

Laura Caroline Ferreira Mendes Capuchinho

**Efeito da concentração de soro e da adição de culturas na sinérese e pós-acidificação de
bebida láctea fermentada**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Área de Concentração: Produção Animal

Orientador: Maximiliano Soares Pinto

MONTES CLAROS
2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Capuchinho, Laura Caroline Ferreira Mendes.

C255e Efeito da concentração de soro e da adição de culturas na sinérese e pós-
2018 acidificação de bebida láctea fermentada / Laura Caroline Ferreira Mendes
Capuchinho. Montes Claros, 2018.
36 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Área de concentração em Produção Animal,
Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador: Prof. Maximiliano Soares Pinto.

Banca examinadora: Prof. Demerson Arruda Sanglard, Prof. Wedson Carlos
Lima Nogueira.

Inclui referências: f. 17-20, 33-34.

1. Laticínios. 2. Soro de Leite. 3. Bactérias produtoras de ácido láctico. 4.
Lactobacilo. I. Pinto, Maximiliano Soares (Orientador). II. Universidade
Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 637.1

Laura Caroline Ferreira Mendes Capuchinho

**Efeito da concentração de soro e da adição de culturas na sinérese e pós-acidificação de
bebida láctea fermentada**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Área de Concentração: Produção Animal
Linha de Pesquisa: Qualidade de produtos de origem animal

Orientador: Maximiliano Soares Pinto
Instituto de Ciências Agrárias da UFMG

Aprovado pela banca examinadora constituída pelos professores:

Prof. Demerson Arruda Sanglard
UFMG/ICA

Prof. Wedson Carlos Lima Nogueira

Prof. Maximiliano Soares Pinto (orientador)
UFMG/ICA

Montes Claros, 13 de Julho de 2018

DEDICO

Aos meus pais, Sílvia e Antônio.
Aos meus irmãos, Polliana e Bruno.

AGRADECIMENTO

Agradeço, primeiramente, a Deus por guiar os meus passos por todo caminho e nunca me desamparar em todos momentos da vida.

Aos meus pais, Sílvia e Antônio, que sempre priorizaram a minha educação. E, além de me proporcionarem o estudo, agradeço por sempre estarem presentes.

Aos meus irmãos Polliana e Bruno, pelo carinho, amizade e momentos de diversão, que me fizeram esporecer diante das dificuldades.

Ao orientador e amigo Max por dividir comigo seu conhecimento, pelas tantas horas de paciência e pelas palavras certas que me impulsionaram no decorrer desse trabalho.

Ao Gelson pelo incentivo pioneiro em seguir um novo caminho; pelo companheirismo e paciência.

A Kely por toda ajuda no mestrado, desde a realização das análises ao entendimento do trabalho. Não tenho palavras para agradecer tudo que fez!

Ao Handray pela disposição e auxílio nas análises das amostras.

À Lílian e Grayce pela amizade desde a graduação e por todo suporte que me foi dado.

À Kátia por todo seu companheirismo, por sempre me escutar e incentivar, por todas as conversas que me fizeram seguir em frente, por todo ensinamento durante toda minha vida acadêmica. Serei sempre grata!

À Roberta e Lorena pela amizade construída e por toda ajuda prestada.

Ao Daniel Arruda pela contribuição dada no trabalho.

À CAPES, pela concessão da bolsa.

À Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias, pela oportunidade de realização do mestrado.

Por fim, agradeço à todos que de alguma forma contribuíram para realização e conclusão do meu mestrado.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

O soro de leite tem se mostrado um valioso coproduto utilizado na indústria alimentícia, devido seu baixo custo, seu excelente perfil de aminoácidos e pelos benefícios que oferece para a saúde humana. Além disso, sua aplicação na indústria pode ser explicada por ser considerado um efluente, acarretando um impacto ambiental negativo. Dessa forma, uma das principais alternativas de utilização do soro compreende a formulação de bebidas lácteas. O objetivo do estudo foi investigar a influência da adição de diferentes culturas e concentrações de soro de leite na pós-acidificação e estabilidade do gel de bebida láctea fermentada (BLF) durante a vida de prateleira. A BLF foi elaborada no laboratório de Tecnologia de Produtos Lácteos do Instituto de Ciências Agrárias. Para o experimento foram utilizadas três diferentes culturas termofílicas comerciais para iogurte, constituídas por cepas de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*. Para cada cultura foram elaboradas bebidas lácteas contendo 0%, 20%, 30% e 40% de soro na sua formulação. Posteriormente, as amostras de BLF foram armazenadas em refrigeração a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e analisadas quanto ao pH, acidez, e sinérese aos 2; 10; 20 e 30 dias pós fabricação. Os parâmetros de acidez, pH e sinérese foram sintetizados em um único componente principal a partir da Análise de Componentes Principais (PCA). Para tanto, foram previamente escalonados para eliminar a diferença das diferentes escalas de grandeza de cada variável utilizando a transformação pelo desvio padrão (xi-média/desvio padrão). Verificou-se que, em relação as culturas utilizadas não houve diferença entre estas nos parâmetros analisados. Por outro lado, a concentração de soro influenciou na sinérese e acidez do produto, sendo que a bebida com maior porcentagem de soro apresentou maior sinérese e a que continha menor porcentagem de soro apresentou menor acidez. Para valores de pH, não foi possível constatar qual concentração apresentou maior ou menor pH. Desse modo, a utilização de diferentes culturas não influenciou no produto final, porém as diferentes concentrações de soro influenciaram nas características do produto.

Palavras-chave: Laticínios. Soro de Leite. Bactérias ácido lácticas. Lactobacilo.

ABSTRACT

Whey has proven to be a valuable co-product used in the food industry because of its low cost, excellent amino acid profile and the benefits it offers to human health. In addition, its application in the industry can be explained by being considered an effluent, with negative environmental impact. Thus, one of the main alternatives for the use of whey comprises the formulation of dairy drinks. The objective of the study was to investigate the influence of the addition of different cultures and concentrations of whey in post-acidification and stability of the fermented milk beverage gel (BLF) during shelf life. The BLF was elaborated in the Laboratory of Dairy Technology of the Institute of Agrarian Sciences. For the experiment three different commercial thermophilic cultures were used for yoghurt, consisting of strains of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. For each culture dairy drinks containing 0%, 20%, 30% and 40% of whey were prepared in their formulation. Subsequently, the BLF samples were stored under refrigeration at 5 ± 1 ° C and analyzed for pH, acidity, and syneresis at 2; 10; 20 and 30 days post manufacture. The parameters of acidity, pH and syneresis were synthesized in a single main component from Principal Component Analysis (PCA). To do so, they were previously staggered to eliminate the difference of the different magnitude scales of each variable using the standard deviation transformation ($(x_i - \text{mean}) / \text{standard deviation}$). It was verified that, in relation to the cultures used, there was no difference between them in the analyzed parameters. On the other hand, the concentration of serum influenced the syneresis and acidity of the product, and the drink with the highest percentage of serum presented higher syneresis and the one containing the lower percentage of serum presented lower acidity. For pH values, it was not possible to determine which concentration had higher or lower pH. Thus, the use of different cultures did not influence the final product, but the different serum concentrations influenced the characteristics of the product.

Keywords: Dairy products. Whey. Lactic acid bacteria. *Lactobacillus*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1a –	Diagrama da Análise de Componentes Principais (PCA) das culturas 2 dias pós fabricação.....	25
Figura 1b –	Boxplot das culturas 2 dias pós fabricação.....	25
Figura 2a –	Diagrama da Análise de Componentes Principais (PCA) das concentrações de soro 2 dias pós fabricação.....	26
Figura 2b –	Boxplot das concentrações de soro 2 dias pós fabricação.....	26
Figura 3a –	Diagrama da Análise de Componentes Principais (PCA) das culturas 10 dias pós fabricação.....	27
Figura 3b –	Boxplot das culturas 10 dias pós fabricação.....	27
Figura 4a –	Diagrama da Análise de Componentes Principais (PCA) das concentrações de soro 10 dias pós fabricação.....	27
Figura 4b –	Boxplot das concentrações de soro 10 dias pós fabricação.....	27
Figura 5a –	Diagrama da Análise de Componentes Principais (PCA) das culturas 20 dias pós fabricação.....	28
Figura 5b –	Boxplot das culturas 2 dias pós fabricação.....	28
Figura 6a –	Diagrama da Análise de Componentes Principais (PCA) das concentrações de soro 20 dias pós fabricação.....	29
Figura 6b –	Boxplot das concentrações de soro 2 dias pós fabricação.....	29
Figura 7a –	Diagrama da Análise de Componentes Principais (PCA) das culturas 30 dias pós fabricação.....	29
Figura 7b –	Boxplot das culturas 30 dias pós fabricação.....	29
Figura 8a –	Diagrama da Análise de Componentes Principais (PCA) das concentrações de soro 30 dias pós fabricação.....	30
Figura 8b –	Boxplot das concentrações de soro 30 dias pós fabricação.....	30

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	OBJETIVOS.....	11
2.1	Objetivo Geral.....	11
2.2	Objetivos Específicos.....	11
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	12
3.1	Soro de Leite.....	12
3.2	Soro de Leite como el fuente.....	13
3.3	Bebidas Lácteas.....	14
3.3.1	Bebida Láctea Fermentada.....	14
3.4	Bactéria Ácido Lácticas.....	16
3.4.1	<i>L. Bulgaricus</i> e <i>S. Thermophilus</i>	16
3.5	Referências.....	17
4	ARTIGO.....	21
4.1	Artigo – Investigação da pós acidificação e sinérese de bebidas lácteas fermentadas elaboradas com diferentes culturas e concentrações de soro durante a estocagem.....	21
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	35

1 INTRODUÇÃO

O soro de leite é um importante coproduto da indústria de lácteos, obtido por meio da coagulação do leite, representando a porção aquosa deste, que se desprende do coágulo durante a produção de queijo ou caseína. (GIRALDO-ZUNIGA, 2003).

No Brasil, esse coproduto tem sido produzido em proporções cada vez maiores, devido ao aumento do consumo de queijos. Cerca de 90 a 95% do volume do leite usado para a fabricação de queijos resultam em soro, o qual contém aproximadamente metade dos sólidos totais do leite, incluindo proteínas solúveis, sais e principalmente lactose (PACHECO *et al.*, 2005).

