



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR
COORDENAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
SISTEMAS AGROINDUSTRIAIS



AMANDA MARIA TENÓRIO DA SILVA

ELABORAÇÃO DE IOGURTE COM PROPRIEDADES FUNCIONAIS UTILIZANDO
BIFIDOBACTERIUM LACTIS E FIBRA SOLÚVEL.

POMBAL-PARAÍBA

2013

AMANDA MARIA TENÓRIO DA SILVA

ELABORAÇÃO DE IOGURTE COM PROPRIEDADES FUNCIONAIS UTILIZANDO
BIFIDOBACTERIUM LACTIS E FIBRA SOLÚVEL.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
– Graduação em Sistemas Agroindustriais da
Universidade Federal de Campina Grande,
como parte dos requisitos necessários para
obtenção do título de mestre em Sistemas
Agroindustriais.

Orientadora: Profa. Dra. Josilene de Assis Cavalcante

Pombal-Paraíba

2013

Amanda Maria Tenório da Silva

DESENVOLVIMENTO DE IOGURTE MAIS SAUDÁVEL COM O USO DE FIBRA
SOLÚVEL E FERMENTO *BIFIDOBACTERIUM LACTIS* “PROBIÓTICO”.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
– Graduação em Sistemas Agroindustriais da
Universidade Federal de Campina Grande,
como parte dos requisitos necessários para
obtenção do título de mestre em Sistemas
Agroindustriais.

APROVADA: ____ / ____ / ____

Profa. Dra. Josilene de Assis Cavalcante
UATA/CCTA/UFCG
(Orientadora)

Profa. Dra. Mércia Melo de Almeida
UATA/CCTA/UFCG
(Examinadora interna)

Profa. Dra. Ângela Maria Santiago
(UATA/CCTA/UFCG)
(Examinadora externa)

*Dedico este trabalho à minha
família, em especial ao meu marido,
Raimundo Neto,
pelo apoio, confiança, sacrifício e exemplo
de trabalho, humildade e honestidade.*

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais da Universidade Federal de Campina Grande pela possibilidade de execução deste trabalho, meus agradecimentos.

À **Prof^a. Dra. Josilene de Assis Cavalcante**, pelo apoio, confiança, formação e pelas oportunidades de crescimento profissional e pessoal, além da orientação e amizade.

Às **Prof^a. Dra. Mércia Melo de Almeida**, **Prof^a. Dra. Alfredina dos Santos Araújo** e a **Prof^a. Dra. Ângela Maria Santiago** pela contribuição como banca examinadora e, também, pelo importante apoio e contribuição durante a execução do trabalho.

Ao Laticínio Belo Vale Ltda (ISIS), em especial ao **Sr. Marcos Antonio Guedes Diretor Presidente** e ao **Sr. José Roberto Consultor da Fermentech** pela valiosa contribuição durante a elaboração deste trabalho.

Aos funcionários e colegas do Laticínio Belo Vale Ltda (ISIS), especialmente, **Carlos Alexandre da Silva** responsável Laboratório de Microbiologia e a **Veralúcia Herculanio da Silva** coordenadora de produção pelo incentivo e companheirismo.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

(José de Alencar)

RESUMO

Face ao aumento de peso e ao aparecimento de doenças cardiovasculares na população mundial em decorrência do consumo de alimentos altamente calóricos, o desenvolvimento de alimentos com baixo ou reduzido teor de gordura e ricos em fibras torna-se essencial. Desta forma, este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de iogurte com propriedades funcionais utilizando fibra solúvel e a *Bifidobacterium lactis* com efeito probiótico, promovendo a saúde e não a cura de doenças. O processo de fermentação foi preservado até atingir um pH de 4,6 para uma temperatura controlada de 40 °C. Foram realizadas análises físicas e físico-químicas: cor; viscosidade aparente; pH; acidez expressa em ácido láctico, teor de extrato seco total e desengordurado; teor de gordura do iogurte produzido e o estudo do armazenamento do produto pós-acidificação. Foi determinada a viabilidade das bactérias lácticas tradicionais (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*), com combinação com a bactéria probiótica (*Bifidobacterium lactis*) durante teste de vida útil do produto por quarenta e cinco dias. Foram realizados testes sensoriais de aceitação com provadores treinados. O pH do iogurte produzido foi de 4,45 com viscosidade de 1 minuto e 37 segundos e foi verificada alteração da acidez no 45º dia e pela equipe de degustadores alterou-se o ciclo de vida útil.

Palavras Chaves: fibras solúveis, probiótico, testes sensoriais.

ABSTRACT

In view of the increased weight and cardiovascular diseases in the world population as a result of consumption of high-calorie food, the development of foods with low or reduced fat and high in fiber becomes critical. Thus, this work aimed at the development of functional properties using yogurt with soluble fiber and *Bifidobacterium lactis* with probiotic effect, promoting health rather than curing diseases. The fermentation process was maintained until reaching a pH of 4.6 to a controlled temperature of 40°C. Analyses physical and physical-chemical properties: color, viscosity, pH, acidity expressed as lactic acid, content of total solids and decreased-fat yogurt produced and the study of the storage of the product after acidification. It was determined the viability of traditional lactic bacteria (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*) in combination with probiotic bacteria (*Bifidobacterium lactis*) for testing the product life of forty-five days. Tests were conducted with sensory acceptance trained panelists. The pH of the yoghurt produced with a viscosity of 4.45 was 1 minute and 37 seconds, and change of acidity was observed on the 45th day and by the team of panelists changed cycle life.

Keywords: soluble fiber, probiotic, sensory tests.

Sumário

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	Objetivo Geral	13
1.2	Objetivos Específicos	13
2	REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1	Iogurte	14
2.2	Probióticos	16
2.3	Fibra alimentar	18
2.4	Aveia	19
2.5	Etapas do processo tradicional de fabricação do iogurte	21
2.5.1	<i>Transporte da matéria-prima</i>	21
2.5.2	<i>Preparo da matéria-prima</i>	21
2.5.3	<i>Tratamento térmico da matéria-prima</i>	21
2.5.4	<i>Resfriamento do leite</i>	22
2.5.5	<i>Inoculação e Incubação</i>	22
2.5.6	<i>Fermentação láctica</i>	22
2.5.7	<i>Resfriamento</i>	23
2.5.8	<i>Envase e estocagem</i>	24
2.5.9	<i>Estresse ácido ou pós-acidificação</i>	25
2.6	Tipos de culturas	25
2.6.1	<i>Culturas tradicionais</i>	25
2.6.2	<i>Bifidobacterium lactis</i>	28
3	MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1	Matéria-prima	30
3.2	Caracterização da matéria-prima	30
3.3	Processamento do iogurte com propriedades funcionais	31
3.3.1	<i>Recepção do leite in natura</i>	31
3.3.2	<i>Padronização da gordura e mistura de ingredientes</i>	32
3.3.3	<i>Tratamento térmico e resfriamento</i>	33
3.3.4	<i>Fermentação</i>	33
3.3.5	<i>Rompimento do gel</i>	33

3.3.6 Adição de ingredientes, aditivos e envase	33
3.3.7 Estocagem	34
3.4 Caracterização físico-química do iogurte produzido	34
3.5 Avaliação do tempo de vida útil do iogurte	34
3.6 Contagem de micro-organismos	34
3.7 Análise sensorial	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 Caracterização da matéria-prima	36
4.2 Fermentação láctica	37
4.3 Rompimento do gel	38
4.4 Adição de ingrediente prebiótico, aditivos e envase	38
4.5 Caracterização físico-química do iogurte	38
4.6 Vida útil do iogurte – Pós-acidificação	39
4.7 Contagem de microrganismos	39
4.8 Análise Sensorial	40
5. CONCLUSÕES	42
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
APÊNDICE A - Procedimento de análise físico-química para prova do alizarol do leite realizado na Usina de Beneficiamento Laticínio Belo Vale Ltda.	50
APÊNDICE B - Procedimento de análise físico-química para utilização do Ekomilk (gordura, extrato seco desengordurado, total, água, densidade, proteína, ponto de congelamento) do leite realizado na Usina de Beneficiamento Laticínio Belo Vale Ltda.	52

APÊNDICE C – Procedimento Operacional Padrão da Usina de Beneficiamento Laticínio Belo Vale Ltda. Padronização do Leite.	55
APÊNDICE D - Procedimento Operacional Padrão da Usina de Beneficiamento Laticínio Belo Vale Ltda. Recebimento do leite para adição dos demais ingredientes.	57

1 INTRODUÇÃO

Além de prover nutrição, a alimentação também pode modular várias funções do corpo humano que são relevantes à saúde (ROBERFROID, 1999a).

A saúde pública frequentemente utiliza-se da alimentação como estratégia de manutenção da saúde, estratégia esta voltada à prevenção do início precoce de distúrbios gastrointestinais, doenças crônicas como: cardiovasculares; câncer e osteoporose, bem como a promoção do envelhecimento mais saudável (MATTILA-SANDHOLM *et al.*, 2002).

Nos últimos anos a preocupação crescente com a saúde e com a qualidade de vida, levou as pessoas a se preocuparem em fazer exercícios físicos, ingerir alimentos saudáveis, diminuir o consumo de alimentos ricos em açúcar, sal e gordura. Além disso, houve um aumento na procura por alimentos com alguma propriedade funcional. As mudanças nos hábitos alimentares e no estilo de vida são principalmente em função da busca incessante por saúde, proporcionando melhor qualidade de vida e prevenindo o aparecimento de determinadas doenças.

A indústria de alimentos anteriormente se preocupava em desenvolver alimentos para a sobrevivência humana, objetivo que foi substituído pelo conceito de produzir o alimento com qualidade. Mais recentemente, a idéia passou a ser, usar os alimentos como transportes de promoção de bem-estar e saúde, ao mesmo tempo reduzindo o risco de doenças (MATSUBARA, 2001).

Com evidências crescentes dos efeitos benéficos de certos componentes bioativos do leite e de ingredientes desejáveis específicos adicionados aos produtos lácteos, o mercado desses alimentos está se tornando o maior condutor da indústria de laticínios internacional (JELEN e LUTZ, 1998). Os alimentos funcionais são definidos como quaisquer alimentos ou ingredientes alimentares capazes de promover benefícios à saúde além de possuírem os nutrientes já tradicionais (HALSTED, 2003).

Não há dúvidas que os derivados de leite são alimentos funcionais. Eles são uma das melhores fontes de cálcio, um nutriente essencial que pode prevenir a osteoporose e possivelmente câncer de cólon. Entretanto, além do cálcio, pesquisas

recentes têm focalizado de maneira especial outros componentes dos laticínios, conhecidos como os probióticos (BOBBIO,1995).

O iogurte constitui uma rica fonte de proteínas, cálcio, fósforo, vitaminas e carboidratos. O consumo deste produto está conexo à imagem positiva de alimento saudável e nutritivo, associado as suas qualidades sensoriais (TEIXEIRA *et al*, 2000). Esse consumo também pode ser atribuído à ansiedade crescente das pessoas em consumirem produtos naturais, e os benefícios que o iogurte traz ao organismo, tais como: promover a ação das proteínas e enzimas digestivas no organismo humano, promoverem a absorção de cálcio, fósforo e ferro, ser fonte de galactose – importante na síntese de tecidos nervosos e cerebrosídeos em crianças, bem como ser uma forma indireta de se consumir leite (FERREIRA *et al*, 2001).

A definição atualmente aceita internacionalmente de probiótico é que eles são micro-organismos vivos, administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001; SANDERS, 2003).

Bactérias que pertencem aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são utilizadas com maior frequência como suplementos probióticos, pois elas têm apresentado efeito protetor no trato gastrintestinal humano.

