



ALINE PRUDENTE MARQUES

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA
FERMENTADA À BASE DE SORO LÁCTEO E
CAFÉ SOLÚVEL COM ATIVIDADE
PROBIÓTICA**

**LAVRAS - MG
2012**

ALINE PRUDENTE MARQUES

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA À BASE
DE SORO LÁCTEO E CAFÉ SOLÚVEL COM ATIVIDADE
PROBIÓTICA**

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

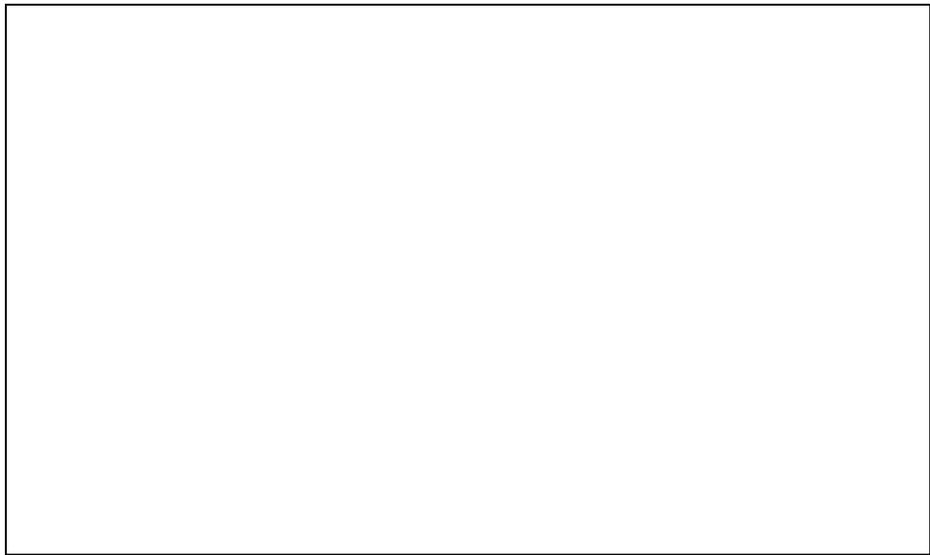
Orientador

Dr. Carlos José Pimenta

Coorientadora

Dra. Ana Carla Marque Pinheiro

**LAVRAS - MG
2012**



ALINE PRUDENTE MARQUES

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA À BASE
DE SORO LÁCTEO E CAFÉ SOLÚVEL COM ATIVIDADE
PROBIÓTICA**

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

APROVADA em 29 de fevereiro de 2012

Dra. Ana Carla Marques Pinheiro	UFLA
Dr. Luiz Ronaldo Abreu	UFLA
Dr. Adriano Gomes da Cruz	UNICAMP

Dr. Carlos José Pimenta
Orientador

**LAVRAS – MG
2012**

*A minha mãe, minha irmã e ao Luiz por todo amor, paciência e força, mas
acima de tudo por sempre acreditarem em mim!*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

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

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência dos Alimentos, pela grande oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos e à Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo financiamento do projeto.

Ao Laticínio Verde Campo pela concessão do soro lácteo para a fabricação das bebidas lácteas durante o desenvolvimento do experimento.

A minha mãe pelo apoio incondicional, incentivo e carinho.

A minha irmã pela compreensão, força e incentivo nos momentos mais difíceis.

Ao Luiz, pelo amor, paciência, carinho, dedicação, apoio e incentivo incondicionais em cada etapa da realização deste trabalho.

Ao meu orientador, professor Carlos José Pimenta, pela oportunidade que me foi concedida de desenvolver este trabalho e pela confiança em mim depositada.

À professora Ana Carla, pelos ensinamentos, pela oportunidade de ingressar no mundo da pesquisa, pela coorientação, pelo carinho, dedicação e amizade.

Ao professor Luiz Ronaldo pela contribuição e ensinamentos no desenvolvimento do trabalho.

À professora Roberta, pela disponibilidade, auxílio e contribuição na condução das análises microbiológicas.

À laboratorista Creuza, por todo auxílio no desenvolvimento do trabalho, pelos ensinamentos e pelo carinho.

Aos amigos do DCA, Paulo, Poliana, Flávia Della Lucia, Maria Eliza, Dieyckson, Tassyana, Vanessa e Juciane, por cada momento de convivência.

À grande amiga Camila, que por intermédio de nossos namorados pudemos nos conhecer e ter a oportunidade de conviver e morar juntas. Obrigada pelo carinho, ensinamentos, pela oportunidade de trabalhar e aprender com você, mas acima de tudo, obrigada pela amizade!

À querida amiga Stella, pela ajuda na condução das análises, pelos ensinamentos, total disponibilidade, carinho e amizade!

Às companheiras e amigas de república Lorena e Kamilla, pelo carinho, amizade, apoio, companheirismo, auxílio na condução das análises e por estarem ao meu lado em todos os momentos!

Ao querido amigo Fausto, pela amizade, apoio, força nos momentos difíceis e auxílio nas análises reológicas do trabalho.

Ao grande amigo Anilson, por compartilhar comigo os momentos mais difíceis, dando força para seguir em frente e por contribuir na conclusão deste trabalho.

Às amigas Natália, Leci e Trícia, que mesmo a distância sempre me deram força e acreditaram em mim.

Ao colega Éder e ao professor Pedro do Instituto Federal do Triângulo Mineiro pelo auxílio em algumas das análises estatísticas realizadas.

Às colegas Jacyara e Danúbia pelo auxílio em algumas análises microbiológicas.

À Lucilene e as meninas da faxina, por toda ajuda sempre que precisei.

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

RESUMO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver, caracterizar físico-química e sensorialmente, bem como verificar o comportamento de uma bebida láctea fermentada à base de soro e café solúvel, fermentada com microrganismos probióticos, ao longo do período de armazenamento. Em uma etapa inicial de pré-testes sensoriais foram definidos os limites mínimos e máximos para as concentrações que seriam utilizadas de café solúvel. Posteriormente, foram elaboradas 11 diferentes formulações de bebidas lácteas, nas quais variaram a concentração de soro (20%, 35% e 50%), de açúcar (9%, 10.5% e 12%) e de café solúvel (0.2%, 0.5% e 0.8%). A análise multivariada dos dados permitiu a comparação dos resultados das análises físico-químicas com os resultados do teste de aceitação com consumidores. Os resultados revelaram que houve influência significativa negativa da concentração de café em relação aos atributos sabor, textura e impressão global, enquanto a concentração de açúcar influenciou significativamente de maneira positiva esse atributo. A concentração de café teve influencia positiva apenas sobre o atributo aroma. A partir dos resultados das análises físico-químicas e sensoriais e de maneira a ressaltar o objetivo do trabalho em aproveitar o resíduo da indústria de laticínios em um novo produto, selecionou-se a formulação cuja concentração de soro foi a máxima utilizada (50%) e cujas demais variáveis tiveram as concentrações mais bem aceitas pelos consumidores (0,2% café e 12% de açúcar) – para avaliar seu comportamento ao longo do armazenamento. A última etapa do estudo constituiu na análise da vida de prateleira da formulação selecionada por um período de 28 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. Foram avaliados pH, acidez titulável (% ácido láctico), viabilidade das culturas probióticas utilizadas na fermentação do produto (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*), aceitação nos diferentes tempos de armazenamento (0, 7, 14, 21 e 28 dias) e comportamento reológico do produto. A análise dos resultados demonstrou não ter havido alteração significativa nos índices de pH e acidez titulável, que se mantiveram praticamente constantes. Apenas o *L. acidophilus* (entre 10^7 e 10^8 UFC/mL) apresentou número de células para classificação do produto como funcional conforme preconiza a legislação brasileira. Não houve diferença significativa na aceitação da bebida nos cinco diferentes tempos de armazenamento em que foi avaliada pelos consumidores. O comportamento reológico da bebida demonstrou não ter havido alteração significativa durante o armazenamento.

Palavras-chave: Soro lácteo. Café solúvel. Aceitação. Probióticos. Vida de prateleira. Reologia.