O soro de leite tem se mostrado um valioso coproduto utilizado na indústria alimentícia, devido sua produção abundante, seu baixo custo e alto valor nutricional. Contudo, em virtude do alto conteúdo de substâncias orgânicas, bem como a presença de lactose e proteína, a sua capacidade poluente é considerada alta (PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012). Nesse sentido, a questão ambiental também favorece as razões para utilização do soro de leite em diversos produtos alimentícios (SGARBIERI, 2004).

Novas formas de utilização do soro têm sido estudadas pelas indústrias em geral, todavia é na indústria alimentícia, mais especificamente na de laticínios, que este tem tido maior emprego. Dessa forma, a utilização deste na produção de bebidas lácteas constitui um modo coerente de aproveitamento (ALMEIDA; BONASSI; ROÇA, 2001; PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012).

Percebe-se um aumento na fabricação de bebidas lácteas desenvolvidas da mistura do soro de leite e iogurte. Esse fato se dá pelo sabor, valor nutritivo, imagem saudável e, principalmente, baixa custo que o produto tem (LUZ, 2008). Para a indústria láctea, a utilização do soro na produção de bebidas lácteas agrega valor ao produto, a partir de um composto antes considerado resíduo (RIBEIRO, 2013).

Portanto, ao mesmo tempo em que o aproveitamento do soro possibilita elaboração de novos produtos alimentares, como a bebida láctea, diminui seu impacto ambiental negativo (ALVES *et al.*, 2014), sendo uma boa opção para as indústrias de lácteos a fim de se evitar desperdícios e, por conseguinte gerando lucro.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar o efeito da adição de diferentes culturas e concentrações de soro de leite no processo de fabricação de bebida láctea fermentada.

2.2 Objetivos Especificos

- Elaborar bebida láctea fermentada com diferentes culturas e concentrações de soro de leite na sua base láctea.
- Caracterizar a sinérese e pós acidificação do produto durante 30 dias de armazenamento a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 SORO DE LEITE

O soro de leite é um coproduto resultante da produção de queijos, por coagulação da caseína, obtido por adição de ácido ou de enzima - soro doce (CAPITANI *et al.*, 2005). Apresenta potencial relevante para a indústria alimentícia, devido seu alto valor nutritivo e baixo custo. Com aplicação em diversos ramos alimentares e de bebidas.

O soro de leite é constituído por água (93,3%), lactose (5,0%), proteínas (0,85%) e minerais (0,53%), e apresenta baixo teor de gordura (0,36%). Os dois principais componentes protéicos do soro são a β -lactoglobulina e α -lactoalbumina, que representam cerca de 70% do total de proteínas. Além disso, também são encontradas imunoglobulinas, albumina do soro bovino e subfrações que se apresentam em menor quantidade no leite (BOSI *et al.*, 2013; ALVES *et al.*, 2014).

De acordo com Sgarbieri (2004), o soro é obtido a partir de três formas, sendo elas: a) pelo processo de coagulação enzimática do leite, resultando no soro doce; b) precipitação ácida, obtendo o soro ácido; c) separação física das micelas de caseína por micro filtração, obtendo-se um concentrado de micelas e as proteínas do soro, na forma de concentrado ou isolado protéico. Contudo, a maioria dos autores classifica o soro como doce e ácido, de acordo com sua acidez total ou pelo seu conteúdo em ácido láctico. Dessa forma, o soro doce é obtido através da ação da enzima quimosina, enquanto o soro ácido é proveniente da fabricação de queijos frescos, como ricota, cheddar (MIZUBUTI, 1994; SILVA; BOLINI, 2006; OLIVEIRA; BRAVO; TONIAL, 2012; ALVES *et al.*, 2014).

As proteínas do soro do leite apresentam um excelente perfil de aminoácidos essenciais, caracterizando-as como proteínas de alto valor biológico (HARAGUCHI; ABREU; PAULA, 2006). Sendo consideradas completas, uma vez que contêm em quantidade e proporção adequada todos os aminoácidos.

São conhecidas pelas suas apreciáveis características funcionais tecnológicas como matéria prima em produtos alimentícios, principalmente por sua alta capacidade de solubilização e gelificação (GIRALDO-ZUNIGA, 2003; CAPITANI *et al.*, 2005).

Com o intuito de encontrar solução para o aproveitamento do soro dispensando nas empresas, iniciaram pesquisas para mostrar a possibilidade de utilização desse coproduto (ZAVAREZE; MORAES; SALAS-MELLADO, 2010).

A utilização do soro foi estudada pelas indústrias farmacêuticas e químicas. No entanto, devido à deficiência de alimentos no mundo aliada a grande produção de soro de leite, foi na indústria de alimentos que essa matéria prima se sobressaiu. O seu aproveitamento sugere a melhoria econômica de laticínios e o desenvolvimento de produtos (PACHECO *et al.*, 2005; PELEGRINE; CARRASQUEIRA, 2008; OLIVEIRA; BRAVO; TONIAL, 2012).

Dessa forma, uma das principais alternativas de utilização do soro compreende a formulação de bebidas lácteas. Esse produto tem se alastrado no mercado devido seu alto

valor nutricional, processamento simples e baixo custo, sendo um atrativo para os consumidores (PAULA *et al.*, 2012).

Um trabalho realizado por Bosi *et al.* (2013) avaliou a aceitação sensorial de bebida não fermentada, com adição de inulina e polpa de acerola. Foram elaboradas seis bebidas com substituição parcial da água da formulação pelo soro em diferentes concentrações: 0, 20, 40, 60, 80 e 100%. Os autores chegaram à conclusão que as formulações com até 60% de soro de leite constituem uma opção de aproveitamento, uma vez que tiveram boa aceitação do público alvo.

A utilização de soro para a elaboração de bebidas lácteas é uma das maneiras mais coerentes de seu aproveitamento. Por volta de 50% da produção mundial de soro é utilizada como aditivo alimentar, sendo quase a metade utilizada para a produção de bebidas lácteas (ALMEIDA; BONASSI; ROÇA, 2001).

Outro ponto relevante para a utilização do soro de leite é o fato de ser considerado poluente para o meio ambiente. De acordo com Zavareze; Moraes; Salas-Mellado (2010), uma solução para diminuir o impacto ambiental causado pelo soro do leite é a elaboração de novos produtos alimentícios ou sua adição em produtos que já estão no mercado, o que conseqüentemente agrega valor ao produto devido suas propriedades nutritivas.

3.2 SORO DE LEITE COMO EFLUENTE

A preocupação com os impactos ambientais negativos da atividade industrial está em ascensão, uma vez que a população tem se preocupado, cada vez mais, em proteger o patrimônio natural da humanidade. Dentre as atividades industriais, a área de alimentos é a que mais se destaca por gerar maior quantidade de efluentes. Citando como exemplo, a indústria de laticínios, onde suas operações originam uma quantidade muito elevada de resíduos com grande carga orgânica (ROHFLES *et al.*, 2011).

Aproximadamente 40% de todo soro de leite produzido no país é desprezado no meio ambiente sem que haja tratamento adequado, provocando assim sérios problemas devido sua elevada carga orgânica, gerando um efluente com alta Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) (MARQUES *et al.*, 2005; ROHFLES *et al.*, 2011; PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012).

Nesse contexto, entende-se a necessidade da indústria de laticínios usufruir dessa problemática para se beneficiar do aproveitamento do soro de leite, considerando seu grande potencial econômico e alimentar, e conseqüentemente diminuindo a agressão ao meio ambiente (OLIVEIRA; BRAVO; TONIAL, 2012; FERRARI; BALDONI; AZEREDO, 2013). Sendo, a elaboração de bebidas lácteas uma forma coerente de aproveitar o soro de leite, uma vez que apresenta alto valor nutritivo, enriquecendo a bebida láctea e diminuindo os transtornos trazidos pelo seu descarte.

3.3 BEBIDAS LÁCTEAS

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2005), a bebida láctea é oriunda da mistura do leite e soro de leite, podendo ou não conter gordura vegetal adicionada, leite fermentado, fermentos lácteos e outros produtos alimentícios, sendo sua base láctea correspondente a pelo menos 51% da totalidade de todos os ingredientes.

Pode ser classificada de acordo com o tratamento térmico, à fermentação ou à adição de ingredientes. Quanto ao tratamento térmico, esta pode ser pasteurizada, Ultra High Temperature (UHT), esterilizada e tratada termicamente pós fermentação. Em relação à adição de ingredientes é classificada como bebida láctea com adição ou bebida láctea sem adição. E de acordo com a fermentação, é classificada como fermentada ou não fermentada com a presença ou ausência de adição de ingredientes (BRASIL, 2005).

A elaboração de bebida láctea acrescida de soro de leite em sua fórmula vem se destacando no mercado alimentício de produtos lácteos, em virtude do seu alto valor nutricional, constituindo um alimento fonte de cálcio e proteínas, com um custo de fabricação baixo e também baixo valor financeiro para o comprador (ALMEIDA; BONASSI; ROÇA, 2001; THAMER; PENNA, 2006). A utilização do soro nesse produto constitui uma maneira coerente de aproveitamento e é uma realidade para o mercado de alimentos do Brasil, uma vez que estas podem ser obtidas de diferentes formas e em vários sabores, caracterizando-se como um produto muito promissor na área de laticínios (PFLANZER *et al.*, 2010).

Dessa forma, a busca do consumidor brasileiro por alimentos benéficos à saúde, inovadores, seguros nutricionalmente e de fácil utilização, juntamente com a solidificação dos produtos no mercado, colaboraram para o desenvolvimento da indústria de bebidas lácteas, fazendo com que estas se tornassem apreciáveis pela população (THAMER; PENNA, 2006).

