de produtos lácteos e não lácteos. A utilização desse subproduto não apresenta restrições quanto aos aspectos de atendimento à legislação, uma vez que apresenta os mesmos constituintes do leite.

Dentre os produtos lácteos a bebida láctea é um dos mais convenientes à utilização do leiteiro, uma vez que este pode substituir o soro lácteo atendendo ao regulamento técnico de bebidas lácteas.

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea (BRASIL, 2005) a bebida láctea é o produto obtido a partir de leite (in natura, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semi-desnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado e em pó) adicionado ou não de produto(s) alimentício(s) ou substância(s) alimentícia(s), gordura vegetal, leite(s)

fermentado(s), fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos, onde a base láctea representa pelo menos 51% (m/m) do total de ingredientes do produto.

A inclusão de leiteiro na formulação da bebida láctea pode contribuir com benefícios aos aspectos sensoriais do produto, uma vez que esse subproduto possui sabor e aroma distintos devido à forma de sua obtenção. As características sensoriais são aspectos de grande importância na aceitação dos alimentos e que podem ser avaliadas por Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), determinando sua qualidade sensorial. Este método descreve todas as sensações percebidas na avaliação de um produto e os atributos sensoriais de aparência, textura, odor e sabor são avaliados por meio de vários descritores, que são medidos quantitativamente por provadores treinados, utilizando escalas não estruturadas (STONE; SIDEL, 2004). Os testes afetivos avaliam a resposta dos indivíduos em relação à preferência e/ou aceitação de um produto ou em relação às características específicas do produto, utilizando consumidores habituais ou potenciais do produto (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999).

Na tentativa de procurar condições que visem à diminuição de pelo menos parte dos desperdícios na indústria de laticínios e desenvolver um novo produto com elevado valor nutricional e sensorialmente aceito, além de minimizar os custos de produção, o presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito da adição de leiteiro e inulina nas propriedades físicas, físico-químicas e sensoriais de bebida láctea fermentada.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Bebidas lácteas fermentadas foram elaboradas com concentração fixa de 50% de leite, concentrações variáveis de leiteiro e para completar 100% da base láctea foi utilizado soro lácteo adicionada de inulina, de acordo com o delineamento experimental (Tabela 1).

2.1 Delineamento experimental e análise estatística

Foi adotado o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) consistindo de um fatorial 2^2 , com dois níveis equidistantes de variação, codificados em -1 e $+1$, quatro pontos axiais $(\pm\alpha, 0)$; $(0, \pm\alpha)$ e três pontos centrais (0) , resultando em 11 tratamentos (RODRIGUES; IEMMA, 2005), sendo as variáveis independentes representadas pela percentagem de leiteiro em relação à base láctea na formulação das bebidas (X_1) e adição de concentrações de inulina (X_2), conforme a Tabela 1.

Tabela 1 Delineamento experimental Composto Central para a elaboração das bebidas lácteas com diferentes teores de leiteiro e inulina

Tratamentos	Variáveis codificadas		Variáveis reais	
	X_1	X_2	X_1 (v/v)	X_2 (m/v)
1	-1	-1	7,2	0,72
2	-1	1	7,2	4,27
3	1	-1	42,7	0,72
4	1	1	42,7	4,27
5	1,414	0	50,0	2,5
6	-1,414	0	0	2,5
7	0	1,414	25,0	5,0
8	0	-1,414	25,0	0
9	0	0	25,0	2,5
10	0	0	25,0	2,5
11	0	0	25,0	2,5

X_1 = % de leiteiro em relação à base láctea; X_2 = % de inulina

Utilizou-se a metodologia de superfície de resposta para avaliar o efeito das concentrações de leiteiro e inulina sobre as variáveis dependentes (Y): perfil sensorial (cor rosa, cor lilás, pontos de morango, aroma de morango, aroma doce, aroma de leite fermentado, sabor doce, sabor de soro, sabor de morango e viscosidade), colorimetria CIALab L, “a” e “b”, aceitação sensorial (aparência, aroma, sabor, textura e impressão global), proteína, gordura, umidade, extrato seco total e cinzas.

A Regressão Linear Múltipla (RLM) foi usada para obter os termos linear, quadrático e de interação do modelo matemático abaixo (Equação 1):

$$y = \beta_0 + \beta_1 \chi_1 + \beta_2 \chi_2 + \beta_{12} \chi_1 \chi_2 + \beta_{11} \chi_1^2 + \beta_{22} \chi_2^2 + \varepsilon \quad (1)$$

Em que $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_{12}, \beta_{11}$ e β_{22} são os coeficientes de regressão, y são as variáveis dependentes (respostas) em questão, X_1 e X_2 são as variáveis independentes expressas de forma codificadas (leitelho e inulina) e ε o erro experimental. Os resultados das variáveis respostas foram analisados por meio da metodologia de superfície de resposta. A análise de variância (ANOVA) foi aplicada para testar a adequação dos modelos. Para avaliar o ajuste dos modelos foi observada a significância da regressão pelo teste F e coeficiente de determinação ($R^2 \geq 0,70$). Utilizou-se o teste de t para avaliar a significância dos parâmetros dos modelos ao nível de 5% de significância. Para visualizar o efeito das variáveis independentes nas respostas avaliadas foram plotados gráficos de superfície de resposta quando a análise de variância mostrou-se significativa. O processamento dos dados foi realizado utilizando o software Statistica 8.0 (STATISTICA ANALYSIS, 2008).

2.2 Elaboração das bebidas lácteas

As formulações foram feitas atendendo a legislação pertinente para bebida láctea (BRASIL, 2005). Para cada tratamento a bebida fermentada foi produzida a partir da mistura de 50% de leite pasteurizado homogeneizado (3% de gordura), soro de leite (obtido da fabricação de queijo tipo Minas Frescal), leiteiro (obtido da fabricação de manteiga), inulina (Raftilose, Beneo GR[®], Orafti, Oreya, Bélgica), 10% sacarose e 1% oligofrutose (Raftilose, Beneo P95[®], Orafti, Oreya, Bélgica). Leiteiro e inulina foram adicionados na quantidade definida para cada tratamento nas concentrações previstas no delineamento estatístico (tabela 1). A mistura foi aquecida até atingir 55°C, sob agitação constante, permanecendo nessa temperatura por cinco minutos e em seguida pasteurizada a 82°C por 20 minutos e teve sua temperatura ajustada em banho de gelo e água a 20°C para posterior inoculação. Para cada formulação foi adicionado o inóculo constituído por cultura probiótica (Bb-12[®], Chr Hansen, Hónsholm, Dinamarca) de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e de cultura mesofílica aromática (MAC CHN-22, Hónsholm, Dinamarca), contendo *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* e *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* nas concentrações recomendadas, conforme o fabricante. A fermentação foi conduzida até que o pH em torno de 5,0 fosse alcançado. Após essa etapa o produto fermentado foi gradualmente resfriado em banho de gelo e água até a temperatura de 10°C para a realização do rompimento do coágulo e adicionado de 4% de preparado de polpa sabor morango (Gemacon Tech[®]), gerando, assim, uma bebida láctea fermentada com sabor. O fluxograma dos procedimentos gerais para a fabricação das bebidas é ilustrado pela Figura 1.

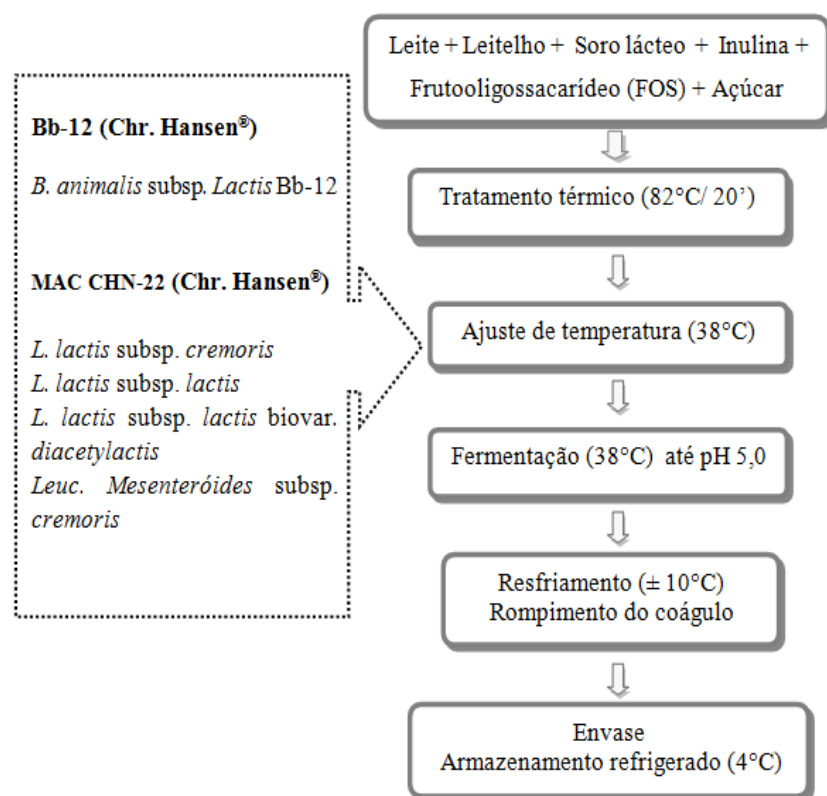


Figura 1 Fluxograma para a obtenção das bebidas lácteas fermentadas

2.3 Análises físico-químicas

A caracterização físico-química (gordura, proteína, umidade, sólidos totais e cinzas) das bebidas lácteas fermentadas foi realizada em triplicata.

2.3.1 Gordura

A porcentagem de gordura foi determinada pelo método butirométrico de Gerber, baseado na separação e quantificação da gordura por meio do tratamento da amostra com ácido sulfúrico e álcool isoamílico (AOAC, 2005).

2.3.2 Proteína

Para obtenção da fração protéica foi utilizado o método de Kjeldahl (fator de correção de 6,35) que se fundamenta na digestão ácida da amostra em presença de catalisadores, formação de amônia, destilação em meio básico e titulação com solução padrão de ácido clorídrico (AOAC, 2005).

2.3.3 Umidade

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico, com emprego de calor, baseando-se na perda de peso do material, submetido ao aquecimento de 105°C, até peso constante (AOAC, 2005).

2.3.4 Sólidos totais

O método de determinação de sólidos totais foi o método de gravimetria em estufa a $105 \pm 2^\circ\text{C}$ (AOAC, 2005).

2.3.5 Cinzas

O teor de cinzas foi obtido por gravimetria pelo aquecimento de 2g de amostra isenta de umidade em mufla a 550°C até completa incineração (AOAC, 2005).

2.3.6 Carboidratos

O teor de carboidrato foi determinado através da formula:
 $\% \text{ CHO} = (\% \text{ Extrato Seco Total}) - (\% \text{ Gordura} + \% \text{ Proteína} + \% \text{ Cinzas})$

(AOAC, 2005).

2.3.7 Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada utilizando-se medidor de pH previamente calibrado *Tecnal* (modelo Tec-3MP) de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (1985).

2.4 Análise instrumental de cor

A cor do produto foi determinada pelo colorímetro Minolta, modelo *Chroma Meter CR-3000*, sistema L* a* b* CIELab. Os parâmetros de cor medidos em relação à placa de cor branca foram L* (preto ao branco), a* (vermelho ao verde) e b* (azul ao amarelo) (AOAC, 2005).

2.5 Análises microbiológicas

2.5.1 Quantificação de coliformes

Para a determinação da qualidade higiênico-sanitária, as bebidas lácteas fermentadas foram submetidas à avaliação microbiológica por meio de determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes antes da avaliação sensorial, conforme metodologia descrita por Silva et al. (2010).

2.5.2 Viabilidade da cultura probiótica

Para a contagem de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 foi utilizado Ágar MRS (Man Rogosa and Sharpe) adicionado de 5 mL de solução a 10% de cloreto de cisteína para cada 1000mL de meio de cultura segundo Chr Hansen (1999). As placas foram incubadas em jarras de anaerobiose contendo gerador Anaerobac® (Probac do Brasil) a 37°C por 72 horas. Após esse período de incubação foi realizada a contagem de UFC (em triplicata), expressa em log de unidade formadora de colônia por mL (log UFC/mL).

2.6 Análise sensorial

2.6.1 Análise descritiva quantitativa

A avaliação sensorial foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (PARECER CEP N°. 283.492, CAAE – 12866013.9.00005148) da Universidade Federal de Lavras.

Trinta e cinco pessoas foram inicialmente recrutadas a partir das respostas de um questionário de recrutamento (APÊNDICE A), em que foram utilizados os seguintes critérios: ter interesse e disponibilidade de tempo para participar do estudo, ter noção de espaço para avaliar figuras geométricas e gostar de bebida láctea fermentada. Para a seleção desses recrutados utilizou-se a técnica de testes triangulares, com duas amostras de bebida láctea fermentada comercial sabor morango, que diferiam entre si a 1% de significância pela adição de açúcar (3%) e sem adição (APÊNDICE B) e aplicou-se a análise sequencial de Wald (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999) (APÊNDICE C), sendo utilizados os seguintes valores para os parâmetros: $p_0=0,30$ (máxima inabilidade aceitável), $p_1=0,50$ (mínima habilidade aceitável), $\alpha=0,10$

(probabilidade de aceitar um provador ruim) e $\beta=0,30$ (probabilidade de rejeitar um bom provador). Assim, foram selecionados vinte provadores os quais realizaram o levantamento dos termos sensoriais descritores da bebida láctea fermentada, utilizando o Método de rede (APÊNDICE D) (Repertory Grid Kelly's Method), segundo Moskowitz (1983) (Tabela 2). Nesse levantamento utilizaram-se as amostras dos tratamentos extremos em menor e maior concentração de inulina e leiteiro (T1 e T4) de acordo com o Delineamento Composto Central Rotacional (Tabela 1) que seriam avaliadas na ADQ.

Em seguida foi elaborada a definição dos termos descritores e determinada as referências para os extremos das escalas para cada um dos atributos selecionados, as quais foram determinadas pelo consenso entre todos os provadores (Quadro 1). As intensidades dos atributos foram classificadas por escalas não estruturadas contínuas de 9 cm, ancoradas verbalmente em cada extremidade, sendo o lado esquerdo correspondente à menor intensidade (valor 0) e o lado direito à maior intensidade (valor 9) dos termos descritivos (APÊNDICE E).

Quadro 1 Termos descritores para definição do perfil sensorial e materiais de referência

Termos descritores	Definições	Referências
APARÊNCIA		
Cor rosa	Tonalidade da cor rosa, variando de rosa claro a rosa escuro.	Fraco: 10 mL bebida láctea fermentada sabor morango comercial marca Itambé® + 40 ml de leite UHT marca Itambé® Forte: 50 mL de Bebida láctea fermentada sabor morango comercial marca Itambé® + 5g de preparado de polpa sabor morango marca Gemacom®
Cor lilás	Tonalidade de cor lilás, variando de lilás escuro para lilás.	Fraco: 50 mL de tinta para tecido número 809 marca Acrilex® Forte: 50 mL de tinta para tecido número 528 marca Acrilex®

“continua”

Quadro 1 “continuação”

Termos descritores	Definições	Referências
APARÊNCIA		
Presença de polpa de morango	Presença da polpa de fruta morango que é caracterizada por sementes e pedaços da fruta (polpa)	Nenhum: bebida láctea fermentada comercial sabor morango marca Itambé® Forte: Iogurte sabor morango com frutas marca Nestlé®
AROMA		
“Cheiro” de morango	Aroma característico de polpa de morango	Fraco: 0,10g de preparado de polpa de morango marca Gemacom® + 50 mL água destilada Forte: 5g de preparado de polpa de morango marca Gemacom®
		Forte: 50g de iogurte natural comercial marca Itambé®
Aroma doce (morango com leite condensado)	Aroma característico da presença de açúcares ou qualquer outro agente adoçante, permitindo a liberação do aroma doce	Fraco: Leite desnatado UHT marca Itambé® adicionado de 1% de leite condensado comercial marca Itambé® e 1% de preparado de polpa de morango marca Gemacom® Forte: Leite condensado comercial marca Itambé® adicionado de polpa de morango marca Gemacom® na proporção 1:1
SABOR		
Gosto doce	Gosto doce associado à presença de açúcares ou agentes adoçantes	Fraco: Bebida láctea fermentada, sabor morango marca Itambé® adicionada de/diluída com Leite desnatado UHT marca Itambé® na proporção de 3:1 Forte: Bebida láctea fermentada, sabor morango marca Itambé® adicionada de leite condensado na proporção de 2:1
Soro	Refere-se ao sabor fresco ligeiramente doce ou ácido	Fraco: Bebida láctea fermentada, sabor morango marca Itambé® Forte: Bebida láctea fermentada, sabor morango marca Itambé® adicionada de soro de leite na proporção de 1:1

“continua”

Quadro 1 “conclusão”

Termos descritores	Definições	Referências
Morango	Sabor da fruta morango “in natura”	Fraco: Bebida láctea fermentada, sabor morango marca Itambé [®] diluída com leite desnatado UHT marca Itambé [®] , na proporção de 3:2 Forte: Bebida láctea fermentada, sabor morango marca Itambé [®] adicionada de 5% de preparado de polpa de morango marca Gemacom [®]
TEXTURA		
Viscosidade	Característica de substância espessa como mingau.	Fraco: Leite desnatado UHT, marca Itambé [®] adicionado de 12% de preparado instantâneo sabor morango marca Nestlé [®] Forte: Iogurte batido sabor morango marca Itambé [®]

Após o treinamento com as referências e fichas de avaliação, realizou-se a seleção final dos provadores. Nesta etapa foram avaliadas três amostras de bebida láctea fermentada: tratamentos 1 e 4 (tabela 1) e uma marca comercial (ITAMBÉ[®]) foram apresentados aos provadores, de forma monádica e casualizada em três repetições, utilizando a ficha elaborada com os termos descritores para a ADQ (APÊNDICE E).

Com os dados obtidos foram selecionados dez provadores com habilidade para discriminar as amostras (p de $F_{amostra} \leq 0,50$) e repetibilidade (p de $F_{repetição} \geq 0,05$) e concordância com as médias da equipe sensorial (consenso com a equipe sensorial) (DAMÁSIO; COSTELL, 1991), para participarem da avaliação final das amostras, utilizando o programa Panel Check, versão 1.4.0 (TOMIC et al., 2010) para a análise dos dados. Esses dez provadores avaliaram as onze amostras de bebida láctea fermentada em três repetições, seguindo-se um delineamento em blocos completos balanceados. Amostras com 30 mL foram servidas monadicamente de forma balanceada (WAKELING; MACFIE, 1995), em copos plásticos com capacidade para 50 mL, codificados com números de três dígitos acompanhadas de ficha elaborada com os termos

descritores (APÊNDICE E) e água para a limpeza do palato entre as amostras. Para evitar a fadiga sensorial dos provadores, as amostras foram avaliadas em três sessões. Duas sessões com quatro amostras e uma sessão com três amostras.

O desempenho dos provadores na análise descritiva quantitativa definitiva (etapa de avaliação final das amostras) foi analisado pela ANAVA com duas fontes de variação (repetições e amostras) para cada provador e para cada atributo sensorial e a interação entre provador versus amostra ($p>0,05$), utilizando o programa Panel Check versão 1.4.0, de acordo com Tomic et al. (2010).

2.6.2 Teste de aceitação

Devido ao grande número de tratamentos o teste de aceitação foi dividido em três sessões, duas com quatro amostras e uma com três. A análise foi conduzida com 62 provadores não treinados, utilizando uma escala hedônica de nove pontos (1-desgostei extremamente a 9-gostei extremamente) para os atributos aparência, aroma, sabor, textura e impressão global do produto (STONE; SIDEL, 2004). As amostras foram servidas monadicamente em porção de 30 mL para cada respectivo tratamento de forma balanceada (WAKELING; MACFIE, 1995), codificadas com números de três dígitos, acompanhadas com ficha de avaliação (APÊNDICE F) e água para a limpeza do palato.

3 RESULTADO E DISCUSSÃO

3.1 Análises microbiológicas

No que se referem aos parâmetros higiênicos, as bebidas apresentaram-se dentro dos padrões microbiológicos, indicando que o processo de elaboração das bebidas seguiu as Boas Práticas de Fabricação (BPF), recomendadas pelo MAPA (BRASIL, 2002), estando aptas ao consumo.

Embora as bebidas tenham sido elaboradas com o uso de cultura probiótica de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e cultura mesofílica aromática contendo *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* e *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, não houve crescimento de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12, supostamente por morte dessas bactérias em função da competição com as bactérias lácticas mesofílicas.

A alternativa para contornar o problema de não desenvolvimento de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 seria conduzir uma fermentação com a cultura mesofílica aromática, contendo *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* e *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* pura e, ao final da incubação adicionar um inóculo da cultura probiótica *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 em contagem elevada o suficiente para alcançar o apelo probiótico no produto final.

3.2 Propriedades físicas, físico-químicas e sensoriais

Para a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), após a etapa de avaliação final das amostras, foi utilizado o programa Panel Check com o

objetivo de avaliar o desempenho dos provadores treinados quanto à repetibilidade e reprodutibilidade ao avaliar as amostras de bebida láctea fermentada.

O Gráfico 1 fornece os resultados plotando a repetibilidade de cada provador. No MSE plot as linhas diferenciadas por cores representam os valores da repetibilidade do provador para um atributo específico. Portanto, valores baixos de MSE plot indicam pouca variância nas notas do provador e valores altos muita variância.