As fibras na dieta estão incluídas na ampla categoria dos carboidratos. Como os componentes da fibra na dieta não são absorvidos, eles penetram no intestino grosso e fornecem substrato para bactérias intestinais.

As fibras solúveis são normalmente fermentadas rapidamente e a extensão da fermentação das fibras solúveis depende de sua estrutura física e química. De acordo com Gutkoski e Trombetta (1999) a concentração de fibra alimentar solúvel no grão de aveia é relativamente maior quando comparado aos demais cereais. A fibra alimentar total de aveia varia entre 7,1 e 12,1%. Essa variação se deve aos vários métodos de determinação utilizados e às diferenças entre cultivares. No farelo, o conteúdo de fibra alimentar é de 15 a 19%. Deste total, 34 a 48% são fibras solúveis e o restante, fibras insolúveis.

Diante do exposto, esse trabalho teve como objetivos:

1.1 Objetivo geral:

Elaborar um iogurte com propriedades funcionais utilizando a *bifidobacterium lactis* e fibra solúvel.

1.2 Objetivos específicos:

- Caracterizar físico-quimicamente o leite in natura (gordura, proteína, pH, densidade, extrato seco total, extrato seco desengordurado, ponto de congelamento);
- Avaliar o tempo necessário de fermentação dos iogurtes;
- Fazer a contagem de micro-organismos;
- Determinar as características físicas e físico-químicas do iogurte tais como: valor de pH, acidez expressa em ácido láctico, teor de gordura, viscosidade aparente e parâmetros de cor durante o processo de estocagem refrigerada;;
- Acompanhar as alterações nas características de pós-acidificação – valores de pH, acidez expressa em ácido láctico e durante os 45 dias de estocagem refrigerada;
- Analisar sensorialmente os atributos cor, aroma, sabor, acidez, corpo, aparência global e preferência do iogurte pelos provadores treinados.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Iogurte

A acidificação é um dos métodos mais remotos de preservação do leite. O leite fermentado surgiu na Mesopotâmia à cerca de 5000 a.C. O iogurte é um alimento e bebida tradicional nos Bálcãs e na Ásia Mediterrânea e a palavra “iogurte” é derivada da palavra turca “jugurt”, sendo conhecida por uma abundância de nomes em diferentes países (TAMIME e ROBINSON, 2007).

No início do século XX, a teoria de Metchnikoff, denominada “Teoria da Longevidade”, atribuiu ao iogurte vários efeitos benéficos à saúde humana. Para Metchnikoff, a longevidade dos povos dos Bálcãs era resultado de uma dieta rica em leite fermentado, contendo um lactobacilo que por muito tempo foi considerado como *Lactobacillus bulgaricus* (FULLER, 1989).

Leite fermentado é o processo resultante de fermentação láctica, adicionado ou não de frutas, açúcar e outros ingredientes que melhorem sua apresentação e modifiquem seu sabor. O leite fermentado mais importante economicamente é o iogurte, obtido da coagulação do leite pela ação de dois microrganismos, *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, fornecendo uma melhor assimilação, pelo organismo, principalmente a lactose e proteínas (BRANDÃO, 1995).

Além disso, devido à ação metabólica das bactérias sobre os componentes do leite, estes são variados em substâncias mais simples, podendo ser consumidos por pessoas que, devido à carência da enzima lactase em seu organismo, não toleram a lactose presente no leite (SALADO e ANDRADE, 1989).

Para Kleinmam (1990) é possível os indivíduos aumentarem sua tolerância a produtos lácteos por ingestão de produtos fermentados como o iogurte, devido ao teor de lactose ser menor.

A lactose presente ou contida no iogurte é mais efetivamente digerida que a lactose do leite, ainda que o iogurte tenha quantidade análoga em lactose. Este fato é conferido à hidrólise intestinal, pela ação da β -galactosidase microbiana dos organismos presentes no iogurte, durante a passagem no trato gastrointestinal (LIN

et al., 1991). Existem hoje no mercado vários tipos de iogurte qualificados de acordo com o processo de elaboração, adição de ingredientes, composição, consistência e textura.

Segundo BRANDÃO (1995), TAMIME e ROBINSON, (2007) são:

- **logurte tradicional** (*set yogurt*): aquele onde seu processo de fermentação ocorre dentro da própria embalagem, não sofre homogeneização e a decorrência é um produto firme, mais ou menos consistente;
- **logurte batido** (*stirred yogurt*): o processo de fermentação ocorre em fermenteiras ou incubadoras com posterior rompimento do coágulo;
- **logurte líquido** (*fluid yogurt*): o processo de fermentação é realizado em tanques e comercializado em embalagens plásticas tipo garrafa, bandejas ou do tipo cartonadas.

As propriedades físicas do iogurte, como consistência/viscosidade do coágulo, são de grande importância, pois quanto maior o conteúdo em sólidos da mistura destinada à elaboração do iogurte, maior a consistência e viscosidade do produto final. Na prática a utiliza-se de leite em pó (integral, semi-desnatado ou desnatado), com o objetivo de alcançar a concentração de sólidos necessária para a melhoria de sua consistência (TAMIME e ROBINSON, 2007).

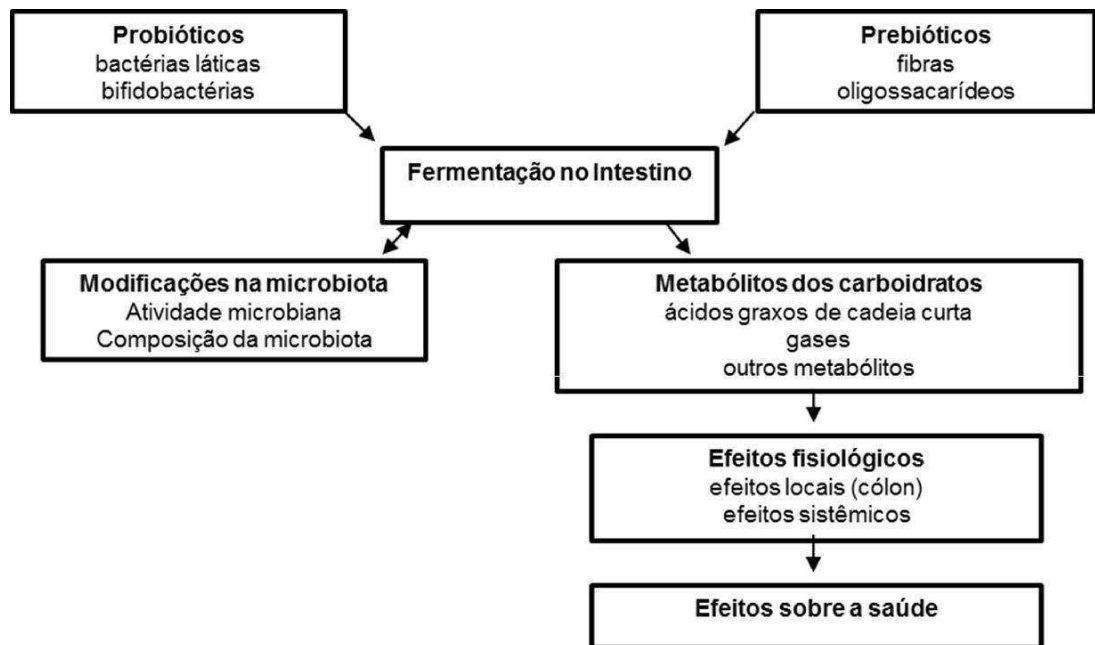
Na atualidade, as indústrias de beneficiamento de leite estão mais centradas em iogurtes batidos, pois este permite a adição de estabilizantes para prevenir a sinérese durante a vida útil (LUCEY, 2004).

O iogurte é um derivado do leite que proporciona uma das melhores margens de rentabilidade para o fabricante de produtos lácteos, devido ao fato de não passar por nenhum processo de concentração, ou seja, começa com um volume de matéria-prima e termina com o mesmo volume ou até um pouco mais, já que alguns ingredientes como polpas de frutas são acrescentados. Seu mercado, em suas diferentes categorias, vem demonstrando grande potencial de crescimento nos últimos anos (SANTOS, 1998).

No Brasil, o acréscimo do consumo de iogurte começou em 1970 e continua com uma taxa excepcional de crescimento devido aos mais variados produtos disponíveis comercialmente (BRANDÃO, 1995).

A Figura 2.1 apresenta o fluxograma da correlação dos alimentos probióticos e prebióticos com a microbiota intestinal, relativo a seus efeitos sobre a saúde. (SAAD, 2006).

Figura 2.1 – Fluxograma das reações dos ingredientes alimentares com a microbiota intestinal



2.2 Probióticos

A microbiota intestinal é definida como a microbiota normal que conserva e promove o bem estar e a ausência de doenças, especialmente no trato gastrointestinal. A correlação da microbiota autóctone desbalanceada constitui a racionalidade da terapia por probióticos (ISOLAURI *et al.*, 2004).

Segundo Crittenden (1999) é possível aumentar o número de microorganismos promotores da saúde no trato gastrointestinal (TGI) através da ingestão de probióticos pela alimentação ou consumo de suplemento alimentar prebiótico, modificando seletivamente a composição da microbiota e fornecendo ao probiótico a vantagem competitiva sobre as outras bactérias do ecossistema.

SANDERS (2003) enumerou três possíveis mecanismos na atuação dos probióticos: i) a supressão do número de células viáveis através da produção de

compostos com atividade antimicrobiana, da competição por nutrientes e por sítios de adesão; ii) a alteração do metabolismo microbiano, através do aumento ou da diminuição enzimática; e iii) o estímulo da imunidade do hospedeiro, através do aumento dos níveis de anticorpos e o aumento de macrófagos.

Um micro-organismo probiótico tem que sobreviver a várias adversidades do estômago e colonizar o intestino, pois exerce influência considerável devido a várias reações bioquímicas que acontece dentro do cólon, onde impede os micro-organismos patógenos de se proliferarem dentro da microbiota.

Os benefícios à saúde do hospedeiro através da ingestão de culturas probióticas que mais se destacam: promoção de resistência gastrintestinal à colonização por patógenos; controle da microbiota intestinal; estabilização da microbiota intestinal após o uso de antibióticos; diminuição da população de patógenos através da produção de ácido acético e láctico, de bacteriocinas e de outros compostos microbianos; promoção da digestão da lactose em indivíduos tolerantes a lactose; aumento da absorção de minerais; produção de vitaminas; alívio da constipação; redução da atividade ulcerativa da bactéria *Helicobacter pylori*; estimulação do sistema imune; prevenção de infecções urogenitais; efeitos inibitórios sobre a mutagenicidade; efeitos anti-carcinogênicos – como a redução do risco do câncer de cólon; diminuição de doença cardiovascular; redução de níveis séricos de colesterol; efeitos anti-hipertensivos (SAAD, 2006).

A seleção de bactérias probióticas tem como base os seguintes critérios: o gênero ao qual pertence à bactéria ser de origem humana; a estabilidade frente a ácido e a bile; a capacidade de aderir à mucosa intestinal; a capacidade de colonizar, ao menos temporariamente, o trato gastrintestinal humano; a capacidade de produzir compostos antimicrobianos e ser metabolicamente ativo no intestino. Ainda inclui a segurança para uso humano, ter histórico de não patogenicidade e não devem estar associadas a outras doenças tais como endocardite, além de ausência de genes determinantes da resistência aos antibióticos (COLLINS *et al.*, 1998; LEE *et al.*, 1999; SAARELA *et al.*, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2002).