Segundo Capitani *et al.* (2005) e Santos *et al.* (2008) a fabricação de bebidas lácteas no Brasil caracteriza-se como uma das mais importantes formas de utilização do soro de leite, sendo as mais vendidas as bebidas lácteas fermentadas, que apresentam atributos sensoriais parecidas ao iogurte. Seu processamento baseia-se na combinação de leite e soro em proporção adequada, acompanhada do acréscimo de ingredientes como aromatizantes, corantes, edulcorantes, polpa de frutas e outros (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

3.3.1 Bebida láctea fermentada

A bebida láctea fermentada (BFL) é definida como o derivado lácteo proveniente da mistura de leite e soro de leite, fermentada a partir da ação de microrganismos específicos e/ou acrescidos de leite fermentando, sendo que esta não poderá ser tratada termicamente após o processo fermentativo e sua base láctea deve ter no mínimo 51% de todos os ingredientes do produto. Então, são componentes obrigatórios da BLF: leite, soro de leite, bactérias lácticas, sendo que, a contagem total das bactérias deve estar viável no produto com no mínimo 10^6 UFC/g durante todo o seu prazo de validade (BRASIL, 2005).

A elaboração de BLF no Brasil aumentou, indicando que esta tendência será mantida nos próximos anos. Alguns fatores propiciaram esse crescimento, entre eles estão: a praticidade de consumo, o bom valor nutritivo, o custo reduzido em equipamentos, além da elaboração de um produto com viabilidade comercial (ALMEIDA; BONASSI; ROÇA, 2001; CUNHA *et al.*, 2008).

Leites fermentados e BLF mostram que são opções versáteis de elaboração e comercialização, pois contribuem no prolongamento da vida útil dos componentes do leite e as variadas fórmulas agradam o comprador final (TEIXEIRA *et al.*, 2003). Sobre isto, Teixeira *et al.* (2005) afirmam que, ainda assim, os consumidores não conhecem a diferença entre esses produtos, aconselhando a necessidade de maiores informações, para que propicie um maior conhecimento do consumidor e que este aprecie a BLF como um produto de boa qualidade.

Para a produção de BLF é necessário que ocorra a fermentação do leite, por meio do cultivo de bactérias lácticas, que são *Streptococcus thermophilus* (*S. thermophilus*) e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (*L. bulgaricus*) (TEBALDI, 2005; WANG *et al.*, 2013). Como forma de obtenção de energia, as bactérias fermentam a lactose, gerando ácido láctico, o que reflete na diminuição do pH do meio. Nessa situação, ocorre a desnaturação das caseínas, uma vez que o pH atinge seu ponto isoelétrico; e acontece a interação entre as caseínas, levando a formação de gel, que será utilizado na elaboração da BLF.

A fabricação destas é considerada uma boa opção como forma de aproveitamento do soro de leite, uma vez que o produto pode ser utilizado de forma total, já que não há uma quantidade padronizada de soro a ser utilizada nas formulações das bebidas lácteas (SCHLABITZ, 2014; ZERBIELLI, 2014). Dessa forma, o limite para o acréscimo de soro fica regulamentado através do teor de proteínas da mistura (BRASIL, 2005).

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea, ficou determinado como parâmetro físico químico que o teor de proteínas para BLF sem adições, sem produtos ou substâncias alimentícias é de no mínimo 1,7g/100g; para BLF com adições, com produtos ou substâncias alimentícias 1,0g/100g; e para BLF com leite fermentado 1,4g/100g (BRASIL, 2005).

Vários estudos evidenciaram a utilização de diversas formas de preparação de bebidas lácteas para verificar efeitos da concentração de soro de leite, polpas de frutas, espessantes.

Santos *et al.* (2006), elaboraram BFL adicionada de polpa de umbu e com diferentes concentrações de soro. Utilizou-se leite pasteurizado com teor de gordura padronizado a 3% e soro originado do processo de fabricação de queijo muçarela. O leite foi misturado as concentrações de 20%, 40% e 60% de soro. Em seguida, foi fermentada com cultura de bactérias termofílicas para iogurte. Adicionou-se as misturas 12% de açúcar e 12% de polpa de

umbu. A partir dos resultados, conclui-se que a bebida mais aceita foi a com 60% de concentração de soro.

Torna-se, cada vez mais, notório o crescimento de segmentos de mercados voltados para alimentação saudável. Sendo, o consumo de produtos alimentícios saudáveis estimulados por profissionais da saúde. Nesse sentido, a BLF atende aos requisitos dos consumidores, uma vez que contém microrganismos responsáveis por beneficiar à saúde e proteínas de alto valor biológico (AWAISHEH; HADDADIN; ROBINSON, 2005; TEBALDI, 2007; BASTIANI, 2009).

3.4 BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS

As bactérias ácido-lácticas (BAL) são formadas por um grupo de microrganismos que se caracterizam por serem Gram-positivas, com catalase negativa, não esporuladas. Desenvolvem de forma anaeróbia, contudo a maioria não é sensível ao oxigênio, podendo se desenvolver tanto na presença como na ausência deste (DORES; FERREIRA, 2012).

Os principais gêneros das BAL são *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Carnobacterium*, *Tetragenococcus* e *Bifidobacterium* (DANIEL *et al.*, 2011).

A indústria de laticínios utiliza bactérias lácticas em diversos produtos, como culturas iniciadoras, uma vez que contribuem para melhoria das características sensoriais, bem como promovem o prolongamento da conservação do alimento, dificultando a disputa da microbiota deteriorante e de agentes patogênicos (WENDLING; WESCHENFELDER, 2013).

As BAL produzem enzimas que modificam os nutrientes essenciais do leite em compostos com características desejáveis. A principal característica dessas bactérias é a habilidade em fermentar a lactose, para desenvolver flavor, aroma e textura (DORES, FERREIRA, 2012). Contudo, em algumas situações as BAL podem produzir aroma e sabor indesejável, uma vez que são tolerantes a temperaturas elevadas, ao pH baixo e por terem como característica o crescimento de forma rápida (PAULA, 2014).

De acordo com o produto final da fermentação, as BAL podem se dividir em dois grupos, que são: homofermentativas ou heterofermentativas. As homofermentativas produzem ácido láctico como produto final da fermentação, por outro lado, as heterofermentativas formam outras substâncias, além do ácido láctico (CARR; CHILL; MAIDA, 2002; MARTINS *et al.*, 2006).

3.4.1 *L. Delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* e *S. Thermophilus*

L. delbrueckii subsp. *bulgaricus* são bactérias na forma de bastão, Gram-positivas, homofermentativas, são microrganismos termofílicos e crescem entre temperatura de 40° a 50°C, com temperatura ótima de 43°C. *S. thermophilus* é um coco, Gram-positivo e termofílico, cresce entre 37° a 45°C. São bactérias homofermentadoras, que produzem ácido láctico no final da fermentação (RECCHIA, 2014).

Na produção de BLF utiliza-se uma cultura starter composta das bactérias lácticas *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *S. thermophilus*. Essas bactérias se desenvolvem na BLF de forma simbiótica. O lactobacilo libera peptídeos e aminoácidos, que estimulam o desenvolvimento do estreptococo; esse se desenvolve de forma mais rápida, produzindo ácidos que promove o crescimento do *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (OZKAYA; ASLIM; OZKAYA, 2007).

As referidas bactérias produzem exopolissacarídeos (EPS), que são compostos responsáveis por gerar características fundamentais em bebidas lácteas fermentadas, como textura e estabilidade. A quantidade de EPS produzidos pelas bactérias lácticas dependem de alguns fatores como pH inicial, temperatura, disponibilidade de minerais (OLIVEIRA, 2006).

Nesse sentido, com a simbiose das bactérias *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *S. thermophilus* nas BLF são obtidas características desejáveis como sabor, acidez, produção de EPS, justificando a utilização de cultura mista nesse produto (TAMIME; ROBINSON, 2007).

3.5 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. 21, n. 2, p. 187-191, 2001.

ALVES, M. P. *et al.* Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. **Revista Instituto do Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 69, n. 3, p. 212-226, 2014.

AWAISHEH, S. S.; HADDADIN, M. S. Y.; ROBINSON, R. K. Incorporation of selected nutraceuticals and probiotic bacteria into a fermented milk. **International Dairy Journal**, v. 15, n. 11, p. 1184-1190, 2005.

BASTIANI, M. I. D. **logurte adicionado de concentrado proteico de soro de leite e farinha de linhaça: desenvolvimento, qualidade nutricional e sensorial**. 2009. 97 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

BOSI, M. G. *et al.* Bebida com adição de soro de leite e fibra alimentar prebiótica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 3, p. 339-341, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006**. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos.

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. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 31 maio 2018.

CAPITANI, C. D. *et al.* Recuperação de proteínas do soro de leite por meio de coacervação com polissacarídeo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 11, p. 1123-1128, 2005.

CARR, F. J.; CHILL, D.; MAIDA, N. The lactic acid bacteria: a literature survey. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 28, n. 4, p. 281-370, 2002.

CUNHA, T. M. *et al.* Avaliação físico-química, microbiológica e reológica de bebida láctea e leite fermentado adicionados de probióticos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 1, p. 103-116, 2008.

DANIEL, C. *et al.* Recombinant lactic acid bacteria as mucosal biotherapeutic agents. **Trends in Biotechnology**, v. 29, n. 10, p. 499-508, 2011.

DORES, M. T.; FERREIRA, C. L. L. F. Queijo Minas artesanal, tradição centenária: ameaças e desafios. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 2, n. 2, p. 26-34, 2012.

FERRARI, A. S.; BALDONI, N. R., AZEREDO, E. M. C. Análise sensorial e físico-química de produtos elaborados à base de soro de leite. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações**, v. 11, n. 1, p. 216-223, 2013.

GIRALDO-ZUÑIGA, A. D. **Estratégia de purificação das proteínas α -lactoalbumina e β -lactoglobulina do soro de queijo**. 2003. 155 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. de. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 479-488, 2006.

LUZ, L. M. P. **Avaliação do envase à quente de uma bebida láctea na conservação à temperatura ambiente**. 2008. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

MARQUES, D. P. *et al.* Separação das proteínas do soro de leite por deae-trisacryl. **Alimentação e Nutrição**, v. 16, n.1, p. 17-20, 2005.

MARTINS, A. D. O. *et al.* Resistência de bactérias lácticas, isoladas de fezes de suínos e sua capacidade antagônica frente a microrganismos indicadores. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 5, n. 1, p. 53-59, 2006.

MIZUBUTI, I. Y. Soro de leite: composição, processamento e utilização na alimentação. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 15, n. 1, p. 80-94, 1994.