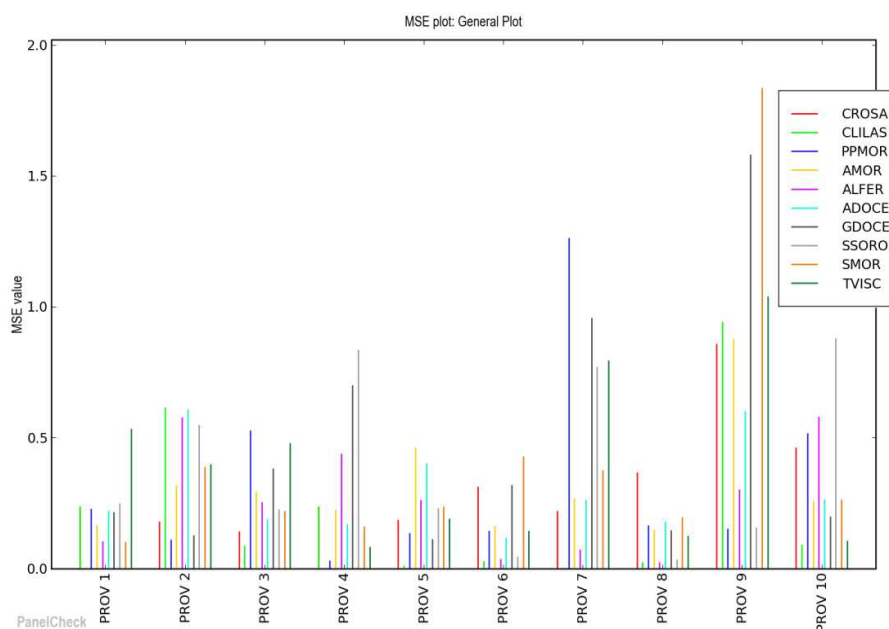


Gráfico 1 MSE plot dos 10 provadores treinados.

Prov. – Provador. CROSA - Cor rosa; CLILAS – Cor lilás; PPMOR – Presença de Polpa de morango; AMOR – Aroma de morango; ALFER – Aroma de leite fermentado; ADOCE – Aroma doce; GDOCE – Gosto doce; SSORO – Sabor de soro; SMOR – Sabor de morango; TVISC – Textura viscosidade

O Gráfico 2 (MEAN & STD Plot) representa a média e o desvio padrão dos provadores, onde cada barra vermelha representa um atributo avaliado por um provador específico. A média e o desvio padrão são baseados em todas as

amostras e em todas as repetições. Portanto, quanto maior o tamanho da barra (azul) maior o desvio padrão.

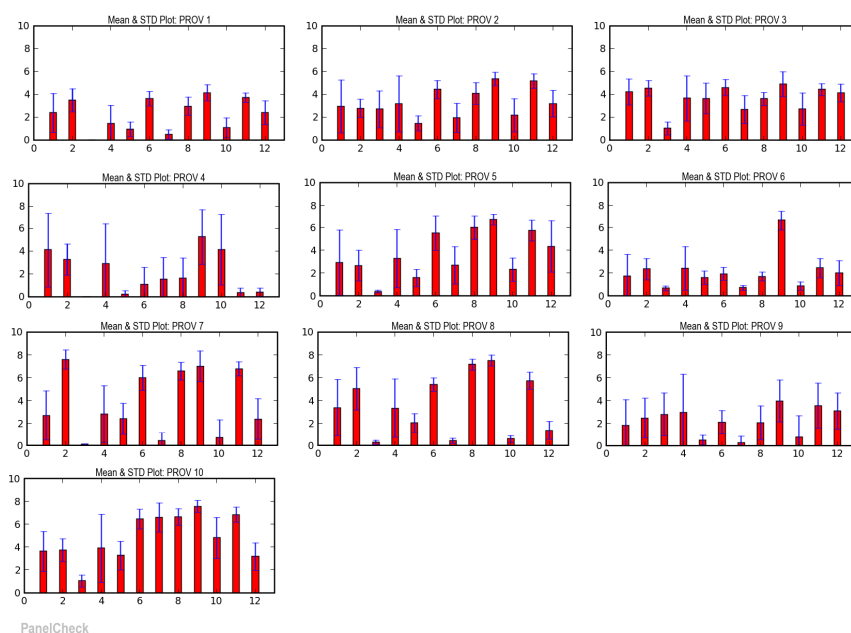


Gráfico 2 MEAN & SDT Plot dos dez provadores treinados.
Prov. – Provador.

Verificou-se que os provadores 4, 5, 7 e 9 apresentaram deficiência quanto à repetibilidade e consenso com os demais, prejudicando o desempenho geral do painel. Portanto, o perfil sensorial da bebida láctea fermentada foi determinado de acordo com os dados de seis provadores.

Na Tabela 2 encontram-se os coeficientes de regressão do modelo completo para variáveis respostas que se adequaram ao modelo: cor “a”, umidade, sólidos totais, cinzas, aroma de morango e aceitação em relação aos atributos sabor, textura e impressão global. Para avaliação das variáveis respostas, os modelos de regressão foram estabelecidos e optou-se por apresentar o modelo completo (com todos os fatores) para todas as variáveis

dependentes que se adequaram ao modelo, uma vez que a eliminação dos fatores não significativos reduziu o valor R^2 abaixo de 0,70.

Não foram geradas superfícies de respostas para as seguintes variáveis e suas médias foram: cor b (6,14) e L (77,31), proteína (2,58), gordura (2,09), carboidratos (15,03), perfil sensorial cor rosa (3,35), cor lilás (1,01), presença de polpa de morango (2,07), aroma de leite fermentado (2,05), aroma doce (4,57), gosto doce (6,01), sabor de soro (2,24), sabor de morango (4,75), viscosidade (3,15) e aceitação sensorial aparência (6,75) e aroma (5,85), uma vez que seu coeficiente de determinação R^2 foi menor que 0,70 e o $F_{\text{calculado}}$ foi menor que o F_{tabelado} , desta forma o modelo não se ajustou adequadamente aos dados, não sendo geradas também as superfícies de respostas.

Tabela 2 Coeficientes de regressão do modelo completo para as variáveis: análises físicas (cor a^*), análises químicas (sólidos totais, cinzas, umidade), perfil sensorial (aroma de morango) e teste de aceitação (sabor, textura e impressão global)

Respostas	Fatores	Coeficientes	Erro padrão	P	R^2
<i>Análises físicas</i> Cor a^*	Intercepto	14,6044**	0,1409	<0,0001	0,88
	(1) Leiteiro (L)	-0,4679**	0,0863	0,0028	
	(2) Leiteiro (Q)	-0,2566	0,1027	0,0546	
	(2) Inulina (L)	-0,0441	0,0863	0,6307	
	Inulina (Q)	-0,1924	0,1027	0,1199	
	(1) Leiteiro/inulina (2)	-0,0100	0,0863	0,9378	
<i>Análises físico-químicas</i> Sólidos totais	Intercepto	20,1307**	0,3266	<0,0001	0,83
	(1) Leiteiro (L)	-0,2326	0,2000	0,2974	
	(2) Leiteiro (Q)	0,1005	0,2381	0,6905	
	(2) Inulina (L)	0,9726**	0,2000	0,0046	
	Inulina (Q)	-0,0495	0,2381	0,8434	
	(1) Leiteiro/inulina (2)	-0,0394	0,2829	0,8944	
Cinzas	Intercepto	0,4117**	0,0092	<0,0001	0,96
	(1) Leiteiro (L)	-0,0640**	0,0056	<0,0001	
	(2) Leiteiro (Q)	0,0098	0,0067	0,2051	
	(2) Inulina (L)	-0,0008	0,0056	0,8930	
	Inulina (Q)	0,0134	0,0067	0,1022	
	(1) Leiteiro/inulina (2)	0,0142	0,0080	0,1356	

“continua”

Tabela 2 “conclusão”

Respostas	Fatores	Coefficientes	Erro padrão	P	R ²
Umidade	Intercepto	79,8692**	0,3266	<0,0001	0,83
	(1) Leitelho (L)	0,2326	0,2000	0,2974	
	(2) Leitelho (Q)	-0,1005	0,2381	0,6905	
	(2) Inulina (L)	-0,9726**	0,2000	0,0046	
	Inulina (Q)	0,0496	0,2381	0,8434	
	(1) Leitelho/inulina (2)	-0,0394	0,2829	0,8944	
<i>Perfil sensorial</i> Aroma de morango	Intercepto	4,2852**	0,1128	<0,0001	0,83
	(1) Leitelho (L)	-0,2254**	0,0690	0,0223	
	(2) Leitelho (Q)	0,1740	0,0822	0,0878	
	(2) Inulina (L)	0,0904	0,0690	0,2471	
	Inulina (Q)	-0,0120	0,0822	0,8889	
	(1) Leitelho/inulina (2)	-0,2722**	0,0976	0,0385	
<i>Teste de aceitação</i> Sabor	Intercepto	6,7886**	0,1414	<0,0001	0,91
	(1) Leitelho (L)	0,0256	0,0866	0,7794	
	(2) Leitelho (Q)	-0,7081**	0,1031	0,0010	
	(2) Inulina (L)	-0,0599	0,0866	0,5199	
	Inulina (Q)	-0,2962**	0,1031	0,0348	
	(1) Leitelho/inulina (2)	0,1764	0,1225	0,2092	
Textura	Intercepto	7,0914**	0,2088	<0,0001	0,85
	(1) Leitelho (L)	-0,2141	0,1278	0,1548	
	(2) Leitelho (Q)	-0,7627**	0,1522	0,0040	
	(2) Inulina (L)	-0,0793	0,1278	0,5620	
	Inulina (Q)	-0,3214	0,1522	0,0884	
	(1) Leitelho/inulina (2)	-0,0931	0,1808	0,6284	
Impressão global	Intercepto	6,9046**	0,1597	<0,0001	0,88
	(1) Leitelho (L)	-0,1581	0,0978	0,1668	
	(2) Leitelho (Q)	-0,6779**	0,1164	0,0021	
	(2) Inulina (L)	-0,1080	0,0978	0,3197	
	Inulina (Q)	-0,2219	0,1164	0,1150	
	(1) Leitelho/inulina (2)	-0,0441	0,1383	0,7627	

L= efeito linear; Q= efeito quadrático; p= p-valor; ** significativo a 5%.

As porcentagens de variação explicadas pelos modelos para cor “a”, umidade, sólidos totais, cinzas, aroma de morango e aceitação em relação aos atributos sabor, textura e impressão global foram altas (88%, 83%, 96%, 83%, 83%, 91%, 85%, 88%), e a análise de variância (Tabela 3) deste ajuste para essas variáveis apresentaram valores de $F_{\text{calculado}} \geq F_{\text{tabelado}}$, indicando que os modelos se ajustam bem aos dados experimentais.

Tabela 3 Resultado da análise de variância para as variáveis: cor a* (análises físicas), sólidos totais, cinzas, umidade (análises químicas), aroma de morango (perfil sensorial) e sabor, textura, impressão global (teste de aceitação) a 95% de confiança

Respostas	Fontes de Variação	SQ	GL	QM	Fcal	Ftab
<i>Análises físicas</i> Cor a*	Regressão	2,2241	5	0,4448	7,46	5,05
	Resíduo	0,2979	5	0,0595		
	Total	2,5221	10			
	Regressão	8,1023	5	1,6204	5,06	5,05
	Resíduo	1,6007	5	0,3201		
	Total	9,7030	10			
<i>Análises químicas</i> Sólidos totais Cinzas Umidade	Regressão	0,0348	5	0,0069	27,05	5,05
	Resíduo	0,0012	5	0,0002		
	Total	0,0361	10			
	Regressão	8,1023	5	1,6204	5,06	5,05
	Resíduo	1,6007	5	0,3201		
	Total	9,7030	10			
<i>Perfil sensorial</i> Aroma de morango	Regressão	0,9642	5	0,1928	5,05	5,05
	Resíduo	0,1908	5	0,0381		
	Total	1,1550	10			
	Regressão	3,0373	5	0,6074	10,11	5,05
	Resíduo	0,3001	5	0,0600		
	Total	3,3375	10			
<i>Teste de Aceitação</i> Sabor Textura Impressão global	Regressão	3,7945	5	0,7589	5,80	5,05
	Resíduo	0,6540	5	0,1308		
	Total	4,4485	10			
	Regressão	2,8988	5	0,5797	7,57	5,05
	Resíduo	0,3828	5	0,0765		
	Total	3,2816	10			

Em relação ao parâmetro cor a* a análise de regressão revelou efeito linear negativo ($p \leq 0,05$) para a variável leiteiro na coloração instrumental da bebida láctea fermentada (Tabela 2 e Figura 2), o que demonstra que o aumento na concentração de leiteiro em relação à base láctea diminui a cor vermelha do produto. A coordenada de cromaticidade a* indica a direção da cor, desta forma, a* maior que zero vai em direção ao vermelho, a* menor que zero vai

em direção ao verde (MINOLTA, 1994). Os valores de a^* foram negativos ($-a^*$) em direção ao vermelho. Este resultado ocorreu provavelmente em função da contribuição do leiteiro para mascarar a cor vermelha do preparado de polpa de morango nas diferentes amostras de bebida láctea, já que o leiteiro apresenta um corpo mais opaco que o soro lácteo. Como o soro lácteo é mais translúcido que o leiteiro a cor avermelhada da polpa de morango se expressa com maior intensidade nas bebidas com maior concentração de soro lácteo. Fator que influencia a cor do produto é a cor dos ingredientes utilizados em sua fabricação (ARYANA; MCGREW, 2007).

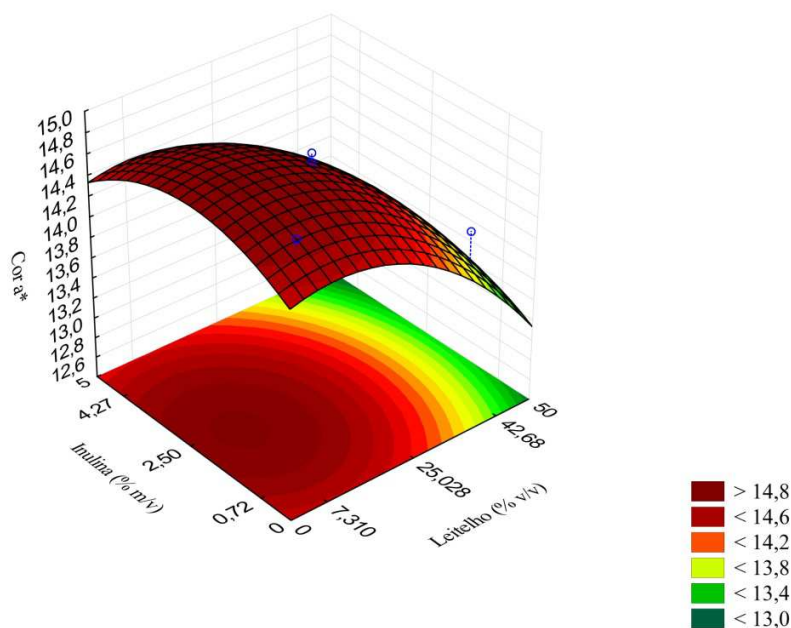
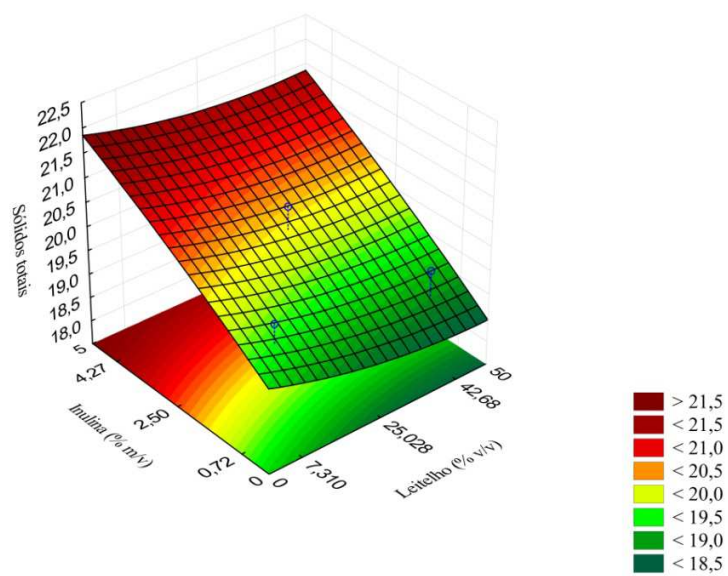
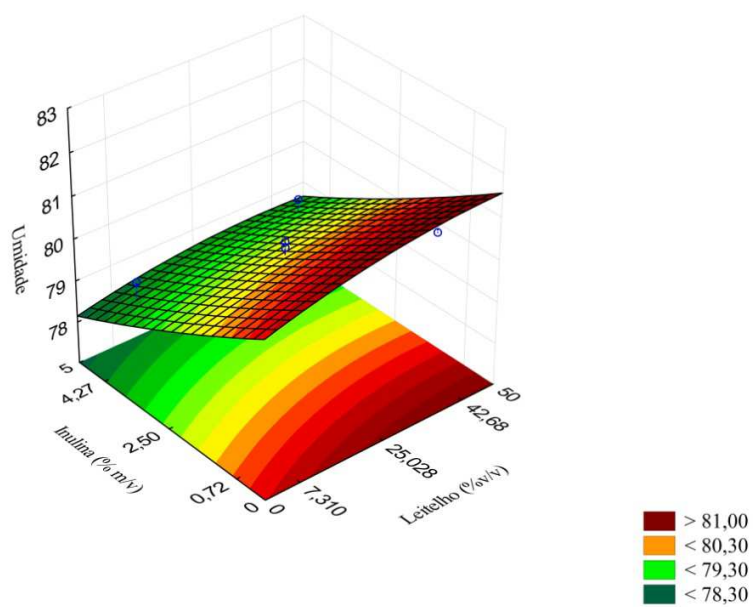


Figura 2 Superfície de resposta para o parâmetro de cor a^* da bebida láctea fermentada adicionada de leiteiro em relação à base láctea e inulina

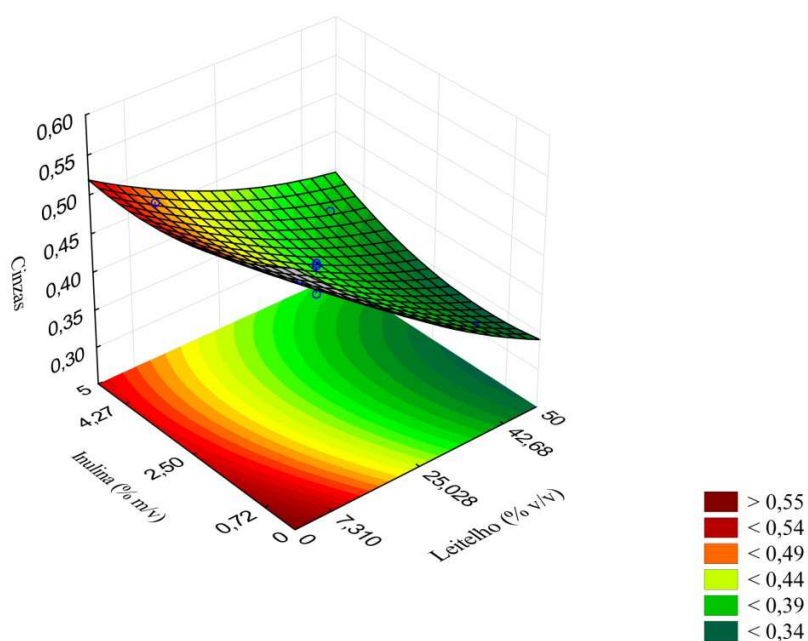
Os dados referentes aos teores de sólidos totais, umidade e cinzas das bebidas lácteas fermentadas estão apresentados na tabela 3 e figuras 3a, 3b e 3c, respectivamente.



(a)



(b)



(c)

Figura 3 Superfície de resposta para os teores de (a) sólidos totais, (b) umidade e (c) cinzas da bebida láctea fermentada adicionada de leitelho em relação à base láctea e inulina

Os sólidos totais exerceram efeito linear positivo ($p \leq 0,05$) sobre a variável independente inulina, ou seja, a adição de inulina à bebida láctea fermentada resultou no aumento do teor de sólidos totais e como consequência diminuição proporcional da umidade. O mesmo comportamento foi observado por Akalin et al. (2007) e Castro et al. (2008) em iogurte adicionado de inulina e bebida láctea suplementada com oligofrutose, respectivamente.

O teor de cinzas da bebida láctea fermentada adicionada de leitelho em proporção ao soro de leite e inulina variou entre 0,34 e 0,52%. Observou-se que o aumento da concentração de leitelho teve efeito linear negativo significativo sobre o teor de cinzas. Isso se deve ao baixo teor de cinzas do leitelho,

considerando que o mesmo foi obtido da bateção de creme o qual, para efeitos tecnológicos, foi padronizado com água. Esses valores foram menores que os encontrados por Costa et al. (2013) ao caracterizar bebida láctea fermentada com 50% de soro lácteo elaborada com estabilizante/espessante.