Bactérias que pertencem aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são utilizadas com maior frequência como suplementos probióticos. Deve-se salientar que o efeito de uma bactéria é específico para cada cepa e cada cepa é conduzida para o processamento de produtos lácteos probióticos. A sobrevivência das

bactérias probióticas no produto alimentício é fundamental; necessitando alcançar populações suficientemente elevadas, tipicamente 10^6 unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml), para ser de importância fisiológica para o consumidor (SAAD, 2006).

2.3 Fibra alimentar

De acordo com o Instituto de Metabolismo e Nutrição (IMEN) (2003) as fibras podem ser classificadas quanto sua estrutura, solubilidade em água e seu grau de fermentação:

Quanto à estrutura, o que mais difere o tipo de fibra é:

- Quantidade e tipo de monossacarídeos na cadeia polimétrica;
- Sequência dos monossacarídeos na cadeia;
- Cadeias secundárias;
- Tipo de ligação, alfa ou beta, entre os monossacarídeos.

As ramificações da estrutura básica da fibra são responsáveis pela solubilidade, que pode ser dividida em solúvel e insolúvel (IMEN, 2003).

Fibras solúveis: pectinas, mucilagens, gomas, inulina, frutooligossacarídeos, β -glicana, psyllium, e hemiceluloses tipo A. Estas fibras são capazes de se ligar com água e formar géis. No trato gastrintestinal, retardam o esvaziamento gástrico e o tempo de trânsito intestinal, diminuem o ritmo da absorção da glicose e colesterol, são substratos na fermentação bacteriana que resultam em gases (hidrogênio, metano e dióxido de carbono) e em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), importantes no metabolismo intestinal

Fibras insolúveis: celulose, hemicelulose tipo B, amido resistente e lignina. Fazem parte da estrutura das células dos vegetais. Apresentam efeito mecânico no trato gastrintestinal, são pouco fermentáveis, aceleram o tempo de transito intestinal devido absorção da água.

Burkitt e Trowell (1987) formularam a “hipótese da fibra dietética”, que pode ser dividida em duas etapas:

- a) Uma dieta, que é rica em alimentos fontes de fibra e pobre em alimentos processados, é capaz de proteger contra ampla variedade de doenças prevalentes ocidentais.
- b) Dietas compostas de baixo consumo de fibra alimentar pode ser um fator casual na etiologia dessas doenças ocidentais.

No Quadro 2.1 são apresentadas algumas definições da fibra dietética de acordo com Spiller (2001).

Quadro 2.1 - Definição de fibra dietética.

Termo	Autor	Definição
Fibra dietética	Trowell (1975)	Substâncias vegetais, não digeridas pelas enzimas digestivas humanas, incluindo substâncias vegetais da parede celular (celulose, hemicelulose, pectina e lignina), bem como polissacarídeos intracelulares, tais como gomas e mucilagens.
Fibra dietética complexa	Trowell e Spiller (1975)	Mesma definição que fibra dietética, mas também incluem outras substâncias vegetais que não são digeridas pelas enzimas digestivas humanas, tais como ceras e as proteínas não digeríveis da parede celular. Estas são as substâncias que normalmente estão concentradas em torno da parede celular da planta.
Fibra dietética	Southgate (1975)	A soma de lignina e polissacarídeos que não são hidrolisados pelas secreções endógenas do trato digestivo humano. Este autor sugere uma definição química baseada no fato que a soma de lignina e polissacarídeos não-amiláceos é o melhor índice de fibra alimentar na dieta.
Amido resistente	Englyst (1994)	Amido que não é digerido por enzimas digestivas humanas e que atinge o cólon, muitas vezes agindo da mesma forma que a fibra.

Fonte: SPILLER, 2001.

2.4 Aveia

A aveia um cereal muito nutritivo, além de ser fonte de cálcio, ferro, proteínas, além de vitaminas, carboidratos e fibras.

A fibra solúvel presente na aveia é a β -glucana que é responsável por diminuir a absorção de açúcar e gordura no nosso intestino.

As beta-glucanas são polissacarídeos não-amiláceos que fazem parte da fração solúvel da fibra alimentar, ocorrem nos cereais, principalmente cevada e aveia. Estão contidas no endosperma da semente e são uma cadeia linear de unidades de D-glicopiranosil unidas por ligação (1:4) e (1:3). As ligações (1: 4) respondem aproximadamente por 70% das ligações glicosídicas, e ocorrem em sequência de duas ou três unidades de glicose, interrompidas por uma ligação (1: 3) isolada (FUJITA e FIGUEROA, 2003).

De acordo com Gutkoski e Trombetta (1999) a concentração de fibra alimentar solúvel no grão de aveia é relativamente maior quando comparado aos demais cereais. A fibra alimentar total de aveia varia entre 7,1 e 12,1%. Esta variação deve-se aos vários métodos de determinação utilizados e às diferenças entre cultivares. No farelo, o conteúdo de fibra alimentar é de 15 a 19%. Deste total, 34 a 48% são fibras solúveis e o restante insolúveis. Já o teor de β -glucanas na aveia é variável, dependendo do cultivar e é influenciado por fatores genéticos e ambientais.

O mecanismo proposto para o efeito benéfico da beta-glucana no organismo é que esta, assim como as fibras em geral, não é digerida pelas nossas enzimas não sendo, portanto, absorvida. Permanece no trato intestinal e devido à sua solubilidade, incorpora bastante água em sua estrutura e forma um gel viscoso característico. Este gel interfere na absorção de nutrientes, como o colesterol e carboidratos (BITENCOURT, 2007).

Ainda de acordo com Bitencourt (2007), a ação hipocolesterolêmica é fortemente avaliada por estudos científicos, que relacionam a ingestão da beta-glucana a uma efetiva diminuição da quantidade de colesterol total circulante no organismo e também da fração que circula as LDLs (Lipoproteínas de Baixa Densidade), em indivíduos com hipercolesterolemia.

2.5 Etapas do processo tradicional de fabricação do iogurte

2.5.1 Transporte da matéria-prima

A coleta do leite in natura é feita nas propriedades rurais, postos de refrigeração por meio de caminhões tanques isotérmicos com temperatura de no máximo 7°C.

2.5.2 Preparo da matéria-prima

O leite utilizado para fabricação de iogurte deve apresentar boa qualidade ser higienicamente produzido e manipulado, de composição físico-química normal, isento de antibióticos e preservativos e não deve ser utilizado congelado, a fim de evitar defeitos na textura do produto. De acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA (BRASIL, 1980), considera-se normal o leite que apresentar:

- a) teor de gordura mínima: 3%;
- b) acidez entre 15 e 20°D;
- c) densidade a 15°C entre 1.028 e 1.033;
- d) lactose:mínimo 4,3%;
- e) extrato seco total (EST): mínimo 11,5%;
- f) ponto de congelamento: 0,-540°H;
- g) pH: 6,6 a 6,8.

2.5.3 Tratamento térmico da matéria prima

O objetivo do tratamento térmico é destruir os micro-organismos patogênicos e outros que possam competir com as culturas do iogurte, além de promover a desnaturação das proteínas do soro, que reduz a contração do coágulo da caseína do iogurte, diminuindo, conseqüentemente, a sinérese. Este tipo de tratamento térmico estimula o início do crescimento da cultura láctica por redução do conteúdo de oxigênio do leite, além disso, influi sobre o aumento da viscosidade do iogurte e na obtenção de uma boa textura (VARNAN e SUTHERLAND, 1994).

No aquecimento devem ser rigorosamente observados a temperatura e o tempo em que o leite deve permanecer. As condições recomendadas são: 95°C por um minuto e meio; 90°C por três minutos e meio; 85°C por oito minutos e meio ou 80°C por 30 minutos. O aquecimento mais indicado é por meio de banho-maria ou tanques de parede dupla (encamisados).

Antes do tratamento térmico o leite é homogeneizado juntamente com os demais ingredientes para quebrar algum tipo de partícula a 65°C numa pressão de trabalho, em média 200 bar.

2.5.4 Resfriamento do Leite

Após o tratamento térmico do leite, deve-se resfriá-lo à temperatura de 40 - 41°C. Esta etapa pode ser feita pela substituição da água quente do banho-maria por água fria. Para não haver contaminação nessa fase, o recipiente do leite deve estar sempre fechado, sendo controlado por termopares.

2.5.5 Inoculação e Incubação

Após ser pasteurizado, o leite é resfriado para temperatura média de 40 - 41°C adiciona-se de 1 a 2% de fermento láctico preparado previamente, para inoculação das culturas *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* e *Bifidobacterium lactis*, em proporções iguais, do contrário não obterá a consistência e característica organoléptica no produto final. A cultura é homogeneizada, de forma que todos os grumos sejam quebrados (liga-se o inversor de frequência) por cerca de 2 a 5 minutos e o leite deve permanecer em completo repouso por aproximadamente de quatro a seis horas, a uma controlada temperatura de 41 a 43°C.

2.5.6 Fermentação Láctica

A etapa de fermentação constitui a essência do processo de fabricação do iogurte. Nesta ocorre o consumo da lactose e a hidrólise das proteínas do leite pelas culturas lácticas do iogurte, as quais se desenvolvem no mix desse produto lácteo, através de um processo simbiótico, que resulta na produção de peptídeos,

compostos ácidos e aromas característicos, como ácido láctico e acetaldeído. Adicionalmente, ocorre a redução da carga repulsiva existente na superfície das micelas de caseína, com o decréscimo dos valores de pH, resultando em agregação das moléculas de caseínas, através de ligações hidrofóbicas (LUCEY, 2004).

Durante o processo de fermentação ocorre a produção de ácido láctico como produto principal e a produção de pequenas quantidades de outros subprodutos que influenciam profundamente nas características organolépticas do iogurte. O acetaldeído é produzido em maiores quantidades seguido por acetona, 2 - butanona, diacetil e acetoína. O ácido láctico resultante da fermentação contribui para a desestabilização da micela de caseína, provocando sua coagulação no pontoisoelétrico (pH 4,6 - 4,7) e conduzindo à formação de um gel, o iogurte. Além disso, a fermentação láctica favorece o valor nutricional do produto final (RASIC e KURMAN, 1978; TAMIME e ROBINSON, 1991).

Ao final da fermentação, o coágulo deve apresentar pH entre 4,5 e 4,7 e uma concentração de ácido láctico de 0,9%; o gel deve ser liso, brilhante, sem desprendimento de soro ou gases.

A etapa de fermentação pode ser realizada na própria embalagem de comercialização para a produção do iogurte firme ou em tanques para a produção do iogurte batido. No entanto, independente do tipo de iogurte a ser fabricado, as reações bioquímicas responsáveis pela formação do gel/coágulo são precisamente as mesmas. As únicas alterações existentes entre o iogurte firme e o batido são as propriedades reológicas do coágulo (TAMIME e ROBINSON, 1991).

Para um bom desenvolvimento do processo de fermentação do leite, as culturas necessitam ser resistentes, apresentar um poder acidificante médio, capacidade de desenvolvimento em simbiose e de produzirem substâncias responsáveis pela viscosidade, sabor e aroma do iogurte (TAMIME e DEETH, 1980).

2.5.7 Resfriamento

O resfriamento é uma etapa crítica na produção de iogurte e é realizado logo após o produto ter atingido o grau de acidez desejado na fermentação. Como a elaboração do iogurte é um processo biológico, torna-se necessário o uso da

refrigeração para reduzir à atividade metabólica da cultura, controlando deste modo a acidez do iogurte.

É aconselhável que o resfriamento seja em duas etapas para evitar o choque térmico que provoca um encolhimento da massa e danos ao coágulo, pois o resfriamento muito rápido pode provocar a separação de soro no iogurte (TAMIME e DEETH, 1980).