OLIVEIRA, D. F.; BRAVO, C. E. C.; TONIAL, I. B. Soro de leite: um subproduto valioso. **Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 38, p. 64-71, 2012.

OLIVEIRA, V. M. *et al.* Avaliação sensorial de bebida láctea fermentada com diferentes concentrações de soro de queijo, enriquecida com ferro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 13, n. 2, p. 67-70, 2006.

OLIVEIRA, V. M. **Formulação de bebida láctea fermentada com diferentes concentrações de soro de queijo, enriquecida com ferro**: caracterização físico-química, análises bacteriológicas e sensoriais. 2006. 70 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2006.

OZKAYA, F. D; ASLIM, B.; OZKAYA, M.T. Effect of exopolysaccharides produced by *L. delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria. **LWT- Food Science and Technology**, n.40, p.564-568, 2007.

PACHECO, M. T. B *et al.* Propriedades funcionais de hidrolisados obtidos a partir de concentrados proteicos de soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 333-338, 2005.

PAULA, J. C. J. *et al.* Aproveitamento de soro de queijo de coalho na elaboração de bebida láctea pasteurizada. **Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 67, n. 387, p. 13-20, 2012.

PAULA, M. C. **Avaliação do risco da ocorrência de resistência a antibióticos e/ou bacteremia causadas por bactérias ácido lácticas**: uma revisão sistemática. 2014. 67 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

PELEGRINE, D. H. G.; CARRASQUEIRA, L. R. Aproveitamento do soro do leite no enriquecimento nutricional de bebidas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 7, 2008.

PFLANZER, S. B. *et al.* Perfil sensorial e aceitação de bebida láctea achocolatada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 391-398, 2010.

PRAZERES, R. A.; CARVALHO, F.; RIVAS, J. Cheese whey management: a review. **Journal of Environmental Management**, v. 110, p. 48-68, 2012.

RECCHIA, B. R. V. **Desenvolvimento de bebida láctea fermentada a base de soro lácteo ácido**: caracterização físico-química e reológica. 2014. 99f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

RIBEIRO, O. A. S. **Bebida láctea fermentada elaborada com *Camellia sinensis***. 2013. 59 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Vale de Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2013.

ROHLFES, A. L. B. *et al.* Indústrias lácteas: alternativas de aproveitamento do soro de leite como forma de gestão ambiental. **Tecno-Lógica**, v. 15, n. 2, p. 79-83, 2011.

SANTOS, C. T. *et al.* Elaboração e caracterização de uma bebida láctea fermentada com polpa de umbu (*Spondias tuberosa* sp.). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 8, n. 2, p. 111-116, 2006.

SANTOS, C. T. *et al.* Influência da concentração de soro na aceitação sensorial de bebida láctea fermentada com polpa de manga. **Alimentação e Nutrição**, v. 19, n. 1, p. 55-60, 2008.

SCHLABITZ, C. **Aplicação de soro de ricota na elaboração de bebida láctea fermentada funcional**. 2014. 126 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – UNIVATES, Lajeado, 2014.

SGARBIERI, V. C. Propriedade fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 4, p. 397-409, 2004.

SILVA, K.; BOLINI, H. M. A. Avaliação sensorial do sorvete formulado com produto de soro de leite ácido de leite bovino. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 116-122, 2006.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Tamime and Robinson's Yoghurt: science and technology**. 3. ed. Cambridge: Woodhead, 2007.

TEBALDI, V. M. R. Avaliação microbiológica de bebidas lácteas fermentadas adquiridas no comércio varejista do sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1085-1088, 2007.

TEIXEIRA, S. B. *et al.* Elaboración de una bebida láctea a partir del suero ricota. **Alimentaria: Revista de Tecnología e Higiene de los Alimentos**, n. 349, p. 97-103, 2003.

TEIXEIRA, V.Q. *et al.* Comercialização de produtos lácteos com a adição de soro de queijo e avaliação do conhecimento do consumidor em relação a essa adição. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, Búzios. **Anais...** [S. l.: s.n.], 2005.

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.

WANG, X. *et al.* H(+) -ATPase-defective variants of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* contribute to inhibition of postacidification of yogurt during chilled storage. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 2, p. M297-M302, 2013.

WENDLING, L.K; WESCHENFELDER, S. Probióticos e alimentos lácteos fermentados: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 395, p. 49-57, 2013.

ZAVAREZE, E. R.; MORAES, K. S.; SALAS-MELLADO, M. M. Qualidade tecnológica e sensorial de bolos elaborados com soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 100-105, 2010.

ZERBIELLI, K. M. **Bebida láctea fermentada com cultura probiótica adicionada com semente de chia (*Salvia hispânica L.*)**. 2014. 62 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2014.

4 ARTIGO

4.1. Investigação da pós acidificação e sinérese de bebidas lácteas fermentadas elaboradas com diferentes culturas e concentrações de soro durante a estocagem

Este artigo foi elaborado conforme normas da Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos.

1

ABSTRACT

2 Fermented dairy drink is a widely consumed product among Brazilians, due to its low cost and
3 nutritional value. In addition, it is an option for the dairy industry regarding the use of whey. The
4 objective of this study was to investigate the effect of milk serum addition on post-acidification
5 and stability of the BLF gel during shelf life. For the experiment three different commercial
6 thermophilic cultures were used for yoghurt, consisting of strains of *Lactobacillus bulgaricus* and
7 *Streptococcus thermophilus*. For each culture dairy drinks containing 0%, 20%, 30% and 40%
8 of whey were prepared in their formulation. Samples were evaluated for pH, acidity and
9 syneresis for 30 days of storage at $5 \pm 1^\circ\text{C}$. It was verified that, there was no difference between
10 the cultures in the parameters analyzed. On the other hand, the concentration of serum
11 influenced the syneresis and acidity of the product, and the drink with the highest percentage of
12 serum presented higher syneresis and the one containing the lower percentage of serum
13 presented lower acidity. For pH values, it was not possible to determine which concentration
14 had higher or lower pH. Thus, the use of different cultures did not influence the final product, but
15 the different serum concentrations influenced the characteristics of the product.

16 **KEYWORDS:** Whey. Dairy products. Acidification.

17

18

RESUMO

19 A bebida láctea fermentada é um produto amplamente consumido entre os brasileiros, devido
20 ao baixo custo e valor nutritivo. Além disso, é uma opção para indústria de laticínios em relação
21 à utilização do soro. Objetivou-se investigar o efeito da adição de soro se leite sobre a pós-
22 acidificação e estabilidade do gel de BLF durante a vida de prateleira. Para o experimento
23 foram utilizadas três diferentes culturas termofílicas comerciais para iogurte, constituídas por
24 cepas de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*. Para cada cultura foram
25 elaboradas bebidas lácteas contendo 0%, 20%, 30% e 40% de soro na sua formulação. As
26 amostras foram avaliadas quanto ao pH, acidez e sinérese durante 30 dias de estocagem a
27 $5\pm 1^\circ\text{C}$. Verificou-se que, não houve diferença entre as culturas nos parâmetros analisados. Por
28 outro lado, a concentração de soro influenciou na sinérese e acidez do produto, sendo que a
29 bebida com maior porcentagem de soro apresentou maior sinérese e a que continha menor
30 porcentagem de soro apresentou menor acidez. Para valores de pH, não foi possível constatar
31 qual concentração apresentou maior ou menor pH. Desse modo, a utilização de diferentes
32 culturas não influenciou no produto final, porém as diferentes concentrações de soro
33 influenciaram nas características do produto.

34 **PALAVRAS-CHAVE:** Soro de leite. Laticínios. Acidificação.

35 1. INTRODUÇÃO

36 A bebida láctea fermentada (BLF) é um produto amplamente consumido entre os
37 brasileiros e, além de possuir baixo custo em relação ao iogurte, é uma alternativa para
38 indústria de laticínios em relação ao destino do soro (CALDEIRA *et al.*, 2010; SCHLABITZ,
39 2014). Não existe um valor de referência de soro a ser adicionado ao leite, desde que seja
40 respeitado o mínimo de proteína no produto final, de acordo com a legislação vigente. Uma
41 mesma indústria pode ter em seu portfólio diferentes formulações de BLF adaptadas aos
42 diferentes nichos de mercado que possui. A adição de soro permite aumentar o rendimento do
43 produto final, mas em contrapartida compromete a formação e estabilidade do gel durante a
44 vida de prateleira do produto que para ser competitivo deve durar no mínimo 45 dias
45 (PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012).

46 A formação do gel, durante a fermentação, ocorre em função da neutralização das
47 cargas negativas da micela de caseína presentes no leite durante a produção de ácido pela
48 cultura termofílica composta por *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus*
49 *thermophilus* (WANG *et al.*, 2013), tornando-se completa quando o pH atinge valores próximos
50 de 4,5. A ligação da caseína dissociada com sais de cálcio, magnésio e as proteínas do soro
51 (SP) (alfa lactoalbumina e beta lactoglobulina) formam a rede protéica, que é responsável por
52 impedir a separação do soro após a fermentação (TAMIME; ROBINSON, 1999). A adição de
53 soro altera o equilíbrio entre a caseína (presente no leite e diluída com a adição de soro) e as
54 SP (concentrada com a adição do soro), o que provoca a separação do mesmo,
55 comprometendo as qualidades físicas do produto final (estabilidade, textura e viscosidade)
56 facilmente observada pelo consumidor.

57 Para minimizar este defeito, a indústria possui algumas alternativas tanto para assegurar
58 a estabilidade quanto para aumentar a viscosidade. Algumas espécies de bactérias ácido
59 lácticas são capazes de produzir exopolissacarídeos (EPS). Os EPS's produzidos por
60 *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* têm essencial importância para a textura
61 e estabilidade de bebidas lácteas fermentadas, pois reduzem a sinérese do produto
62 (CERNING, 1990).

63 Outra alternativa é a utilização de aditivos estabilizantes como amido modificado,
64 gelatina e gomas na formulação das BLF. Todavia, não existem estudos científicos disponíveis
65 que apresentam resultados quantitativos do efeito da adição de soro na formulação na sinérese
66 de BLF durante a vida de prateleira deste produto. Tais dados são de fundamental importância
67 para a indústria no que diz respeito à utilização de quantidades mínimas necessárias de
68 aditivos na formulação de BLF, tornando-a mais adaptada as necessidades atuais (alimentos
69 livres de aditivos) e com custo ainda mais reduzido.