GENERAL ABSTRACT

This study had as objective to develop, characterize the physical-chemical and sensory, as well as verify the fermented milk drink behavior based on whey and instant coffee, fermented with probiotics microorganisms, during the storage period. In the initial stage of pre-sensory tests were defined minimum and maximum limits for the concentrations that would be used for instant coffee. Subsequently, 11 different formulations of milk drinks were prepared, which varied in the whey concentration (20%, 35% and 50%), sugar (9%, 10.5%, and 12%) instant coffee (0.2%, 0.5 % and 0.8%). Data multivariate analysis allowed the results comparison of the physical-chemical analyzes with the acceptance results test with consumers. The results revealed that there was a significant negative influence of coffee concentration in relation to flavor, texture and overall impression, while the sugar concentration significantly influenced in a positive way this attribute. The coffee concentration had a positive influence just on the flavor attribute. From the physico-chemical and sensory results and in order to emphasize the main goal in take advantage of the residue from the dairy industry, it was selected the formulation which the whey concentration was used the maximum (50%) and other variables whose concentrations were more accepted by consumers (0.2% coffee and 12% sugar) - to assess their behavior during storage. The last step in this study was to analyze the shelf-life of the formulation selected for a period - 28 days of storage at 4°C. The pH, titratable acidity (% lactic acid), viability of probiotic cultures used in product fermentation (*Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis*), acceptance in the different storage times (0, 7, 14, 21 and 28 days) and rheological behavior of the product. The results showed that there was no significant change in levels of pH and titratable acidity, which remained almost constant. Only *L. acidophilus* (between 10^7 and 10^8 CFU/mL) showed a cell number to classify the product as functional as recommended by the Brazilian legislation. There was no significant difference in acceptance of the drink in five different storage periods in which it was evaluated by consumers. The rheology behavior of the drink, showed that there was no significant change during storage.

Keywords: Whey. Instant coffee. Acceptance. Probiotics. Shelf-life. Rheology.

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 Introdução geral	12
1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral	15
2.2	Objetivos específicos	15
3	REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1	Soro lácteo e seu aproveitamento pela indústria de alimentos	16
3.2	Bebidas lácteas	18
3.3	Alimentos funcionais: probióticos	20
3.4	Café	25
3.6	Reologia	31
	REFERÊNCIAS	34
	CAPÍTULO 2 Caracterização química, física, físico-química e sensorial de bebidas lácteas fermentadas potencialmente probióticas utilizando soro lácteo e café solúvel	45
1	INTRODUÇÃO	48
2	MATERIAL E MÉTODOS	50
2.1	Materiais	50
2.2	Planejamento experimental	50
2.3	Obtenção das bebidas lácteas fermentadas utilizando soro de queijo minas frescal	52
2.4	Determinação da cor	53
2.5	Determinação de pH	53
2.6	Análise de acidez titulável	54
2.7	Análises microbiológicas	54
2.7.1	Determinação de coliformes	54

2.7.2	Contagem total de fungos filamentosos e leveduras.....	54
2.7.3	Viabilidade de culturas probióticas.....	55
2.8	Avaliação sensorial.....	55
2.8.2	Teste de aceitação.....	56
2.9	Análise estatística	57
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
3.1	Análise sensorial: pré-teste.....	59
3.2	Caracterização química, física, físico-química e microbiológica	59
3.3	Análise sensorial: teste de aceitação	61
4	CONCLUSÃO	71
	REFERÊNCIAS	72
	CAPÍTULO 3 Vida de prateleira de bebida láctea fermentada	
	probiótica utilizando soro lácteo e café solúvel	76
1	INTRODUÇÃO	79
2	MATERIAL E MÉTODOS	81
2.1	Obtenção das bebidas lácteas fermentadas utilizando soro	
	lácteo	81
2.2	Determinação de pH	82
2.3	Análise de acidez titulável	83
2.4	Análises microbiológicas	83
2.4.1	Determinação de coliformes	83
2.4.2	Contagem total de fungos filamentosos e leveduras	83
2.4.3	Viabilidade de culturas probióticas	84
2.5	Análises reológicas	84
2.6	Delineamento estatístico	85
2.7	Análise Sensorial: teste de aceitação	86
2.8	Análise estatística	86
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	87

3.1	Vida de prateleira	87
3.2	Avaliação sensorial: teste de aceitação durante o armazenamento	97
4	CONCLUSÃO	100
	REFERÊNCIAS	101
	ANEXOS	107

CAPÍTULO 1 Introdução geral

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novos produtos, bem como o aproveitamento de resíduos, vem sendo explorado com cada vez mais intensidade nos diferentes segmentos do setor agropecuário brasileiro e mundial em função da grande variedade de matéria-prima disponível.

O soro de queijo ou soro de leite representa um grande volume para os laticínios, sendo boa parte desse volume destinado à alimentação animal ou a produção de derivados como ricota, devido à elevada disponibilidade e de seu oferecimento gratuito ou a baixo preço. Trata-se de um subproduto líquido resultante da produção de queijos, constituído basicamente de água (93%) e somente 7% de matéria seca, do qual 71% é lactose, 10% proteína bruta, 12% gordura e 11% minerais (LIZIEIRE; CAMPOS, 2001). Sua composição confere-lhe propriedades nutricionais e de funcionalidade que tornam sua utilização de interesse em diferentes aplicações na indústria alimentícia (SEVERO, 1995).

Devido a sua composição, principalmente o teor de lactose, o soro de queijo causa grande impacto ambiental, se descartado sem tratamento, em função de sua elevada Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) (MATOS, 2009).

Assim, a utilização de soro de queijo na elaboração de bebidas lácteas constitui uma forma racional de aproveitamento desse produto secundário que apresenta excelente valor nutritivo (ALMEIDA; BONASSI; ROÇA, 2001) e cujo tratamento é bastante oneroso.

Nos últimos anos tem-se observado um grande aumento na produção de bebidas lácteas elaboradas a partir da mistura de iogurte e soro de leite, entre outros ingredientes. Esse aumento é devido a uma imagem saudável do produto, valor nutritivo, sabor refrescante e, principalmente, baixo custo (LUZ, 2008).

Uma nova tendência que vem se apresentando é a produção de iogurtes, bebidas lácteas e leites fermentados funcionais. No grupo de alimentos funcionais destacam-se os probióticos, produtos que contém microrganismos vivos que quando ingeridos em uma concentração suficiente atuam trazendo uma série de benefícios ao organismo. Os microrganismos probióticos além de efeitos terapêuticos são responsáveis por melhorar características tecnológicas do produto final, como sabor e textura. Possuem ainda a vantagem de promover uma acidificação reduzida durante armazenagem pós-processamento (GOMES; MALCATA, 1999).

Juntamente com a nova tendência de produtos benéficos à saúde, o café vem sendo considerado um prebióticos devido aos polifenóis que fazem parte de sua constituição, além de ser um produto de elevado consumo em todo o mundo e de importância para a economia brasileira é indiscutível (MONTEIRO et al., 2005). Além da relevância econômica, o café possui diversos benefícios à saúde humana, podendo-se destacar a ação antioxidante, prevenção de alguns tipos de câncer, auxílio em dietas de emagrecimento, estímulo ao aprendizado, dentre outros (SANTOS, 2011).

Diante desse quadro, este trabalho teve como objetivos a elaboração de uma bebida láctea fermentada funcional com substituição parcial de leite por soro lácteo, proveniente da fabricação de queijo minas frescal, fermentada a partir de microrganismos probióticos e com utilização de café solúvel como nova opção de sabor; e avaliar a influência desses fatores na qualidade química, física, físico-química, sensorial e microbiológica do novo produto.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver e caracterizar um produto com potencial propriedade probiótica com utilização de soro proveniente da fabricação de queijo minas frescal.

2.2 Objetivos específicos

- a) Elaborar formulações do produto a partir de diferentes combinações de concentrações de soro, açúcar e café solúvel.
- b) Avaliar características físicas, químicas, físico-químicas e sensoriais das formulações.
- c) Determinar a melhor formulação a partir de análises físicas, químicas, físico-químicas e da aceitação sensorial.
- d) Determinar a viabilidade dos microrganismos probióticos (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*) na melhor formulação durante os 28 dias de armazenamento.
- e) Determinar características químicas, físico-químicas e reológicas da melhor formulação ao longo dos 28 dias de armazenamento.
- f) Avaliar características sensoriais de impressão global ao longo do armazenamento por meio de teste de aceitação com consumidores.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Soro lácteo e seu aproveitamento pela indústria de alimentos

São constantes os esforços para o aproveitamento de resíduos agroindustriais em todo mundo. O soro de leite, neste contexto, tem sido há tempos motivo de vários estudos, tanto pela sua abundância de produção como por sua elevada capacidade poluente e características nutricionais (SILVA; HERNAN-GOMES, 2000).