A primeira etapa consiste em abaixar a temperatura a 18 - 24°C em, no máximo, 30 minutos, com a água do banco de gelo ligada para resfriar a camisa da fermenteira. Após o resfriamento é feita a adição de sabores tais como: frutas, corantes, cereais, mel, etc., que devem ser homogeneizados na massa. O próximo passo é a quebra da coalhada com agitação, visando obter uma massa de textura homogênea. Segundo Rasic e Kurman (1978), a agitação deve ocorrer preferivelmente a temperaturas menores que 40°C para se obter um coágulo consistente durante o armazenamento. A agitação feita a altas temperaturas (exemplo: logo após o término da fermentação) resulta no aparecimento de partículas do coágulo e separação do soro devido à destruição irreversível da estrutura gel.

Na segunda etapa, a redução da temperatura da massa deve atingir a temperatura de 10°C. O aparecimento do sabor característico do iogurte ocorre durante as 12 horas posteriores ao resfriamento, proporcionando as características finais de um bom iogurte.

2.5.8 Envase e estocagem

Após adição de aveia, aromatizado e levemente colorido, o iogurte segue para o tanque e é alimentado pela bomba positiva caindo na embalagem de polietileno e em seguida segue para ser armazenado em câmara fria sob refrigeração de 1 a 10°C. Obedece a lei de que só irá para o mercado após um período de 24 horas para ser comercializado.

A manutenção de temperaturas baixas está relacionada a um decréscimo da atividade metabólica das culturas, atividade esta que poderia gerar um sabor demasiadamente ácido no produto, repercutindo negativamente em sua aceitação pelo consumidor (TAMINE e ROBINSON, 2007).

2.5.9 Estresse ácido ou Pós-acidificação

A relação simbiótica que ocorre entre duas culturas do iogurte durante a fermentação tem como principal produto o ácido láctico, utilizando como substrato a lactose, o que tem reflexo direto no abaixamento do pH. Durante o armazenamento do iogurte, são observadas alterações na sua qualidade. A atividade metabólica das bactérias lácticas do iogurte é reduzida durante o resfriamento. No entanto, o produto final pode sofrer uma pós-acidificação que é queda do pH durante o armazenamento refrigerado devido à atividade metabólica persistente da bactéria láctica. A pós-acidificação é mais intensa nos primeiros sete dias de fabricação do iogurte, onde o consumo de lactose, produção de ácido láctico e a alta atividade metabólica da bactéria a pH mais elevados (BEAL *et al.*, 1999).

A intensidade da pós-acidificação em iogurtes depende da capacidade de acidificação das culturas, da etapa de fermentação nos tanques, do resfriamento, da temperatura de armazenamento e do valor inicial do pH.

De acordo com Lourens-Hatting e Viljoen (2001), uma exagerada pós acidificação ocorre, principalmente, devido o crescimento incontrolável de *Lb. bulgaricus* nas temperaturas de refrigeração e aos baixos valores de pH. A pós-acidificação pode ser prevenida através do controle deste pH (> 5), da aplicação de choque térmico (58°C/5 minutos) no iogurte, da aplicação de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e da utilização de culturas que possuam um comportamento reduzido de pós-acidificação como a cultura. Além disso, a diminuição da temperatura de armazenamento (< 4°C) e o aumento da capacidade que pode tamponar o iogurte obtido através da adição de concentrado protéico de soro também previne a pós-acidificação do iogurte (KAILASAPATHY e RYBKA,1997).

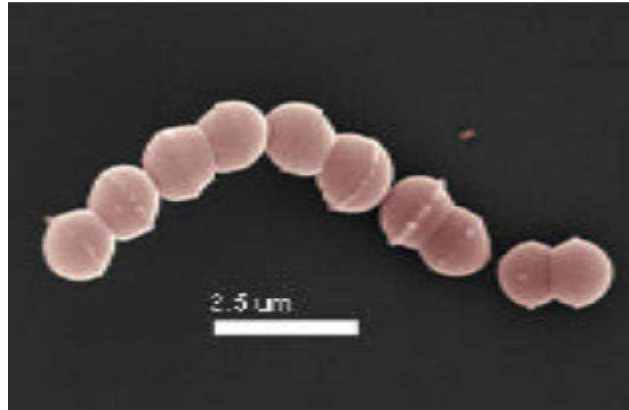
2.6 Tipos de culturas utilizadas no processo de fermentação láctea

2.6.1 Culturas tradicionais

As bactérias lácticas utilizadas para a fabricação de iogurtes são *Streptococcus salivarius* ssp. *Thermophilus* Figura 2.2, cocos unidos, geralmente em cadeias curtas e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* Figura 2.3, bastonetes unidos em cadeias longas e utilizam a lactose como substrato energético com

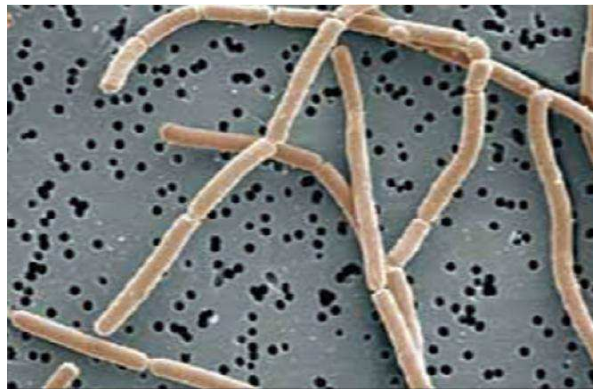
liberação de ácido láctico. Ambos os microrganismos são termofílicos e homofermentativos.

Figura 2.2 - *Streptococcus thermophilus*



Fonte: <http://genome.jgi-psf.org/strth/strth.home.html>

Figura 2.3 - *Lactobacillus Bulgaricus*



Fonte: <http://bioweb.usu.edu/microscopy/lactobacillus%20bulgaricus.jpg>

O crescimento associado destas duas culturas resulta em menor tempo de coagulação do leite, maior produção de ácido láctico e um maior desenvolvimento de sabor e aroma no iogurte. *S. thermophilus* é muito menos acidificante que o *L. bulgaricus* (TAMIME e DEETH, 1980).

A atividade proteolítica dos bacilos promove a liberação de pequenos peptídeos e aminoácidos, especialmente valina, que favorecem o crescimento dos cocos. Similarmente, o aumento dos cocos estimula o crescimento dos bacilos devido à produção de ácido fórmico, gás carbônico e a redução da quantidade de oxigênio disponível no meio (WALSTRA *et al.*, 2001; SHAH N.P, 2000; TAMIME e DEETH, 1980).

De acordo com Tamime e Deeth (1980) e Tamime e Robinson (2007), a relação ótima entre cocos e bacilos para o desenvolvimento do sabor e aroma característicos do produto é dependente das propriedades das cepas utilizadas e é de aproximadamente 1:1. Este balanço natural da cultura é importante para a obtenção de um iogurte com boas características organolépticas relativas ao sabor, aroma e textura.

A predominância de qualquer uma das espécies pode ocasionar defeitos para o produto final. Os principais fatores que podem afetar o balanço adequado entre os dois micro-organismos são o tempo e a temperatura de incubação e a porcentagem de inóculo que é constituído por dois micro-organismos em proporções iguais: *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*. Por exemplo, um tempo menor de incubação resultaria em um produto com maior proporção de cocos e com um sabor fraco. Por outro lado, um tempo maior de incubação ou um resfriamento inadequado beneficiaria a predominância de bacilos resultando num produto com sabor amargo, como também se não tiver no balanço adequados dos micro-organismos se obterá consistência e característica indesejada de odor no produto a ser industrializado (WALSTRA *et al.*, 2001).

A temperatura ótima de crescimento do *Streptococcus thermophilus* situa-se entre 40 - 45°C, atingindo um mínimo de 20°C e um máximo de 50°C. Para o *Lactobacilos bulgaricus*, a temperatura ótima de crescimento situa-se entre 40 - 43°C, atingindo um mínimo de 22°C e um máximo de 52,5°C. Quando ocorre uma agregação entre *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* a temperatura ótima de crescimento fica entre 40 - 45°C e a coagulação pode demorar mais que quatro horas, dependendo da porcentagem de inóculo adicionada. Após o iogurte ter atingindo o pH desejável aproximadamente pH 4,6, o gel quebrado é resfriado (LUCEY, 2004).

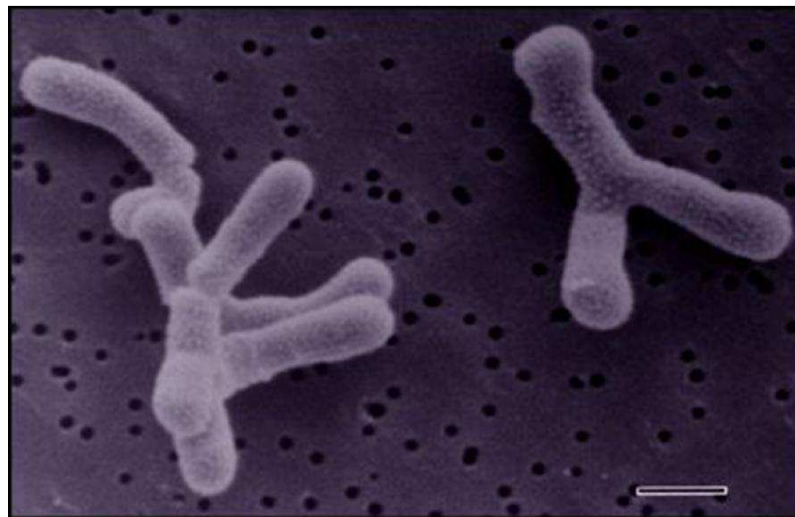
As bactérias tradicionais utilizadas na fermentação de iogurtes, *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*, não pertencem à flora intestinal, não são resistentes à bile e conseqüentemente não sobrevivem à passagem através do trato gastrointestinal, portanto não são consideradas como probióticas. No entanto, essas bactérias possuem efeitos positivos como ação inibidora contra bactérias patogênicas no trato gastrointestinal e benefício da digestão da lactose devido a presença de enzima β -galactosidase nas células das bactérias tradicionais de iogurte (LOURENS-HATTINGH e VILJOEN, 2001).

2.6.2 *Bifidobacterium lactis*

O gênero *Bifidobacterium* inclui 30 espécies, 10 das quais são de origem humana, 17 de origem animal, 2 de águas residuais e 1 de leite fermentado; esta última tem particularidade de apresentar boa tolerância ao oxigênio.

As bifidobactérias são habitantes naturais do intestino humano e animal. Sua população é influenciada pela idade, dieta, antibióticos, estresse entre outros fatores. As bifidobactérias são bastonetes, gram-positivas, anaeróbias, possuem formato de Y (Figura 2.4) e requerem nutrientes especiais, o que dificulta seu isolamento e crescimento em laboratórios. Todas as espécies de *bifidus* fermentam a lactose e crescem bem em leite (ARUNACHALAM, 1999).

Figura 2.4 – *Bifidobacterium lactis*



Fonte: <http://microbewiki.kenyon.edu/images/0/06/Bifidobacterium.jpg>

Os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados, da Resolução Nº 5, de 13 de novembro de 2000, estabelecem que em iogurtes a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10^7 UFC/mL no produto final, durante todo o prazo de validade e, no caso em que mencione(m) o uso de Bifidobactérias, a contagem será de 10^6 UFC/mL (BRASIL, 2000). Em relação aos probióticos, o produto deve constar a quantidade dos microrganismos viáveis que garanta a ação alegada dentro do prazo de validade do produto (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2002).