O painel sensorial treinado detectou influência das variáveis independentes leiteiro e inulina ($p \leq 0,05$) apenas para o atributo aroma de morango com valor médio de intensidade de 4,28. A superfície de resposta (figura 4) aponta tendência a maior aroma nas faixas de concentração extremas de leiteiro, porém na interação das variáveis estudadas observou-se que altas concentrações de leiteiro e inulina tendem a promover aumento mais acentuado do aroma de morango. É esperado que o incremento de inulina melhore o aroma do produto, pois segundo Cruz et al. (2011), de forma geral, o atributo sensorial aroma é um dos mais influenciados quando da adição de ingredientes prebióticos, pois quando incorporado na matriz do produto esses conferem e reforçam as ligações já existentes entre os componentes aromáticos do alimento. Diferente dos resultados obtidos neste estudo, Montanuci, Garcia e Prudêncio (2010), em teste com equipe treinada, observaram que a formulação de kefir elaborada com leite desnatado adicionado de inulina mostrou aroma doce menos intenso (3,10) que a formulação com leite integral, sem inulina (4,59).

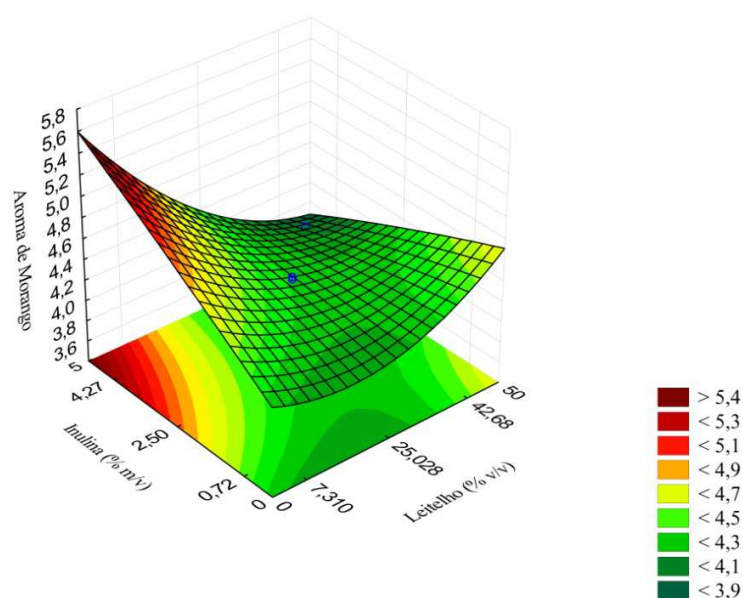
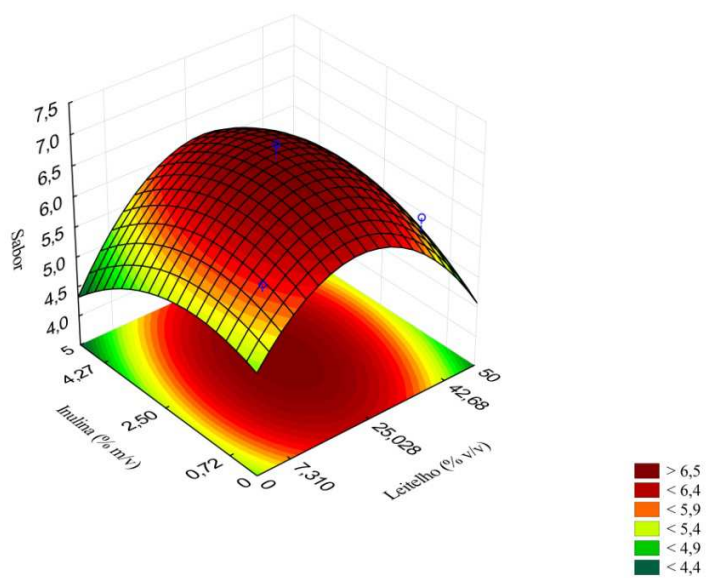


Figura 4 Superfície de resposta para o atributo aroma de morango da bebida láctea fermentada adicionada de leitelho em relação à base láctea e inulina

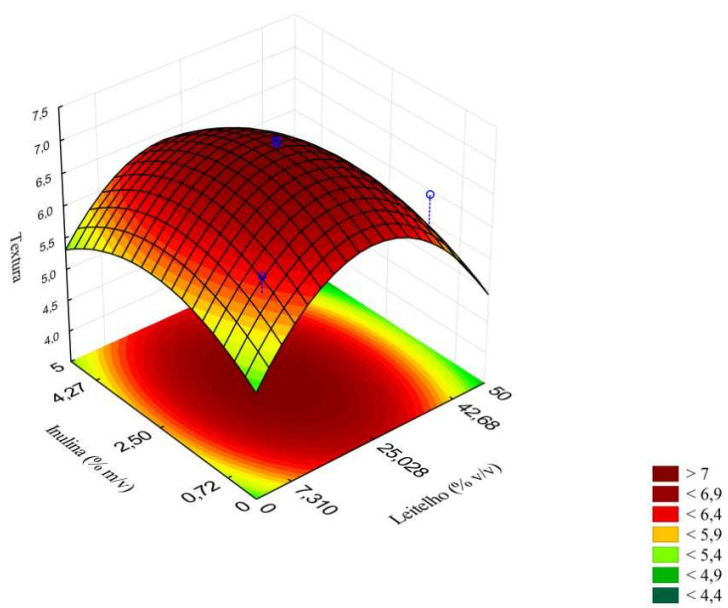
Os resultados referentes à aceitação em relação aos atributos sabor, textura e impressão global das bebidas lácteas fermentadas estão apresentados na Tabela 3 e Figuras 5a, 5b e 5c, respectivamente.

A aceitação da bebida em relação ao sabor foi influenciada tanto pelo leitelho quanto pela inulina ($p \leq 0,05$), onde o aumento nas concentrações dessas variáveis proporcionou aumento nos escores de aceitação.

Para esse atributo a superfície de resposta (Figura 5a) mostra que a nota máxima de aceitação (6,79) foi alcançada quando a bebida foi preparada com 25% de leitelho e 2,5% de inulina.



(a)



(b)

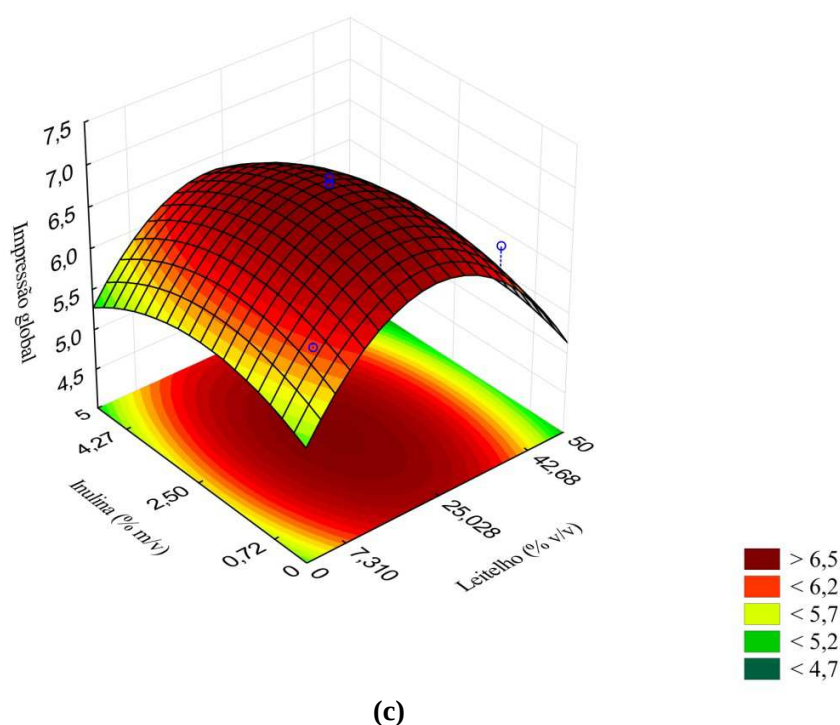


Figura 5 Superfície de resposta para a aceitação dos atributos (a) sabor, (b) textura e (c) impressão global da bebida láctea fermentada adicionada de leitelho em relação à base láctea e inulina

Observa-se, porém, que a tendência de boa aceitação (>6) corresponde à faixa de concentração de 10% a 40% de leitelho na formulação total da bebida combinada com a faixa de 1,0% a 3,5% de inulina, região que as notas sensoriais estão incluídas dentro da categoria gostei ligeiramente (notas entre 6,01 e 6,79). Guggisberg et al. (2009) estudaram o efeito da adição de diferentes teores de inulina (0 – 4%) nas características sensoriais de iogurte com baixo teor de gordura e verificaram que a inulina afetou significativamente os resultados sensoriais, tendo contribuído para a doçura do iogurte. Já Drgalic, Tratnik e Bozanic (2005) não observaram influência da inulina nas propriedades sensoriais de bebida fermentada à base de soro.

O modelo de regressão para a aceitação em relação à textura (tabela 3) indica que o coeficiente quadrático ($p \leq 0,05$) da concentração de leiteiro foi significativo na avaliação deste parâmetro (figura 5b), tendo como escores de aceitação que correspondem aos termos gostei ligeiramente e gostei moderadamente. Resultados similares foram obtidos para o atributo impressão global do produto (figura 5c). Portanto, verifica-se que para esses atributos a bebida láctea é bem aceita quando utiliza de 10% a 40% de leiteiro. Por serem mais líquidas as bebidas lácteas fermentadas têm grande aceitabilidade pelos consumidores. De acordo com Oliveira et al. (2006), as bebidas com 30 e 50% de soro líquido foram preferidas pelos provadores, quando comparadas à bebida elaborada com 10% de soro. A impressão global é traduzida pelo “conjunto” relativo à primeira impressão causada pelo produto como um todo, sem representar a média das notas das outras características avaliadas. Santos et al. (2011) observaram que para os atributos cor, aroma e aspecto global avaliados, o achocolatado em pó com fibra (inulina) foi o que apresentou as melhores médias, diferindo significativamente do achocolatado normal.

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir que:

- a) Altas concentrações de leiteiro em relação à base láctea contribuíram para o aumento da cor vermelha do produto.
- b) Os teores de cinzas diminuíram com o aumento do leiteiro e os sólidos totais aumentaram com o teor de inulina, com consequente redução da umidade, atendendo aos padrões de identidade e qualidade de bebidas lácteas.
- c) Dentre as características do perfil sensorial as maiores concentrações de leiteiro e inulina potencializaram o aroma de morango do produto.
- d) Concentrações intermediárias de leiteiro e inulina proporcionaram o aumento das notas de aceitação para o sabor, sendo que a textura e a impressão global obtiveram notas mais elevadas com maiores concentrações de leiteiro.
- e) A viabilidade de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 não foi alcançada em nenhuma das formulações, sendo, portanto, considerada uma bebida somente com apelo prebiótico.
- f) No geral, concentrações de 10% a 40% de leiteiro e 1,5% a 3,5% de inulina resultam em uma bebida láctea fermentada prebiótica com boa aceitação sensorial.

5 CONSIDERAÇÕES

Os resultados indicam que o leiteiro pode ser utilizado na formulação de bebidas lácteas fermentadas prebiótica. A inclusão desse ingrediente promoveu melhoria de qualidade do produto em relação àquele tradicionalmente produzido e comercializado. Isso permite à indústria, flexibilidade em termos de diferentes volumes de leiteiro a ser utilizado conforme sua disponibilidade na indústria. Com isso houve ganho de qualidade no produto e ganho econômico já que não existe, na maioria das vezes, utilização nobre para o leiteiro, sendo este descartado gerando problemas ambientais.

REFERÊNCIAS

- ARYANA, K. J.; MCGREW, P. Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. **LWT**, Oxford, v. 40, n. 10, p. 1808-1814, 2007.
- AKALIN, A.S.; TOKUSOGLU, Ö.; GÖNÇ, S.; AYCAN, S. Occurrence of conjugated linoleic acid in probiotic yoghurts supplemented with fructooligosaccharide. **International Dairy Journal**, v.17, p.1089-1095, 2007.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official method of analysis**. 18th ed. Washington, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº. 16, de 23 de agosto de 2005. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 24 agosto 2005, sec. 1, p. 7.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução - RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002. **Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos**. Diário Oficial da União, Brasília, DF; 2002.
- CASTRO, F.P. de.; CUNHA, T.M.; BARRETO, P.L.M.; AMBONI, R.D. de. M.C.; PRUDÊNCIO, E.S. Effect of oligofructose incorporation on the properties of fermented probiotic lactic beverages. **International Journal of Dairy Technology**, v.62, p.82-74, 2008.
- CHR. HANSEN. Method for counting probiotic bacteria. ***Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacteria* in milk products made with nutrish cultures**. Horsholm, Dinamarca, 1999. 9p. [Guideline].
- COSTA, A.V.S.; NICOLAU, E.S.; TORRES, M.C.L.; FERNANDES, P.R.; ROSA, S.I.R.; NASCIMENTO, R.C. Desenvolvimento e caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de bebida láctea fermentada elaborada com diferentes estabilizantes/espessantes. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.34, n.1, p. 209-226, jan./fev. 2013.
- CRUZ, A.G.; CADENA, R.S.; FARIA, J.A.F; BOLINI, H.M.A. Análise sensorial de produtos alimentícios probióticos e prebióticos. IN: SAAD, M.I.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F. (Ed.) **Probióticos e Prebióticos em Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2011, p.195-222.

DAMÁSIO, M.H.; COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo: Generación de descriptores y selección de catadores. **Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos**, n.31, v.2, p.165-178, 1991.

DRGALIC, I.; TRATNIK, I.; BOZANIC, R. Growth and survival of probiotic bacteria in reconstituted whey. *Lait*, v.85, p.171-179, 2005.

GUGGISBERG, D.; CURTHBERT-STEVEN, J.; PICCINALI, P. ; EBERHARD, P. Rheological, microstrutural and sensory characterization of low-fat and whole milk set yogurt as influenced by inulin addition. **International Dairy Journal**, Barking, v. 19, n. 2, p. 107-115, 2009.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físico-químicos para análise de alimentos**. 3. ed. São Paulo, 1985. 533p.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. Sensory evaluation techniques. 3. ed., Boca Raton, FL.: CRC Press, 1999. 387p.

MINOLTA. **Precise color communication: color control from feeling to instrumentation**. Osaka, Japan: MINOLTA, 1994. 49p.

MONTANUCI, F.D.; GARCIA, S.; PRUDÊNCIO, S.H. Caracterização sensorial e aceitação de kefir adoçado integral e desnatado com inulina. **Brazilian Journal Food Technology**, 6^o SENSIBER, 19 a 21 de agosto de 2010, p. 79-90.

MOSKOWITZ, H. R. **Product testing and sensory evaluation of foods**. Marketing and R&d approaches. Westort: Food and Nutrition Press, 1983. 605 p.

OLIVEIRA, V.M.; CORTEZ, M.A.S.; FREITAS, M.Q.; FRANCO, R.M. Avaliação sensorial da bebida láctea fermentada com diferentes concentrações de soro de queijo, enriquecida com ferro. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.13, p.67-70,2006.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia sequencial de planejamentos**. Campinas: Casa do Pão, 2005.

STATISTICA ANALYSIS. **Data Analysis Software System 8.0**. Stat-Soft, Tulsa, 2008.

SANTOS, H.M.C.; RUIZ, S.P.; MONTANHER, P.F.; OLIVEIRA, A.F.; MONTEIRO, A.R.G. Análise sensorial de achocolatado em pó comercial enriquecido com inulina. Anais Eletrônicos do VII EPCC – Encontro Nacional de Produção Científica Cesumar – Centro Universitário de Maringá - Pr, 2011. http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2011/anais/hevelyse_munise_celestino_dos_santos1.pdf. acesso em: 20.05.2013.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. Edição, São Paulo: Varela, 2010, 624 p.

STONE, H.; SIDEL, J. L. Sensory evaluation practices. 3 edição. New York: Academic Press. 2004. 408 p.

TOMIC, O.; LUCIANO, G.; NILSEN, A.; HYDIG, G.; LORENSEN, K.; NAES, T. Analysing sensory panel performance in a proficiency test using the PanelCheck software. **Europe Food and Technology**, v. 230, p. 497-511, 2010.

WAKELING, I. N.; MACFIE, J. H. Designing consumer trials balanced for first and higher orders of carree-over effect when only a subset of K samples from t may be tested. **Food Quality and Preference**, Barking, v. 6, n. 4, p. 299-308, 1995.

**CAPÍTULO 3 Aceitabilidade de bebida láctea simbiótica fermentada por
Bifidobacterium animalis subsp. *lactis* Bb-12 elaborada com
diferentes concentrações de leiteiro e inulina**

RESUMO

As propriedades benéficas e sensoriais dos derivados lácteos fermentados têm resultado no aumento do consumo de bebida láctea, o que permite às indústrias de beneficiamento do leite reduzir custos dos ingredientes devido à utilização de seus subprodutos. Embora ainda não largamente utilizado como ingrediente, o leitelho, subproduto da fabricação de manteiga possui grandes potencialidades de uso, não só em produtos lácteos mas também em não lácteos. Objetivou-se desenvolver e investigar a influência de diferentes concentrações de leitelho em relação à base láctea e de prebiótico (inulina) sobre a viabilidade probiótica e aceitação sensorial das bebidas lácteas fermentadas. Foi aplicado o Delineamento Central Composto Rotacional (DCCR) totalizando onze tratamentos. Todos os tratamentos apresentaram viabilidade probióticas (mínimo de 8,66 log UFC/mL e máximo de 9,21 log UFC/mL) estando de acordo com a legislação vigente para bebidas lácteas fermentadas. Entretanto, o tempo necessário para atingir a acidez desejada (pH 5,0) foi em média 13 horas e meia, tempo excessivamente longo para um processo industrial. Na avaliação sensorial a superfície de resposta ($p < 0,05$) foi gerada apenas para os atributos aparência, sabor e impressão global, apontando diferentes regiões com tendência a uma ampla faixa à melhor aceitação e indicando que a formulação constituída de 50% de leite, 40% de leitelho, 10% de soro lácteo, 1,5% de inulina (valor mínimo que atende a legislação quanto ao apelo prebiótico), 1% fruto-oligossacarídeos (FOS) e 8% de açúcar podem ser selecionadas para a etapa de estudo da estabilidade do produto durante 28 dias de armazenamento.

Palavras-chaves: Subproduto Lácteo. Qualidade. Prebiótico. Bebida fermentada. Aceitação sensorial

ABSTRACT

Beneficial and sensory properties of fermented dairy products have resulted in an increase in their consume, which allows milk processing industries to reduce ingredient costs due to sub product usage. Although buttermilk is still not widely used as an ingredient, this sub product of butter production has a great usage potential in dairy and non dairy products. The objective of this work was to develop and investigate the influence of different concentrations of buttermilk in relation to the milk basis and of probiotic (inulin) on probiotic viability and sensory acceptance of fermented dairy beverages. Central Composite Design (CCD) was applied in a total of eleven treatments. All treatments presented probiotic viability (minimum of 8.66 log UFC/mL) in accordance to present legislation for fermented dairy beverages. However, the time needed to achieve the desired acidity (pH 5.0) was in average 13 hours and a half, an excessively long time for an industrial process. In sensory evaluation, response surface ($p < 0.05$) was generated only for the attributes appearance, flavor and global impression pointing to different regions with a tendency to a wide range of better acceptance showing that the formula constituted with 50% milk, 40% buttermilk, 10% whey, 1.5% inulin (minimum value that attends legislation in relation to prebiotics), 1% fructooligosaccharides (FOS) and 8% sugar can be selected for the product stability phase during 28 days of storage.

Keywords: Dairy sub product. Quality. Prebiotic. Fermented beverage. Sensory acceptance

1 INTRODUÇÃO

A bebida láctea é definida como o derivado lácteo resultante da mistura do leite e soro de leite, adicionados ou não de fermentos e outros produtos lácteos, sendo que a base láctea deve representar, no mínimo, 51% (m/m) do total de ingredientes do produto. Bebidas lácteas fermentadas são obtidas pela ação de cultivos de micro-organismos específicos, que devem ser viáveis e ativos no produto final e durante todo o seu prazo de validade (BRASIL, 2005).

A bebida láctea é um produto do mercado lácteo brasileiro, com tecnologia de produção relativamente simples e acessível, mesmo para as indústrias de laticínios de pequeno porte, podendo ser adicionada de vários ingredientes havendo, ainda, a possibilidade da inclusão de outros ainda não explorados, dentre esses a utilização de leiteiro se apresenta como uma das mais promissoras.

Denomina-se leiteiro o leite líquido resultante da bateção do creme para fabricação da manteiga, adicionado ou não de leite desnatado e acidificado ou não biologicamente por fermentos selecionados, com desdobramento parcial da lactose e rico em ácido láctico, proteína e sais minerais. Pode ser exposto ao consumo no estado fresco ou em pó (BRASIL, 1950). A diferença entre leiteiro e soro está basicamente no volume produzido, sendo o soro significativamente maior, no entanto, ambos possuem alta taxa de matéria orgânica e consequentemente uma DBO muito elevada o que os torna altamente poluentes.

Produtos lácteos, como as bebidas lácteas, além de possuir sabor, aroma e textura agradável têm-se mostrado como importantes veículos para a incorporação de prebióticos e probióticos, cuja interação resulta em um alimento simbiótico.

Dentre os prebióticos a inulina é o mais utilizado na indústria de laticínios brasileira. Trata-se de um carboidrato não digerível, presente em

vários vegetais, frutos e cereais, utilizados como ingrediente na indústria de alimentos em uma grande variedade de produtos (laticínios, confeitaria, sorvete, bebidas e patês), devido aos seus benefícios tecnológicos e nutricionais.