A produção de soro de leite aumentou acentuadamente nas últimas décadas, juntamente com a produção de queijo (DERMIKI et al., 2008), sendo estimada na ordem dos 160 milhões de toneladas por ano (MAGALHÃES et al., 2010).

O soro de leite, quando considerado resíduo líquido industrial e despejado junto aos demais resíduos das indústrias de laticínios pode significar duplicação do sistema de tratamento, pois possui elevada demanda biológica de oxigênio (DBO) (GIROTO; PAWLOWSKY, 2001). Em razão disso, vários trabalhos foram desenvolvidos em diversos países, visando criar alternativas para a utilização do lactossoro, evitando que o mesmo funcione como agente de poluição ambiental (ALMEIDA; BONASSI; ROÇA, 2001).

O soro de leite é obtido através do processamento de queijo, no qual a caseína é insolubilizada no seu ponto isoelétrico pela ação da renina, sendo o líquido remanescente chamado de soro doce, cujo pH varia entre 6,3 e 6,6. Pode também ser obtido por precipitação ácida, com pH entre 4,3 e 4,6, sendo chamado de soro ácido (GIRALDO-ZUÑICA et al., 2004; PELEGRINE; CARRASQUEIRA, 2008). A tabela a seguir (Tabela 1) apresenta a composição nutricional média do soro doce e ácido.

Tabela 1 Composição nutricional do soro doce e ácido

Componente (%)	Soro doce	Soro ácido
Proteína	0,8	0,7
Lactose	4,9	4,4
Minerais	0,5	0,8
Gordura	0,2	0,04
Água	93	93,5

Fonte: Ordóñez (2005)

O componente mais valorizado do soro pelas indústrias alimentícias, em virtude de suas importantes propriedades funcionais, é a proteína. Dentre essas propriedades destacam-se a solubilidade, ligação e absorção de água, viscosidade, gelificação, elasticidade, emulsificação e formação de espuma (ABREU, 1999). As proteínas possuem alto valor nutricional, pois contêm todos os aminoácidos essenciais, e a lactose por ser fonte de material energético para diversos processos biotecnológicos, assim como utilizada na indústria farmacêutica e alimentícia (GIROTO; PAWLOWSKY, 2001).

As propriedades funcionais dos produtos de soro são de grande importância para os fabricantes de produtos lácteos fermentados com características probióticas ou nutracêuticas (THAMER; PENNA, 2006).

Importantes estudos têm sido desenvolvidos em todo o mundo, de maneira a utilizar o soro lácteo para a produção de concentrados proteicos de soro, soro em pó, lactose, ácido láctico, pasta de soro, dentre outros produtos; entretanto, a fabricação desses produtos não é uma opção economicamente viável para laticínios de menor porte (MEENA et al., 2012).

A utilização do soro pela indústria de alimentos vem sendo estudada para que essa matéria-prima possa ser utilizada no desenvolvimento de novos produtos como alternativa racional de aproveitamento de um resíduo, seja como simples substituto parcial do leite, seja como ingrediente de funcionalidade reológica e/ou nutricional para alimentação humana (CASTRO et al., 2009; CHIAPPINI; FRANCO; OLIVEIRA, 1995).

Em estudo com bebidas lácteas fermentadas e preparadas com diferentes proporções de soro lácteo e leite, Almeida, Bonassi e Rossi (2001) verificaram diferenças entre os tratamentos em relação a algumas características como gordura, extrato seco e teor proteico. Além disso, o teor de sólidos influenciou a viscosidade das bebidas, isto é, quanto menor o teor de soro, maior a viscosidade.

Para os laticínios, a conversão do soro líquido em bebidas, fermentadas ou não, é uma das mais atrativas opções para a utilização do soro para consumo humano, devido à simplicidade do processo, utilização de equipamentos de beneficiamento do leite, além das excelentes propriedades funcionais da proteína do soro (GANDHI; PATEL, 1994). Além disso, bebidas lácteas de forma geral atuam no fornecimento de energia e água para a digestão, regulam a temperatura corporal, previnem a desidratação, “matam” a sede e aliviam tensões psicológicas (MEENA et al., 2012).

3.2 Bebidas lácteas

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

A bebida láctea fermentada é o produto lácteo resultante da mistura do leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em

pó, integral, semidesnatado, ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado e em pó) fermentado mediante ação de microrganismos específicos e/ou adicionado de leite (s) fermentado (s) e que não poderá ser submetido a tratamento térmico após fermentação. A contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10^6 UFC/g, no produto final, para o (s) cultivo (s) láctico (s) específico (s) empregado (s), durante todo o prazo de validade (BRASIL, 2005).

A tecnologia de fabricação de bebidas lácteas, segundo Sivieri e Oliveira (2002), baseia-se na mistura de leite ou iogurte e soro em proporções adequadas, seguida da adição cultura láctica e de outros ingredientes como aromatizantes, corantes, edulcorantes, polpa de frutas e outros, de acordo com formulação do produtor (GALLARDO-ESCAMILLA; KELLY; DELAHUNTY, 2007; SIVIERI; OLIVEIRA, 2002).

A forte demanda por produtos de qualidade justifica o desenvolvimento de novas bebidas lácteas e de acordo com pesquisas de Tamine e Robinson (1991) apontou-se, nos últimos, a tendência do consumo de bebidas lácteas de maneira notável, caracterizadas por apresentar baixa viscosidade e consumidas como bebidas suaves e refrescantes. Bebidas baseadas em frutas e derivados de leite têm recebido atenção considerável devido ao potencial de crescimento de seu mercado, pois além de sensorialmente agradáveis, essas bebidas possuem valor nutritivo elevado (ZULUETA et al., 2007). Todavia, é notável também a pesquisa com a utilização de outros ingredientes para o desenvolvimento de produtos na indústria de laticínios, a fim de agregar funcionalidade ao produto. Silveira (2006) desenvolveu uma bebida à base de flocos de abóbora com inulina. Santos et al. (2006) desenvolveram uma bebida láctea fermentada à base de soro lácteo proveniente da fabricação de queijo mussarela e polpa de umbu, com formulações cuja concentração de soro variou entre 20 e 80%. Já Kopper (2009), elaborou uma bebida fermentada probiótica de soja, avaliando a adição

de farinha de bocaiúva em diferentes concentrações de extrato hidrossolúvel de soja. Meena et al. (2012) desenvolveram formulações de bebida láctea de limão utilizando um *blend* de aspartame e sacarina como edulcorantes.

A procura do consumidor brasileiro por produtos mais saudáveis, inovadores, seguros e de prática utilização, aliada à imagem de saúde associada aos produtos lácteos conduziu a um crescimento da indústria de bebidas lácteas e a um aumento no consumo desse tipo de produto, fazendo com que o mesmo ganhasse popularidade (ACHANTA; ARYANA; BOENEKE, 2007; LIMA; MADUREIRA; PENNA, 2002).

No Brasil, segundo Capitani et al. (2005), a produção de bebidas lácteas é uma das principais opções para o aproveitamento de soro de leite. Dentre as mais comercializadas destacam-se as bebidas fermentadas, com características sensoriais semelhantes ao iogurte, e as bebidas lácteas não fermentadas.

3.3 Alimentos funcionais: probióticos

Alimentos funcionais são definidos como qualquer substância ou componente de um alimento que proporciona benefícios para a saúde, inclusive a prevenção e o tratamento de doenças. Esses produtos podem variar de nutrientes isolados, produtos de biotecnologia, suplementos dietéticos, alimentos geneticamente construídos, até alimentos processados e derivados de plantas (POLLONIO, 2000). Esses produtos partem de uma nova concepção de alimentos lançada pelo Japão na década de 80, através de um programa de governo que tinha como objetivo desenvolver alimentos saudáveis para uma população que envelhecia e apresentava uma grande expectativa de vida (ANJO, 2004).

Nos últimos anos, devido à grande preocupação dos consumidores com relação à saúde e a forma física, a indústria de alimentos funcionais tem

impulsionado pesquisadores a desenvolverem novos estudos com processos tecnológicos mais eficazes e com maior diversidade de produtos, como adição de probióticos e prebióticos em alimentos, tornando o mercado desse tipo de produtos crescente e lucrativo (ARVANITOYANNIS; VAN HOUWELINGEN-KOUKALIAROGLOU, 2005; BETORET et al., 2003; GRANATO et al., 2010).