70 Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo investigar o efeito da adição
71 de soro de leite sobre a pós-acidificação e estabilidade do gel de BLF durante a vida de
72 prateleira.

73 2. MATERIAL E MÉTODOS

74 2.1. ELABORAÇÃO DA BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA

75 A bebida láctea fermentada foi elaborada no Laboratório de Tecnologia de Produtos
76 Lácteos do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, campus
77 Montes Claros. Utilizou-se leite UHT de diferentes marcas, acrescidos de soro de leite em pó
78 reconstituído adquirido da DOREMUS LTDA. Foram avaliados três níveis de substituição de
79 leite por soro de leite na base láctea do produto: 20%, 30% e 40% e um tratamento controle
80 ausente de substituição (0% de soro).

81 Após adição do soro de leite em pó reconstituído, a mistura foi aquecida a temperatura
82 de 42° C, momento este em que foi adicionada a cultura láctica para posterior envase em
83 garrafas de 200 mL e incubação em BOD até pH de 4,50. Em seguida, as bebidas foram
84 armazenadas a temperatura de refrigeração 5±1°C até o momento das análises. Para o
85 experimento foram utilizadas três diferentes culturas termofílicas comerciais para iogurte,
86 constituídas por cepas de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus*
87 *thermophilus*. O experimento foi conduzido em três repetições para cada cultura comercial
88 avaliada.

89 2.2. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

90 As amostras de bebidas lácteas fermentadas foram avaliadas quanto ao pH e acidez
91 titulável nos tempos 2, 10, 20, 30 após a fabricação. O pH foi determinado pelo método
92 potenciométrico por meio do potenciômetro modelo PH-2000. Para determinação do teor de
93 acidez titulável (% ácido láctico) foi utilizado o método descrito pela Instrução Normativa nº 68,
94 de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006). Todas as análises foram realizadas em duplicata.

95 2.3 ÍNDICE DE SINÉRESE

96 O índice de sinérese foi realizado por meio do método descrito por Amaya-Llano *et al.*
97 (2008) contendo modificações. Amostras de 2 g de cada tratamento foram pesadas e
98 armazenadas em tubos de micro-centrífuga (modelo SL-5AM), sendo submetidas à
99 centrifugação a 8000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi removido dos tubos e pesou-se o
100 sedimento contido no mesmo. O índice de sinérese, expresso em %, foi obtido por meio da
101 proporção entre a massa do sobrenadante (soro de leite) e a massa total da amostra
102 multiplicada por 100. A análise foi realizada em duplicata.

103 2.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

104 Os parâmetros de acidez, pH e sinérese foram sintetizados em um único componente
 105 principal a partir da Análise de Componentes Principais (PCA) (CRAWLEY, 2007). Para tanto,
 106 os parâmetros foram previamente escalonados para eliminar a diferença das diferentes escalas
 107 de grandeza de cada variável utilizando a transformação pelo desvio padrão (xi-média/desvio
 108 padrão).

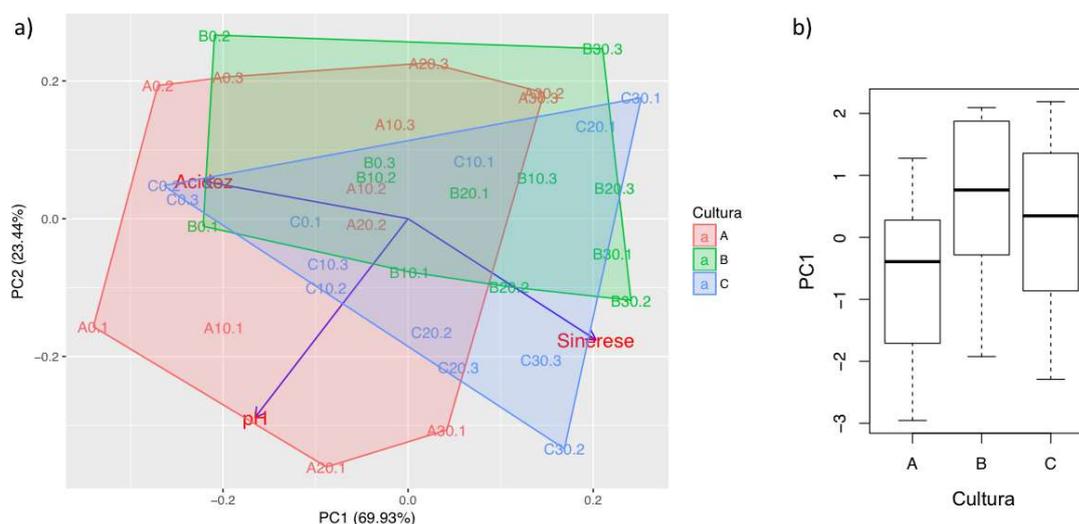
109 O eixo 1 da PCA, componente principal que sintetiza a maior porção da variância dos
 110 dados, foi utilizado para contrastar se as diferentes culturas são, de fato, estatisticamente
 111 diferentes. Assim, seus respectivos valores foram contrastados por meio da Análise de
 112 Variância (ANOVA), onde o eixo 1 foi representado como a variável resposta e as culturas
 113 como variável preditora. Quando significativo, o teste post-hoc de Tukey foi efetuado para
 114 localizar a significância entre os pares de categorias. O mesmo procedimento foi utilizado para
 115 avaliar as diferentes concentrações de soro. As análises foram executadas no software R.

116

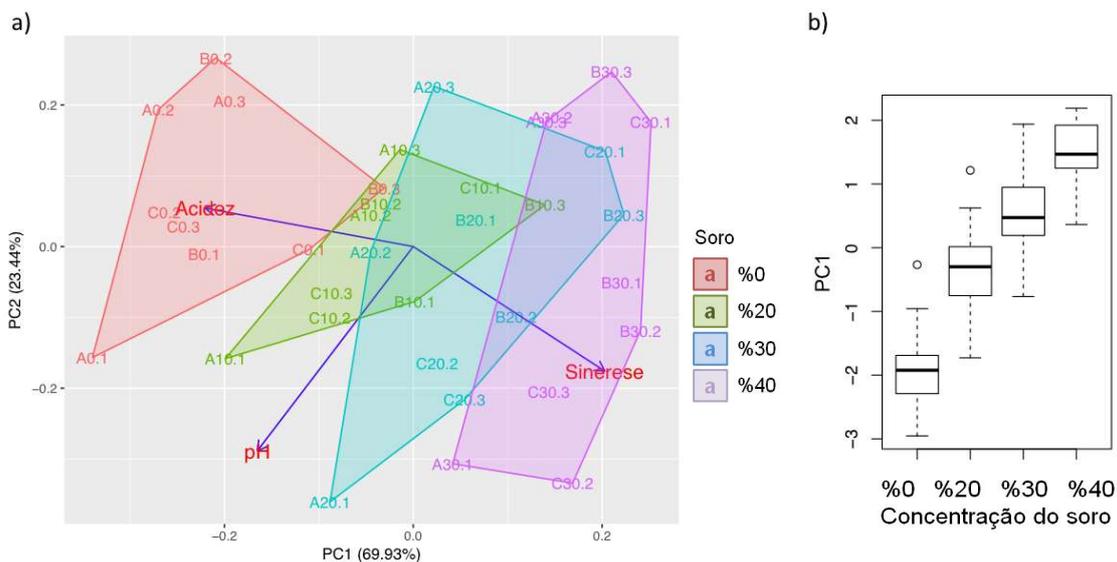
117 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

118 O eixo 1 da PCA referente ao dia 2 representou 69,93% da variância total dos dados.
 119 Este foi expresso pela sinérese em sua porção positiva e pela acidez e pH na porção negativa
 120 (Figura 1a). As amostras foram dispostas com grande sobreposição em relação às diferentes
 121 culturas, evidenciando pouca diferenciação entre essas (Figura 1b). Essa representação foi
 122 constatada pela ANOVA, a qual não indicou diferença significativa entre as culturas ($F_{2,33} =$
 123 $1,97; p = 0,15$).

124 Figura 1. a) Diagrama da Análise de Componentes Principais (PCA) ilustra a relação de
 125 diferença entre as diferentes amostras, onde a letra representa a cultura, o número anterior ao
 126 ponto representa a concentração de soro e o número posterior ao ponto representa a
 127 repetição. b) Boxplot de representação das medidas de posição do eixo 1 em função da
 128 cultura.

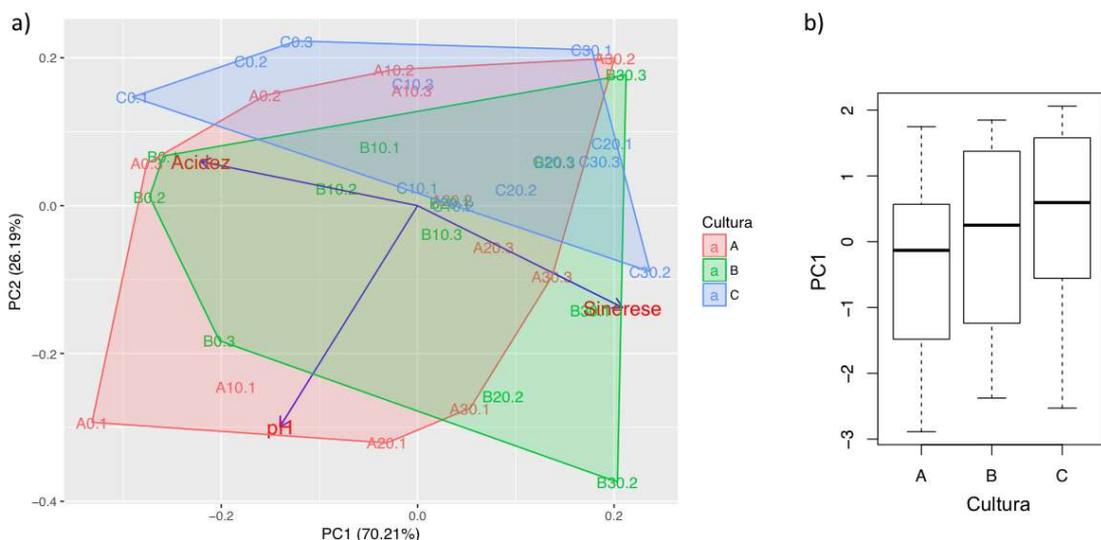


129 Em relação à concentração de soro, o diagrama da PCA indicou melhor separação
 130 (Figura 2a), evidenciada pela ANOVA ($F_{2,32} = 28,88$; $p < 0,01$) (Figura 2b). O teste Tukey
 131 destacou diferença significativa entre todos os pares ($p < 0,01$), salvo entre as concentrações
 132 de 20% e 30% ($p = 0,16$) e entre 30% e 40% ($p = 0,06$).