Dentre os probióticos, as espécies de *bifidobacterium* mais utilizadas industrialmente são: *B. longum*, *B. bifidus*, *B. essencis*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis* e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12, sendo esta última a de maior aplicação e utilizadas preferencialmente em produtos à base de iogurte, por apresentar boa sobrevivência no trato digestório e tolerância à presença de oxigênio e baixo pH (ANAL; SINGH, 2007; SHAH, 2007; JAYAMANNE; ADAMS, 2006). A temperatura para o crescimento eficaz desses micro-organismos varia entre 37 a 41°C, ocorrendo crescimento máximo de 43 a 45°C e mínimo de 25 a 28°C. Em relação pH são ácidos tolerantes, com valores ideais de pH entre 6,0 e 7,0 e não ocorre crescimento abaixo de 4,5 a 5,0 ou acima de 8,0 a 8,5 (SHAH, 2007; RIVERA-ESPINOZA; GALLARDO-NAVARRO, 2010).

No trabalho anterior (capítulo 2) a *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12, quando utilizada em conjunto com bactérias mesofílicas de *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetyllactis* e *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* não foram detectadas células viáveis indicando morte celular. Desta forma faz-se necessário conhecer o comportamento dessa bactéria probiótica quando utilizada como cultura pura em bebida láctea elaborada com leiteiro.

Face ao exposto o presente trabalho teve como objetivos avaliar a aceitabilidade sensorial das bebidas lácteas fermentadas com diferentes concentrações de leiteiro e inulina e verificar a viabilidade da bactéria *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Bebidas lácteas fermentadas por *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12, foram elaboradas com concentração fixa de 50% de leite, concentrações variáveis de leiteiro e para completar 100% da base láctea foi utilizado soro lácteo adicionado de inulina, de acordo com o delineamento experimental (Tabela 1).

2.1 Delineamento experimental

Neste estudo foi adotado o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) consistindo de fatorial 2^2 , com dois níveis equidistantes de variação, codificados em -1 e $+1$, quatro pontos axiais ($\pm\alpha$, 0); (0, $\pm\alpha$) e três pontos centrais (0), resultando em onze tratamentos (RODRIGUES; IEMMA, 2005), sendo as variáveis independentes representadas pela percentagem de leiteiro em relação à base láctea (X_1) e de inulina (X_2), conforme Tabela 1.

Tabela 1 Delineamento experimental Composto Central para a elaboração das bebidas lácteas com diferentes teores de leiteiro e inulina

Tratamentos	Variáveis codificadas		Variáveis reais	
	X_1	X_2	X_1 (% v/v)	X_2 (%m/v)
1	-1	-1	7,2	0,72
2	-1	1	7,2	4,27
3	1	-1	42,7	0,72
4	1	1	42,7	4,27
5	1,414	0	50,0	2,5
6	-1,414	0	0	2,5
7	0	1,414	25,0	5,0
8	0	-1,414	25,0	0
9	0	0	25,0	2,5
10	0	0	25,0	2,5
11	0	0	25,0	2,5

X_1 = % de leiteiro em relação à base láctea; X_2 = % de inulina

2.2 Elaboração das bebidas lácteas

Para cada tratamento a bebida láctea fermentada foi produzida a partir da mistura de 50% de leite comercial integral pasteurizado homogeneizado, soro de leite (obtido da fabricação de queijo tipo Minas Frescal), leitelho (obtido da fabricação de manteiga), inulina (Raftilose, Beneo GR[®], Orafti, Oreye, Bélgica), 8% sacarose e 1% oligofrutose (Raftilose, Beneo P95[®], Orafti, Oreye, Bélgica). Leitelho e inulina foram adicionados na quantidade definida para cada tratamento nas concentrações previstas no delineamento estatístico (Tabela 1). A mistura foi aquecida até atingir 55°C, sob agitação constante, permanecendo nesta temperatura por cinco minutos e, em seguida, pasteurizada a 82°C por 20 minutos e teve sua temperatura ajustada em banho de gelo e água a 38°C para posterior inoculação. Ao ser atingida a temperatura de fermentação para cada tratamento foi adicionado o inóculo constituído por cultura probiótica (Bb-12[®], Chr Hansen, Hónsholm, Dinamarca) de *Bifdobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 na concentração recomendada, de acordo com o fabricante. A fermentação foi conduzida à temperatura de 38°C até que o pH em torno de 5,0 fosse alcançado. Após essa etapa o produto fermentado foi gradualmente resfriado em banho de gelo e água até a temperatura de 10°C para a realização do rompimento do coágulo, gerando, assim, a bebida láctea fermentada. O fluxograma de fabricação das bebidas encontra-se ilustrado na Figura 1.

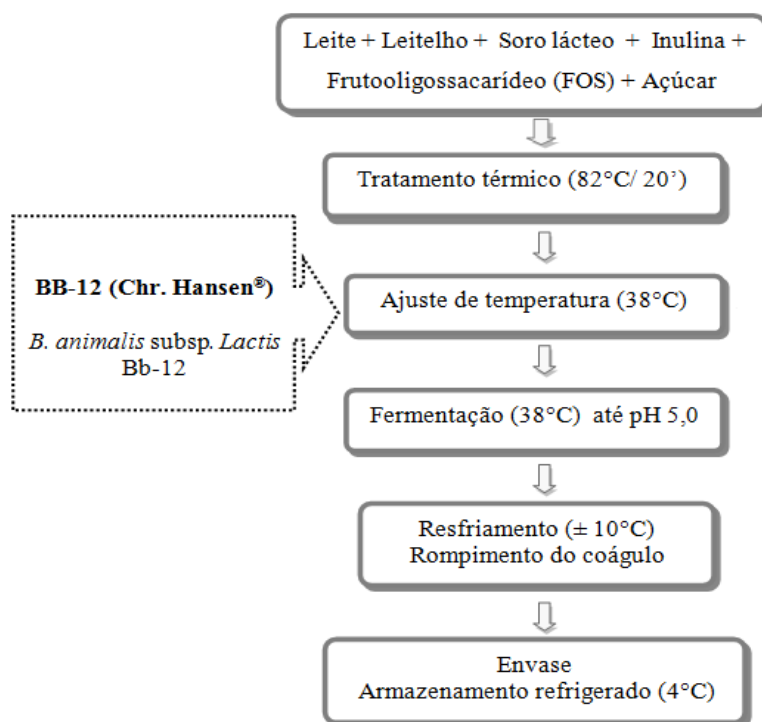


Figura 1 Fluxograma para a obtenção das bebidas lácteas fermentadas

2.3 Determinação do tempo de fermentação, pH e acidez titulável

Durante o processo fermentativo a determinação do pH foi realizada utilizando medidor de pH previamente calibrado *Tecnal* (modelo Tec-3MP), em intervalos de 1 hora, até atingir o pH 5,0, quando se registrou o tempo de fermentação de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (1985).

A acidez titulável (expressa em percentagem de ácido láctico) foi obtida por titulação com NaOH 0,1N utilizando fenolftaleína como indicador (PEREIRA et al., 2001).

2.4 Análises microbiológicas

2.4.1 Quantificação de coliformes

Para a determinação da qualidade higiênico-sanitária as bebidas lácteas fermentadas foram submetidas à avaliação microbiológica, por meio da determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes antes da avaliação sensorial, conforme metodologia descrita por Silva et al. (2010).

2.4.2 Viabilidade da cultura probiótica

Para a contagem de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 foi utilizado Ágar MRS (Man Rogosa and Sharpe) adicionado de 5 mL de solução a 10% de cloreto de cisteína para cada 1000mL de meio de cultura segundo Chr Hansen (1999). As placas foram incubadas em jarras de anaerobiose contendo gerador Anaerobac® (Probac do Brasil) a 37°C por 72 h. Após esse período de incubação foi realizada a contagem de UFC (em triplicata), expressa em log de unidade formadora de colônia por mL (log UFC/mL).

2.5 Análise sensorial

A avaliação sensorial das formulações foi realizada por meio do teste de aceitação dividido em três sessões. Duas sessões com quatro amostras e uma sessão com três amostras. A análise foi conduzida por uma equipe de 60 provadores não treinados utilizando uma escala hedônica de nove pontos (1- desgostei extremamente a 9- gostei extremamente), indicando o quanto gostaram ou desgostaram da aparência, aroma, sabor, textura e impressão global

do produto (STONE; SIDEL, 2004). As amostras foram servidas em porção de 30 mL para cada respectiva formulação em copos plásticos descartáveis de 50 mL, codificados com números aleatórios de três dígitos e apresentadas monodicamente de forma balanceada (WAKELING; MACFIE, 1995), acompanhadas com ficha de avaliação (APÊNDICE F) e água para a limpeza do palato. O teste foi realizado em cabines individuais no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciência dos Alimentos sobre o parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (PARECER CEP N°. 283.492, CAAE – 12866013.9.00005148) da Universidade Federal de Lavras.

2.6 Análise estatística dos resultados

Utilizou-se a metodologia de superfície de resposta para avaliar o efeito das concentrações de leiteiro em relação à base láctea e inulina sobre as variáveis dependentes (Y), que se referem à aceitação dos produtos através do teste de aceitação para os atributos sensoriais aparência, aroma, sabor, textura e impressão global. A variável resposta (Y) foi a média das notas de aceitação de cada atributo sensorial.

A Regressão Linear Múltipla (RLM) foi usada para obter os termos linear, quadrático e de interação do modelo matemático abaixo (Equação 1):

$$y = \beta_0 + \beta_1 \chi_1 + \beta_2 \chi_2 + \beta_{12} \chi_1 \chi_2 + \beta_{11} \chi_1^2 + \beta_{22} \chi_2^2 + \varepsilon \quad (1)$$

Em que β_0 , β_1 , β_2 , β_{12} , β_{11} e β_{22} são os coeficientes de regressão, y são as variáveis dependentes (respostas) em questão, X_1 e X_2 são as variáveis independentes expressas em forma codificadas (leitelho e inulina) e ε o erro

experimental. Os resultados das variáveis respostas foram analisados por meio da metodologia de superfície de resposta. A análise de variância (ANOVA) foi aplicada para testar a adequação dos modelos. Para avaliar o ajuste dos modelos, foi observada a significância da regressão pelo teste F e coeficiente de determinação ($R^2 \geq 0,70$). Utilizou-se o teste de t para avaliar a significância dos parâmetros dos modelos ao nível de 5% de significância. Para se visualizar o efeito das variáveis independentes nas respostas avaliadas foram plotados gráficos de superfície de resposta, quando a análise de variância mostrou-se significativa. O processamento dos dados foi realizado utilizando o software Statistica 8.0 (STATISTICA ANALYSIS, 2008).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Tempo de fermentação, pH, Acidez titulável e viabilidade probiótica

Quanto à avaliação microbiológica pela determinação do número mais provável (NMP) de coliformes (35°C a 45°C), não se verificou contaminação por bactérias desse grupo, indicando que o processo de elaboração das bebidas seguiu as Boas Práticas de Fabricação (BPF) recomendadas pelo MAPA (BRASIL, 2002), tornando-as aptas para o consumo.

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados do tempo de fermentação, valor de pH, acidez titulável e contagem de células viáveis de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12.

Tabela 2 Tempo de fermentação, pH, acidez titulável e contagem de células viáveis de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 das onze formulações de bebida láctea simbiótica fermentada com diferentes concentrações de leiteiro em relação à base láctea e inulina

Tratamentos	Tempo de fermentação (Horas) *	Valor de pH*	Acidez (% ácido láctico) *	Log ₁₀ UFC/mL*
T1	12h30min	4,89 ±0,01	0,41±0,01	8,75±0,10
T2	14h35min	4,87±0,01	0,48±0,00	8,83±0,07
T3	14h10min	4,91±0,02	0,41±0,01	8,98±0,02
T4	13h35min	4,85±0,02	0,48±0,01	9,12±0,12
T5	14h05min	4,86±0,01	0,42±0,02	9,21±0,10
T6	14h30min	4,85±0,05	0,41±0,01	8,96±0,04
T7	14h45min	4,80±0,02	0,49±0,01	8,74±0,13
T8	13h20min	4,85±0,06	0,41±0,01	8,84±0,16
T9	13h55min	4,82±0,01	0,44±0,00	8,93±0,05
T10	13h50min	4,81±0,02	0,43±0,01	9,16±0,03
T11	13h35min	4,82±0,03	0,43±0,01	8,65±0,01

*Resultados são as médias e ± Desvio padrão.

Observa-se na Tabela 2 que o tempo de fermentação entre os tratamentos variaram 12 a 14 horas para alcançar o pH em torno de 5,0, tempo

este mais curto do que os encontrados por Zacarchenco e Massaguer-Roig, (2004) e Macedo, Luchese e Guerra (2008). Vários autores (FERREIRA, 2012; GOMES; MALCATA, 1999; KLAVER; KINGMAN; WEERKAMP, 1993) têm relatado que o gênero *Bifidobacterium* em cultura pura apresenta longo tempo para promover a acidificação desejável para leite fermentado. Para contornar essa dificuldade de abaixamento de pH algumas culturas têm sido empregadas associadas a culturas probióticas, de preferência culturas lácticas mesofílicas (*Lactococcus* ssp.) e termofílicas (*Streptococcus thermophilus* / *Lactobacillus* ssp) (FERREIRA, 2012; SAXELIN et al., 1999; SAARELA et al., 2000). Entretanto, Oliveira et al. (2002) relataram que apesar das dificuldades o emprego de culturas probióticas puras, com a finalidade de se obter produtos lácteos fermentados é possível, dependendo da espécie e cepa, da concentração do inóculo e da adição de determinados fatores de crescimento que irão facilitar a multiplicação das culturas probióticas e, conseqüentemente, o processo fermentativo.

Apesar de a fermentação ter sido encerrada e o resfriamento com pH iniciado em torno de 5,0, os valores de pH encontrados nos onze tratamentos ao término da fermentação e resfriamento variaram de 4,80 a 4,91. Embora o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea não estabeleça padrão para o valor de pH de bebidas lácteas fermentadas, o controle de pH é importante no processo de fermentação para que não ocorram possíveis separações de fases, acidificação elevada influenciada pelo tempo de fermentação além de alterações dos atributos de qualidade, limitando sua aceitação.

Diferenças nos valores de pH nos diferentes produtos podem estar relacionadas ao tipo e porcentagem de cultura utilizada, à atividade desta cultura, ao valor estabelecido para finalizar a fermentação, à quantidade de soro lácteo utilizado na elaboração das bebidas lácteas, à adição de diferentes

ingredientes, assim como ao tempo de armazenamento (THAMER; PENNA, 2006). Ressalta-se que as únicas variações de ingredientes neste trabalho foram a proporção de leite em relação à base láctea e inulina. Almeida, Bonassi e Roça (2001) ao desenvolverem bebidas lácteas fermentadas, utilizando cultura mista comercial e concentrações de soro variando de 30 a 50%, encontraram valores de pH entre 4,5 a 5,0, próximos aos resultados encontrados neste estudo.

Os valores de acidez titulável obtidos nos tratamentos variaram na faixa de 0,41 a 0,49% de ácido láctico e são muito inferiores aos estabelecidos na legislação para iogurte, de 0,7 a 1,25% de ácido láctico (BRASIL, 2007), não havendo no RTIQ de bebidas lácteas fermentadas padrões de acidez titulável. Os maiores valores foram observados quando utilizados maiores teores de inulina (4,27% e 5%), sugerindo diferentes atividades metabólicas dos micro-organismos probióticos nesses tratamentos. Segundo Thamer e Penna (2006) a acidez titulável está relacionada com o tipo de sólido adicionado, lácteo ou não, e com a atividade da cultura responsável pela fermentação.

O ácido láctico é um conservante natural, o que torna o produto biologicamente seguro e exerce grande influência sobre os atributos de qualidade dos produtos fermentados, sendo um fator que quando em excesso limita sua aceitação. Desta forma, a baixa acidez de todas as bebidas lácteas elaboradas neste estudo favorece sua aceitabilidade pelos consumidores. Além de contribuir para a desestabilização das micelas de caseína e, conseqüentemente, para a formação do gel, este ácido proporciona o sabor característico podendo acentuar o aroma do produto.

De acordo com a Instrução Normativa nº 16 de 23 agosto de 2005 (BRASIL, 2005), nas bebidas lácteas fermentadas os micro-organismos dos cultivos utilizados devem ser viáveis e ativos e estar em concentração igual ou superior a 10^6 UFC/mL no produto final e durante o seu prazo de validade. Assim, a contagem de micro-organismo probiótico nas formulações de bebidas

láticas atende ao recomendado pela legislação, visto que as bebidas variaram de 8,65 a 9,21 log UFC/mL de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12. Todas as bebidas foram classificadas como probióticas, pois segundo a legislação vigente, para que o produto seja considerado funcional ele deve apresentar, até o final do seu prazo de validade, pelo menos entre 10^8 e 10^9 UFC na porção diária, o que equivale ao consumo de 100 mL de produto contendo entre 10^6 e 10^7 UFC de micro-organismos probióticos (BRASIL, 2002).

3.3 Avaliação sensorial

As médias de aceitação em relação aos atributos aparência, aroma, sabor, textura e impressão global dos onze tratamentos previstos no delineamento estatístico estão apresentados na tabela 3, a qual permite uma melhor visualização dos resultados obtidos.

Tabela 3 Médias de aceitação em relação aos atributos aparência, aroma, sabor, textura e impressão global das 11 formulações de bebida láctea simbiótica fermentada por *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12, com diferentes concentrações de leiteiro em relação à base láctea e inulina, segundo o delineamento composto central rotacional (DCCR)

Trat.	Respostas (Teste de aceitação) *				
	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	Impressão Global
1	6,33±2,10	6,73±1,71	6,82±1,68	6,65±1,73	6,62±1,48
2	6,58±1,90	5,65±1,85	3,80±2,18	5,13±1,93	5,00±1,94
3	6,68±1,80	6,67±1,43	5,40±2,01	6,47±1,50	6,40±1,82
4	6,72±1,35	6,47±1,54	6,48±1,72	6,68±1,48	6,07±1,43
5	6,80±1,39	6,33±1,60	6,05±1,71	6,42±1,88	6,23±1,47
6	6,67±1,71	6,33±1,89	6,42±1,97	6,37±1,64	6,12±1,86
7	6,43±1,77	6,03±1,80	4,20±2,06	6,22±2,09	5,35±1,99
8	6,50±1,74	4,70±1,86	5,43±2,18	4,63±2,12	5,45±1,95
9	7,10±1,41	6,78±1,83	6,72±2,04	6,78±1,60	6,80±1,74
10	7,07±1,33	6,77±1,33	6,73±1,78	6,77±1,68	6,78±1,54
11	7,11±1,97	6,75±1,63	6,70±2,03	6,53±2,21	6,83±1,39

*Resultados expressos como média ± desvio padrão

Na análise estatística do planejamento DCCR foram estimados os efeitos dos fatores (proporção de leiteiro e concentração de inulina) lineares, quadráticos e de interação, de acordo com a equação 1 para as variáveis respostas em estudo. Os resultados da análise estatística são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 Estimativa dos coeficientes de regressão do modelo completo para as variáveis respostas da aceitação sensorial

Atributos	Fatores	Coefficientes	Erro padrão	P	R ²
Aparência	Intercepto β_0	7,0934	0,0462	<0,0001	0,95
	(1)Leitelho (L)*	0,08441	0,0283	0,0310	
	Leitelho (Q)*	-0,1851	0,0338	0,0027	
	(2) Inulina (L)	0,0239	0,0283	0,4368	
Aroma	Inulina (Q)*	-0,3210	0,0338	0,0002	0,52
	(1) Leiteiro/Inulina (2)	-0,0525	0,0400	0,2473	
	Intercepto β_0	6,7265	0,3561	<0,0001	
	(1)Leitelho (L)	0,0950	0,2181	0,6812	
	Leitelho (Q)	-0,0651	0,2596	0,8119	
	(2) Inulina (L)	0,0750	0,2181	0,7446	
	Inulina (Q)	-0,5477	0,2596	0,0886	
	(1) Leiteiro/Inulina (2)	0,2200	0,3084	0,5075	
Sabor	Intercepto β_0	6,7162	0,1683	<0,0001	0,96
	(1)Leitelho (L)	0,0925	0,1032	0,4110	
	Leitelho (Q)	-0,2151	0,1231	0,1412	
	(2) Inulina (L)*	-0,4606	0,1032	0,0066	
	Inulina (Q)*	-0,9293	0,1231	0,0006	
	(1)Leitelho/Inulina (2)*	1,0250	0,14578	0,0008	
Textura	Intercepto β_0	6,6932	0,3689	<0,0001	0,58
	(1)Leitelho (L)	0,1801	0,3689	0,4615	
	Leitelho (Q)	-0,0684	0,2690	0,8092	
	(2) Inulina (L)	0,1173	0,2259	0,6258	
	Inulina (Q)	-0,5536	0,2690	0,0946	
	(1) Leiteiro/Inulina (2)	0,4325	0,3195	0,2338	
I. Global	Intercepto β_0	6,8023	0,1973	<0,0001	0,85
	(1)Leitelho (L)	0,1260	0,1210	0,3455	
	Leitelho (Q)	-0,2549	0,1444	0,1378	
	(2) Inulina (L)	-0,2621	0,1210	0,0825	
	Inulina (Q)*	-0,6447	0,1444	0,0066	
	(1) Leiteiro/Inulina (2)	0,3225	0,1709	0,1178	

L = efeito linear; Q = efeito quadrático; p = p-valor; *Valores significativamente diferentes (p < 0,05).

A adequabilidade dos modelos completos pode ser verificada pelos coeficientes de determinação (R^2), que explicam entre 52% a 96% da variância total das respostas e pela análise de variância (Tabela 4).

Observa-se, na Tabela 5, a análise de variância para os atributos de aceitação sensorial aparência, aroma, sabor, textura e impressão global.