A legislação brasileira não define alimento funcional, mas define alegação de propriedade funcional e alegação de propriedade de saúde, estabelecendo as diretrizes para a sua utilização, bem como condições de registro para os alimentos com alegação de propriedade funcional e/ou de saúde (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA, 2008a). O alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais e/ou de saúde pode além de funções básicas, quando se tratar de nutriente, produzirem efeitos metabólicos e/ou fisiológicos, e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para o consumo sem a supervisão médica. Para apresentarem alegações de propriedade funcional e/ou de saúde, tanto alimentos como substâncias bioativas e probióticos isolados devem ser obrigatoriamente, registradas junto ao órgão competente. O conteúdo da propaganda desses produtos não pode ser diferente em seu significado, daquele aprovado para a rotulagem. As alegações devem ainda estar em consonância com as diretrizes da política pública de saúde (ANVISA, 2008a).

Entre os alimentos com alegação de propriedades benéficas à saúde amplamente divulgados nos meios de comunicação nos últimos anos e que apresentam estudos para sua utilização tecnológica e industrial, destacam-se aqueles que contêm cepas de microrganismos probióticos (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001).

O termo probiótico foi inicialmente proposto por Lilly e Stillwell em 1965 que definiram como “substâncias secretadas por um microorganismo para estimular o crescimento de outro” (ANTUNES et al., 2007). Em 1989, Fuller

considerou que probióticos são suplementos alimentares que contêm bactérias vivas que produzem efeitos benéficos no hospedeiro, favorecendo o equilíbrio de sua microbiota intestinal. Havenaar e Huis In't Veld, em 1992, consideraram que probióticos são culturas únicas ou mistas de microrganismos que administrados a animais ou humanos produzem efeitos benéficos no hospedeiro por incremento das propriedades da microbiota nativa (COPPOLA; TURNES, 2004).

Atualmente a definição mais aceita internacionalmente é a da “*Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization*” que define probióticos como microrganismos vivos administrados em quantidades suficientes para conferir benefícios à saúde do hospedeiro (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/WORLD HEALTH ORGANIZATION - FAO/WHO, 2001).

Do ponto de vista tecnológico, os microrganismos probióticos devem possibilitar sua produção em larga escala; resistir ao processamento (FERREIRA; TESHIMA, 2000; PRADO et al., 2008); manter a acidez estável, apresentar sabores e/ou aromas adequados, bem como textura agradável, após fermentação, além de manter uma contagem de células viáveis durante toda a vida útil do produto (LEE; SALMINEN, 1995; MATTILA-SANDHOLM et al., 2002; PRADO et al., 2008; PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2002).

Aplicações de alimentos como probióticos são encontradas principalmente em produtos lácteos, iogurtes, kefir e bebidas cultivadas. O desenvolvimento científico desse tipo de produto mostrou sua elevada aceitação sensorial (ALMEIDA et al., 2008; ZOELLNER et al., 2009). Aplicações alimentares emergentes incluem queijos, creme de leite, barras de cereais, fórmulas infantis, sorvetes e muitos outros (CRUZ et al., 2009; GRANATO et al., 2010; SINGH et al., 2011).

Probióticos podem ser bactérias, fungos ou leveduras, porém a maioria são bactérias. Entre as bactérias, as produtoras de ácido láctico são as mais conhecidas na lista de espécies usadas em preparações probióticas (SINGH et al., 2011). Os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são os mais utilizados como probióticos, sendo as espécies mais frequentemente empregadas na produção de derivados lácteos o *L. acidophilus*, *L. casei* (LEE; SALMINEN, 1995), *L. rhamnosus* (FERREIRA; TESHIMA, 2000), *B. bifidum*, *B. longum* (FÁVARO-TRINDADE; GROSSO, 2003), *B. animalis subsp. lactis* e *B. breve* (MASCO et al., 2005), sugerindo-se ainda a utilização de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e *Bifidobacterium* BB-12 nesses tipos de produtos (CHR HANSEN, 2004 apud CASTRO, 2007).

Os produtos lácteos constituem, sem dúvida, o principal veículo para suplementação com microrganismos probióticos. Em função disso têm sido relatados os benefícios à saúde que o consumo de iogurtes, bebidas lácteas, queijos e sorvetes contendo probióticos podem trazer as pessoas que ingerem esse tipo de produto. Além disso, outras matrizes de alimentos também vêm sendo utilizadas como veículo de probióticos, tais como sucos de frutas e de vegetais e outros produtos de natureza não láctea (GRANATO et al., 2010; ZARE et al., 2012).

A manutenção da funcionalidade de probióticos em uma matriz láctea relaciona-se com a existência de barreiras intrínsecas no processamento. Devido à limitada atividade proteolítica de bactérias probióticas sobre a caseína do leite, recomenda-se a utilização de fontes adicionais de nutrientes para a fermentação ou mesmo de outras culturas fermentativas (culturas *starter*), como as utilizadas na fabricação de iogurtes, o que também contribui para redução do tempo de fermentação (DOLEYRES; LACROIX, 2005; GRANATO et al., 2010; KLAVER, KINGMAN; WEERKAMP, 1993; ZARE et al., 2012). O *Lactobacillus bulgaricus*, uma das bactérias geralmente empregadas na produção

de leites fermentados, entretanto, interfere na viabilidade de bactérias probióticas por promover a pós-acidificação do produto durante o armazenamento refrigerado devido à produção de ácido láctico, podendo dessa forma afetar a viabilidade das bactérias probióticas. De modo a corrigir esse problema, a tendência é utilizar fermentos conhecidos como ABT, que contém *S. thermophilus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium sp.*, sendo capazes de manter a viabilidade celular durante o armazenamento do produto (DAVE; SHAH, 1998; OLIVEIRA et al., 2001; VINDEROLA et al., 2002).

Gonçalves e Eberle (2008) desenvolveram formulações de *frozen yogurt* e avaliaram os efeitos da utilização de gordura vegetal hidrogenada e creme de leite nas características sensoriais do produto, além da viabilidade de bifidobactérias na melhor formulação escolhida sensorialmente. Com o objetivo de verificar a sobrevivência de *L. acidophilus* em iogurte, Ng, Yeung e Tong (2011) desenvolveram formulações de iogurtes com cinco diferentes cepas de *L. acidophilus* fermentados a partir de diferentes combinações de culturas *starter*. Para não inferir sobre a contribuição da cultura *starter* na acidificação do meio utilizou-se também um acidulante. El-Salam et al. (2011), objetivando alcançar um espectro mais amplo de propriedades de saúde, desenvolveram um iogurte enriquecido com ácido linoleico conjugado e concentrado de microrganismos probióticos (*Lactobacillus casei* e *Lactobacillus acidophilus*), avaliando a qualidade do produto obtido durante o armazenamento refrigerado. Zare et al. (2012) em estudo conduzido com bactérias probióticas e bactérias do iogurte como cultura *starter* avaliou o efeito da suplementação do leite com ervilha, grão de bico, soja e lentilha na atividade acidificante desses microrganismos no produto. El-Dieb et al. (2012), avaliaram o crescimento de *B. bifidum* e de *L. casei* quando utilizados junto com culturas do iogurte de alta, média e baixa produção de ácido durante a fermentação de bioiogurte.

3.4 Café

O café é uma das bebidas mais consumidas no Brasil e no mundo e, representa para o país, parcela importante do mercado de exportações, além de estar fortemente presente e inserido no hábito alimentar dos brasileiros. Trata-se de um produto apreciado por seu aroma e sabor, tendo importante papel na sociedade com um todo (GRAMBECKA; MALINOWSKA; SZEFER, 2007; MURIEL; ARAUZ, 2010; OLIVEIRA et al., 2012).

O café fruto do cafeeiro pertence à família botânica *Rubiaceae*, que contém cerca de 500 gêneros e mais de 6000 espécies, sendo duas mais importantes economicamente: *Coffea arábica* (café arábica) e *Coffea canephora* (café robusta) (ABRAHÃO, 2007).

O café arábica é o mais cultivado e comercializado mundialmente. Por ser considerado um produto de qualidade superior e de grande aceitação em todos os mercados consumidores possui preços mais elevados. O café robusta, por sua vez, possui um trato mais rude, maior resistência a pragas e menor custo de produção, sendo por isso menos valorizado no mercado (CUNHA, 2008). A bebida do café em geral é preparada a partir de grãos de café arábica ou a partir de *blends* com grãos de café robusta. O café encontra-se disponível para os consumidores na forma de grãos torrados e moídos e em pó solúvel/instantâneo (GEEL; KINNEAR; KOCK, 2005; OLIVEIRA et al., 2012).