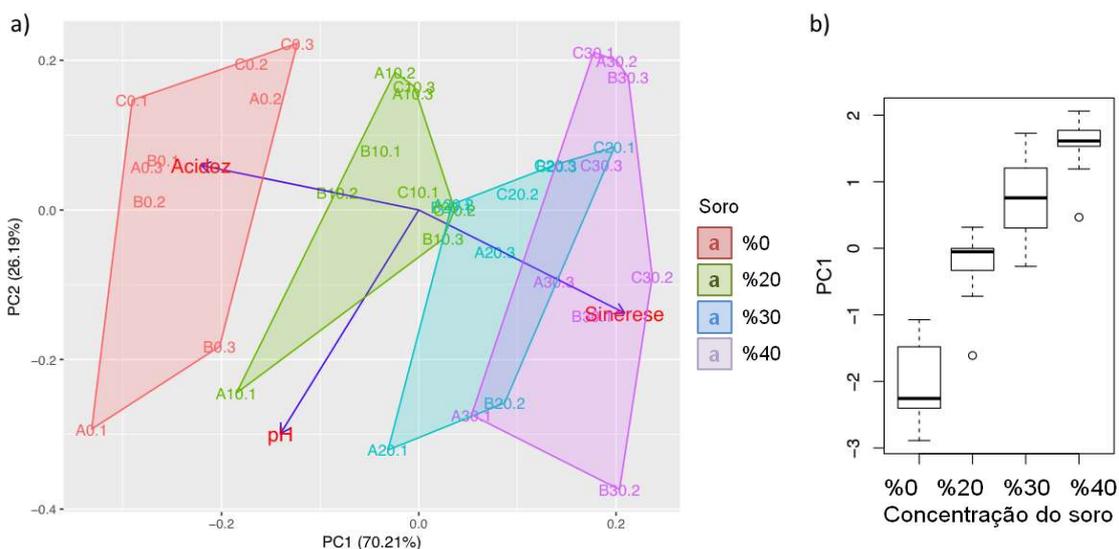
133 Figura 2. a) Diagrama da Análise de Componentes Principais (PCA) ilustra a relação de
 134 diferença entre as diferentes amostras, onde a letra representa a cultura, o número anterior ao
 135 ponto representa a concentração de soro e o número posterior ao ponto representa a
 136 repetição. b) Boxplot de representação das medidas de posição do eixo 1 em função da
 137 concentração do soro.

138 O eixo 1 da PCA referente ao dia 10 representou 70,20% da variância total dos dados.
 139 Este foi expresso pela sinérese em sua porção positiva e pela acidez e pH na porção negativa
 140 (Figura 3a). As amostras foram dispostas com grande sobreposição em relação às diferentes
 141 culturas, evidenciando pouca diferenciação entre essas (Figura 3b). Essa representação foi
 142 constatada pela ANOVA, a qual não indicou diferença significativa entre as culturas ($F_{2,33} =$
 143 $0,72$; $p = 0,49$).



144 Figura 3. a) Diagrama da Análise de Componentes Principais (PCA) ilustra a relação de
 145 diferença entre as diferentes amostras, onde a letra representa a cultura, o número anterior ao
 146 ponto representa a concentração de soro e o número posterior ao ponto representa a
 147 repetição. b) Boxplot de representação das medidas de posição do eixo 1 em função da cultura

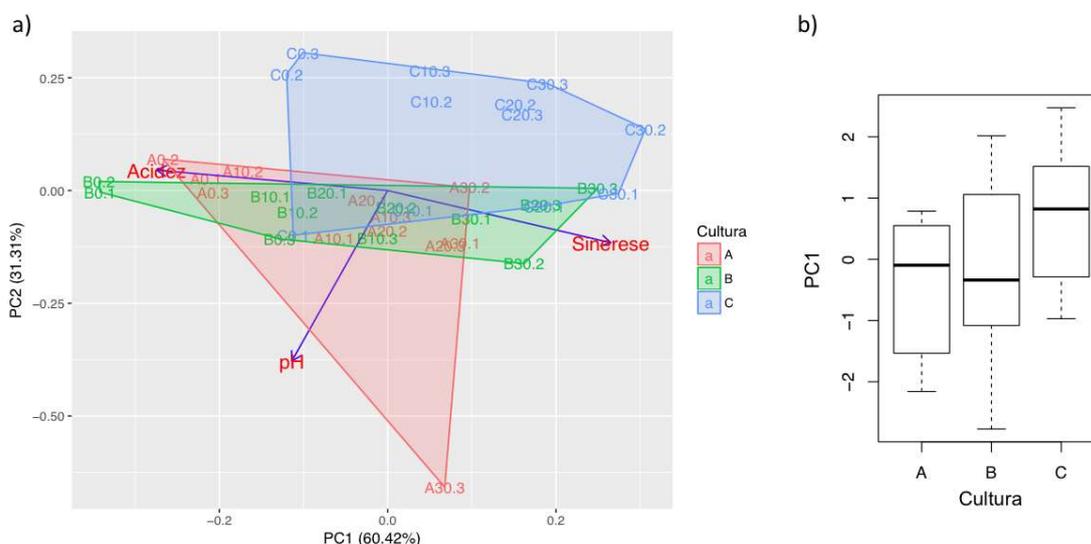
148 Em relação à concentração de soro, o diagrama da PCA indicou melhor separação
 149 (Figura 4a), evidenciada pela ANOVA ($F_{2,32} = 64,92$; $p < 0,01$) (Figura 4b). O teste Tukey
 150 destacou diferença significativa entre todos os pares ($p < 0,05$)



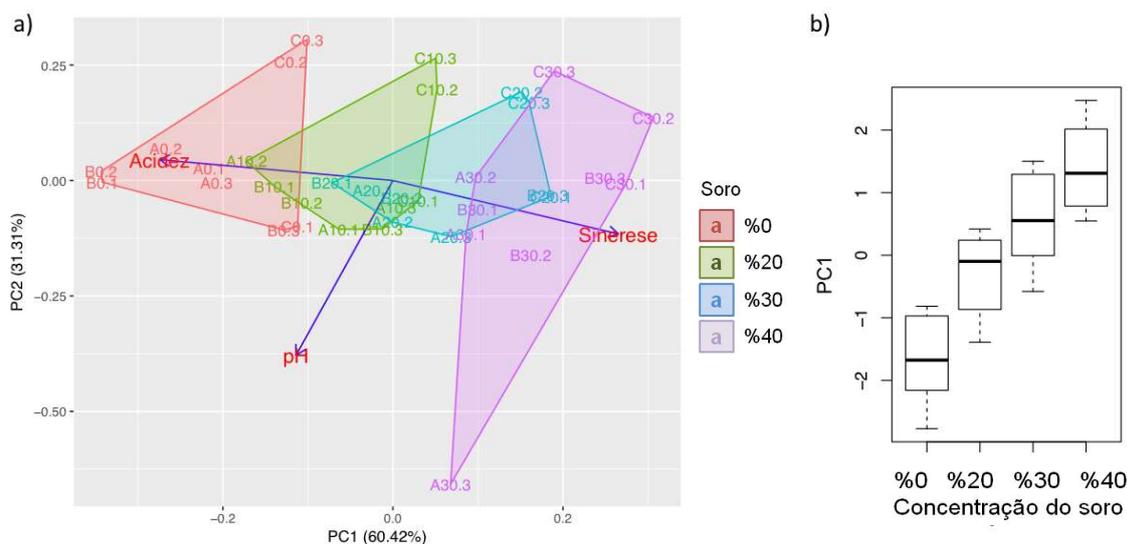
151 Figura 4. a) Diagrama da Análise de Componentes Principais (PCA) ilustra a relação de
 152 diferença entre as diferentes amostras, onde a letra representa a cultura, o número anterior ao
 153 ponto representa a concentração de soro e o número posterior ao ponto representa a
 154 repetição. b) Boxplot de representação das medidas de posição do eixo 1 em função da
 155 concentração do soro.

156 O eixo 1 da PCA referente ao dia 20 representou 60,42% da variância total dos dados.
 157 Este foi expresso pela sinérese em sua porção positiva e pela acidez e pH na porção negativa
 158 (Figura 5a). As amostras foram dispostas com grande sobreposição em relação às diferentes
 159 culturas, evidenciando pouca diferenciação entre essas (Figura 5b). Essa representação foi
 160 constatada pela ANOVA, a qual não indicou diferença significativa entre as culturas ($F_{2,33} =$
 161 $2,86$; $p = 0,07$).

162 Figura 5. a) Diagrama da Análise de Componentes Principais (PCA) ilustra a relação de
 163 diferença entre as diferentes amostras, onde a letra representa a cultura, o número anterior ao
 164 ponto representa a concentração de soro e o número posterior ao ponto representa a
 165 repetição. b) Boxplot de representação das medidas de posição do eixo 1 em função da
 166 cultura.