Tabela 5 Análise de variância para os atributos de aceitação sensorial aparência, aroma, sabor, textura e impressão global a 95% de confiança

Respostas	Fontes de Variação	SQ	GL	QM	Fcal	Ftab
Aparência	Regressão	0,701102	5	0,140220	21,8055	5,05*
	Resíduo	0,032152	5	0,006430		
	Total	0,733255	10			
Aroma	Regressão	2,060000	5	0,412276	1,0833	5,05
	Resíduo	1,902713	5	0,380543		
	Total	3,964091	10			
Sabor	Regressão	10,820805	5	2,164161	25,4578	5,05*
	Resíduo	0,425050	5	0,085010		
	Total	11,245850	10			
Textura	Regressão	2,900000	5	0,580554	1,4213	5,05
	Resíduo	2,042322	5	0,408464		
	Total	4,945091	10			
I. Global	Regressão	3,447111	5	0,689422	5,8996	5,05*
	Resíduo	0,584289	5	0,116858		
	Total	4,031400	10			

Nota-se que tanto para os atributos aroma e textura o $F_{\text{calculado}}$ foi menor que o F_{tabelado} , significando que o modelo não se ajustou aos dados não sendo geradas as superfícies para esta resposta.

Na tabela 6 encontram-se as equações de regressão com as variáveis codificadas dos modelos completos. Para avaliação das variáveis respostas os modelos de regressão foram estabelecidos e optou-se por apresentar o modelo completo (com todos os fatores) para as variáveis dependentes em que o coeficiente de determinação (R^2) foi $\geq 70\%$, uma vez que a eliminação dos

fatores não significativos reduziu esse valor abaixo do limite e o $F_{\text{calculado}} \geq F_{\text{tabelado}}$.

Tabela 6 Equações de regressão com variáveis codificadas e coeficientes de determinação para variáveis respostas aparência, sabor e impressão global

Variáveis respostas	Modelos de regressão ajustados	R ²
Aparência	$7,0933 + 0,0844X_1 - 0,1851X_1^2 + 0,0239X_2 - 0,321002X_2^2 - 0,0525X_1 X_2$	0,95
Sabor	$6,7267 + 0,0925X_1 - 0,2151X_1^2 - 0,4606X_2 - 0,9293X_2^2 + 1,0250X_1 X_2$	0,96
Impressão global	$6,8023 + 0,1260X_1 - 0,2549X_1^2 - 0,2621X_2 - 0,6447X_2^2 + 0,3225 X_1 X_2$	0,85

X_1 = % de leiteiro em relação à base láctea; X_2 = % de inulina

Em relação ao atributo aparência, as médias de aceitação da bebida láctea fermentada adicionada de leiteiro e inulina variaram entre 6,33 e 7,11. De acordo com a Tabela 4, a avaliação desse atributo mostra que um efeito linear negativo e um efeito quadrático negativo da concentração de leiteiro e inulina foram significativos ($p < 0,05$), mostrando que o aumento na concentração de inulina e leiteiro proporciona um aumento dos escores de aceitação até atingir um máximo, quando níveis maiores de inulina e leiteiro proporcionam uma diminuição das notas para a aparência do produto.

Por meio da superfície de resposta (Figura 2) gerada pelo modelo para o atributo aparência, observa-se que notas de aceitação acima de 6 foram dadas para todas as concentrações de inulina e leiteiro, exceto para as concentrações 0% de leiteiro / inulina e 0% de leiteiro e 0,25% de inulina. Notas maiores que 7 encontram-se situadas próximas ao ponto central para as formulações contendo 2 a 3,5% de inulina e 20 a 40% de leiteiro. Formulações contendo concentração de inulina acima de 3,5% obtiveram diminuição da nota sensorial para o atributo aparência. Embora as maiores notas estejam localizadas próximas ao ponto central nota-se que os diferentes níveis de concentração de leiteiro e inulina, estudados na elaboração da bebida láctea fermentada foram

bem aceitos, apresentando-se entre as categorias gostei ligeiramente e gostei moderadamente, correspondendo aos escores 6 e 7 na escala hedônica de nove pontos.

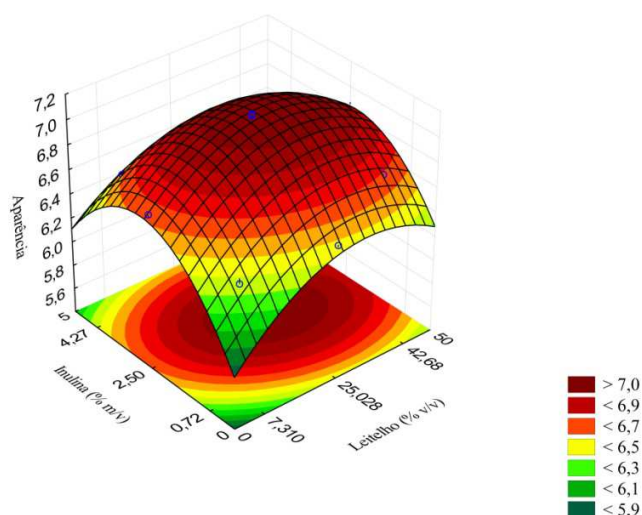


Figura 2 Superfície de resposta para o atributo de aceitação aparência da bebida láctea simbiótica fermentada por *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 adicionada de diferentes concentrações de leitelho em relação à base láctea e inulina

A primeira impressão que se tem de um alimento é geralmente visual, sendo que a aparência é um dos aspectos considerados fundamentais na qualidade e aceitação do produto. Alves (2009) estudou diferentes concentrações de inulina e culturas de *Lactobacillus acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12 no desenvolvimento de *cream cheese* simbiótico e verificou, por meio da aceitação sensorial, que não houve diferença ($p > 0,05$) entre as formulações para este atributo. Entretanto, resultado de aceitação encontrado por Brandão (2007), ao desenvolver uma bebida fermentada simbiótica de soro lácteo envolvendo diferentes quantidades de probiótico *Lactobacillus acidophilus* e prebiótico inulina obteve diferença significativa

($p < 0,05$) para o atributo aparência, onde a formulação com maior quantidade de inulina (4%) apresentou menor índice de aceitabilidade (65%).

Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para o atributo aroma (Tabela 4) tendo média de aceitação 6,72, ou seja, as concentrações de leiteiro em proporção ao soro lácteo e inulina não influenciaram na aceitação da bebida quanto a esse atributo. Sabe-se que o aroma em produtos lácteos fermentados está associado à presença de compostos carbonílicos, em particular o acetaldeído no produto final, podendo variar de um produto para outro (OTT et al., 2000). Segundo Oliveira (2009), a concentração de acetaldeído presente nos leites fermentados contendo bactérias probióticas é inferior aos fabricados com a cultura clássica do iogurte. Drunkler (2009) observou que o aumento na concentração de inulina não apresentou efeito sobre o aroma de requeijão cremoso simbiótico.

Por meio do resultado estatístico (Tabela 4), observa-se, que para o atributo sabor, as concentrações de inulina apresentaram os termos linear e quadrático, bem como a interação entre a concentração de leiteiro e inulina, ambos a 5% de significância. O termo linear e quadrático da concentração de inulina foi significativamente negativo, indicando que inicialmente o aumento da inulina proporciona um aumento das notas sensoriais até atingir um máximo, a partir de então níveis maiores de inulina proporcionam diminuição das notas para o sabor do produto. A interação positiva e significativa dos fatores estudados evidencia que com o aumento das concentrações de leiteiro e inulina existe uma tendência à diminuição das notas sensoriais atribuídas.

Observa-se na Figura 3 que a região de maior aceitação para sabor está situada entre os valores 0% e 1,2% para a variável inulina e entre 0% e 5% para a variável leiteiro, correspondendo ao termo gostei moderadamente, porém, notas maiores que 6 que correspondem ao termo gostei ligeiramente, foram encontradas com o incremento simultâneo de inulina e leiteiro, indicando que

concentrações de leiteiro podem ser utilizadas até níveis de 50%, desde que a de inulina esteja entre 2,3 e 4,5% na formulação do produto. O produto obteve notas correspondentes aos termos não gostei/nem desgostei a desgostei muito para as concentrações altas de leiteiro/baixa inulina e alta inulina/baixa leiteiro. De acordo com Villegas et al. (2010) a inulina, em particular a de cadeia curta, tem mostrado ter um perfil de doçura semelhante ao da sacarose o que pode aumentar significativamente o nível de doçura do produto. O estudo de Cardarelli et al. (2008) avaliou o efeito de *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* LBC 82, bactéria potencialmente probiótica, adicionada separadamente ou em conjunto com a inulina sobre as propriedades sensoriais de uma mousse de chocolate funcional durante o armazenamento a 4°C e verificou-se que ambas as mousses probiótica e simbiótica apresentaram as percepções de aroma, sabor e textura diferentes uma da outra e da mousse controle após 14 e 21 dias de armazenamento. Moderada produção de ácido acético pode também ter contribuído para a melhoria das notas sensoriais para este atributo de aceitação.

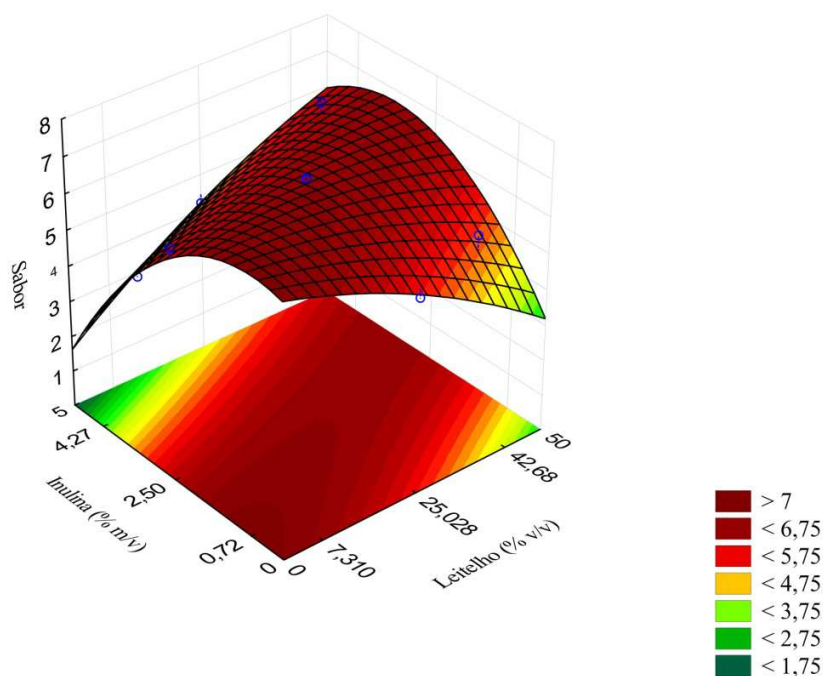


Figura 3 Superfície de resposta para o atributo de aceitação sabor da bebida láctea simbiótica fermentada por *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 adicionada de diferentes concentrações de leitelho em relação à base láctea e inulina

A textura da bebida apresentou escore médio de aceitação 6,69 e não teve efeito significativo ($p>0,05$) dos diferentes níveis de concentração de leitelho e inulina estudados. Sabe-se que a inulina atua como agente de corpo aos derivados lácteos. Segundo Kip et al. (2006), a inulina, mesmo em baixas concentrações, é capaz de interferir no aspecto do produto, melhorando a cremosidade e a viscosidade. Entretanto, Donkor et al. (2007) relataram que o iogurte de soja controle forneceu uma melhor sensação durante a degustação que o iogurte suplementado com inulina.

As notas da impressão global variaram entre 5,0 e 6,83. A análise estatística para esse atributo (Tabela 4), avaliado a 5% de significância, indica

que foi significativo apenas o coeficiente quadrático para a concentração de inulina o qual foi negativo, o que demonstra que aumentando a sua concentração ocorre a diminuição das notas sensoriais. Como pode ser observado na superfície de resposta (Figura 4), formulações com concentrações extremas de inulina apresentaram notas abaixo de 6 que se encontram dentro da categoria não gostei/nem desgostei a desgostei muito na escala hedônica. Excluindo essas regiões extremas, quaisquer combinações de inulina/leitelho apresentaram notas entre 6 e 7 que estão incluídas dentro da categoria gostei ligeiramente a gostei moderadamente, portanto bem aceitas pelos provadores.

A impressão global mostra como foi a percepção causada em relação ao produto no conjunto dos atributos. Gonzalez, Koushik e Sancho-Madriz (2011), ao estudar o efeito do prebiótico fruto-oligossacarídeo (FOS) e como ingrediente simbiótico (fruto-oligossacarídeo e *Lactobacillus acidophilus*) em iogurte líquido sabor pêssego na aceitação do consumidor, verificaram que a média das notas para aceitação global e flavor foram semelhantes para todas as amostras, porém ambas mostraram ($p < 0,05$) e que os simbióticos apresentaram um efeito negativo sobre a aceitabilidade das bebidas de iogurte entretanto, Burkert et al. (2012), utilizando uma estratégia de aplicação de Metodologia de Superfície de Resposta, desenvolveram um leite fermentado saborizado com 5% de polpa de fruta sabor morango, 12% de sacarose, 0,15% de corante natural carmin de cochonilha e 0,04% de aroma natural de morango enriquecido com 10% de xarope de fruto-oligossacarídeos, obtendo sensorialmente 88% de aceitação global no produto final.

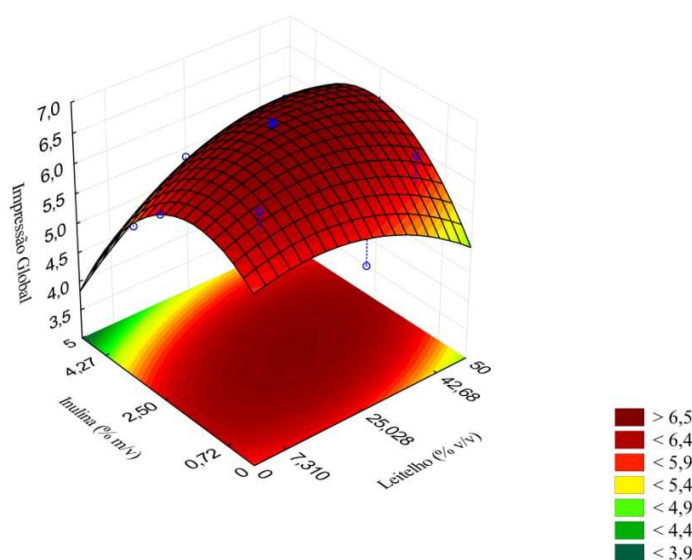


Figura 4 Superfície de resposta para o atributo de aceitação impressão global da bebida láctea simbiótica fermentada por *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 adicionada de diferentes concentrações de leiteiro em relação à base láctea e inulina

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2008), um produto que contenha inulina só poderá alegar propriedade funcional se a porção do produto pronto para consumo fornecer no mínimo 3g de inulina, se o alimento for sólido ou 1,5g, se o alimento for líquido. Ainda, estabelece que o uso de inulina não deva ultrapassar 30g na recomendação diária do produto pronto para consumo, conforme indicação do fabricante. Considerando essa legislação torna-se conveniente fixar a concentração em 1,5% de inulina, variando apenas a concentração de leiteiro na bebida.

Baseado nos resultados de aparência, sabor e impressão global (Tabela 7) as formulações contendo leiteiro nas concentrações de 10 a 40% em relação à base láctea e 1,5% de inulina obtiveram notas acima de 6,0, que corresponde ao termo “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Desta forma,

concentrações de leiteiro entre 10 e 40% são bem aceitos pelo consumidor, tornando a bebida com potencialidade comercial. Ressalta-se que a bebida láctea comercializada no Brasil utiliza somente o soro lácteo, portanto, a inclusão de leiteiro até 40% em relação à base láctea nas formulações melhora a impressão global e aparência, não causando prejuízos ao sabor do produto.

Tabela 7 Notas para os atributos de aceitação, aparência, sabor e impressão global na concentração fixa de 1,5% de inulina

% de leiteiro em relação à base láctea	Aparência*	Sabor*	Impressão Global*
0	6,44	6,94	5,23
5	6,61	6,95	5,86
10	6,75	6,94	6,36
15	6,85	6,89	6,69
20	6,93	6,80	6,89
25	6,98	6,68	6,95
30	6,99	6,53	6,86
35	6,98	6,34	6,63
40	6,94	6,11	6,26
45	6,87	5,86	5,74
50	6,77	5,56	5,08

*Escore de aceitação sensorial para os atributos aparência, sabor e impressão global obtidos por meio das equações de regressão do modelo completo, conforme Tabela 6.

Concentração de 1,5% de inulina satisfaz as exigências da ANVISA quanto ao apelo funcional e não acarreta custos elevados para as indústrias, uma vez que a inulina impacta o custo de produção. Observa-se, então, que com essa concentração de inulina a indústria terá possibilidade de trabalhar com níveis de leiteiro em relação à base láctea 10% e 40%, obtendo resultados sensoriais satisfatórios, com apelo funcional e atendendo a legislação prevista no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2005).

4 CONCLUSÃO

Foi possível elaborar uma bebida láctea simbiótica usando as concentrações de 10 a 40% de leiteiro e 1,5% de inulina, fermentada por *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12, obtendo boa aceitação quanto aos atributos sabor, aparência e impressão global.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, K. E., BONASSI, I. A., ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 2, n. 2, p. 187-192, 2001.

ALVES, L.L. **Desenvolvimento de cream cheese simbiótico: caracterização e perfil lipídico com ênfase em ácido linoléico conjugado**. 2009. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

ANAL, A. K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Trends in Food Science & Technology**, v.18, p.240-251, 2007.

BRANDÃO, W.A.P.L.N.T.M. **Elaboração de bebida fermentada simbiótica de soro lácteo**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina, 2007. 70 p.

BRASIL. Lei n. 1.283, de 18 de dezembro de 1950, art. 687. Dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária dos produtos de origem animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 19 de dezembro de 1950.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 46, de 23 de outubro de 2007. Estabelece normas para fixar o padrão de identidade e qualidade de leites fermentados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, p.5, 24 out. 2007. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº. 16, de 23 de agosto de 2005. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 24 agosto 2005, sec. 1, p. 7.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução - RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002. **Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos**. Diário Oficial da União, Brasília, DF; 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos: lista de alegações de propriedade funcional aprovadas.** 2008. Disponível em: < http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm >. Acesso em: 20 fev. 2013.

BURKERT, J.F.M.; FONSECA, R.A.S. DA; MORAES, J.O.; SGANZERLA, J.; KALIL, J.S.; BURKERT, C.A.V. Aceitação sensorial de bebidas lácteas potencialmente simbióticas. **Brazilian Journal of Food Techonology**, v.15, n.4, p.325-332, out./dez., 2012.

CARDARELLI, H. R.; ARAGON-ALEGRO, L. C.; ARAGON-ALEGRO, J.H. ; DE CASTRO, I.A.; SAAD, S.M.I. Effect of inulin and *Lactobacillus paracasei* on sensory and instrumental texture properties of functional chocolate mousse. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Volume 88, Issue 8, pages 1318–1324, June 2008.

CHR. HANSEN. Method for counting probiotic bacteria. ***Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacteria* in milk products made with nutrish cultures.** Horsholm, Dinamarca, 1999. 9p. [Guideline].

DONKOR, O.N.; HENRIKSSON, A. VASILJEVIC, T.; SHAH, N.P. Rheological properties and sensory characteristics of set-type soy yogurt. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55, 9868 e 9876., 2007.

Donkor, O.N.& Henriksson, A.& Vasiljevic, T.& Shah, N.P., Rheological properties and sensory characteristics of set-type soy yogurt, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 55, 2007, p.9868-9876. (Como está na revista)

DRUNKLER, D. A. **Produção de requeijão simbiótico.** 2009. 180p. Tese (Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná (UFPR).

FERREIRA, C.L.L.F. **Prebióticos e Probióticos: Atualização e Prospecção.** Editora Rubio: Rio de Janeiro, 226p, 2012.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tenológicas. **Biotechnologia Alimentar: Boletim de Tecnologia**, v. 101, p. 12–22. 1999.

GONZALEZ, J. N.; KOUSHIK, A.; SANCHO-MADRIZ, F.M. Sensory characteristics of peach-flavored yogurt drinks containing prebiotics and symbiotics. **LWT – Food Science and Technology**, 44, p.158-163, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz:** métodos químicos e físico-químicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo, 1985. 533 p.

JAYAMANNE, V. S.; ADAMS, M. R. Determination of survival, identity and stress resistance of probiotic bifidobacteria in bio-yoghurts. **Letters in Applied Microbiology**, v. 42, p. 189-194, 2006.

KIP, P. et al. Inulins improve sensoric and textural properties of low-fat yoghurts. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 9, p. 1098-1103, 2006.

KLAVER, F.A.M.; KINGMAN, F.; WEERKAMP, A.H. Growth and survival of bifidobacteria in milk. **Netherlands Milk and Journal Dairy**, v.47, p.151-164, 1993.

MACEDO, L. N.; LUCHESE, R. H.; GUERRA, A. F. Efeito prebiótico do mel sobre o crescimento e viabilidade de *Bifidobacterium spp.* e *Lactobacillus spp.* em leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.4, p.935-942, 2008.

OLIVEIRA, M.N. Características funcionais de leites fermentados e outros produtos lácteos. In: OLIVEIRA, M.N. (Ed). **Tecnologia de produtos lácteos funcionais**. São Paulo: Editora Atheneu, 2009, p. 277-320.