O sabor característico do café como bebida é proveniente do grão, estando diretamente relacionado com as variedades e influenciado por tratamentos agrícolas, processos de secagem, fermentação, torrefação, moagem e envase (CAIXETA, 1999). Os compostos químicos dos grãos são reflexos de uma série de atributos que, somados, conferem ao café sabor e aroma peculiares (MALTA; NOGUEIRA; GUIMARÃES, 2003). Pode-se dizer ainda, que o sabor da bebida

é o critério mais importante para avaliação da qualidade do café e está fortemente relacionado à preferência do consumidor (FARAH et al., 2006).

Atualmente, o consumo de café tem sido incentivado por especialistas da área de saúde, uma vez que em razão de sua composição química, algumas vantagens para saúde humana tem lhe sido atribuídas (ABRAHÃO et al., 2008; ARRUDA et al., 2009). A bebida é rica em substâncias bioativas, como o ácido nicotínico, trigonelina, ácido tânico, ácido pirogálico e especialmente cafeína. Apresenta ainda minerais dietéticos, podendo fornecer até 8% da ingestão diária recomendada de cromo (HECIMOVIC et al., 2011). Entre os compostos fenólicos antioxidantes destacam-se os ácidos fenólicos (cafeico, clorogênico, cumárico, entre outros), que contribuem significativamente para a ingestão total de polifenóis (MANACH et al., 2004). O café é a principal fonte de ácidos clorogênicos da dieta humana, além desses ácidos serem importantes na formação de pigmentos, sabor e aroma da bebida (DAGLIA et al., 2000; YEN et al., 2005).

Estudos de Almeida et al. (2003 apud ARRUDA et al., 2009), concluíram que o consumo de café e cafeína não deve ser considerado um fator de risco para doenças cardiovasculares, câncer de bexiga, de pâncreas e de intestino. De acordo com a pesquisa, o café atua como agente redutor de risco de alguns tipos de câncer devido às substâncias antioxidantes, anticarcinogênicas e antiteratogênicas, naturalmente presentes no café ou formadas durante seu processamento.

O café solúvel é produzido com a extração dos sólidos solúveis e de voláteis através dos processos de torrefação e moagem com água dos grãos de café seco. O processo de torrefação é responsável pelo desenvolvimento do aroma e sabor característicos do café. A moagem é necessária para que os sólidos solúveis e as substâncias voláteis responsáveis pelo aroma e sabor sejam adequadamente extraídos. Um extrato com concentração de sólidos solúveis de

25% (p/p) é obtido e posteriormente concentrado usando evaporação ou congelamento e então secos por *spray drying* ou *freeze drying*, respectivamente (ALVES; BORDIN, 1998). Na produção de café solúvel, tem-se uma preferência pelo café robusta, pois além do atrativo econômico, o rendimento da extração de sólidos solúveis no processo de fabricação é superior ao obtido com o café arábica (OLIVEIRA et al., 2012).

A indústria de café solúvel nacional veio modificar a prática do mercado internacional, principalmente da produção americana, que utilizava café robusta na sua fabricação, com sabor e aroma inferiores. Ao solúvel brasileiro passa, então, a ser misturado café robusta para melhorar a solubilidade do produto feito à base de café arábica (ORMOND; PAULA; FAVERET FILHO, 1999).

No processo de produção do café solúvel os grãos torrados são submetidos à extração sob pressão em altas temperaturas (180 °C), promovendo um enriquecimento de sólidos solúveis em relação à matéria-prima. O extrato é então desidratado em vaporizadores ou liofilizadores, originando o café solúvel em pó ou granulado. A composição desse material solúvel, no entanto, dependerá, além de condições do processamento, das espécies e variedades utilizadas nos “*blends*” (NOGUEIRA; TRUGO, 2003).

A conquista de novos espaços e produtos à base de café deve-se muito à popularização do *capuccino* e ao surgimento do café expresso, bem como a uma série de outros produtos à base de café que têm sido lançados ou encontram-se disponíveis no mercado (ORMOND; PAULA; FAVERET FILHO, 1999).

3.5 Avaliação sensorial

A análise sensorial é definida pela Associação Brasileira de Normas e Técnicas – ABNT (1993) como disciplina científica usada para evocar, medir,

analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição.

Como a própria definição implica, a análise sensorial envolve a medida e a avaliação de propriedades sensoriais de alimentos e outros materiais. Além de envolver também a análise e interpretação dos dados pelo profissional da área (STONE; SIDEL, 2004).

De acordo com Minim (2010), a análise sensorial é utilizada para medir, analisar e interpretar reações às características dos produtos da forma como são percebidos pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição, possuindo ampla aplicação nas indústrias. É uma ciência que objetiva, principalmente, estudar as percepções, sensações e reações do consumidor sobre as características dos produtos, incluindo sua aceitação e rejeição.

A qualidade sensorial de um alimento não é uma característica própria deste, mas sim o resultado da interação entre ele e o homem. É função tanto dos estímulos procedentes dos alimentos como também das condições fisiológicas e sociológicas dos indivíduos que o avaliam, no contexto ambiental em que se localiza esse indivíduo e o próprio produto. Por meio da análise sensorial, as características ou propriedades de interesse relativas à qualidade sensorial do alimento são identificadas e adequadamente estudadas, com base em metodologias sensoriais de coleta de dados e em métodos estatísticos de avaliação e interpretação dos resultados do estudo sensorial desse alimento (DELLA LÚCIA; MINIM; CARNEIRO, 2006).

Cada etapa no processo de percepção sensorial deve ser considerada, e a mesma está intimamente relacionada aos sentidos humanos (paladar visão, tato, etc.) (PIGGOTT, 2000). Três etapas principais compõem o processo. O estímulo atinge o órgão dos sentidos e é convertido em um sinal nervoso que chega ao cérebro. Com experiências anteriores na memória, o cérebro interpreta, organiza e integra as sensações recebidas em percepções. Por fim, uma resposta é

formulada com base em percepções do indivíduo (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2006).

A avaliação sensorial pode utilizar de métodos discriminativos, descritivos e afetivos, de acordo com o seu objetivo. Os métodos discriminativos são de fácil interpretação, requerem pouco tempo e estabelecem a diferença quantitativa e/ou qualitativa entre as amostras. A análise descritiva caracteriza e descreve propriedades sensoriais do produto avaliado, empregando para tanto uma linguagem técnica e uma equipe de provadores treinados. Os métodos afetivos por sua vez, expressam a opinião (aceitação ou preferência) do consumidor em relação ao produto (DELLA LÚCIA; MINIM; CARNEIRO, 2010).

Em trabalho com o desenvolvimento de uma bebida à base de soro contendo *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*, Maity, Kumar e Misra (2008) realizaram teste de aceitação com consumidores durante o armazenamento do produto, utilizando escala hedônica estruturada de 9 pontos, tendo a bebida ao final dos 15 dias de armazenamento uma baixa aceitação pelos consumidores devido ao gosto azedo desenvolvido.

Felberg et al. (2010) avaliaram sensorialmente, por meio de teste de aceitação com consumidores, diferentes formulações de uma nova bebida fabricada a partir de “leite de soja” e café solúvel, utilizando escala hedônica estruturada de 9 pontos. A aceitação foi maior pelas formulações que apresentavam menores concentrações de café e maiores concentrações de açúcar, apesar de que um pequeno grupo de consumidores demonstrou preferência pelo produto com características opostas, ou seja, com maiores concentrações de café. Tal resultado pode ser verificado através da utilização de análise multivariada dos dados, já que as respostas dos consumidores em geral são bastante heterogêneas.

Cruz et al. (2011) em estudo com iogurte probiótico adicionado de glicose oxidase realizaram um teste de aceitação com potenciais consumidores do produto avaliando o grau de aceitação, por meio de uma escala hedônica estruturada de 9 pontos, em relação aos atributos aparência, aroma, sabor, textura e impressão global de todos os produtos no 15º dia de armazenamento refrigerado, tendo as médias de aceitação variado entre os termos hedônicos “não gostou nem desgostou” e “gostou moderadamente”.

Para análise dos resultados obtidos de testes de aceitação ou preferência é importante levar em consideração a variabilidade dos dados. Isso pode ser feito utilizando-se metodologia de Mapa de Preferência, na qual os parâmetros avaliados são identificados como dimensões que ocupam posições ortogonais em uma representação gráfica. Aliada à análise de variância e teste de médias, essa metodologia pode contemplar a análise de aceitação, explicando melhor preferências dos consumidores (CARDELLO; FARIA, 2000).