Diversos fatores afetam o crescimento e a viabilidade das bactérias probióticas no produto. Entre eles pode-se destacar o ácido e peróxido de hidrogênio produzidos pela bactéria do iogurte, o pH, o aumento da acidez durante armazenamento, a temperatura de armazenamento, a presença de conservantes e de outros micro-organismos, a concentração de oxigênio contida no produto e permeabilidade do oxigênio através da embalagem e a disponibilidade de fatores de crescimento (DAVE e SHAH N.P, 1997; GUEIMONDE *et al.*, 2004).

Do ponto de vista econômico/comercial, não é viável fermentar o leite usando apenas micro-organismos probióticos devido ao maior tempo de fermentação requerido para reduzir o pH do leite para 4,6 e também ao sabor desagradável provocado por algumas linhagens de bactérias probióticas. Atualmente, os micro-organismos da cultura tradicional de iogurte (*St. thermophilus* e *Lb. bulgaricus*) são empregados em combinação com as bactérias probióticas para reduzir o tempo de fermentação e melhorar o sabor, corpo e textura do produto final (DAVE e SHAH N.P, 1997).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na indústria de beneficiamento Laticínio Belo Vale Ltda (ISIS) localizada na cidade de Sousa – PB

3.1 Matéria-prima

- Leite pasteurizado (oriundo de fazendas e/ou tanques de expansão cadastrados pelo Laticínio Belo Vale e/ou leite em pó reconstituído trazidos de cooperativas da região sul);
- Açúcar cristal (oriundo de cooperativas do Estado de Alagoas e Pernambuco);
- Estabilizante 8017 – 2 (gelatina, pectina e goma guar - Globalfood);
- Amido modificado (Nacional);
- Farelo de aveia (Ferla);
- Cultura tradicional YO-MIXTM 495 LYO 100 DCU (Danisco);
- Cultura probiótica HOWARUTM HN019 (Danisco);
- Corante de caramelo (All Flavor);
- Aroma de baunilha (All Flavor).

3.2 Caracterização da matéria-prima

A avaliação físico-química das amostras de leite pasteurizado foi realizada em duplicata para as seguintes análises: acidez titulável (°D), índice crioscópico (°H), utilizando-se o crioscópio eletrônico modelo ITR MK 540 e densidade a 15°C, determinada por termolactodensímetro de Quevenne (BRASIL, 2006).

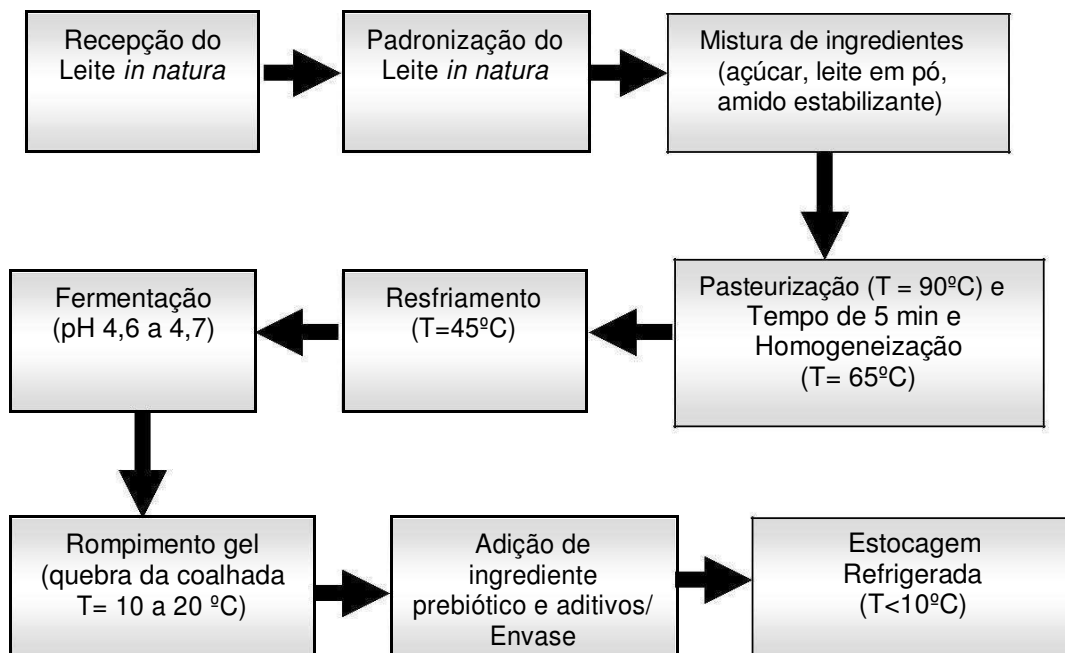
Os percentuais de gordura, proteína e sólidos não gordurosos foram determinados em equipamento EKOMILK M (CAPLAB) (APÊNDICE B) e os resultados foram comparados aos valores limites estabelecidos pela Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2011).

3.3 Processamento do iogurte com propriedades funcionais

As etapas de produção de iogurte de forma geral são identificadas da seguinte forma: qualidade da matéria-prima, padronização da gordura, fermentação, rompimento do gel, adição de ingrediente prebiótico (aveia), corante e aroma e estocagem refrigerada.

Na Figura 3.1 é mostrado o processo de desenvolvimento do iogurte produzido com culturas tradicionais e probióticas com propriedade funcional.

Figura 3.1- Fluxograma do processo de desenvolvimento do iogurte produzido com culturas tradicionais e probióticas com propriedade funcional.



3.3.1 Recepção do leite *in natura*

O leite oriundo de tanques de expansão chega à usina de beneficiamento em caminhões isotérmicos, é inspecionado visualmente quanto sua aparência, em seguida é retirada uma amostra para análise de alizarol que tem por finalidade avaliar o estado de conservação do leite.

A coagulação ocorre por efeito da elevada acidez combinada à instabilidade salina e conseqüente desestabilização das micelas de proteínas pela exposição ao álcool.

Esse procedimento visa orientar analistas e auxiliares de laboratório para a pesquisa de adulteração de leite “in natura”, através da comparação de coloração entre uma solução de ALIZAROL e o substrato a conhecer. (APÊNDICE A)

O teste de alizarol, outra amostra de leite é passado no aparelho Ekomilk (APÊNDICE B), onde é verificado a gordura, extrato seco desengordurado, extrato seco total, densidade, água, proteína, ponto de congelamento.

3.3.2 Padronização da gordura e mistura de ingredientes

Para uniformizar a composição da gordura, é necessária a padronização da quantidade de gordura do leite. Portanto, o leite é bombeado e padronizado para 2,5% de gordura e enviado aos tanques de mistura conforme Procedimento Padrão Operacional (POP) adaptado pela usina de beneficiamento (APÊNDICE B).

Em seguida o leite segue para os tanques de mistura de ingredientes com capacidade de 1500 L, conforme Procedimento Padrão Operacional (POP) adaptado pela usina de beneficiamento (APÊNDICE C). Na Tabela 3.1 são mostrados os ingredientes utilizados.

Tabela 3.1 – Ingredientes utilizados nos tanques de mistura:

Ingredientes	Quantidade utilizada (%)
Leite <i>in natura</i> parcialmente desnatado e/ou reconstituído	87,1
Açúcar	11
Farelo de Aveia	1,4
Estabilizante e Amido Modificado	0,3
Culturas tradicionais e probiótica	0,1
Aroma de Baunilha e Corante	0,1

3.3.3 Tratamento térmico e resfriamento

A aplicação do tratamento térmico no processo de conservação pelo calor está condicionada ao binômio tempo/temperatura para resistir aos micro-organismos a serem destruídos prolongando a vida útil do produto a ser fabricado.

A pasteurização do leite ocorreu numa temperatura de 90°C com tempo de retardo de 5 minutos e homogeneizado a temperatura de 65°C com pressão de 200bar e em seguida resfriado numa temperatura de 45°C, para que assim seguir para etapa de fermentação.

3.3.4 Fermentação

Depois de pasteurizado e homogeneizado o leite e seus demais ingredientes seguem para a sala de fermentação onde se adiciona a cultura YO-MIXTM 495 com temperatura de 41°C e em seguida HOWARUTM HN019 *bifido* com temperatura de 40°C onde é monitorado por meio de termômetro digital durante o período de fermentação de 4 a 6 horas.

3.3.5 Rompimento do gel

O controle do potencial hidrogeniônico (pH) é realizado três horas após o início da fermentação para monitoramento preventivo. Após quatro horas de processo este monitoramento se intensifica, onde a cada meia hora é retirada amostra de dentro do tanque em diferentes localidades da superfície. A coalhada é quebrada quando atinge a faixa de pH de 4,6 a 4,7. Após a quebra da coalhada, a mesma é resfriada.

3.3.6 Adição de ingrediente, aditivos e envase

O farelo de aveia, aroma de baunilha e corante de caramelo foram adicionados após o período de fermentação, quando se inicia o resfriamento do tanque isotérmico com capacidade de 1500L. E por fim, segue para o envase cuja embalagem é de polietileno de baixa densidade e armazenado em sacos de

polipropileno de 180 g e/ou em caixas de papelão em embalagens de 600 g e acondicionado em câmara fria com temperatura de refrigeração menor que 10°C.

3.3.7 Estocagem

Como o iogurte é um produto perecível, o mesmo é mantido sob refrigeração ao longo de sua vida útil em média de 45 dias na temperatura menor que 10 °C.

3.4 Caracterização físico-química do iogurte produzido

- **Acidez titulável:** a acidez, em termos de ácido láctico, foi determinada por titulação (BRASIL, 2000);
- **Valor de pH:** o pH foi determinado utilizando-se o pHmetro digital Micronal, modelo 320, com eletrodo de vidro combinado (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008);
- **Viscosidade:** através do copo Ford infere-se a viscosidade do fluido a partir da medida do tempo gasto para esvaziar o reservatório (o “copo”). É um método simples, rápido e que requer um pequeno volume de amostra de fluido adaptado pela usina de beneficiamento;
- **Determinação de gordura:** pelo método de Gerber (BRASIL, 2000);

3.5 Avaliação do tempo de vida útil do iogurte

A cada 1, 7, 14, 21, 28, 35 e 45 dias foram retiradas amostras para determinação de: pH, viscosidade, cor, sabor, aparência e odor com temperatura menor que 10°C.

3.6 Contagem de micro-organismos

A contagem de micro-organismos é utilizada para estudar o modo de crescimento e reprodução das espécies fermentadoras do iogurte. As contagens de bactérias lácticas dos iogurtes foram realizadas no 1º e 45º dia de estocagem. A abertura das embalagens em polietileno de baixa densidade contendo iogurte foi

feita na sala reservada do laboratório de microbiologia onde, em seu interior possui lâmpada UV para prevenir qualquer contaminação na amostra.

Uma alíquota de 1 mL de amostra foi transferida para um tubo de ensaio rosqueável contendo 9 mL de solução de água peptonada estéril 0,1%. Após o tempo de incubação requerido para cada meio de cultura, a contagem foi realizada em placas de PetrifilmTM (BRASIL, 2003).