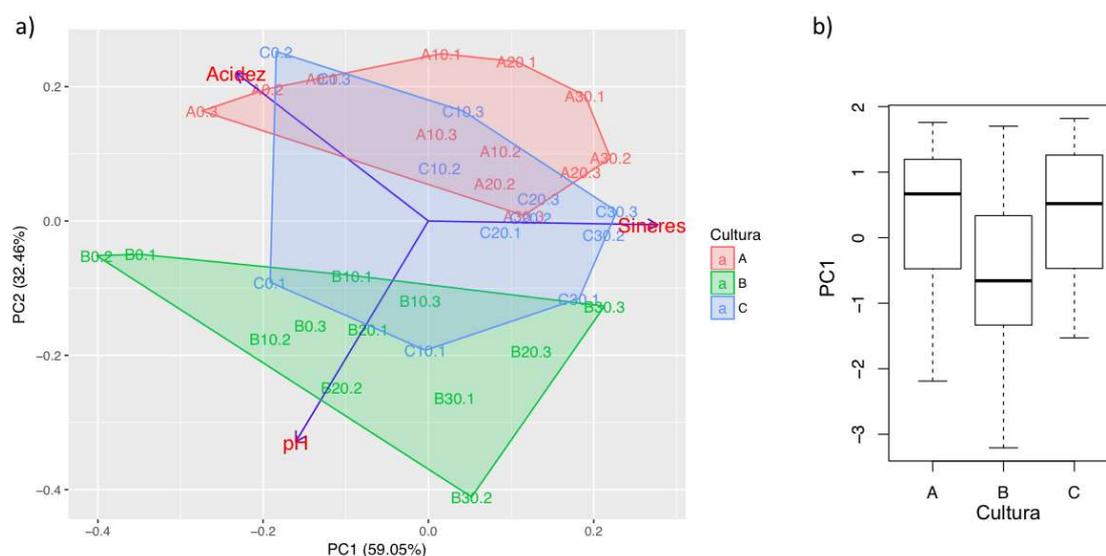


167 Em relação à concentração de soro, o diagrama da PCA indicou melhor separação
 168 (Figura 6a), evidenciada pela ANOVA ($F_{2,32} = 27,36$; $p < 0,01$) (Figura 6b). O teste Tukey
 169 destacou diferença significativa entre todos os pares ($p < 0,05$), salvo entre as concentrações
 170 de 20% e 30% ($p = 0,06$) e entre 30% e 40% ($p = 0,14$).



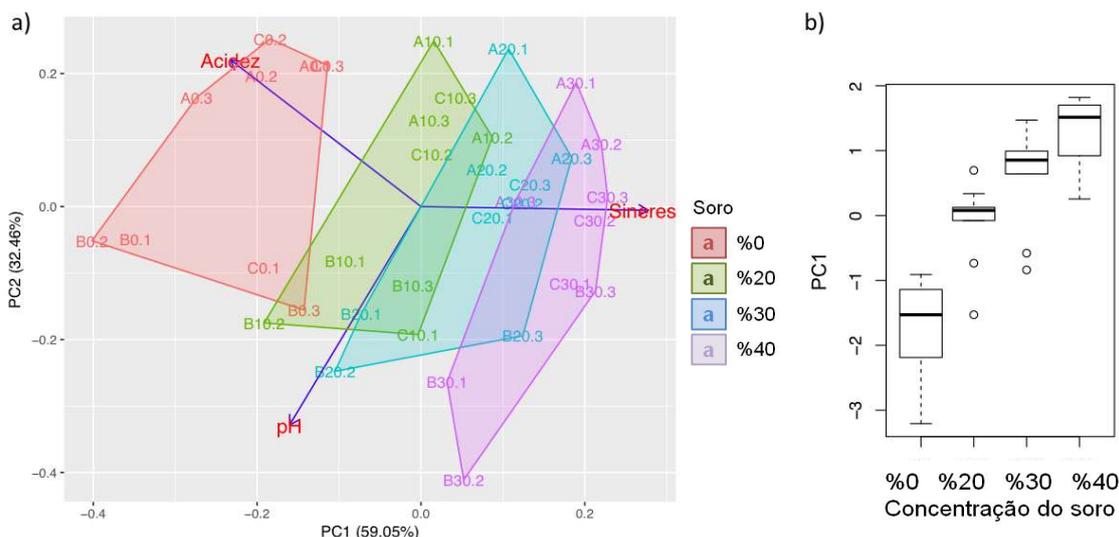
171 Figura 6. a) Diagrama da Análise de Componentes Principais (PCA) ilustra a relação de
 172 diferença entre as diferentes amostras, onde a letra representa a cultura, o número anterior ao
 173 ponto representa a concentração de soro e o número posterior ao ponto representa a
 174 repetição. b) Boxplot de representação das medidas de posição do eixo 1 em função da
 175 concentração do soro.

176 O eixo 1 da PCA referente ao dia 30 representou 59,05% da variância total dos dados.
 177 Este foi expresso pela sinérese em sua porção positiva e pela acidez e pH na porção negativa
 178 (Figura 7a). As amostras foram dispostas com grande sobreposição em relação às diferentes
 179 culturas, evidenciando pouca diferenciação entre essas (Figura 7b). Essa representação foi
 180 constatada pela ANOVA, a qual não indicou diferença significativa entre as culturas ($F_{2,33} =$
 181 $2,13; p = 0,13$).



182 Figura 7. a) Diagrama da Análise de Componentes Principais (PCA) ilustra a relação de
 183 diferença entre as diferentes amostras, onde a letra representa a cultura, o número anterior ao
 184 ponto representa a concentração de soro e o número posterior ao ponto representa a
 185 repetição. b) Boxplot de representação das medidas de posição do eixo 1 em função da
 186 cultura.

187 Em relação à concentração de soro, o diagrama da PCA indicou melhor separação
 188 (Figura 8a), evidenciada pela ANOVA ($F_{2,32} = 30,09$; $p < 0,01$) (Figura 8b). O teste Tukey
 189 destacou diferença significativa entre todos os pares ($p < 0,05$), salvo entre as concentrações
 190 de 20% e 30% ($p = 0,18$) e entre 30% e 40% ($p = 0,18$).



191 Figura 8. a) Diagrama da Análise de Componentes Principais (PCA) ilustra a relação de
 192 diferença entre as diferentes amostras, onde a letra representa a cultura, o número anterior ao
 193 ponto representa a concentração de soro e o número posterior ao ponto representa a
 194 repetição. b) Boxplot de representação das medidas de posição do eixo 1 em função da
 195 concentração do soro.

196 Diante dos resultados, as diferentes culturas utilizadas não interferiram na pós-
 197 acidificação e estabilidades de todos os tratamentos de BLF estudados. Embora não tenha sido
 198 observada qualquer diferença, este resultado abre precedentes para estudos detalhados sobre
 199 as diferentes culturas disponíveis no mercado. Pois, a produção de exopolissacarídeos por
 200 culturas termofílicas é amplamente estudada (LEROY; DE VUYST, 2016; ZANNINI *et al*, 2016;
 201 KHANAL; LUCEY, 2018), o que não ocorreu no presente estudo. Torna-se importante ressaltar
 202 que, foram utilizadas culturas com diferentes características anunciadas pelo fabricante em
 203 relação à pós-acidificação e também a produção de exopolissacarídeos frente a diferentes
 204 formulações da BLF. Diante disso, era esperado diferenças significativas entre os tratamentos,
 205 uma vez que foram utilizadas quantidades variadas de soro (zero até 40%).

206 Outro ponto que merece destaque é que a produção de exopolissacarídeos por culturas
 207 lácticas podem ser controladas por parâmetros físico-químicos (SENGUPTA; SRIPARNA;
 208 BISWAS, 2018). No presente estudo, houve grande variação de um destes parâmetros, o pH, e
 209 ainda assim não foi suficiente para produzir alguma diferença nas diferentes concentrações de
 210 soro e até mesmo na ausência dele.

211 De acordo com Muñoz *et al.* (1992), em uma figura que represente a PCA, vetores com
 212 medidas mais afastadas de zero, correspondem a variações com maior influência sobre o valor
 213 do Componente Principal, enquanto que, vetores mais próximos de zero, indicam que
 214 correspondem a uma variável com pequena influência sobre o Componente Principal. Portanto,
 215 é possível verificar que durante todos os dias analisados, houve uma maior sinérese na BLF

216 com maior concentração de soro, Em contrapartida, a BLF com menor concentração de soro
217 apresentou maior acidez. Para os resultados de pH, ao longo dos dias analisados, verifica-se
218 que a elevada variação da repetibilidade em cada concentração é um dos fatores que fazem
219 com que não seja possível constatar graficamente (PCA) qual concentração apresentou maior
220 ou menor pH.

221 No que diz respeito aos parâmetros físico-químicos, embora tenha sido observada a
222 variação da acidez entre um tratamento e outro, há de se considerar o efeito de compostos de
223 caráter ácido no leite como citratos, fosfatos, cloretos e CO₂ e, principalmente, a caseína que
224 influenciam diretamente a acidez (TAMIME; ROBINSON, 1999). Com a adição de soro há uma
225 diluição da caseína o que reduz drasticamente a acidez titulável da BLF (THAMER; PENNA,
226 2006). Diante disso, este parâmetro não pode por si só explicar diferenças na pós-acidificação
227 do produto durante a fermentação sem descontar a interferência destes constituintes. Todavia,
228 a ocorrência do aumento da acidez titulável durante o armazenamento pode, perfeitamente, ser
229 explicado pelos valores obtidos deste parâmetro, uma vez que basta subtrair os valores finais
230 de acidez titulável pelo valor inicial obtido logo após a interrupção da fermentação.

231 Estudo feito com diferentes concentrações de soro (20%, 40%, 60% e 80%) na
232 formulação de bebidas lácteas fermentadas demonstrou que os valores para o pH variaram
233 pouco entre as formulações, enquanto a acidez apresentou maiores variações, sendo que
234 quanto menor a concentração de soro, maior foi a acidez no fim (SANTOS *et al.*, 2008). Os
235 resultados encontrados nesse estudo assemelham-se com a literatura citada acima, uma vez
236 que os valores de acidez foram maiores para a bebida com menor concentração de soro.

237 Almeida, Bonassi e Roça (2001), analisaram o efeito do teor de três concentrações de
238 soro de queijo Minas Frescal (30, 40 e 50%) sobre características físicas e químicas de
239 bebidas lácteas fermentadas. A porcentagem de ácido láctico ao final de 28 dias de
240 armazenamento foi maior na concentração com 50% de soro, o que diferiu dos resultados
241 deste estudo. No entanto, os resultados dos autores citados podem ser justificados pelo tipo de
242 soro de leite utilizado no estudo, pelas concentrações analisadas, pelas condições de
243 armazenamento, fermentação, pelo tipo e concentração da cultura láctica empregada e pelos
244 valores estabelecidos para finalizar a fermentação (THAMER; PENA, 2006).