OLIVEIRA, M.N., SIVIERI, K. ; ALARCON ALEGRO, J.H.; SAAD, S.M.I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 1, p. 1-21, jan../mar. 2002.

OTT, A.; HUGI, A.; BAUMGARTNER, M.; CHAINTREAU, A. Sensory investigation of flavor perception: mutual influence of volatiles and acidity. **Journal Agriculture Food Chemical**, v.48, p.441-450, 2000.

PEREIRA, D. B. C.; SILVA, P.H.F.; JÚNIOR, L.C.G.C.; OLIVEIRA, L. L. **Físico-química do leite e derivados:** métodos analíticos. 2. ed. Juiz de Fora: Oficina de Impressão, 2001. 190 p.

RIVERA-ESPINOZA, Y.; GALLARDO-NAVARO, U. Non-dairy probiotic products. **Food Microbiology**, v.27, p.1-11, 2010.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia sequencial de planejamentos**. Campinas: Casa do Pão, 2005.

SAARELA, M., MOGENSEN, G., FONDÉN, R., MÄTTÖ, J., MATTILA-SANDHOLM, T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal Biotechnology**, Amsterdam, v.84, p.197-215, 2000.

SHAH, N. P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 11, p. 1262-1277, 2007.

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

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4 edição, São Paulo: Varela, 2010, 624 p.

STATISTICA ANALYSIS. **Data Analysis Software System 8.0**. Stat-Soft, Tulsa, 2008.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 3 edição. New York: Academic Press. 2004. 408 p.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.3, p.589-595, 2006.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligosacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 3, p. 393-400, jul./set. 2005.

VILLEGAS, B.; TÁRREGA, A.; CARBONELL, I., AND COSTELL, E. Optimizing acceptability of new prebiotic low-fat milk beverages. **Food Quality Preference**, v.21, p.234-242, 2010.

WAKELING, I. N.; MACFIE, J. H. Designing consumer trials balanced for first and higher orders of carry-over effect when only a subset of K samples from t may be tested. **Food Quality and Preference**, Barking, v. 6, n. 4, p. 299-308, 1995.

ZACARCHENCO, P. B.; MASSAGUER-ROIG, S. Avaliação sensorial, microbiológica e de pós-acidificação durante a vida de prateleira de leites fermentados contendo *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus acidophilus*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 674-679, 2004.

**CAPÍTULO 4 Estabilidade de bebida láctea fermentada simbiótica
formulada com leiteiro durante o armazenamento
refrigerado**

RESUMO

A busca por alimentos mais saudáveis pela população tem despertado o interesse da indústria de alimentos no desenvolvimento de produtos com características funcionais, bem como o aproveitamento de subprodutos da indústria láctea na cadeia alimentar. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a estabilidade da bebida láctea fermentada em função da acidez, viabilidade das bactérias probióticas, aceitação sensorial e comportamento reológico até os 28 dias de armazenamento. A bebida foi elaborada empregando-se uma proporção de 50% de leite integral, 40% de leiteiro, 10% de soro lácteo, 1,5% de inulina, 1% de FOS e 8% de açúcar, sendo esta formulação fermentada com uma cultura mista, contendo *Streptococcus thermophilus* e as probióticas *Lactobacillus acidophilus* LA 5 e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12. O produto foi submetido à análise de pH e acidez titulável, viabilidade das culturas probióticas, sensoriais e reológicas ao longo de 28 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. A bebida apresentou, durante os 28 dias de armazenamento, estabilidade nos valores de acidez e ligeiro declínio no pH. Durante esse período a contagem do *Lactobacillus* ficou entre 10^9 e 10^{10} UFC/mL e a de *Bifidobacterium* entre 10^9 e 10^7 UFC/mL, atendendo com segurança aos padrões estabelecido pela legislação brasileira para bebidas lácticas probióticas. O teste sensorial realizado com o produto em cada um dos cinco tempos de armazenamento demonstrou que o mesmo obteve boa aceitação em relação aos aspectos aparência, aroma, sabor, textura e impressão global do produto pelos consumidores. Os índices de comportamento alcançados pelo modelo da Lei da Potência apontam que a bebida láctea apresentou características de fluidos pseudoplásticos. Além disso, o comportamento das curvas de fluxo e viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento indica que a bebida se classifica como fluido não Newtoniano. Portanto, a bebida láctea obtida possui propriedades simbióticas e estabilidade durante os 28 dias de armazenamento.

Palavras-chave: Lácteos probióticos. Alimentos funcionais. Aproveitamento de subprodutos. Qualidade.

ABSTRACT

Population's search for healthier products has awakened the interest of the food industry for the development of products with functional characteristics, as well as the usage of dairy industry sub products in the food chain. Under this context, this work had the objective of evaluating the stability of the fermented dairy beverage in function of acidity, probiotic bacteria viability, sensory acceptance and rheological behavior during 28 days of storage. The beverage was prepared using 50% whole milk, 40% buttermilk, 10% whey, 1.5% inulin, 1% FOS and 8% sugar, and this formula was fermented with a mixed culture of *Streptococcus thermophilus* and probiotics *Lactobacillus acidophilus* LA 5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12. The product was submitted to pH and titratable acidity, probiotic culture viability, sensory and rheological analysis during 28 days of storage at 4°C. The beverage presented stability in acidity values and a slight decrease in pH during the 28 storage days. During this period, the *Lactobacillus* count stayed between 10^9 and 10^{10} UFC/mL and *Bifidobacterium* stayed between 10^9 e 10^7 UFC/mL, meeting the patterns established by Brazilian legislation for lactic probiotic beverages. Sensorial tests made with the product at each of the five storage times demonstrated that it obtained good acceptance in relation to appearance, aroma, flavor, texture and global impression of the product by the consumers. The behavior indexes reached by the Power Law showed that the lactic beverage presented characteristics of pseudo plastic fluids. Besides, the behavior of the apparent flow and viscosity curves in function of shear rate indicate that the beverage should be classified as a non-Newtonian fluid. Therefore, the dairy beverage that was obtained has symbiotic properties and stability during 28 days of storage.

Keywords: Probiotic dairy beverages. Functional food. Sub product usage. Quality.

1 INTRODUÇÃO

As condições de processamento e armazenamento podem influenciar de formas adversas nas características de qualidade dos alimentos. Desta forma, o principal requisito para garantir a qualidade de um alimento é a sua estabilidade durante a vida útil, vulgarmente conhecida por validade, que é o período temporal no qual um alimento se mantém seguro para o consumidor, mantendo suas características sensoriais, físicas, químicas e funcionais desejadas e cumprindo com as características nutricionais evidenciadas na rotulagem, sob as condições de armazenagem recomendadas (DIAS, 2007).

Em produtos lácteos em geral e particularmente bebidas fermentadas simbióticas a estabilidade é de extrema importância, não somente sobre os aspectos físico-químico, higiênico e sensorial, mas, principalmente no que se refere à viabilidade e atividade das bactérias probióticas utilizadas, pois essas bactérias devem sobreviver no alimento durante todo o seu período de validade, em contagens de no mínimo 10^6 UFC/mL.

Dentre as bactérias probióticas mais utilizadas para a elaboração de produtos lácteos fermentados incluem as bifidobactérias que se destacam como uma das mais utilizadas e eficientes.

Um dos principais problemas tecnológicos na utilização de bactérias probióticas é que, além de serem exigentes em nutrientes, crescem de forma vagarosa em leite devido à sua baixa atividade proteolítica e acabam produzindo pouco ácido e prolongando o tempo de fermentação, o que torna inviável industrialmente o seu emprego na forma de cultura pura (OLIVEIRA, 2009). Tal comportamento foi observado e reportado no capítulo 3, no qual o tempo de fermentação por cultura pura de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 variou entre 12 e 14 horas, embora tenha apresentado boa aceitação sensorial. Desta forma, uma alternativa tecnologicamente viável é a utilização de culturas

láticas bioajustadoras para conseguir o apelo funcional com um tempo de fermentação industrialmente apropriado.

Dada a importância das bebidas lácteas fermentadas que vêm ganhando destaque no Brasil, principalmente aquelas com apelo nutricional, e a necessidade de dar um destino nobre ao leiteiro, este trabalho teve como objetivo avaliar a estabilidade da bebida láctea fermentada em função da acidez, viabilidade das bactérias probióticas, aceitação sensorial e comportamento reológico, até os 28 dias de armazenamento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Teste de aceitação preliminar

Este teste foi conduzido com a finalidade de se verificar a possibilidade de substituição da cultura pura (Bb-12[®], Chr Hansen, Hónsholm, Dinamarca) de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 por cultura mista probiótica (ABT-4[®], Chr Hansen, Hónsholm, Dinamarca) contendo *Lactobacillus acidophilus* LA 5, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Streptococcus thermophilus*, para diminuir o tempo de fermentação sem comprometer a aceitação sensorial da bebida.

As bebidas foram elaboradas com a formulação de 50% de leite integral, 40% de leiteiro, 10% de soro lácteo, 1% de FOS, 1,5% de inulina e 8% de açúcar com dois processos fermentativos:

- a) Cultura pura (Bb-12[®], Chr Hansen, Hónsholm, Dinamarca) de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12;
- b) Cultura mista probiótica (ABT-4[®], Chr Hansen, Hónsholm, Dinamarca) contendo *Lactobacillus acidophilus* LA 5, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Streptococcus thermophilus*.

O teste de aceitação foi realizado em laboratório com 50 consumidores. As amostras foram apresentadas aos consumidores monadicamente, de forma balanceada (WAKELING; MACFIE, 1995), codificadas com números de três dígitos e julgadas em relação à aparência, aroma, sabor e impressão global (APÊNDICE F). As análises de qualidade higiênico-sanitária para garantia da

segurança do produto foram realizadas previamente à análise sensorial, conforme o item 2.2.3.1.

2.1.1 Elaboração das bebidas lácteas

Duas misturas com 50% de leite comercial integral pasteurizado homogeneizado, 10% de soro de leite (obtido da fabricação de queijo tipo Minas Frescal) e 40% de leiteiro (obtido da fabricação de manteiga) 1,5% inulina (Raftilose, Beneo GR[®], Orafti, Oreya, Bélgica), 1% oligofrutose (Raftilose, Beneo P95[®], Orafti, Oreya, Bélgica) e 8% sacarose foram aquecidas até atingir 55°C, sob agitação constante, permanecendo nessa temperatura por cinco minutos e, em seguida, pasteurizadas a 82°C por 20 minutos e tiveram sua temperatura ajustada em banho de gelo e água até a temperatura de inoculação (38°C). Posteriormente foi adicionado a uma das misturas o inóculo constituído por cultura mista probiótica (ABT-4[®], Chr Hansen, Hónsholm, Dinamarca) contendo *Lactobacillus acidophilus* LA 5, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Streptococcus thermophilus* e a outra, cultura probiótica (Bb-12[®], Chr Hansen, Hónsholm, Dinamarca) de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12. A fermentação foi conduzida à temperatura de 38°C até que o pH, em torno de 5,0, fosse alcançado. Após esta etapa os produtos fermentados foram gradualmente resfriados em banho de gelo e água até a temperatura de 10°C para a realização do rompimento do coágulo, originando as bebidas lácteas fermentadas e finalmente envasadas e armazenadas a 4°C para posterior análise sensorial para o teste preliminar, conforme fluxograma apresentado na Figura 1.

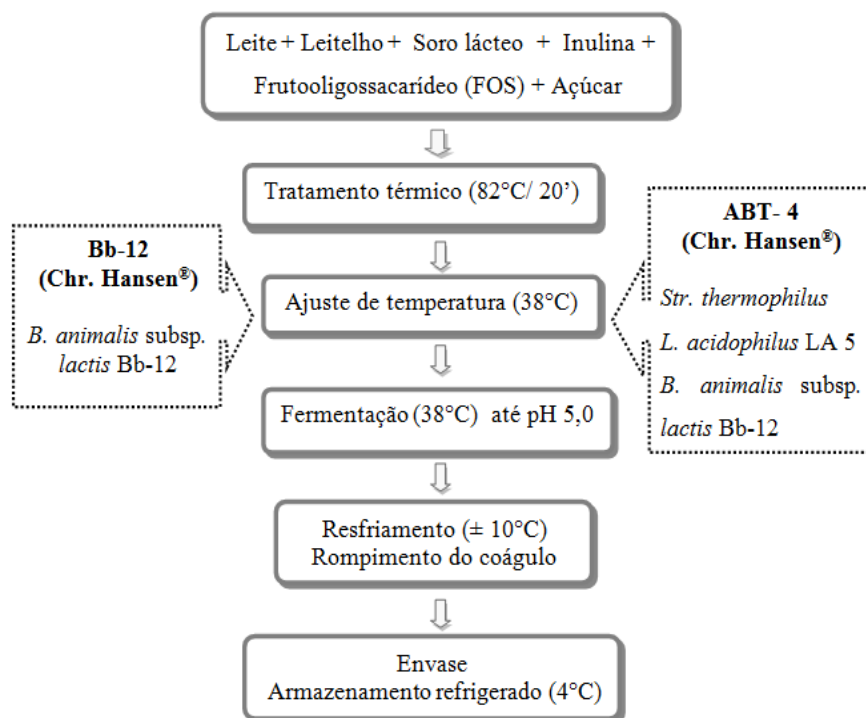


Figura 1 Fluxograma de obtenção das bebidas lácteas para o teste preliminar

2.2 Estabilidade da bebida láctea durante o armazenamento

Nesta etapa a mistura foi obtida pelo mesmo processamento anterior (item 2.1.1) com utilização apenas da cultura mista probiótica (ABT-4®, Chr Hansen, Hónsholm, Dinamarca) contendo *Lactobacillus acidophilus* LA 5, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Streptococcus thermophilus* na fase fermentativa. Em seguida o produto foi envasado e armazenado para análises sensoriais, físico-químicas, microbiológicas e reológicas do produto, em intervalos de 0, 7, 14, 21 e 28 dias de estocagem refrigerada a 4°C. O fluxograma dos procedimentos gerais para a fabricação da bebida láctea é ilustrado na Figura 2.

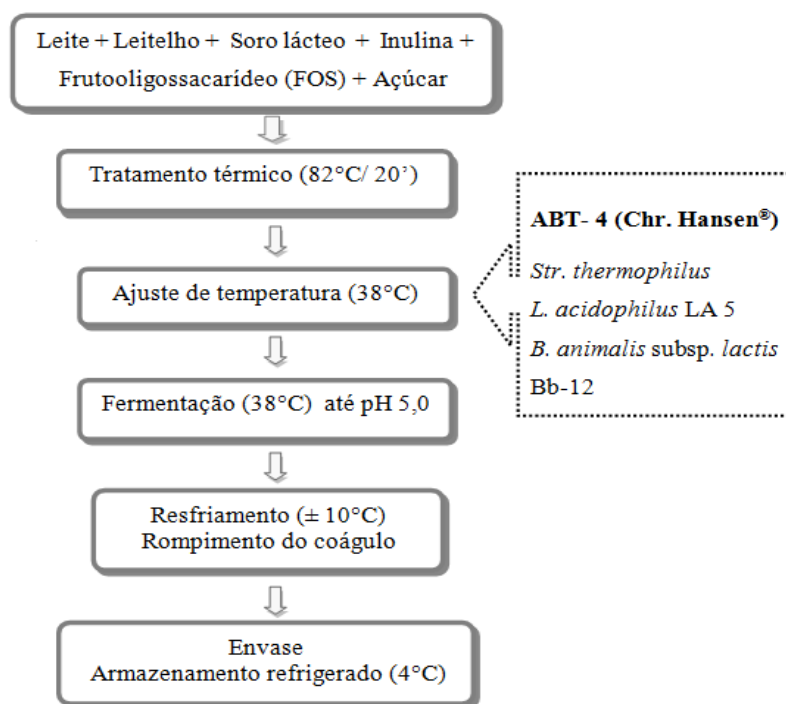


Figura 2 Fluxograma de obtenção da bebida láctea fermentada.

2.2.1 Análise sensorial: teste de aceitação

As avaliações sensoriais da bebida láctea durante o armazenamento refrigerado foram realizadas por meio do teste de aceitação, por uma equipe de 50 provadores não treinados, utilizando uma escala hedônica de 9 pontos (1- desgostei extremamente a 9- gostei extremamente), indicando o quanto gostaram ou desgostaram da aparência, aroma, sabor, textura e impressão global do produto, de acordo com Stone e Sidel (2004) (APÊNDICE G), a intenção de compra por meio de escala de cinco pontos (1- certamente não compraria; 5- certamente compraria) e a frequência de consumo de bebidas lácteas/iogurte pelos consumidores.

As amostras foram servidas em porção de 30 mL para cada respectiva formulação, em copos plásticos descartáveis de 50 mL codificados com números aleatórios de três dígitos e apresentadas monodicamente na ordem balanceada de apresentação (WAKELING; MACFIE, 1995). O teste foi realizado em cabines individuais, no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciência dos Alimentos, sob o parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (PARECER CEP Nº. 283.492, CAAE – 12866013.9.00005148) da Universidade Federal de Lavras.

2.2.2 Determinação de pH e acidez titulável

A determinação do pH foi realizada utilizando medidor de pH *Tecnal* (modelo Tec-3MP) de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (1985) e a acidez titulável foi determinada por titulações com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M, utilizando fenolftaleína como indicador. Os resultados foram expressos em porcentagem de componentes com caráter ácido, como ácido láctico, de acordo com metodologia proposta por Pereira et al. (2001).

2.2.3 Análises microbiológicas

Para a determinação da qualidade higiênico-sanitária, bem como o total de células viáveis dos micro-organismos probióticos utilizados para a fabricação da bebida láctea fermentada, foram realizadas as análises microbiológicas descritas nos itens subsequentes.

2.2.3.1 Quantificação de coliformes

As bebidas lácteas foram submetidas à análise microbiológica, por meio de determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes antes da avaliação sensorial, conforme metodologia descrita por Silva et al. (2010).

2.2.3.2 Contagem total de fungos filamentosos e leveduras

Para determinação da contagem total de fungos filamentosos e leveduras durante o armazenamento foi utilizado método de contagem padrão em placas, determinando-se o número de unidades formadoras de colônia (UFC), através do plaqueamento em superfície utilizando Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) (SILVA et al., 2010).

2.2.3.3 Viabilidade de culturas probióticas

A viabilidade da cultura probiótica foi realizada periodicamente durante o armazenamento do produto. Os micro-organismos probióticos *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 foram avaliados utilizando Ágar MRS (Man Rogosa and Sharpe). *L. acidophilus* foi quantificado em Ágar MRS adicionado de 10% de solução de maltose 20% (IDF, 1999); a maltose permite somente o crescimento deste micro-organismo. Para a contagem das colônias de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 o Ágar MRS foi modificado com adição de 0,2% (m/v) de cloreto de lítio e 0,3% (m/v) de propionato de sódio, segundo Vinderola e Reinheimer (1999). Para ambos os micro-organismos as placas foram incubadas em jaras de anaerobiose contendo

gerador Anaerobac[®] (Probac do Brasil) a 37°C por 72 h. As contagens foram expressas em log UFC/mL.

2.2.4 Análises reológicas

As propriedades de fluxo do produto foram medidas semanalmente durante o período de armazenamento, por meio de um viscosímetro rotacional de cilindros concêntricos da marca BROOKFIELD DVIII Ultra (*Brookfield Engineering Laboratories, Stoughton, USA*), usando o adaptador para pequenas amostras 13R/RP (19,05 mm de diâmetro e 64,77 mm de profundidade) e o sensor de cisalhamento coaxial SC4-18 (17,48 mm de diâmetro e 31,72 mm de comprimento). As amostras foram submetidas a uma rampa crescente de taxa de deformação que variou linearmente de 6.60 s⁻¹ a 79.20 s⁻¹ sendo tomados 12 pontos. Com os valores de tensão de cisalhamento (τ) e taxa de deformação (γ) foram calculados os parâmetros reológicos, índice de consistência (k) e índice de comportamento do fluido (n) e tensão inicial (τ_0) para os modelos de Herschel-Bulkley (Equação 1) e de Lei da Potência (Equação 2). Todos os parâmetros reológicos foram obtidos usando o *software Reocalc* (Versão V.3.1, *Brookfield Engineering Laboratories, Stoughton, USA*) para captura dos dados.

$$\tau = k_H \cdot \gamma^n + \tau_0 \quad (1)$$

onde:

τ = tensão de cisalhamento (Pa);

k_H = índice de consistência (Pa.s);

γ = Taxa de cisalhamento (s⁻¹);

n = índice de comportamento do fluido;

τ_0 = tensão de cisalhamento inicial (Pa).

$$\tau = k.\gamma^n \quad (2)$$

onde:

τ = tensão de cisalhamento (Pa);

k = índice de consistência (Pa.s);

γ = Taxa de cisalhamento (s^{-1});

n = índice de comportamento do fluido.

2.2.5 Análise estatística

Para as análises da estabilidade do produto durante o armazenamento refrigerado foi conduzido um experimento no delineamento inteiramente casualizado (DIC), composto por cinco tempos de análises (0, 7, 14, 21 e 28 dias) e três repetições. Foram realizadas análises de pH, acidez titulável, contagem de viabilidade probiótica, sensorial e reológica. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%. Para a avaliação do pH e viabilidade probiótica foi realizada análise de regressão, utilizando o software Sisvar 5.0 (FERREIRA, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Teste de aceitação preliminar

O teste de aceitação preliminar demonstrou que não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre as bebidas em todos os atributos de aceitação avaliados, indicando que sobre o ponto de vista sensorial a cultura mista probiótica (ABT-4[®], Chr Hansen, Hónsholm, Dinamarca) contendo *Lactobacillus acidophilus* LA 5, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Streptococcus thermophilus* pode ser utilizada para a elaboração da bebida em substituição a *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12, com a vantagem de possuir menor tempo de incubação para atingir a mesma acidez. Esse fato permitiu a escolha da cultura ABT-4 para ser utilizada na bebida destinada à avaliação da estabilidade do produto durante o armazenamento.