3.7 Análise Sensorial

Foi utilizado o teste descritivo perfil de sabor, onde os julgadores, com a ajuda do líder definem os atributos e os materiais de referência. Embora os julgamentos sejam individuais, após cada avaliação, o líder da equipe discute com seus membros os valores de intensidade dados a cada atributo. O perfil de aroma e sabor de cada amostra é construído por consenso. Os resultados são expressos de forma tabular ou gráfica. Em geral não são conduzidas análises estatísticas dos dados obtidos. A equipe é composta por número de quatro a seis julgadores treinados. Estes devem manifestar interesse e potencial para trabalhar em grupo, habilidade para identificar e para discriminar as intensidades de gostos e odores. (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

As análises eram realizadas às 15:00 horas, por três vezes na semana. O ambiente era refrigerado e cada degustador tinha sua mesa e cadeira reservada, o iogurte era avaliado numa temperatura média de 8 a 10 °C.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização da matéria-prima

Na Tabela 4.1 estão os resultados das análises físico-químicas realizados do leite *in natura* padronizado recebido na usina de beneficiamento através do aparelho EKOMILK M com o objetivo de avaliar a sua qualidade ou estado de conservação e sua integridade.

Tabela 4.1 – Caracterização físico-química do leite *in natura*

Parâmetros	Valores
Gordura do leite <i>in natura</i> parcialmente desnatado e/ou reconstituído (%)	2,8 ± 0,2
Extrato Seco Desengordurado (%)	8,4 ± 0,5
Extrato Seco Total (%)	11,62 ± 0,8
Densidade a 15°C (g/L)	1032 ± 2
Índice de Crioscópico (Ponto de Congelamento)	-512°C Equivalente a 530°H
Proteína (%)	3,0 ± 0,5
Alizarol a 76°GL	Leite normal: coloração rósea - salmão e sem grumos
Acidez Titulável (%)	17°D

Segundo os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel Brasil (2002), o leite *in natura* refrigerado, tanto tipo B quanto leite cru refrigerado, deve apresentar os seguintes requisitos físico-químicos: índice crioscópico máximo de -0,530 °H; densidade relativa a 15 °C variando entre 1028 a 1034 g.L⁻¹; e acidez titulável variando de 0,14 a 0,18 g de ácido láctico/100mL de leite ou 14 a 18 g de ácido láctico/ 1.000mL de leite.

MIGUEL *et al.* (2010) encontraram valores médios da crioscopia, densidade e acidez do leite para os diferentes tratamentos dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente, valores esses semelhantes aos encontrados nesse trabalho.

Em relação às análises de gordura e proteína, BRASIL (2011) relata que o padrão mínimo de gordura e de proteína é de 3% e 2,9%, respectivamente. Para o leite parcialmente desnatado, a matéria gorda (g/100g) varia de 0,6 a 2,9% segundo Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados BRASIL (2000).

Portanto, todos os valores encontrados nesse trabalho estão de acordo com a legislação vigente.

4.2 Fermentação láctica

O tempo total de fermentação na temperatura de 40°C foi de 5h30min atingindo o pH ideal 4,6-4,7 para a quebra da coalhada.

O abaixamento do pH está associado as culturas do iogurte pois estas a lactose em ácido láctico, acarretando uma diminuição deste até um ponto em que a caseína se torna insolúvel e o leite mais viscoso.

A produção gradual de ácido láctico começa por desestabilizar os complexos de caseína e proteínas do soro desnaturadas, por solubilização do fosfato de cálcio e dos citratos. Os agregados de micelas de caseína e/ou micelas isoladas coalescem parcialmente à medida que se aproxima o valor de pH do ponto isoelétrico, ou seja, aproximadamente 4,6 a 4,7 (TAMIME e ROBINSON, 2007).

Dave e Shah (1997) obtiveram tempos de fermentação que variaram de 3h50min a 6h utilizando culturas lácticas mistas compostas de *S. thermophilus*, *L.bulgaricus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* na fabricação de iogurtes.

4.3 Rompimento do gel

O rompimento do gel deve ser feito na condição da faixa de pH de 4,6 a 4,7. Se a coalhada não for quebrada nessa condição ocorre o dessoramento e o iogurte perde a textura (viscosidade) característica, ficando muito rala, com característica de

bebida láctea, além de perder a acidez, que cai bruscamente, comprometendo a vida útil do produto.

Esse problema citado ocorreu no primeiro teste, onde o a temperatura na adição do fermento foi de 43°C e o pH caiu bruscamente chegando na quebra da coalhada a 4,4.

4.4 Adição de ingrediente prebiótico, aditivos e envase

A adição de farelo de aveia em conjunto com os demais aditivos promove característica de doçura e o crescimento de bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* inibindo o crescimento de bactérias patogênicas. Essa adição foi feita de acordo os padrões estabelecidos na indústria.

O envase do iogurte também segue os padrões definidos na indústria.

4.5 Caracterização físico-química do iogurte

Na Tabela 4.2 são mostrados os valores obtidos para a caracterização físico-química do produto final (iogurte):

Tabela 4.2 - Caracterização físico-química do produto final (iogurte)

Parâmetros	Valores
pH após resfriado	4,4
Viscosidade do produto final (em minutos)	1 min e 37 segundos
Gordura do produto final (%)	2,8

A Resolução Nº 5 de 13 de novembro de 2000, não contempla os requisitos físico-químicos como umidade, cinzas, EST e ESD, apresentando somente teor de gordura (g/100g), acidez (g de ácido láctico/100g) e proteínas lácteas (g/100g) (BRASIL, 2000).

A viscosidade é uma propriedade básica que caracteriza o comportamento de escoamento e importante na aceitação de muitos alimentos (BOBBIO e BOBBIO, 1995). Nesse trabalho a viscosidade foi fracamente influenciada permanecendo, do 1º ao 45º dia, inalterada.

4.6 Vida útil do iogurte – Pós-acidificação

Na pós-acidificação houve um decréscimo do valor de pH e aumento da acidez expressa em ácido láctico durante o armazenamento refrigerado dos iogurtes devido à contínua produção de ácidos pelas bactérias lácticas. Segundo Beal *et al.*, (1999) os iogurtes estão sujeitos ao decréscimo de pH e aumento da acidez durante a estocagem refrigerada, isso devido à persistente atividade das bactérias durante a estocagem do produto.

No primeiro dia de análise os valores de pH para amostras de iogurte de culturas lácticas foi de 4,49 reduzindo gradativamente até alcançar no 45º dia um pH de 3,59 correspondente ao período final de estocagem (Tabela 4.3) . A redução do valor de pH foi de 20,04%. A vida de prateleira do iogurte foi em torno de 30 dias, período no qual o produto deve manter suas características próprias, deste que adequadamente refrigerado (VEDAMUTHU, 1991c).

Tabela 4.3 – Caracterização física e físico-química durante o armazenamento

Dias	T°C	Viscosidade	Acidez (% ácido láctico)	pH
1	8°C	1min37s	0,75	4,49
7	9°C	1min37s	0,75	4,46
14	8°C	1min37s	0,75	4,43
21	10°C	1min37s	0,73	4,42
28	10°C	1min37s	0,73	4,4
35	8°C	1min37s	0,71	4,01
45	9°C	1min37s	0,70	3,59

A diminuição nos valores de pH está relacionada à pós-acidificação do iogurte durante o armazenamento refrigerado.

Oliveira e Damin (2002) também observaram ligeira diminuição do pH, quando estudaram a viabilidade de bactérias do iogurte e das culturas probióticas em leite fermentado sob refrigeração a 4°C durante o período de estocagem das amostras. O valor do pH é importante, uma vez que o iogurte com baixa acidez (pH > 4,6) favorece a separação do soro porque o gel não foi suficientemente formado,

por outro lado, em $\text{pH} < 4,0$, a contração do coágulo, devido à redução da hidratação das proteínas, também causa dessoramento (BRANDÃO, 1995).

4.7 Contagem de micro-organismos

A contagem de bactérias lácticas totais (UFC/g) no primeiro dia foi de $1,4 \times 10^8$ e no 45º dia foi de $1,1 \times 10^7$, observou-se uma redução de um ciclo logarítmico.

A manutenção do número de células viáveis da bactéria láctica tradicional *S.thermophilus* atende aos valores estabelecidos pela legislação brasileira em vigor, que, segundo os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados, a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10^7 UFC/mL no produto final, durante todo o prazo de validade e, no caso do uso de Bifidobactérias, a contagem é de 10^6 UFC/mL.

A sobrevivência das bactérias probióticas em produtos lácteos fermentados depende de vários fatores, tais como a linhagem utilizada, interação entre as espécies presentes, condições da cultura, composição química do meio (fonte de carboidrato), acidez final, conteúdo de sólidos do leite, disponibilidade de nutrientes, promotores e inibidores do crescimento, concentração de açúcar (pressão osmótica), oxigênio dissolvido (especialmente para a *Bifidobacterium* sp.), quantidade inoculada, temperatura de incubação, tempo de temperatura de estocagem (KAILASAPATHY e RYBKA, 1997; LOURENS-HATTINGH e VILJOEN, 2001).

4.8 Análise Sensorial

Para que cada produto desenvolvido pela usina de beneficiamento seja comercializado é designado uma comitiva de julgadores treinados para avaliar sensorialmente o produto.

Na Tabela 4.5 são mostrados os parâmetros analisados na análise sensorial do iogurte produzido.

Tabela 4.4 Parâmetros analisados com equipe de 6 julgadores treinados

Dias	T°C	Cor	Odor	Textura	Acidez
1	8°C	C	A	A	A
7	9°C	C	A	A	A
14	8°C	C	A	A	A
21	10°C	A	A	C	A
28	10°C	A	A	A	A
35	8°C	C	C	C	B
45	9°C	C	C	C	B

- A. Sabor característico
 B. Sabor ácido
 C. Sabor fora do padrão

Na análise sensorial foi verificada uma diferença na cor característica do produto que foi padronizado para tonalidade bege no 1º, 7º e 14º dia após ser envasado. A cor não estava de acordo com a característica. Apenas a partir do 21º dia que se chegou ao consenso na cor, porém a textura firme não foi atendida.

Já no 35º e 45º a cor ficou esbranquiçada, odor não característico, textura com dessoramento, ácido perdendo todas as propriedades características do produto padrão.

Não obstante, o ciclo de 28 dias de vida útil do produto se estabeleceu, pois obedeceu aos parâmetros de tonalidade de cor bege, odor, textura, acidez, viscosidade e pH característico e por unanimidade se fez o padrão.

Foi visto que, no tempo de vida útil do produto em teste, houve uma menor prolongação, fato este que se deu, por se tratar de combinação de cepas sensíveis, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* e *Bifidobacterium lactis* e estruturalmente de dois bastonetes e um cocus trazendo características de se acidificar mais rapidamente o que ocasionou uma redução no tempo de vida útil do produto passando de 45 dias para 28 dias.

5 CONCLUSÕES

Considerando os resultados obtidos conclui-se que:

- Os valores médios obtidos da análise físico-química do leite in natura estão de acordo com a legislação vigente BRASIL (2011).
- O tempo de fermentação na temperatura de 40°C foi de 5h30min alcançando a faixa de pH de 4,6-4,7.
- O produto final, iogurte, apresentou teor de gordura de 2,8%, resultado dentro dos padrões estabelecidos, de acordo com BRASIL (2000).
- A redução do valor de pH foi de 20,04%, o qual interferiu no tempo de vida útil do produto durante o período de estocagem.
- A contagem de bactérias lácticas totais (UFC/g) no primeiro dia foi de $1,4 \times 10^8$ e no 45º dia foi de $1,1 \times 10^7$, atendendo a legislação vigente onde, para contagem de micro-organismos específicos, no caso que mencione o uso de bifidobactérias, a contagem será de no mínimo 10^6 UFC de bifidobactérias/g segundo BRASIL (2000).
- O ciclo de 28 dias tornou-se o padrão de vida útil para comercialização do produto final e o mesmo foi baseado nos parâmetros característicos de um iogurte: tonalidade de cor bege, odor, textura, acidez, viscosidade e pH

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, **Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional ou de Saúde**, Resolução RDC nº 2, 7 de janeiro de 2002.