245 Durante o armazenamento, *L. bulgaricus* produz ácido láctico mesmo sob refrigeração
246 (fenômeno que caracteriza a pós-acidificação) (DAVE; SHAH, 1998). A produção de ácido
247 durante o armazenamento modifica o pH e também a capacidade hidrofílica da caseína, o que
248 faz com que em menores valores de pH haja aumento da sinérese.

249 Para o presente experimento, nos tempos em que houve diferença estatística entre as
250 concentrações de soro, apesar de haver uma grande variabilidade das repetições em cada
251 concentração, entre as mesmas a variação foi pequena ou nula no que diz respeito ao eixo pH,
252 o que pode ser observado através dos diagramas de PCA gerados, resultados que corroboram
253 parcialmente com os constatados por Oliveira (2006), que produziu bebidas lácteas
254 fermentadas sabor morango, com substituição de leite por soro de queijo nos níveis de 10%,

255 30% e 50%, onde o pH apresentou pouca variação à 35 dias de armazenamento sob
256 refrigeração a 4°C.

257 O pH é o parâmetro ideal para se medir a pós-acidificação de um leite fermentado ou de
258 uma BLF. Diferentemente da acidez titulável, o pH não sofre qualquer interferência dos
259 compostos de caráter ácido presentes no leite, uma vez que é mensurado a concentração de
260 ions H⁺ num dado instante a uma dada temperatura. Todavia, pequenas variações de
261 temperatura durante o armazenamento podem ocasionar no aumento da pós-acidificação,
262 tornando-o mais propenso a contaminação por fungos filamentosos e leveduras, diminuindo
263 assim a vida de prateleira do produto.

264 Ainda que seja um fenômeno normal, a diminuição do pH de produtos lácteos
265 fermentados devido a ação natural de produção de ácido láctico e outros ácidos orgânicos a
266 partir da fermentação de lactose pela cultura iniciadora, há de se ter a precaução de controlar
267 ao máximo a pós-acidificação para que não haja perdas para a indústria (CARDARELLI *et al.*,
268 2007).

269 De acordo com Thamer, Pena (2006), as variações no valor de pH nos diferentes
270 produtos podem relacionar-se à quantidade de soro de leite utilizada na elaboração das
271 bebidas lácteas, à adição de diferentes ingredientes, assim como ao tempo de
272 armazenamento.

273 Em relação à sinérese, os resultados mostraram que as diferentes concentrações de
274 soro influenciaram neste parâmetro entre os tratamentos. Este resultado era esperado como já
275 explicado anteriormente. Todavia, foi possível notar interface entre as concentrações de 20 e
276 30% e também entre 30 e 40% de soro. Tal informação abre a possibilidade de se estudar a
277 relação ótima entre essas concentrações de soro e o uso de estabilizantes no sentido de
278 maximizar o rendimento e minimizar os custos de produção sem quaisquer alterações nas
279 características do produto final.

280 Corroborando com os resultados deste trabalho, onde observou-se que a adição de soro
281 contribuiu para um índice maior de sinérese, Castro *et al.* (2009) avaliaram a influência de
282 diferentes concentrações de soro de queijo nas características de bebidas lácteas fermentadas,
283 constatando que estas variáveis não desempenharam influência sobre acidez, no entanto, o
284 aumento de soro favoreceu para que ocorresse um aumento no índice de sinérese das bebidas
285 lácteas fermentadas.

286 Por outro lado, Moretti (2009) verificou que iogurtes adicionados de isolado proteico de
287 soro não apresentaram diferença significativa na sinérese ao longo dos 36 dias de
288 armazenamento, resultado divergente ao encontrado nesse trabalho. Pelo fato de haver
289 interferência de vários fatores sobre a sinérese, torna-se difícil a comparação de resultados
290 entre diferentes trabalhos e por esse motivo, quando se trata da influência do índice de
291 sinérese não há consenso na literatura (MORAES, 2011).

292 Achanta, Kayanush, Charles (2007) mencionaram que a diminuição do pH durante o
293 armazenamento pode causar um efeito de constrição na matriz da micela de caseína, fazendo
294 com que haja maior desprendimento de soro, fato esse que pode explicar o aumento da

295 sinérese no presente trabalho. Para Lucey (2004), alguns motivos que contribuem para que os
 296 produtos fermentados desenvolvam sinérese são temperatura de fermentação, muitas vezes
 297 alta, baixo teor de sólidos e conservação em temperaturas inapropriadas.

298 4. CONCLUSÃO

299 Verificou-se que não houve diferença entre as diferentes culturas utilizadas, não
 300 interferindo, assim, no produto final. Por outro lado, as diferentes concentrações de soro
 301 influenciaram no produto final, destacando-se que, a formulação com maior concentração de
 302 soro (40%) apresentou maior sinérese e a formulação controle (0% de soro) foi a que
 303 apresentou maior acidez

304 5. REFERÊNCIAS

305 ACHANTA, K.; KAYANUSH, J. A.; CHARLES, A. B. Fat free plain set yogurts fortified with
 306 various minerals. **LWT - Food Science and Technology**, v.40, p. 424-429, 2007.

307 ALMEIDA, K. E.; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas
 308 lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal. **Ciência e Tecnologia de**
 309 **Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 187-191, 2001.

310 AMAYA-LLANO, S.L. *et al.* Acid thinned jicama and maize starches as fat substitute in stirred
 311 yogurt. **LWT-Food Science and Technology**, v.41, n.7, p.1274–1281, 2008.

312 BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 68 de 12**
 313 **de dezembro de 2006**. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e
 314 produtos lácteos.

315 CALDEIRA, L. A. *et al.* Desenvolvimento de bebida láctea sabor morango utilizando diferentes
 316 níveis de iogurte e soro lácteo obtidos com leite de búfala. **Ciência Rural**, v.40, n.10, p.2193-
 317 2198, 2010.

318 CARDARELLI, H. R. *et al.* Functional petit-suisse cheese: Measure of the prebiotic effect.
 319 **Anaerobe**, v. 13, p. 200–207, 2007.

320 CASTRO, F. P. *et al.* Influence of different content of cheese whey and oligofructose on the
 321 properties of fermented lactic beverages: Study using response surface methodology. **LWT -**
 322 **Food Science and Technology**, v. 42, p. 993–997, 2009.

323 CERNING, J. Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bactéria. **Federation of**
 324 **European Microbiological Societies Microbiology Reviews**, v. 87, p. 113-130, 1990

325 CRAWLEY, M. J. **The R book**. Chichester: Wiley, 2007.

326 DAVE, R. I.; SHAH, N. P. Ingredient supplementation effect son viability of probiotic bacteria in
 327 yogurt. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.11, p.2804-25, 1998.

328 KHANAL, S. N.; LUCEY, J. A. Effect of fermentation temperature on the properties of
 329 exopolysaccharides and the acid gelation behavior for milk fermented by *Streptococcus*
 330 *thermophilus* strains DGCC7785 and St-143. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n.5, p.3799-
 331 3811.

332 LEROY, F.; DE VUYSTE, L. Advances in production and simplified methods for recovery and
 333 quantification of exopolysaccharides for applications in food and health. **Journal of Dairy**
 334 **Science**, v.99, n.4, p.3229-3238, 2015.

- 335 LUCEY, A. J. Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties.
336 **International Journal of Dairy Technology**, v. 57, p. 77-84, 2004.
- 337 MORAES, M. N. **Caracterização físico-química e reológica de iogurtes elaborados com**
338 **diferentes substitutos de gordura**. 2011. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e
339 Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.
- 340 MORETTI, B. R. **Efeito da suplementação do leite com proteínas de diferentes fontes**
341 **(soro de leite, soja e colágeno) e da composição da cultura láctica em iogurtes**. 2009. 160f.
342 Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Estadual
343 Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, 2009.
- 344 MUÑOZ, A. M.; CIVILLE, G. V; CARR, B. T. **Sensory evaluation in quality control**. New York:
345 Van Nostrand Reinhold, 1992.
- 346 OLIVEIRA, V. M. **Formulação de bebida láctea fermentada com diferentes concentrações**
347 **de soro de queijo, enriquecida com ferro: caracterização físico-química, análises**
348 **bacteriológicas e sensoriais**. 2006. 70 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) –
349 Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2006.
- 350 PRAZERES, R. A.; CARVALHO, F.; RIVAS, J. Cheese whey management: A review. **Journal**
351 **of Environmental Management**, v. 110, p. 48-68, 2012
- 352 SANTOS, C. T. *et al.* Influência da concentração de soro na aceitação sensorial de bebida
353 láctea fermentada com polpa de manga. **Alimentação e Nutrição**, v.19, n.1, p. 55-60, 2008.
- 354 SCHLABITZ, C. **Aplicação de soro de ricota na elaboração de bebida láctea funcional**.
355 2014. 145 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Centro Universitário Univates, Lajeado,
356 2014.
- 357 SENGUPTA, D.; SRIPARNA, D; BISWAS. D. Towards a better production of bacterial
358 exopolysaccharides by controlling genetic as well as physico-chemical parameters. **Applied**
359 **Microbiology and Biotechnology**, v.102, n.4, p. 1587-1598, 2018.
- 360 TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yoghurt: science and technology**. 3. ed. Cambridge:
361 Woodhead, 2007.
- 362 THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas
363 por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.3,
364 p.589-595, 2006.
- 365 WANG, X. *et al.* H(+) -ATPase-defective variants of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* contribute
366 to inhibition of postacidification of yogurt during chilled storage. **Journal of Food Science**, v.
367 78, n. 2, p. M297-M302, 2013.
- 368 ZANINI, E. *et al.* Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-
369 derived exopolysaccharides. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.100, n.3, p.1121-
370 1135, 2016.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo indicou que as culturas utilizadas não influenciaram, ao longo dos dias, na caracterização da bebida láctea fermentada, o que abre precedente para que novas pesquisas sejam realizadas a fim de se detalhar sobre as diferentes culturas disponíveis no mercado.

As bebidas lácteas fermentadas apresentaram diferenças em relação a concentração de soro utilizada, indicando que este influencia nas características do produto final.