Em se tratando de produtos lácteos probióticos, o número de células viáveis desses microrganismos para conferir ao produto propriedades benéficas à saúde, não é o único ou o ponto mais importante a ser observado; sua aceitação sensorial pelos consumidores também é de extrema importância (GRANATO et al., 2010). Dessa maneira, a avaliação sensorial deve ser realizada ao longo do processo de desenvolvimento do produto, de modo a prevenir eventuais problemas durante sua comercialização (GRANATO et al., 2010). Além disso, o sucesso da avaliação sensorial de produtos probióticos depende da metodologia aplicada e da inclusão de produtos similares de natureza não probiótica no teste para obter bons resultados e também para analisar pontos positivos e negativos do produto (CRUZ et al., 2010).

Vários estudos vêm demonstrando a aplicabilidade e importância dos testes de preferência e/ou aceitação na avaliação sensorial de alimentos, em especial no que se trata de produtos lácteos com utilização de soro ou

fermentados com probióticos, como Gonçalves e Eberle (2008), Legarová e Kourimská (2010), Rocha et al. (2004), Santos et al. (2006) e Santos et al. (2008). Além disso, testes de aceitação também podem ser utilizados para estudar a estabilidade das características sensoriais durante o período de estocagem, como realizado por Kempka et al. (2008).

Muito utilizada em estudos clínicos, epidemiológicos, biológicos e de conformidade de produtos, a análise de sobrevivência (*survival analysis*) também pode ser aplicada na estimativa da vida de prateleira de diferentes produtos processados (GAMBARRO; ARES; GIMENEZ, 2006; VARELA; SALVADOR; FISZMAN, 2005), mostrando ser uma ferramenta adequada para determinar a vida de prateleira de iogurtes probióticos por meio de um teste sensorial no qual consumidores expressam sua rejeição ou aceitação em relação a um determinado produto com diferentes tempos de armazenamento (CRUZ et al., 2010).

3.6 Reologia

A reologia é definida como a ciência que estuda as propriedades mecânicas da matéria, como a deformação e o escoamento (ou fluxo), quando esta é submetida às forças externas, denominadas tensão ou deformação (SCHRAMM, 2006; TONELI; MURR; PARK, 2005). Diversos campos de estudo e também indústrias utilizam a reologia como ferramenta para monitorar a qualidade de processos e produtos (MATHIAS, 2011).

Dentre as propriedades reológicas, as curvas de escoamento são as mais importantes no controle de qualidade, no desenvolvimento de novos produtos, na aceitabilidade por parte do consumidor, bem como em uma melhor compreensão do comportamento estrutural dos produtos (LANDIM, 2011).

O conhecimento do comportamento reológico de alimentos, como produtos lácteos fermentados, é de grande importância, pois além de caracterizar o produto quanto à funcionalidade, auxilia no controle da qualidade e da validade do produto e correlaciona os resultados obtidos com a percepção sensorial (CIRON et al., 2012; DEBON, 2009).

A textura dos alimentos é resultado de estruturas químicas e/ou físicas formadas, com influências biológicas ou não, pelos seus componentes individuais durante o processamento ou armazenamento (ZHONG; DAUBERT, 2007). Tais estruturas são percebidas pelos consumidores durante o consumo e até mesmo em seu metabolismo, estreitando a relação entre reologia e análise sensorial de alimentos (FISCHER; WINDHAB, 2011). A relação entre estrutura e percepção sensorial em iogurtes tem sido amplamente pesquisada, a fim de se obter uma compreensão maior de como o processamento, a composição e outros fatores influenciam na textura do produto (CIRON et al., 2012)

Gomes e Penna (2009) avaliaram as características reológicas e sensoriais de bebidas lácteas funcionais, elaboradas com diferentes proporções das variáveis soro lácteo, leite e isolado proteico de soja. Segundo o estudo, as variáveis leite em pó e isolado proteico de soja e a interação entre soro e leite em pó tiveram efeito positivo no atributo consistência sensorial.

Em estudo cujo objetivo foi a elaboração de um achocolatado com diferentes concentrações de extrato hidrossolúvel de soja (EHS) e/ou soro lácteo, Moreira et al. (2010) verificaram a aceitação sensorial das formulações e o comportamento reológico das mesmas, concluindo que a adição máxima de soro possibilitou menores índices de consistência e pseudoplasticidade com elevada aceitação sensorial de sabor e consistência.

Marafon et al. (2011) estudando as propriedades reológicas de iogurtes probióticos verificaram que a suplementação dos iogurtes com concentrado proteico de soro, caseinato ou leite em pó desnatado, nas mesmas concentrações,

afetaram a acidez, a viabilidade de probióticos e as propriedades reológicas do produto.

REFERÊNCIAS

- ABRAHÃO, S. A. et al. Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 12, p. 1799–1804, dez. 2008.
- ABRAHÃO, S. A. **Qualidade da bebida e a atividade antioxidante do café *in vivo* e *in vitro***. 2007. 81 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- ABREU, L. R. **Tecnologia de leite e derivados**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 205 p.
- ACHANTA, K.; ARYANA, K. J.; BOENEKE, C. A. Fat free plain set yogurts fortified with various minerals. **Food Science and Technology**, London, v. 40, p. 424 – 429, 2007.
- ALMEIDA, A. A. P. et al. Café e saúde: três décadas de estudos. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, n. 7, p. 56-63, 2003. Edição especial.
- ALMEIDA, K. E.; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas com soro de queijo minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 187–192, maio/ago. 2001.
- ALMEIDA, M. H. B. et al. Pottencialy probiotic açáí yoghurt. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 6, p. 178–182, 2008.
- ALVES, R. M. V.; BORDIN, M. R. Estimativa da vida útil de café solúvel por modelo matemático. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.18, n. 1, p. 19–24, jan./abr. 1998.
- ANJO, D. L. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004.
- ANTUNES, A. E. C. et al. Probioticos: agentes promotores de saude. **Nutrire**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 103-122, 2007.

ARRUDA, A. C. et al. Justificativas e motivações do consumo e não consumo de café. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 4, p. 754–763, out./dez. 2009.

ARVANITOYANNIS, I. S.; VAN HOUWELINGEN-KOUKALIAROGLOU, M. Functional foods: a survey of health claims, pros and cons, and current legislation. **Food Science Nutrition**, London, v. 45, p. 385-404, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 12806. **Análise sensorial dos alimentos e bebidas: terminologias**. Rio de Janeiro, 1993. 8 p.

BETORET, N. et al. Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 56, p. 273-277, 2003.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos: lista de alegações de propriedade funcional aprovadas**. 2008a. Disponível em: < http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm >. Acesso em: 16 jan. 2012.

CAIXETA, G. Z. T. Economia cafeeira, mercado de café, tendências e perspectivas. In: ENCONTRO SOBRE PRODUÇÃO DE CAFÉ COM QUALIDADE, 1., 1999, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 1999. p. 3-21.

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

CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise da aceitação de aguardentes de cana por testes afetivos e mapa de preferência interno. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 32–36, 2000.

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

CASTRO, F. P. **Influência de diferentes proporções de soro de queijo e oligofrutose sobre as propriedades de bebidas lácteas fermentadas simbióticas**. 2007. 126 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

CHIAPPINI, C. C. J.; FRANCO, R. M.; OLIVEIRA, L. A. T. Avaliação do soro de queijo quanto aos coliformes totais e coliformes fecais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 50, p. 253-257, 1995.

CHR HANSEN. **The probiotic effects of LA - 5® and BB - 12®**. Horsholm, 2004.

CIRON, C. I. E. et al. Modifying the microstructure of low-fat yoghurt by microfluidisation of milk at different pressures to enhance rheological and sensory properties. **Food Chemistry**, Oxford, v. 130, p. 510–519, 2012.

COPPOLA, M. M.; TURNES, C. Probioticos e resposta imune. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1297-1303, 2004.

CRUZ, A. G. et al. Consumer acceptability and purchase intent of probiotic yoghurt with added glucose oxidase using sensometrics, artificial neural networks and logistic regression. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 64, n. 4, p.549 - 556, Nov. 2011.

CRUZ, A. G. et al. Ice cream as probiotic food carrier. **Food Research International**, Barking, v. 42, p. 1233–1239, 2009.

CRUZ, A. G. et al. Sensory Analysis: Relevance for Prebiotic, Probiotic and Synbiotic Product Development. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 9, p. 358–373, 2010.

CRUZ, A. G. et al. Survival analysis methodology to predict the shelf-life of probiotic flavored yogurt. **Food Research International**, Barking, v. 43, p. 1444–1448, 2010.