3.2 Estabilidade da bebida láctea durante o armazenamento

A avaliação da estabilidade da bebida láctea fermentada simbiótica durante o armazenamento baseou-se em análises físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e reológicas, cujos resultados estão discutidos a seguir.

3.2.1 Acidez titulável e pH

Ao longo do período de armazenamento de bebidas lácteas, os micro-organismos da cultura láctica continuam viáveis, porém com baixa taxa metabólica, portanto, valores de acidez titulável e pH tornam-se importantes para indicar as mudanças que ocorrem durante a vida útil do produto, decorrente

da ação das bactérias lácticas, visto que, segundo Ellis (1996), valores elevados desses parâmetros alteram as características sensoriais do produto diminuindo sua aceitação.

Não houve diferença significativa ($p>0,05$) na acidez titulável durante o período de armazenamento da bebida, os valores de acidez titulável obtidos variaram de 0,55 a 0,59g de ácido láctico/100 mL do produto. Esses valores são muito inferiores aos observados em leites fermentados que normalmente apresentam entre 0,70g a 1,25g/100 mL do produto (BRASIL, 2007). De acordo com a tabela 1, ao longo dos cinco tempos de armazenamento estudados, a acidez da bebida manteve-se constante, o que pode estar relacionado aos micro-organismos presentes na cultura mista ABT-4 utilizada, conhecida por promover, de acordo com Dave e Shah (1998) e Oliveira et al. (2002), baixa pós-acidificação devido à ausência do *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus*. Entretanto, valores de acidez menores são desejáveis, pois contribuem para a manutenção da viabilidade das bactérias probióticas que são sensíveis à alta acidez, além disso, a acidificação reduzida durante o armazenamento pode contribuir para melhorar o sabor do produto final, uma vez que a acidez torna-se um fator limitante na aceitação de produtos lácteos. Thamer e Penna (2006) relatam que produtos lácteos fermentados com menor acidez são mais bem aceitos pelo consumidor desses produtos.

Os resultados referentes ao pH (figura 3) apresentaram diferença significativa ($p<0,05$) ao longo do armazenamento. Entretanto, a variação entre os dias zero e 28 de armazenamento foi de 0,15, valor este insignificante tanto tecnologicamente quanto comercialmente. O produto teve, então, um comportamento adequado no armazenamento refrigerado, indicando que seu prazo de validade pode, inclusive, baseado nesses parâmetros, ser estendido, o que facilitaria a sua logística de distribuição.

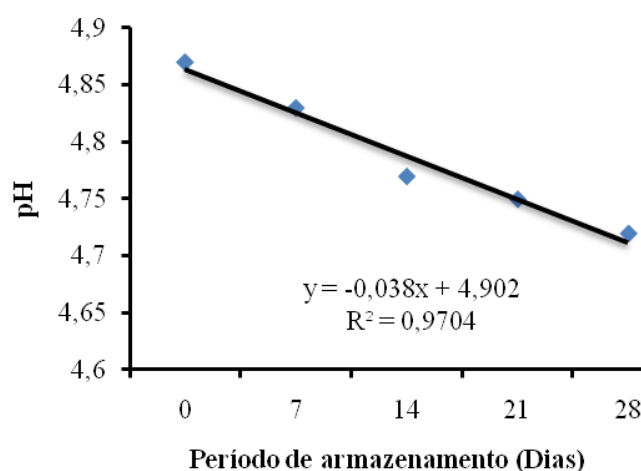


Figura 3 pH da bebida láctea fermentada durante os 28 dias de armazenamento a 4°C.

3.2.2 Viabilidade probiótica

Para as análises de coliformes a 35°C e a 45°C, bolores e leveduras com valores < 3 NMP/mL e < 10 UFC/mL, respectivamente, foram verificados até o final do armazenamento, estando de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação vigente para bebidas lácteas fermentadas (BRASIL, 2005), indicando a segurança do produto do ponto de vista higiênico-sanitário.

A sobrevivência de bactérias probióticas no produto depende da cepa utilizada, da interação das espécies presentes, das condições de cultivo, da composição química do meio, da acidez final, do conteúdo de sólidos, do uso de promotores e inibidores de crescimento, da concentração de açúcares (pressão osmótica), do oxigênio dissolvido, do nível de inoculação, do tempo de fermentação e da temperatura de estocagem (LERAYER et al., 2009). A viabilidade de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus*

acidophilus LA 5, utilizados na fermentação da bebida láctea estão demonstradas nas Figuras 4 e 5, respectivamente.

A bebida apresentou alta contagem de células viáveis de *Lactobacillus acidophilus* LA 5 com valores de 9,89 log UFC/mL no início, atingindo 9,97 log UFC/mL aos 28 dias de armazenamento refrigerado ($p < 0,05$).

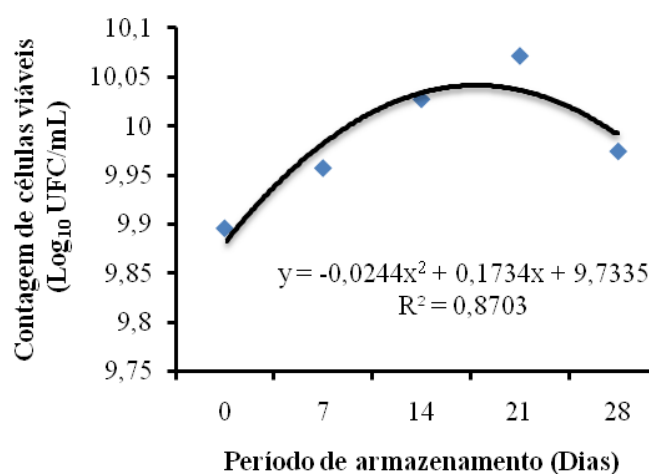


Figura 4 Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* LA 5 em bebida láctea fermentada durante os 28 dias de armazenamento a 4°C.

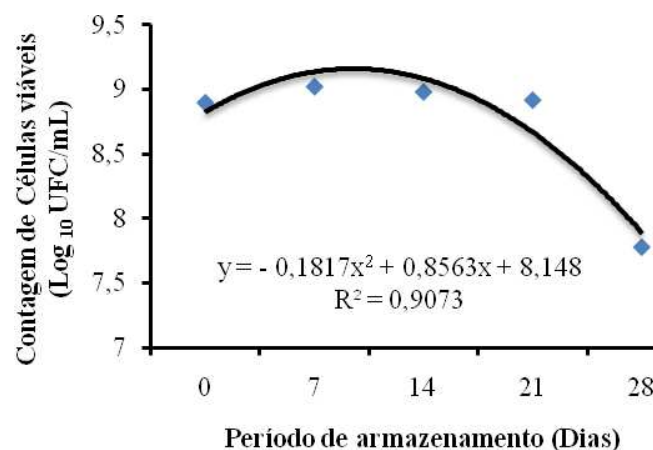


Figura 5 Viabilidade de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 em bebida láctea fermentada durante os 28 dias de armazenamento a 4°C.

Da mesma forma houve diferença ($p < 0,05$) para a contagem de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 que apresentou redução de um ciclo logaritmo variando de 8,89 log UFC/mL no início a 7,78 log UFC/mL no final do armazenamento. De acordo com Zacarchenco e Massaguer-Roig (2004), Shah (2000) e Akalin, Bonassi e Roça (2004) o fator que mais contribui para a perda de viabilidade de culturas probióticas é o acúmulo de ácidos orgânicos, provenientes da continuação do processo fermentativo (pós-acidificação), com consequente diminuição do pH durante o armazenamento, sendo o ácido láctico e o acético potentes agentes antimicrobianos e podem ter um papel essencial na sobrevivência de cultura probiótica, sendo que maiores concentrações desses compostos resultam em menor contagens de probióticos.

No entanto, diante dos resultados obtidos verifica-se que apesar da redução do número de células viáveis no produto armazenado, a perda de viabilidade não foi suficiente para impactar a propriedade probiótica do produto, pois tanto *Lactobacillus acidophilus* LA 5 quanto o *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 mantiveram contagens acima de 7 log UFC/mL,

atendendo, com boa margem de segurança, as legislações tanto para produtos com apelo probiótico (BRASIL, 2002) quanto para o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas (BRASIL, 2005). Segundo a legislação vigente, para que o produto seja considerado funcional ele deve apresentar até o final do seu prazo de validade pelo menos entre 10^8 e 10^9 UFC na porção diária, o que equivale ao consumo de 100 g de produto contendo entre 10^6 e 10^7 UFC de micro-organismos probióticos (BRASIL, 2002).

3.2.3 Avaliação sensorial

Quanto às análises sensoriais verificou-se que a bebida láctea fermentada foi sensorialmente aceita quando avaliada pelos consumidores durante o período de armazenamento (Tabela 1), sendo que as notas dos atributos nos diferentes tempos variaram entre 6,18 a 7,24, que correspondem ao termo hedônico “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente” na escala hedônica de nove pontos.

As diferenças em aceitação durante o armazenamento foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$) apenas para o sabor (tempo zero) e para textura (tempo zero e sete) indicando, que para esses atributos, a bebida necessita de 14 dias de armazenamento para adquirir as características desejáveis. Supostamente, alguma atividade metabólica como produção de ácidos e atividade proteolítica em função da cultura láctica utilizada contribuíram para a melhoria do sabor na primeira semana de armazenamento. Diferente dos resultados obtidos neste trabalho, Almeida, Bonassi e Roça (2001) observaram que bebidas lácteas elaboradas com diferentes culturas, a do iogurte e uma cultura probiótica, não diferiram entre si quando submetidas à avaliação sensorial logo após a fabricação, assim como obtiveram boa aceitabilidade em 28 dias de armazenamento.

A melhoria da textura dos produtos, a partir da segunda semana de armazenamento é devida provavelmente à produção de exopolissacarídeos pelas bactérias lácticas, produto este que possui alta capacidade de retenção de água, o que, segundo Pena et al. (2009), influi diretamente nas características físicas e sensoriais como corpo e textura em iogurte e de outros produtos lácteos fermentados. Além disso, a presença de inulina e fruto-oligossacarídeo (FOS) podem ter contribuído para a melhoria da textura após a segunda semana, uma vez que esse tempo de armazenamento contribui para a hidratação destes compostos. Castro et al. (2009) reportaram que interações entre as proteínas do leite e do soro e a concentração de 5% de oligofrutose seriam responsáveis pelas modificações na firmeza de bebidas lácteas fermentadas. De acordo Tarrega e Costell (2006), no que diz respeito às preferências do consumidor, um sabor agradável e uma textura atraente são essenciais para os produtos lácteos e, portanto, essas diferenças podem influenciar a aceitabilidade do produto.

Tabela 1 Valores médios das notas atribuídas pelos provadores para os atributos de aceitação sensorial, sabor e textura da bebida láctea fermentada durante o período de 28 dias de armazenamento refrigerado a 4°C

Tempo de armazenamento (Dias)	Sabor	Textura
0	6,18±1,46a	6,20±1,48b
7	7,00±1,40ab	6,44±1,36b
14	6,76±1,56ab	7,00±1,29a
21	7,24±1,46b	7,14±1,23a
28	7,02±1,14ab	6,72±1,17a

*Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$).

Os resultados para aparência, aroma e impressão, embora não significativos, foram bem aceitos, apresentando médias 6,96, 6,71 e 6,86, respectivamente, que correspondem aos termos hedônicos “gostei ligeiramente” a “gostei moderadamente”.

Quanto à intenção de compra, as notas não foram significativas ($p < 0,05$) para a bebida láctea fermentada, apresentando médias de 3,38, 3,58, 3,48, 3,84 e 3,60 cujo termo hedônico esteve entre “tenho dúvidas se compraria” a “provavelmente compraria” para os tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento, respectivamente. Embora os escores dos atributos sabor e textura tenham aumentado ao longo do armazenamento, esse comportamento não influenciou na intenção de compra do produto. O estudo de frequência de consumo com os consumidores com idade entre 18 e 58 anos que participaram do teste de aceitação da bebida láctea fermentada revelou que 25,60% têm o hábito de consumir bebidas lácteas ou iogurte mais de duas vezes por semana.

No geral, a bebida láctea fermentada formulada com leiteiro e inulina comprovou a viabilidade da utilização desse subproduto da fabricação de manteiga. Com isso, há um ganho econômico pela utilização desse ingrediente e ganho ambiental, já que o leiteiro é um potente agente poluente.

3.2.4 Avaliação reológica

As medidas reológicas são fundamentais para caracterizar a estrutura dos géis de leites fermentados. As características de viscosidade e consistência de um produto podem determinar a aceitação ou não por parte dos consumidores (KRISTO; BILIADERIS; TZANETAKIS, 2003; PENNA; OLIVEIRA; BARUFFALDI, 1997).

A partir dos dados de taxa de deformação e tensão de cisalhamento, os parâmetros reológicos da bebida láctica fermentada simbiótica durante o armazenamento foram ajustados pelo modelo da Lei da Potência. Na Tabela 2 têm-se os resultados referentes ao índice de consistência (K), comportamento de fluxo (n), coeficiente de determinação (R^2) e viscosidade aparente (η).

Tabela 2 Parâmetros reológicos da bebida láctea fermentada para o modelo da Lei da Potência ao longo dos 28 dias de armazenamento refrigerado a 4°C

Tempo (Dias)	K (Pa.s ⁿ)	N	η (Pa. s ⁻¹)	R ²
0	192,70 ±71,83a	0,46±0,07	11,15±0,26a	98,0
7	276,03±110,37a	0,48±0,06	17,82±0,61b	98,4
14	378,83±115,47a	0,43±0,05	18,36±0,46bc	99,1
21	767,63±55,96b	0,28±0,01	17,42±0,61bc	99,3
28	427,06±32,58a	0,35±0,00	16,33±0,61c	99,5

*Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$). K – índice de consistência. n – índice de comportamento do fluido. η – viscosidade. R² – coeficiente de determinação.

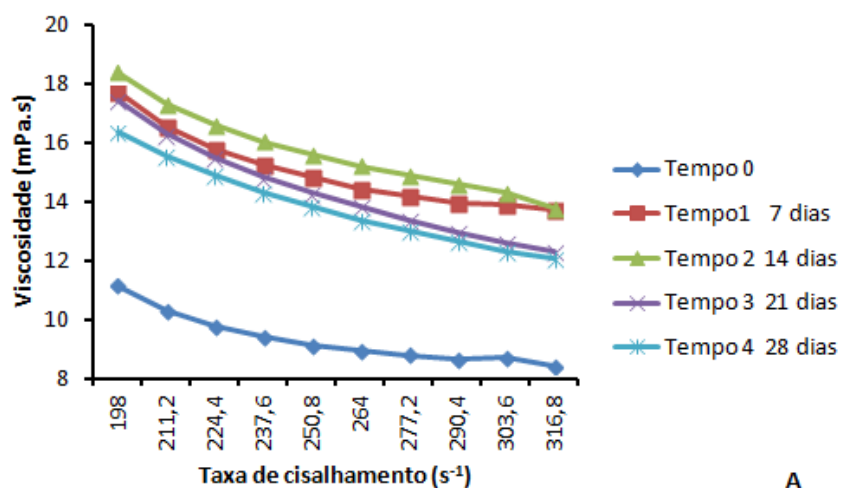
Os resultados para índice de consistência (K) demonstraram que este foi maior na bebida ($p < 0,05$) somente aos 21 dias de armazenamento, enquanto os resultados obtidos para o índice de comportamento de fluxo (n) demonstraram que a bebida apresentou características de materiais pseudoplásticos ($n < 1$) e comportamento não-Newtoniano (Mc Clements, 2005), uma vez que houve diminuição da viscosidade em função do aumento da taxa de cisalhamento aplicada, concordando com o obtido por Villegas e Costell (2007) para bebidas lácteas contendo inulina, por Castro et al. (2009) para bebida láctea simbiótica, por Cunha et al. (2008) para leites fermentados simbióticos e por Yasar, Kahyaoglu e Sahan (2009) em bebidas lácteas.

O tempo de armazenamento influenciou significativamente, aumentando a viscosidade aparente da bebida láctea fermentada (Tabela 3). Observa-se, ainda, que a viscosidade teve um acréscimo ao longo dos primeiros 14 dias de armazenamento seguido de decréscimo, indicando que após certo período de armazenamento a inulina alcança sua capacidade máxima de absorção que, segundo Silva (1996), tal comportamento está associado à capacidade de uma molécula de inulina se ligar a duas moléculas de água, atingindo, assim, o ponto máximo de viscosidade. A partir desse ponto ocorreu então pequena redução da curva de viscosidade do produto, supostamente pela sinérese das micelas presentes na bebida láctea. Donkor et al. (2007) e Abu-Jdayil e Mohameed

(2002), também observaram aumento na viscosidade de iogurtes com inulina (entre 0,5 e 1,5%) ou sem inulina, armazenados por 28 dias e em labneh com o tempo de armazenamento de 14 dias, respectivamente.

A Figura 6 (A e B) representa as relações entre tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento (curvas ascendentes e curvas descendentes) para a bebida láctea fermentada simbiótica ao longo do armazenamento refrigerado. Verificou-se que a relação entre tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento não foi constante, caracterizando, mais uma vez, o produto em estudo como um fluido não newtoniano.

Alguns autores Penna, Sivieri e Oliveira (2001), Koksoy e Kilic (2004) e Gauche et al. (2008) afirmam que tal comportamento é característico de bebidas lácteas, pois nesses produtos ocorre a substituição parcial do leite pelo soro em sua formulação, alterando o produto final com redução da sua viscosidade, como também no teor de sólidos totais, conduzindo a uma menor consistência.



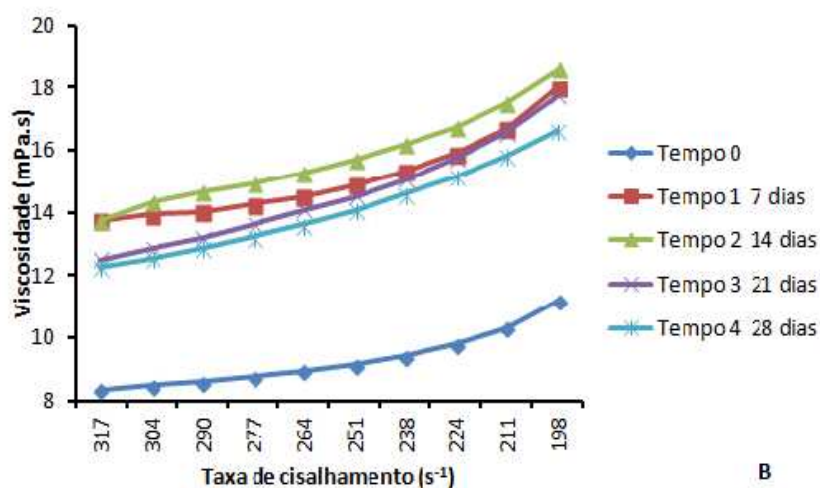


Figura 6 Reogramas da bebida láctea fermentada obtidas a partir da relação entre taxa e tensão de cisalhamento durante o armazenamento, curvas ascendentes (A) e curvas descendentes (B)

Cunha et al. (2009) em estudo com bebida láctea à base de soro de leite verificaram que as formulações com menores teores de soro (40% e 30%), ou seja, com maior teor de sólidos, apresentaram maiores valores para viscosidade.

Uma das características mais importantes da reologia de bebidas lácteas é a viscosidade e, geralmente, a indústria de laticínios utiliza de artifícios como adição de sólidos e espessantes para atingir uma consistência que satisfaça as exigências do consumidor. Conforme Gunggisberg et al. (2009) o emprego de teores de inulina maiores do que 1% resulta em produtos mais viscosos. Fuchs et al. (2006) ao elaborarem iogurte desnatado simbiótico utilizando a inulina e oligofrutose constataram aumento da viscosidade pela adição desses prebióticos, uma vez que são ingredientes que contribuem para o aumento do teor de sólidos no produto além de auxiliar na formação do gel, influenciando diretamente na viscosidade.

Pode-se dizer que o comportamento da bebida láctea fermentada em relação às características reológicas teve influência dos ingredientes não lácteos

a ela adicionados, especialmente pela adição de inulina com o aumento da viscosidade ao longo do armazenamento.

Segundo Bezerra (2010), na indústria de alimentos a redução da viscosidade mediante a taxa de deformação tem importante repercussão tecnológica no que diz respeito ao aumento de velocidade de fluxo, quando submetido a estreitamento de tubos, no momento do envase do produto final e possibilidade de intensa homogeneização em processos de mistura.

A inulina apresenta conveniência tecnológica uma vez que o produto com ela elaborado vai continuar após o envase, tendo a sua viscosidade aumentada, minimizando, com isso, a perda de viscosidade durante o processo de passagens por tubulações e envase. Tal comportamento da inulina como espessante foi confirmado pelos resultados de análise sensorial, pois a textura da bebida apresentou um comportamento crescente ao longo do período de armazenamento.