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

BEAL, C.; SKOKANOVA, J.; LATRILLE, E.; MARTIN, N.; CORRIEU, G. Combined effects of culture conditions and storage time on acidification and viscosity of stirred yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 4, p. 673-681, 1999.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Manual de laboratório de química dos alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1995, 129 p.

BRANDÃO, S. C. C. Tecnologia da produção industrial de iogurte. **Leite e Derivados**, v. 5, n. 25, p. 24-38, 1995.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Resolução Nº 5, 13/11/2000. **Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados**. Disponível em: www.agricultura.gov.br/sislegis. Acesso em 03/03/2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 51, DE 18 DE SETEMBRO DE 2002: Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel**. Disponível em: www.agricultura.gov.br/sislegis. Acesso em 03/03/2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 68, de 12/12/2006. **Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para**

Controle de Leite e Produtos Lácteos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 62, de 26/08/2003. **Métodos Analíticos Oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, seção I,p. 14-51, 18 set. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 62, de 29/12/2011.

Aprovar o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos desta Instrução Normativa. Disponível em:

<<http://www.in.gov.br/visualiza/index.jsp?data=30/12/2011&jornal=1&pagina=6&totalArquivos=160>>. Acesso em: 27 de junho de 2013.

BRASIL - Ministério da Agricultura. R.I.I.S.P.O.A. 1980. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal RIISPOA** (Aprovado pelo decreto nº 30690, de 20.03.52, alterado pelo decreto nº 1255, de 25.06.62). Brasília.

BITENCOURT, Bianca. Aveia – Descobrimo suas propriedades. Departamento de Nutrociência Assessoria em Nutrologia. Universidade de São Paulo. SP. Online. Disponível em: < <http://www.nutrociencia.com.br>>. Acesso em: 26 de janeiro de 2013.

BURKITT, D.P.; TROWELL, H.C. The Concept of Dietary Fiber. In: DREHER, M.L. **Handbook of Dietary Fiber: An Applied Approach.** Marcel Dekker, Inc, New York, 1987. cap.1.

COLLINS, J.K.; THORNTON, G.; SULLIVAN, G.O. Selection of probiotic strains for human applications. **Int. Dairy J.**, Amsterdam, v.8, p.487-490, 1998.

CRITTENDEN, R.G. Prebiotics. In: TANNOCK, G.V. **Probiotics: a critical review.** Wymondham: Horizon Scientific, 1999. p.141-156.

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

FERREIRA, C. L. L. F.; MALTA, H. L.; DIAS, A. S.; GUIMARÃES, A.; JACOB, F. E.; CUNHA, R. M.; CARELI, R. T.; PEREIRA, S.; FERREIRA, S. E. R. Verificação da qualidade físico-química e microbiológica de alguns iogurtes vendidos na região de Viçosa. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 56, n. 321, p. 152-158, 2001.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. Available from. Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Córdoba, Argentina 2001. Disponível em: ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf. Acesso em: 02/11/2012.

FUJITA, Alexandre; FIGUEROA, Maria. Composição Centesimal e Teor de -glucanas em Cereais e Derivados. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Vol.23 nº2. Campinas, SP. p. 116-120, maio/agosto, 2003.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **J. Appl.Bacteriol.**, Oxford, v.66, p.365-378, 1989.

G.Z., MIGUEL et al. **CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE LEITE OBTIDO DE DIFERENTES TIPOS DE COMERCIALIZAÇÃO EM PONTES E LACERDA – MT.** *Revista de Ciências Agro-Ambientais, Alta Floresta*, v.8, n.1, p.103- 111, 2010. Disponível em: http://www.unemat.br/revistas/rcaa/docs/vol8/10_artigo_v8.pdf. Acesso em: 30 de julho de 2013.

GUEIMONDE M.; DELGADO S.; BALTASAR, M.; MADIEDO-RUAS, P.; MARGOLLES A.; REYES-GAVILÁN, C. G. Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks. **Food Research International**, v. 37, p. 839-850, 2004.

GUTKOSKI, L. C. TROMBETTA, C. Avaliação dos Teores de Fibra Alimentar e de Beta-Glucanas em Cultivares de Aveia (*Avena sativa L*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Vol. 19 nº3. Campinas. p.387-390, set/dez, 1999.

HALSTED, C.H. Dietary supplements and functional foods: 2 sides of coin?. **Am. J. Clin. Nutr.** Bethesda, v.77 (suppl.), p.1001S-1007S, 2003.

IMEN. Instituto de Metabolismo e Nutrição, 2003. Coletânea de artigos científicos disponíveis em: <http://www.nutricaoclinica.com.br/Categoria/Conteudo-Cientifico/Alimentos-funcionais-Fibras/>. Acesso em: 10/02/2013.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos físico-químico. para análise de alimentos.** out. 2008. Disponível em: www.ial.sp.gov.br. Acesso em 10/01/2013.

ISOLAURI, E.; SALMINEN, S.; OUWEHAND, A.C. Probiotics. **Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.**, Amsterdam, v.18, n.2, p.299-313, 2004.

JELLEN, P.; LUTZ, S. Functional milk and dairy products. In: MAZZA, G., ed. **Functional foods. Biochemical & processing aspects.** Lancaster: Technomic Publish Company, 1998.p.357-381.

KAILASAPATHY, K.; RYBKA, S. *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* ssp.: their therapeutic potencial and survival in yogurt. **The Australian Journal of DairyTecnology**, v. 52, n. 1, p. 28-35, 1997.

KLEINMAM, R. E. Pratical significance of lactose intolerance in children: supplement. **Pediatric**, v. 86, n. 4, p. 643-644, 1990.

LEE, Y.K.; NOMOTO, K.; SALMINEN, S.; GORBACH, S.L. **Handbook of probiotics.** New York: Wiley, 1999. 211p.

LIN, M.; SAVIANO, D.; HARLANDER, S. Influence of nonfermented dairy products containing bacterial starter cultures on lactose maldigestion in humans. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 87-95, 1991.

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

LUCEY, J. A. "Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture proprieties". **Internacional Journal of Dairy Technology**, v.57, p.77-84, 2004.

MATTILA- SANDHOLM, T.; MYLLÄRINEN, P.; CRITTENDEN, R.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; SAARELA, M. Technological challenges for future probiotic foods. **Int. Dairy J.**, Amsterdam, v.12, p.173-182, 2002.

MATSUBARA, S. Alimentos funcionais: uma tendência que abre perspectivas aos laticínios. **Indústria de Laticínios**, v. 6, n. 34, p. 10-18, 2001.

OLIVEIRA, M.N.; SIVIERY, K; ALEGRO, J.H.A.; SAAD, S.M.I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Rev. Bras. Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.38, n.1, p.1-21, 2002.

OLIVEIRA, M. O.; DAMIN, M. R. Efeitos do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação e na viabilidade de bactérias do iogurte e das probióticas em leite fermentado. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. 17, 2002. **ANAIS**: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Porto Alegre: SBCTA, 2002.

RASIC, J. L.; KURMANN, J. A. **Yoghurt**: Scientific grounds technology, manufacture & preparation. Copenhagen: Technical Dairy Publishing House, 1978. 427 p.

ROBERFROID, M. B. Concepts in functional foods: the case of inulin and oligofructose. **J. Nutr.**, Bethesda, v.129, suppl. 7, p.1398S-1401S, 1999a.

SAAD, S.M.I. Probióticos e Prebióticos: o estudo da arte. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 42, n. 1, jan./mar., 2006.

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

SALADO, G. A.; ANDRADE, M. O. Processamento e qualidade nutricional do iogurte. **Boletim Cultura**, v. 7, p. 1-35, 1989.

SANDERS, M.E. Probiotics: considerations for human health. **Nutr. Rev.**, New York, v.61, n.3, p.91-99, 2003.

SPILLER, G.A. **CRC Handbook of Dietary Fiber Human Nutrition**. 3rd.Edition, Health Resesearch and Studies Center, Inc. SPHERA Foundation, Los Altos, California, 2001.

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

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

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yogurt: Science and Technology**. New York: CRC. Press. 1991.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yogurt: Science and Technology**. New York: CRC. Press. 2007.791p.

TEIXEIRA, A. C. P.; MOURTHÉ, K.; ALEXANDRE, D. P.; SOUZA, M. R.; PENNA, C. F. A. M. Qualidade do logurte Comercializado em Belo Horizonte. **Leite & Derivados**, v. 1, n. 51, p. 32-39, 2000.

VEDAMUTHU, E. R. The yogurts story – past, present and future. Part V. **Dairy, Food Envionmental Sanitarrians**, v. 11, n. 8, p. 444-446, 1991b.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Leche y productos lácteos**. Tecnología, Química y Microbiología, p. 1-34, 365-401, 1994. Zaragoza: Acribia.

WALSTRA, P.; GEURTS, T. J.; NOOMEN, A.; JELLEMA, A.; VAN BOEKEL, M. A. J. S. **Dairy technology: principles of milk properties and processes**, New York, 2001.

APÊNDICE A - Procedimento de análise físico-química para prova do alizarol do leite realizado na Usina de Beneficiamento Laticínio Belo Vale Ltda.

1. OBJETIVO

Possui a finalidade de estimar a estabilidade do leite em presença de solução alcoólica, cuja graduação empregada é proporcional ao rigor requerido no teste. A coagulação ocorre por efeito da elevada acidez combinada à instabilidade salina e conseqüente desestabilização das micelas de proteínas pela exposição ao álcool. Esse procedimento visa orientar analistas e auxiliares de laboratório para a pesquisa de adulteração de leite “in natura”, através da comparação de coloração entre uma solução de ALIZAROL e o substrato a conhecer.

2. MATERIAIS E REAGENTES

Acidímetro Salut completo

Solução de alizarol a 76 a 78 °GL



Coletor de amostra

Agitador

Béquer

3. PROCEDIMENTO

Através do acidímetro de Salut, coletar a amostra de leite “in natura”, após uma homogeneização. Com um movimento de inversão, despejar no tubo do acidímetro, a amostra de leite. Agitar com movimentos circulares, verificando a coloração desenvolvida e, descartando em recipiente próprio para continuar as análises.

4. CÁLCULOS E EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

Resultado:

a. Leite normal: coloração rósea - salmão e sem grumos (o leite resiste ao processo de pasteurização).



b. Leite em processo de acidificação: coloração rósea - salmão com grumos (o leite instável não resistindo ao processo de pasteurização).



c. Leite ácido: coloração amarela (leite que possivelmente não irá resistir ao processo de pasteurização ou aquecimento).



d. Leite alcalino ou suspeita com água: coloração arroxeadada ou violeta (pode ser um indicativo da presença de água, leite originário de vacas com mamite ou leite adicionado de redutores como hidróxido de sódio).



5. OBSERVAÇÕES

Esta prova também pode ser feita em tubos de ensaio, colocando-se partes iguais de leite “in natura” e de solução de Alizarol.

Esta prova é indicativa de adulteração, sendo necessário a tomada de outras provas confirmativas.

6. REFERENCIA

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Instrução Normativa Nº 68, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2006: Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados no Sistema de Laboratório Animal do Departamento de Defesa Animal.**

APÊNDICE B - Procedimento de análise físico-química para utilização do Ekomilk (gordura, extrato seco desengordurado, total, água, densidade, proteína, ponto de congelamento) do leite realizado na Usina de Beneficiamento Laticínio Belo Vale Ltda.

1. OBJETIVO

O objetivo deste analisador de leite ultra-sônico EKOMILK é fazer uma análise rápida, e a um custo eficaz, de conteúdos de gordura, aspectos sólidos e não gordurosos do leite (SNF), proteína, densidade do leite para vaca, assim como água adicionada ao leite.