CUNHA, D. A. **Integração de preços no mercado internacional de café.** 2008. 105 f. Dissertação (Mestrado em Economia Aplicada) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.

DAGLIA, M. et al. In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, p. 1449–1454, 2000.

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

DELLA LÚCIA, S. M.; MININ, V. P. R.; CARNEIRO, J. D. S. Análise sensorial de alimentos. In: MININ, V. P. R. **Análise sensorial de alimentos.** Viçosa, MG: UFV, 2010. p. 13–49.

DELLA LÚCIA, S. M.; MININ, V. P. R.; CARNEIRO, J. D. S. Análise sensorial de alimentos. In: MININ, V. P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores.** Viçosa, MG: UFV, 2006. p. 85–109.

DERMIKI, M. et al. Shelf-life extension and quality attributes of the whey cheese “Myzithra Kalathaki” using modified atmosphere packaging. **Food Science and Technology**, London, v. 41, p. 284–294, 2008.

DOLEYRES, Y.; LACROIX, C. Technologies with free and immobilised cells for probiotic bifidobacteria production and protection. **International Dairy Journal**, Barking, v. 15, p. 973–988, 2005.

EL-DIEB, S. M. et al. The growth behaviour and enhancement of probiotic viability in bioyoghurt. **International Dairy Journal**, Barking, v. 22, n.1, p. 44–47, Jan. 2012.

EL-SALAM, M. H. A. et al. Preparation and properties of probiotic concentrated yogurt (labneh) fortified with conjugated linoleic acid. **Internacional Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 46, n. 10, p. 2103–2110, Oct. 2011.

FARAH, A. et al. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. **Food Chemistry**, London, v. 98, p. 373–380, 2006.

- FÁVARO-TRINDADE, C. S.; GROSSO, C. R. F. Encapsulação de culturas probióticas. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 37, p. 88-93, 2003. Suppl.
- FELBERG, I. et al. Formulation of a soy-coffee beverage by response surface methodology and internal preference mapping. **Journal of Sensory Studies**, Westport, v. 25, p. 226–242, 2010.
- FERREIRA, C. L. L. F.; TESHIMA, E. Prebióticos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n. 16, p. 22-25, 2000.
- FISCHER, P.; WINDHAB, E. J. Rheology of food materials. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, Madison, v. 16, p. 36–40, 2011.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS / WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Córdoba, 2001. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf>. Acesso em: 2 jan. 2012.
- GALLARDO-ESCAMILLA, F. J.; KELLY, A. L.; ELAHUNTY, C. M. Mouthfeel and flavour of fermented whey with added hydrocolloids. **International Dairy Journal**, Barking, v. 17, p. 308–315, 2007.
- GAMBARRO, A.; ARES, G.; GIMENEZ, A. Shelf-life estimation of apple baby food. **Journal of Sensory Studies**, Westport, v. 21, n. 1, p. 101–111, 2006.
- GANDHI, D. N.; PATEL, R. S. Technology and keeping quality of fermented whey concentrate. **Cultured Dairy Products Journal**, Washington, v. 29, n. 1, p. 25-7, 1994.
- GEEL, L.; KINNEAR, M.; KOCK, H. L. Relating consumer preferences to sensory attributes of instant coffee. **Food Quality and Preference**, Barking, v. 16, p. 237–244, 2005.
- GIRALDO-ZUÑICA, A. D. et al. Tecnologias aplicadas ao processamento do soro de queijo. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 340/341, p. 53–66, set./dez. 2004.
- GIROTO, J. M.; PAWLOWSKY, U. O soro de leite e as alternativas para o seu beneficiamento. **Brasil Alimentos**, São Paulo, n. 10, p. 43–46, set./out. 2001.

- GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas. **Boletim de Biotecnologia Alimentar**, São Paulo, n. 64, p. 12-22, 1999.
- GOMES, R. G.; PENNA, A. L. B. Características reológicas e sensoriais de bebidas lácteas funcionais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 629–646, jul./set. 2009.
- GONÇALVES, A. A.; EBERLE, I. R. *Frozen yogurt* com bactérias probióticas. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 3, p. 291–297, jul./set. 2008.
- GRAMBECKA, M.; MALINOWSKA, E.; SZEFER, P. Differentiation of market coffee and its infusions in view of their mineral composition. **Science of the total environment**, Amsterdam, v. 383, p. 59-69, 2007.
- GRANATO, D. et al. Probiotic dairy products as functional foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 9, p. 455–470, 2010.
- HECIMOVIĆ, I. et al. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. **Food Chemistry**, London, v. 129, p. 991–1000, 2011.
- KEMPKA, A. P. et al. Formulação de bebida láctea fermentada sabor pêssego utilizando substratos alternativos e cultura probiótica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, 170–177, dez. 2008. Suppl.
- KLAVER, F. A. M.; KINGMAN, F.; WEERKAMP, A. H. Growth and survival of bifidobacteria in milk. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, Amsterdam, v. 47, p. 151–164, 1993.
- KOPPER, A. C. **Bebida simbiótica elaborada com farinha de Bociáúva (*Acrocomia aculeata*) e *Lactobacillus acidophilus* incorporadas ao extrato hidrossolúvel de soja**. 2009. 79 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.
- LANDIM, L. B. **Desenvolvimento e caracterização de produtos utilizando semente de jaca**. 2011. 99 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2011.

- LEE, Y.; SALMINEN, S. The coming of age of probiotics. **Trends in Food Science and Technology**, London, v. 6, n. 7, p. 241-245, 1995.
- LEGAROVÁ, V.; KOURIMSKÁ, L. Sensory quality evaluation of whey-based beverages. **Mljekarstvo**, Zagreb, v. 60, n. 4, p. 280-287, 2010.
- LIMA, S. M. C. G.; MADUREIRA, F. C. P.; PENNA, A. L. B. Bebidas lácteas: nutritivas e refrescantes. **Milkbizz Tecnologia**, São Paulo, v. 1, n. 3, p. 4-11, 2002.
- LIZIEIRI, R. S.; CAMPOS, O. F. **Soro de queijo “in natura” na alimentação do gado de leite: instrução técnica para o produtor de leite**. Juiz de Fora: EMBRAPA Gado de Leite, 2001.
- LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. C. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, Barking, v. 11, p. 1-17, 2001.
- LUZ, L. M. P. **Avaliação do envase a quente de uma bebida láctea na conservação a temperatura ambiente**. 2008. 53 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.
- MAGALHÃES, K. T. et al. Production of fermented cheese whey-based beverage using kefir grains as starter culture: Evaluation of morphological and microbial variations. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, p. 8843-8850, 2010.
- MAITY, T. K.; KUMAR, R.; MISRA, A. K. Development of healthy whey drink with *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum* and *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*. **Mljekarstvo**, Zagreb, v. 58, n. 4, p. 315-325, 2008.
- MALTA, M. R.; NOGUEIRA, F. D.; GUIMARÃES, P. T. G. Composição química, produção e qualidade do café fertilizado com diferentes fontes e doses de nitrogênio. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 6, p. 1246-1252, 2003.
- MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 79, p. 727-747, 2004.

MARAFON, A. P. et al. Optimization of the rheological properties of probiotic yoghurts supplemented with milk proteins. **Food Science and Technology**, London, v. 44, p. 511–519, 2011.

MASCO, L. et al. Culture-dependent and culture-independent qualitative analysis of probiotic products claimed to contain bifidobacteria. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 102, p. 221- 230, 2005.

MATHIAS, T. R. S. **Desenvolvimento de iogurte sabor café: Avaliação sensorial e reológica**. 2011. 191 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

MATOS, R. A. **Desenvolvimento e mapa de preferência externo de bebida láctea a base de soro e polpa de graviola (*Annona muricata*)**. 2009. 79 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2009.

MATTILA-SANDHOLM, T. et al. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dairy Journal**, Barking, v. 12, p. 173-182, 2002.

MEENA, M. K. et al. Formulation optimisation of whey lemon beverage using a blend of the sweeteners aspartame and saccharin. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 65, n. 1, p. 146–151, Feb. 2012.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 4th ed. Flórida: CRC, 2006.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa, MG: UFV, 2010. p. 308.

MONTEIRO, M. A. et al. Perfil sensorial da bebida café (Coffea arábica) determinado por análise Tempo-Intensidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 772-780, 2005.

MOREIRA, R. W. M. et al. Avaliação sensorial e reológica de uma bebida achocolatada elaborada a partir de extrato hidrossolúvel de soja e soro de queijo. **Acta Scientiarum Technology**, Maringá, v. 32, n. 4, p. 435–438, 2010.