4 CONCLUSÃO

A bebida láctea fermentada apresentou durante os 28 dias de armazenamento estabilidade quanto às propriedades físico-químicas, microbiológicas, sensoriais e reológicas podendo ser considerada um produto simbiótico, com a cultura mista probiótica (ABT-4[®], Chr. Hansen, Hónsholm, Dinamarca) contendo *Lactobacillus acidophilus* LA 5, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Streptococcus thermophilus* apresentando viabilidade com contagens acima de 10⁷ UFC/mL.

O leiteiro apresentou viabilidade tecnológica não causando nenhum prejuízo às propriedades do produto.

O produto obteve boa aceitação, com escore de aceitação maiores que 6, correspondendo ao termo hedônico “gostei ligeiramente” a “gostei moderadamente” e comportamento reológico não-Newtoniano com características pseudoplásticas.

REFERÊNCIAS

ABU-JDAYIL, B.; MOHAMEED, H. Experimental and modeling studies of the flow properties of concentrated yogurt as affected by the storage time. **Journal of Food Engineering**, v.52, p.359-365, 2002.

AKALIN, A. S.; FENDERYA, S.; AKBULUT, N. Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 39, n. 6, p. 613-621, 2004.

ALMEIDA, K.E.; BONASSI, I.A.; ROÇA, R.O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v. 21, p.187-192, maio-ago. 2001.

BEZERRA, M.F. Caracterização físico-química, reológica e sensorial de iogurte obtido pela mistura dos leites bubalino e caprino. Dissertação mestrado – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Tecnologia. Programa de pós-graduação em Engenharia Química, 116 p. 2010.

BRASIL. Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 de outubro de 2007. Seção 1, p. 5.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.16, de 23 de agosto de 2005. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 ago. 2005, Seção 1, p. 7.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 2, de 7 de janeiro de 2002. Regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, p.191. 17 jul. 2002.

CASTRO, F.P.; CUNHA, T.M.; BARRETO, P.L.M.; AMBONI, R.D.M.C. AND PRUDÊNCIO, E.S. Effect of oligofructose incorporation on the properties of fermented probiotic lactic beverages. **International Journal of Dairy Technology**, v.62, p. 68-74, 2008.

CUNHA, T.M.; ILHA, I.C.; AMBONI, R.D.M.C.; BARRETO, P.L.M.; CASTRO, F.P. A Influência do uso de soro de queijo e bactérias probióticas nas propriedades de bebidas lácteas fermentadas. **Brazilian Journal. Food Technology**, v. 12, n. 1, p. 23-33, jan./mar. 2009.

CUNHA, T.M.; CASTRO, F.P.; BARRETO, P.L.M.; BENEDET, H.D.; PRUDÊNCIO, E.S. Avaliação físico-química, microbiológica e reológica de bebida láctea fermentada e leite fermentado adicionados de probióticos. **Semina: Ciências agrárias**, v.29, n.1, p.103-116, 2008.

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

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

DIAS, J. A importância da segurança alimentar. **Jornal HiperSuper, junho de 2007**. Disponível em: < <http://www.hipersuper.pt/2007/06/01/-a-importancia-da-seguranca-alimentar/>>. Acesso em: 15. jun. 2013.

DONKOR, O. N.; NILMINI, S. L. I.; STOLIC, P.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v.17, p.657-665, 2007.

ELLIS, M.J. **Shelf life evaluation of foods**. London: Black Academic and Professional; 1996, p. 28-39.

FERREIRA, D. F. **Programa Sisvar**: sistema de análise de variância, versão 5.0. Lavras: UFLA, 2000.

FUCHS, R. H. B; TANAMATI, A. A. C.; ANTONIELI, C. M.; GASPARELLO, E. A.; DONEDA, I. Utilização de *Lactobacillus casei* e cultura iniciadora na obtenção de iogurte suplementado com inulina e oligofrutose. **Boletim CEPPA**. Curitiba, v. 24, n. 1, p. 83-98, jan./jun. 2006.

GAUCHE, C.; TOMAZI, T.; BARRETO, P.L.M.; OGLIARI, P.J.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase, **LWT- Food and Science Technology**, v.42, p.239-243, 2009.

GUGGISBERG, D.; CUTHBERT-STEVEN, J.; PICCINALI, P.; BÜTIKOFER, U.; EBERHARD, P. Rheological, microstructural and sensory characterization of low-fat and whole milk set yoghurt as influenced by inulin addition. **International Dairy Journal**, v.19, p.107-115, 2009.

IDF INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus*, **Dairy Fed. Brussels**, n.306, p.23-33, 1999.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físico-químicos para análise de alimentos**. 3. ed. São Paulo, 1985.

KOKSOY, A.; KILIC, M. Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yoghurt drink, ayran. **Food Hydrocolloids**, v.18, p.593-600, 2004.

KRISTO, E.; BILIADERIS, C.; TZANETAKIS, N. Modelling of rheological, microbiological and acidification properties of a fermented milk product containing a probiot strain of *Lactobacillua casei*. **International Dairy Journal**, v.13, n.7, p. 517-522, 2003.

LERAYER, A.S.; MARASCA, E.T.G.; MORENO, I.; VIALTA, A. Culturas lácticas probióticas: Identificação, classificação, detecção e aplicação tecnológica. In: OLIVEIRA, M.N. (Ed). **Tecnologia de produtos lácteos funcionais**. São Paulo: Editora Atheneu, 2009, p. 125-186.

MC CLEMENTS, J. **Food biopolymers and colloids research laboratory**. Disponível em: <<http://www.unix.oit.umass.edu/~mcclemen/581Rheology.html>>. Acesso em: 24 mar. 2013.

OLIVEIRA, M.N.; SODINI, I.; REMEUF, F.; TISSIER, J. P.; CORRIEU, G. Manufacture of fermented lactic beverages containing probiotic cultures. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 6, p. 2336-2341, 2002.

OLIVEIRA, M.N. Características funcionais de leites fermentados e outros produtos lácteos. In: OLIVEIRA, M.N. (Ed). **Tecnologia de produtos lácteos funcionais**. São Paulo: Editora Atheneu, 2009, p. 277-320.

PENA, R. R.; DORELLA, F. A.; PACHECO, L. G. C.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. A. DE C. Emprego de bactérias geneticamente modificadas na indústria de laticínios. In: OLIVEIRA, M.N. (Ed). **Tecnologia de produtos lácteos funcionais**. São Paulo: Editora Atheneu, 2009, p. 187-211.

PENNA, A.L.B.; SIVIERI, K.; OLIVEIRA, M.N. Relation between quality and rheological properties of lactic beverages. **Journal of Food Engineering**, v.49, p.7-13, 2001.

PENNA, A.L.B; OLIVEIRA, M. N.; BARUFFALDI, R. Análise de consistência de iogurte: correlação entre medida sensorial e instrumental. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 17, n.2, p.98-101, 1997.

PEREIRA, D. B. C.; SILVA, P.H.F.; JÚNIOR, L.C.G.C.; OLIVEIRA, L. L. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. 2. ed. Juiz de Fora: Oficina de Impressão, 2001. 190 p.

SHAH, N. P. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 4, p. 894-907, 2000.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. Edição, São Paulo: Varela, 2010, 624 p.

SILVA, R. F. Use of inulin as a natural texture modifier. **Cereal Foods World**, v.41, n.10, p.792-794, 1996.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 3 edição. New York: Academic Press. 2004. 408 p.

TARREGA, A., COSTELL, E. Effect of inulin addition on rheological and sensory properties of fat free starch-based dairy desserts. **International Dairy Journal**, v.16, p.1104-1112, 2006.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 589-595, jul./set. 2006.

VILLEGAS, B., COSTELL, E. Flow behaviour of inulin-milk beverages. Influence of inulin average chain length and of milk fat content. **International Dairy Journal**, v.17, p.776-781, 2007.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Culture media for the enumeration of *Bifobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. **International Dairy Journal**, Barking, v. 9, p. 497–505, 1999.

WAKELING, I. N.; MACFIE, J. H. Designing consumer trials balanced for first and higher orders of carry-over effect when only a subset of K samples from t may be tested. **Food Quality and Preference**, Barking, v. 6, n. 4, p. 299-308, 1995.

YASAR, K.; KAHYAOGU, T.; SAHAN, N. Dynamic rheological characterization of salep glucomannan/galactomannan-based milk beverages. **Food Hydrocolloids**, v.23, p.1305-1311, 2009.

ZACARCHENCO, P. B.; MASSAGUER-ROIG, S. Avaliação sensorial, microbiológica e de pós-acidificação durante a vida de prateleira de leites fermentados contendo *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus acidophilus*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 674-679, 2004.

APÊNDICE

APÊNDICE A

Modelo do questionário utilizado no recrutamento de provadores para formação da equipe sensorial descritiva.

RECRUTAMENTO DE PROVADORES

Para avaliação de produtos já existentes e de produtos em desenvolvimento, uma etapa muito importante é a descrição dos principais aspectos sensoriais que caracterizam o produto e o diferenciam dos demais. Para isso, uma das ferramentas utilizadas é a Análise Descritiva Quantitativa, onde uma equipe de degustadores é treinada para identificar e descrever as características sensoriais importantes em um tipo de produto. Para participar de uma equipe treinada são necessárias apenas algumas habilidades básicas que depois serão aperfeiçoadas durante o período de treinamento da equipe. O essencial é entender a importância da sua colaboração nesse tipo de trabalho e se dedicar à realização de todas as avaliações, para que os resultados obtidos sejam os melhores possíveis e o tempo investido neste trabalho seja recompensado. No Departamento de Ciência dos Alimentos está sendo elaborado um novo tipo de bebida láctea. Esse trabalho está sendo desenvolvido há cerca de um ano e a avaliação sensorial do produto obtido e de produtos do mercado é uma das etapas mais importantes do processo. Se você deseja colaborar com nosso trabalho e participar da Equipe Descritiva Treinada de Bebida láctea Fermentada Simbiótica, preencha este formulário e assine o termo de consentimento no final desta ficha. Se você tiver alguma dúvida ou quiser mais informações não hesite em nos procurar.

Nome completo: _____ Idade: _____
Telefone: Trabalho: _____ Residencial: _____ Celular: _____
E-mail: _____.

Horários e dias da semana em que você vem à UFLA:

_____.

01) Existe algum dia ou horário durante o qual você não poderá participar das sessões de degustação? Quais?

_____.

02) Indique os períodos em que você pretende tirar férias este ano.

_____.

03) Indique o quanto você aprecia cada um desses produtos:

Gosto	Nem gosto/Nem desgosto	Desgosto	
A – Iogurte	()	()	()
C – Queijo	()	()	()
B – Bebida láctea	()	()	()

04) Cite alguns alimentos e ingredientes que você desgosta muito.

_____.

05) Cite três alimentos que sejam ácidos.

_____.

06) Descreva algumas características de sabor que você percebe em bebida láctea.

_____.

07) Especifique os alimentos ou ingredientes que não pode comer ou beber por razões de saúde. Explique, por favor:

_____.

08) Indique se você possui:

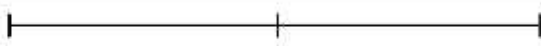
() Diabetes	() Doença bucal	() Hipertensão
() Prótese dentária	() Hipoglicemia	() Aparelho dentário
() Alergias: _____.		
() Outras doenças:		

_____.

09) Você está sendo submetido a algum tratamento médico e tomando algum medicamento? Quais?

_____.

10) Marque na linha ao lado de cada figura um traço que indique a proporção da figura que está pintada.

Exemplos:	
	 Nenhuma Toda
	 Nenhuma Toda
	 Nenhuma Toda
Questões:	
	 Nenhuma Toda
	 Nenhuma Toda
	 Nenhuma Toda
	 Nenhuma Toda
	 Nenhuma Toda
	 Nenhuma Toda
	 Nenhuma Toda
	 Nenhuma Toda
	 Nenhuma Toda
	 Nenhuma Toda

Termo de Consentimento

Tendo sido informado dos objetivos e das avaliações que serão realizadas no decorrer do projeto em questão, eu gostaria de participar da equipe sensorial treinada de Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) de Bebida Láctea.

Nome completo e assinatura:

Lavras, _____ de _____ de 2010.

APÊNDICE B

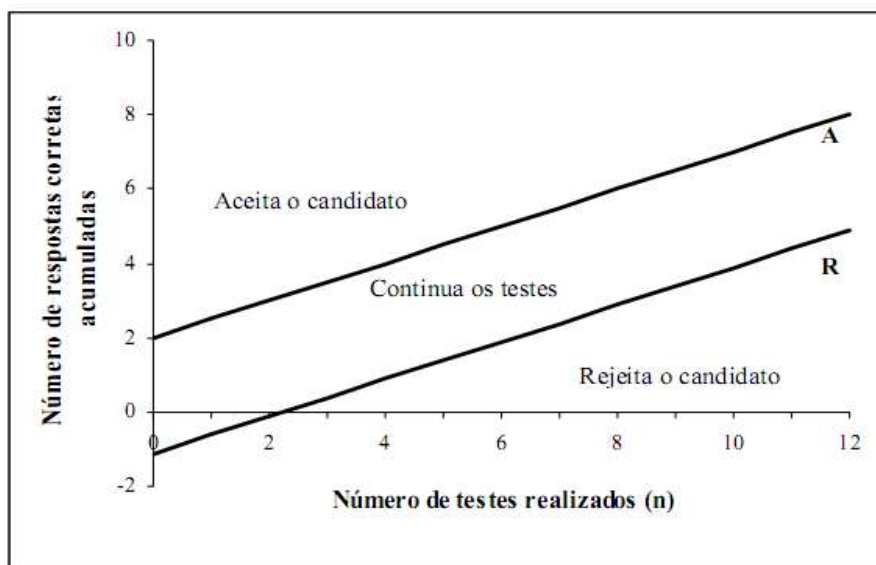
Ficha empregada no método triangular para a pré-seleção de provadores

FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL		
TESTE TRIANGULAR		
Nome:	Data:	
Por favor, prove as amostras codificadas da esquerda para a direita. Duas amostras são iguais e uma é diferente. Identifique com um círculo a amostra diferente.		

Comentários:		

APÊNDICE C

Retas de aceitação e rejeição dos candidatos utilizadas na análise sequencial para a pré-seleção dos provadores



APÊNDICE D

Ficha utilizada no levantamento da terminologia
descritiva

METODO DE REDE	
Por favor, compare as duas amostras quanto à aparência, aroma, sabor e textura, indicando em que são similares e em que são diferentes.	
Amostras: _____ e _____.	
SIMILARIDADES	DIFERENÇAS
APARÊNCIA:	
AROMA:	
SABOR:	
TEXTURA:	

APÊNDICE E

Ficha utilizada no treinamento dos provadores e na avaliação descritiva da
bebida láctea fermentada

TESTE COM ESCALA DE INTENSIDADE	
Nome: _____	Data: ____/____/____.
Por favor, prove a amostra de bebida láctea e avalie na escala abaixo, a intensidade de cada atributo.	
<u>APARÊNCIA</u>	
Cor Rosa	Fraco/nenhum Forte
Cor lilás	Fraco/nenhum Forte
Presença de polpa de morango	Fraco/nenhum Forte
<u>AROMA</u>	
Aroma de morango	Fraco/nenhum Forte
Aroma de leite fermentado	Fraco/nenhum Forte
Aroma doce	Fraco/nenhum Forte
<u>SABOR</u>	
Gosto doce	Fraco/nenhum Forte
Soro	Fraco/nenhum Forte
Morango	Fraco/nenhum Forte

APÊNDICE F

Ficha utilizada no teste de aceitação sensorial com consumidores dos onze tratamentos de bebida láctea fermentada e no teste preliminar

<u>AValiação Sensorial de Bebida Láctea Fermentada</u>																																									
Nome: _____ Data: ____/____/____. Sexo: F (☐) M (☐).																																									
Frequência de consumo de bebida láctea: (☐) 1 vez ao mês (☐) 2 vezes ao mês (☐) 1 vez por semana (☐) 2 vezes por semana (☐) Todos os dias.																																									
Faixa etária: (☐) 18 a 25 anos (☐) 26 a 40 anos (☐) 41 a 55 anos (☐) acima de 56 anos.																																									
Por favor, prove as amostras e avalie, utilizando a escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou da Aparência, do Aroma, do Sabor, da Textura e da Impressão Global.																																									
(9) gostei extremamente (8) gostei muito (7) gostei moderadamente (6) gostei ligeiramente (5) nem gostei/nem desgostei (4) desgostei ligeiramente (3) desgostei moderadamente (2) desgostei muito (1) desgostei extremamente	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="padding: 2px;">Código das amostras</th> <th style="padding: 2px;">Aparência</th> <th style="padding: 2px;">Aroma</th> <th style="padding: 2px;">Sabor</th> <th style="padding: 2px;">Textura</th> <th style="padding: 2px;">Impressão Global</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td style="height: 20px;"></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td style="height: 20px;"></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td style="height: 20px;"></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td style="height: 20px;"></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td style="height: 20px;"></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>	Código das amostras	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	Impressão Global																																		
Código das amostras	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	Impressão Global																																				
Comentários: _____																																									

APÊNDICE G

Ficha utilizada no teste de aceitação da bebida láctea fermentada simbiótica durante o período de armazenamento refrigerado a 4°C

<u>AVALIAÇÃO SENSORIAL DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA</u>						
Nome: _____ Data: ____/____/____. Sexo: F () M ().						
Frequência de consumo de bebida láctea: () 1 vez ao mês () 2 vezes ao mês () 1 vez por semana () 2 vezes por semana () Todos os dias.						
Faixa etária: () 18, a 25 anos () 26, a 40 anos () 41, a 55 anos () acima de 56 anos.						
Por favor, avalie a amostra segundo a escala abaixo e indique o quanto você gostou ou desgostou da Aparência, do Aroma, do Sabor, da Textura e da Impressão Global.						
(9) gostei extremamente (8) gostei muito (7) gostei moderadamente (6) gostei ligeiramente (5) nem gostei/nem desgostei (4) desgostei ligeiramente (3) desgostei moderadamente (2) desgostei muito (1) desgostei extremamente	Código da amostra	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	Impressão Global
Comentários: _____						
Agora por favor, avalie qual seria sua intenção de compra para a amostra avaliada:						
5- Certamente compraria este produto 4 - Provavelmente compraria este produto 3- Têm dúvidas se compraria ou não este produto 2- Provavelmente não compraria este produto 1- Certamente não compraria este produto	Códigos da amostra	Intenção de compra				

APÊNDICE H

Tabela 1H Análise de variância para os atributos de aceitação aparência, aroma, sabor, textura e impressão global do teste de aceitação preliminar para as bebidas lácteas fermentadas por culturas Bb-12 e ABT-4

CARACTERÍSTICAS											
FV	GL	APARÊNCIA		AROMA		SABOR		TEXTURA		I. GLOBAL	
		QM	P valor	QM	P valor	QM	P valor	QM	P valor	QM	P valor
TRAT	1	1.4400	0.1288	2.2500	0.1859	1.9300	0.3296	2.2500	0.0418	3.2400	0.074
PROV	49	3.7722		3.2957		4.6073		5.0867		3.9885	
Erro	49	0.6032		1.2500		2.0212		1.0459		0.9769	
CV (%)	11.03	11.03		17.23		23.00		15.86		15.57	
Média Geral	7.04	7.04		6.49		6.18		6.45		6.34	

APÊNDICE I

Tabela 1I Análise de variância para os atributos de aceitação aparência, aroma, sabor, textura e impressão global da bebida láctea fermentada simbiótica durante o período de armazenamento refrigerado a 4°C

CARACTERÍSTICAS											
FV	GL	APARÊNCIA		AROMA		SABOR		TEXTURA		I. GLOBAL	
		QM	P valor	QM	P valor	QM	P valor	QM	P valor	QM	P valor
TRAT	4	0,3760	0.9546	2.004	0.4556	8.2500	0.0139*	7.5200	0.0418*	2.8960	0.2140
PROV	49	1.9376		2.4905		2.6040		2.9408		1.4253	
Erro	196	2.2413		2.1876		2.5663		2.9710		1.9755	
CV (%)		21.49		22.02		23.42		25.73		20.47	
Média Geral		6.96		6.71		6.84		6.70		6.86	

APÊNDICE J

Tabela 1J Análise de variância para as características pH e acidez titulável da bebida láctea fermentada simbiótica durante o período de armazenamento refrigerado a 4°C

FV	GL	CARACTERÍSTICAS			
		pH		ACIDEZ TITULÁVEL	
		QM	p valor	QM	p valor
TRAT.	4	0.0115	0.00001*	0.0013	0.9917
Erro	10	0.0006		0.2133	
CV (%)		0.53		25.27	
Média Geral		4.79		0.57	

APÊNDICE L

Tabela 1L Análise de variância para a variável viabilidade probiótica de *Lactobacillus acidophilus* LA 5 e *Bifidobacterium lactis* subsp. *lactis* Bb-12 durante o período de armazenamento refrigerado a 4°C

FV	GL	CARACTERÍSTICAS			
		<i>L. acidophilus</i>		<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12.	
		QM	p valor	QM	p valor
TRAT.	4	0.01346	0.0032*	0.0222	0.0012*
Erro	10	0.0016		0.0024	
CV (%)		0.40		0.50	
Média Geral		9.98		9.91	

APÊNDICE M

Tabela 1M Análise de variância para o comportamento reológico da bebida láctea fermentada simbiótica durante o período de armazenamento refrigerado a 4°C

FV	GL	CARACTERÍSTICAS			
		Índice de consistência (k)		Viscosidade aparente (η)	
		QM	p valor	QM	p valor
TRAT.	4	145660.6126	0.0001*	25.7546	0.0000*
Erro	10	8150.0666		0.3787	
CV (%)		0.40	22.13		3.78
Média Geral		9.98	407.85		16.22