2. MODOS BÁSICOS DE USO

Pressione o botão **MODE** para acessar o botão de funcionamento básico. Os modos disponíveis são os seguintes:

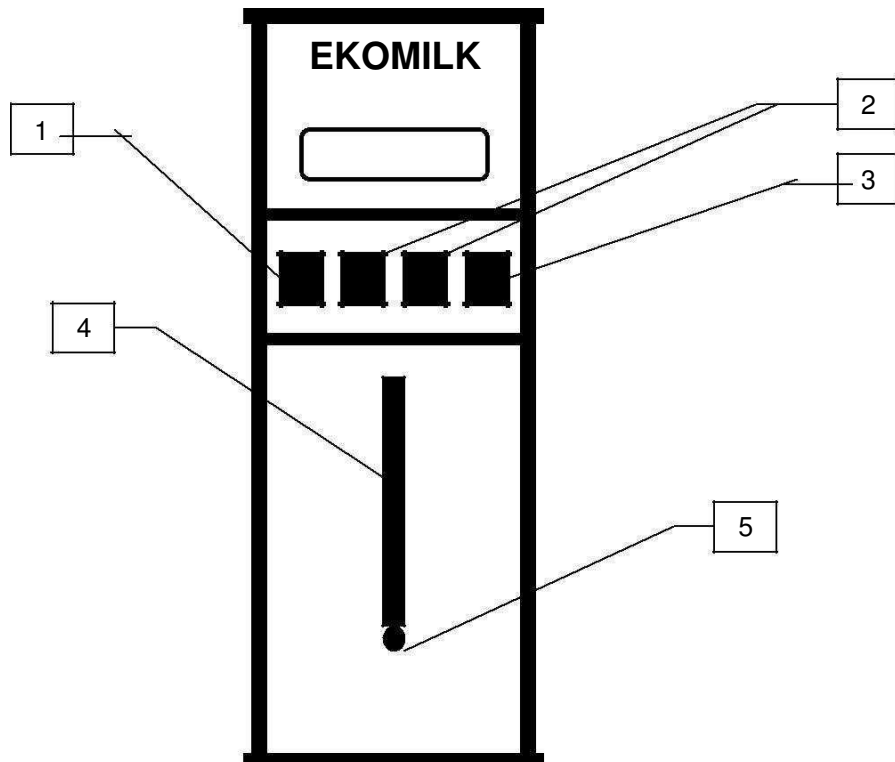
- COW MILK:** Análise de leite de vaca
- CLEANING*:** Limpeza ao final do dia de trabalho (válido no modo MOTOR ON)
- MOTOR CHOICE*:** Escolha do modo de operação básico
- CALIBRATION:** Calibragem
- SYSTEM:** Modo de operação somente do fabricante
- SHEEP (BUFFALO) MILK:** Análise de leite de ovelha (ou leite de búfala)

*Esses modos de operação estão disponíveis de leite com a bomba de sucção instalada. Pressione os botões de busca (search) ▲, ▼ para selecionar o modo de operação desejado.

* A temperatura das amostras de leite devem estar entre 15 – 30°C

CONTROLES DO PAINEL FRONTAL

1. Seleciona o modo trabalho
2. Pula e procura para adiante e para trás
3. Confirma a escolha
4. Tubo (sugador)
5. Suporte Plástico



3. PROCEDIMENTO DIÁRIO

É necessário limpar o analisador nos seguintes casos:

1. Quando o intervalo entre duas medições consecutivas for maior que meia hora;
2. Ao final de um dia de trabalho. Portanto, para garantir um bom funcionamento deste analisador de leite a limpeza profunda é realizada semanalmente.

4. ALGUMAS RAZÕES PARA DESVIOS DA EXATIDÃO E DA REPETIBILIDADE DE EKOMILK

A) Leite aerado é um leite com muitas bolhas de ar minúsculas internas. O leite aerado torna-se geralmente durante a ordenha, homogeneização, UHT, etc. mas

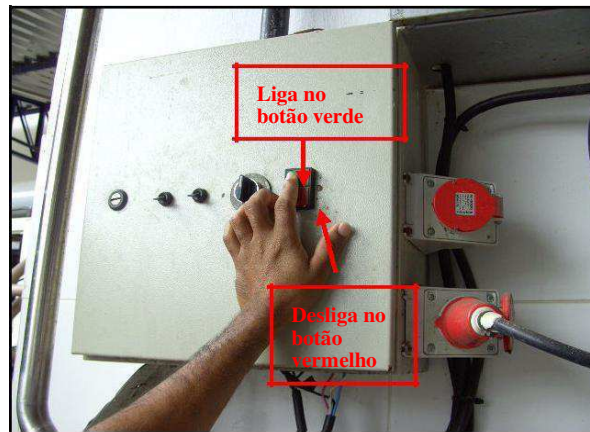
podem ser aerados mesmo quando a amostra do leite é misturada se estiver feita por agitação contínua dura.

B) Leite ácido o método ultra-sônico requer que a amostra de leite seja aquecida durante o processo da medida. Caso o leite tenha uma acidez aumentada a coagulação do leite pode ocorrer quando o leite está aquecido e o resultado da medida terá desvios significativos dos valores reais e uniforme em algum detalhe encaixota a medida pode não ser terminado com sucesso.

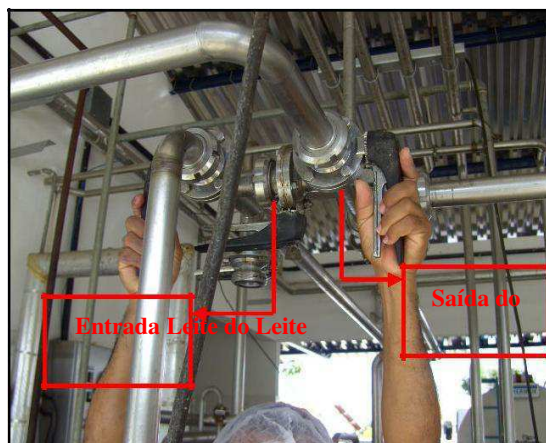
C) Leite adulterado os resultados da medida podem significadamente diferir dos parâmetros reais do leite se o leite contiver alguns aditivos – sal, açúcar, uréia, etc.

APÊNDICE C – Procedimento Operacional Padrão da Usina de Beneficiamento Laticínio Belo Vale Ltda. Padronização do Leite.

- 1 - Conectar a mangueira no retorno do pasteurizador para o tanque de coleta;
- 2 - Ligar quadro de controle elétrico do pasteurizador;
- 3 – Ligar bomba de água quente e a bomba do leite;
- 4 – Ligar a chave geral da padronizadora;



- 5 – Ligar as torneiras de vapor de água;
- 6 – Deixar água circulando dentro do tanque de equilíbrio até chegar a temperatura de 72°C.
- 7 – Após chegar a temperatura desejada, secar o tanque de equilíbrio e saída de retorno de água também parar, deve-se então;
 - 7.1 – Ligar a bomba do tanque isotérmico (TQ 3);
 - 7.2 – Passar pelo medidor de vazão;
 - 7.3 - Abrir as válvulas de entrada e saída de leite, para desnatar o leite;



7.4 – Colocar recipiente para coleta do creme;



7.5 – Enviar o leite padronizado para o tanque de distribuição.

8 – Realizar a troca dos recipientes de coleta do creme, toda vez que estiver cheio;

8.1 – Após desnate pesar, anotar o peso e armazenar em câmara fria.

Ações em Caso de Não Conformidade

Caso a padronizadora quebre, fazer ordem de serviço para o departamento de manutenção.

Cuidados Especiais

Não esquecer de realizar as conexões necessárias entre as máquinas e tanques do processo, evitando assim desperdícios;

Não esquecer de trocar o recipiente de coleta do creme;

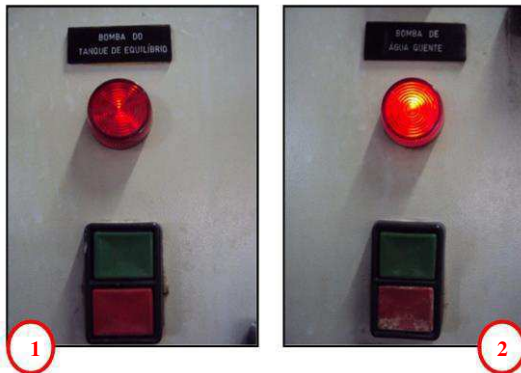
Não esquecer de utilizar os EPI (Equipamento de Proteção Individual).

APÊNDICE D - Procedimento Operacional Padrão da Usina de Beneficiamento Laticínio Belo Vale Ltda. Recebimento do leite para adição dos demais ingredientes.

1 – Ligar a chave geral;



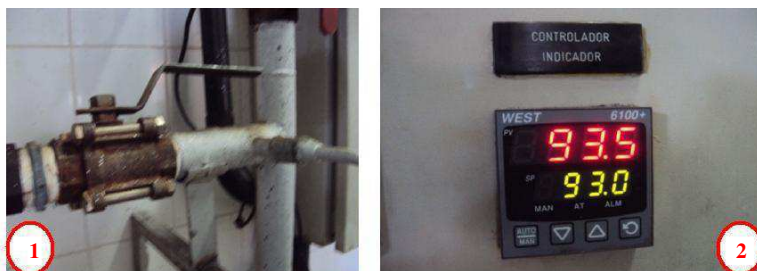
2 - Ligar a bomba de equilíbrio, bomba de água quente e ar comprimido;



3 – Abrir a válvula para retirar solução sanitizante da linha;

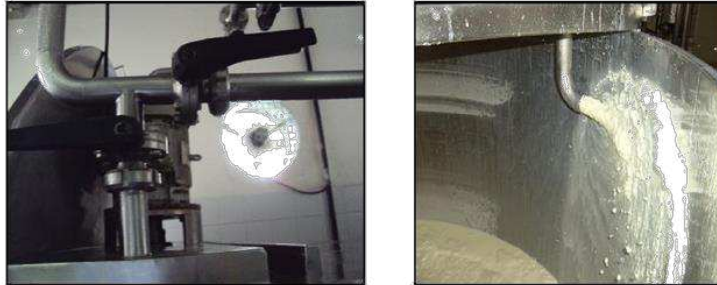


4 – Abrir válvula para aquecer a linha (10 minutos) e controlar o indicador de temperatura;



5 – Identificar com o responsável da plataforma a quantidade de leite que será enviada e para qual produto, ligando para a plataforma de recebimento;

6 – Abrir o by pass para receber o leite e cair no tanque de mistura;



7 – Ligar o mexedor do tanque de mistura;



7.1 – Antes de ligar o mexedor é necessário alternar o motor redutor do tanque de mistura que se está usando, utilizando a chave seletora;



8 – Colocar a mistura de ingredientes no tanque de mistura. Manter o mexedor ligado por mais cinco minutos;

9 – Passar pelo filtro de linha e abrir a válvula para que a base branca caia no homogeneizador;

10 – Ligar a chave do homogeneizador e acionar o botão do homogeneizador;



11 – Verificar a pressão de trabalho (150 a 200 bar);



12 – Verificar o termo registrador;



13 – Enviar a base branca para setor de fermentação.

Ações em Caso de Não Conformidade

Caso o tanque de mistura já esteja com sua capacidade completa, deve-se ligar para a plataforma e solicitar que pare o bombeamento do leite.

Cuidados Especiais

- Utilizar os EPI's necessários no procedimento;
- Atentar para a limpeza e higienização dos recipientes utilizados na manipulação dos ingredientes.