MURIEL, P.; ARAUZ, J. Coffee and liver diseases. **Fitoterapia**, Milano, v. 81, p. 297- 305, 2010.

OLIVEIRA, M. et al. Intra- and interspecific mineral composition variability of commercial instant coffees and coffee substitutes: Contribution to mineral intake. **Food Chemistry**, Oxford, v. 130, p. 702–709, 2012.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos**: alimentos de origem animal. Porto Alegre: Artmed, 2005. v. 2, 279 p.

ORMOND, J. G., PAULA, S. R. L.; FAVERET FILHO, P. Café: (re) conquista dos mercados. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n.10, p. 3–56, set. 1999.

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

PIGGOTT, J. R. Dynamism in flavour science and sensory methodology. **Food Research International**, Barking, v. 33, p. 191-197, 2000.

POLLONIO, M. A. R. Alimentos funcionais: as recentes tendências e os envolvidos no consumo. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, p. 26-31, 2000.

PRADO, F. C. et al. Trends in non-dairy probiotic beverages. **Food Research International**, Barking, v. 41, n. 2, p. 111–123, 2008.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R. et al. Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 13, p. 3-11, 2002.

ROCHA, C. et al. Iogurte de leite de búfala sabor frutos do cerrado. **Boletim do Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 22, n. 1, p. 97–106, 2004.

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**, Campina Grande, 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. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 1, p. 55–60, jan./mar. 2008.

SANTOS, T. R. **Desenvolvimento de iogurte sabor café: avaliação sensorial e reológica**. 2011. 191 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos

Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

SCHRAMM, G. **Reologia e reometria: fundamentos teóricos e práticos**. São Paulo: Artiber, 2006.

SEVERO, L. M. B. **Desenvolvimento de uma bebida láctea a base de soro de leite fermentado**. 1995. 74 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos e Medicamentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 1995.

SILVA, C. A.; HERNAN-GOMEZ, R. C. Qualidade protéica do soro de leite fermentado pela levedura *Kluyveromyces fragilis*. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 515–520, 2000.

SILVEIRA, K. C. **Bebida à base de flocos de abóbora com inulina: características prebióticas e aceitabilidade**. 2006. 66 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

SINGH, K. et al. Probiotics: a review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, Beijing, v. 1, n. 2, p. 287–290, 2011.

SIVIERI, K.; OLIVEIRA, M. N. Avaliação da vida-de-prateleira de bebidas lácteas preparadas com “fat replaces” (litenesse e dairy-lo). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 24-31, 2002.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 3rd ed. San Diego: Elsevier, 2004.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yogur ciência y tecnologia**. Zaragoza: Acribia, 1991.

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

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

VARELA, P.; SALVADOR, A.; FISZMAN, S. Shelf-life estimation of “Fuji” apples: sensory characteristics and consumer acceptability. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 38, n. 1, p. 18–24, 2005.

YEN, W. J. et al. Antioxidant properties of roasted coffee residues. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 7, p. 2658–2663, 2005.

ZARE, F. et al. Effect of the addition of pulse ingredients to milk on acid production by probiotic and yoghurt starter cultures. **Food Science and Technology**, London, v. 45, n. 2, p. 155–160, Mar. 2012.

ZHONG, Q.; DAUBERT, C. R. Food rheology. In: KUTZ, M. (Ed.). **Handbook of farm, dairy, and food machinery**. Norwich: W. Andrew, 2007. p. 391-414.

ZOELLNER, S. S. et al. Whey beverage with açai pulp as food carrier of probiotic bacteria. **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v. 64, p. 165–169, 2009.

ZULUETA, A. et al. Vitamin C, vitamin A, phenolic compounds and total antioxidant capacity of new fruit juice and skim milk mixture beverages marketed in Spain. **Food Chemistry**, London, v. 103, p. 1365-1374, 2007.

CAPÍTULO 2 Caracterização química, física, físico-química e sensorial de bebidas lácteas fermentadas potencialmente probióticas utilizando soro lácteo e café solúvel

RESUMO

O aproveitamento de resíduos pela indústria de alimentos tem se tornado cada vez mais frequente e comum, uma vez que se trata de matérias-primas de alto valor nutricional e se adequam aos ideais de sustentabilidade do mundo atual. Este trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar química, física, físico-química e sensorialmente formulações de bebida láctea fermentada à base de soro lácteo utilizando o café solúvel como nova opção de sabor. No presente estudo utilizou-se um planejamento experimental fatorial, com três repetições no ponto central, a partir do qual foram elaboradas 11 formulações de bebida láctea fermentada, nas quais variaram a concentração de soro (20%, 35% e 50%), o teor de açúcar (9%, 10,5% e 12%) e a concentração de café solúvel (0,2%, 0,5% e 0,8%), sendo que esta foi determinada a partir de pré-testes sensoriais, tendo sido definidos os níveis máximos e mínimos, enquanto os níveis de soro variaram de acordo com os limites estabelecidos pela legislação e de açúcar variaram conforme os valores normalmente utilizados para este tipo de produto. Os resultados do estudo revelaram que as formulações atendem as características estabelecidas pela legislação para esse tipo de produto. As formulações mais aceitas pelos consumidores foram aquelas que apresentaram menores concentrações de café e maiores concentrações de açúcar, no que se refere a sabor, porém em relação ao aroma as formulações de maior aceitação foram os pontos centrais (35% soro, 10,5% açúcar e 0,5% café). Observaram-se ainda, por meio de análise multivariada dos dados, que o café exerceu efeito significativo negativo sobre os atributos sabor, textura e impressão global, exercendo efeito positivo apenas sobre o atributo aroma. Diante dos resultados das análises químicas, físico-químicas e sensoriais, a formulação constituída por 0,2% de café solúvel, 12% de açúcar e 50% de soro foi selecionada para a etapa de estudo da vida de prateleira do produto durante 28 dias de armazenamento.

Palavras-chave: Soro lácteo. Café solúvel. Teste de aceitação. Análise multivariada.

ABSTRACT

The waste recovery by the food industry has become increasingly frequent and common, since it is raw material of high nutritional value and fit the ideals of sustainability in today's world. This study had as objective to develop and characterize chemical, physical, physical-chemical and sensory formulations of fermented milk drink based on whey using instant coffee as a new flavor option. In the present study used a factorial design with three replications at the central point, from which 11 formulations were prepared from fermented milk drink in which varying whey concentrations (20%, 35% and 50%), the sugar content (9%, 10.5% and 12%) and the instant coffee concentration (0.2%, 0.5% and 0.8%), and this is determined from pre-defined and sensory tests the maximum and minimum levels, whereas whey levels varied according to the limits set by legislation and sugar varied according to the values normally used for this product type. The study results revealed that the formulations attend the requirements specified by law for this product type. The formulations more acceptable to consumers were those with showed lower concentrations of coffee and higher concentrations of sugar, as regards the flavor, but in relation to the greater acceptance of formulations were the focal point (35% whey, 10.5% sugar and 0.5% coffee). It also was observed by means of multivariate data analysis, that the coffee had a significant negative effect on the flavor, texture and overall impression, exercising positive effect only on the attribute aroma. Considering the results of chemical, physico-chemical and sensory analysis, the formulation consisting by 0.2% instant coffee, 12% sugar and 50% whey it was selected for the shelf-life study phase of the product during 28 days storage.

Keywords: Whey. Instant coffee. Acceptance testing. Multivariate analysis.

1 INTRODUÇÃO

A elaboração de bebidas lácteas utilizando soro de queijo consiste numa forma racional de aproveitamento de um subproduto que, na grande maioria das vezes, é descartado no meio ambiente de maneira inadequada. Associada à redução do impacto ambiental que o aproveitamento do soro lácteo proporciona, encontra-se a utilização de uma matéria-prima de alto valor nutritivo e que tem permitido inovações no mercado da indústria de laticínios.

As bebidas lácteas fermentadas são caracterizadas por produtos de baixa acidez, viscosidade e alto valor nutritivo, pois se trata de um alimento rico em cálcio, proteínas e vitaminas. Adicionadas de polpa de frutas e aromas, obtém-se um sabor fresco e textura agradável (TEBALDI, 2005).

Atraídos pela possibilidade de optar por benefícios adicionais à saúde, os consumidores tendem a escolher produtos funcionais em substituição aos tradicionais, estimulando a expansão do mercado desse tipo de produto. A indústria de laticínios, em particular, encontrou nas culturas probióticas uma ferramenta para o desenvolvimento de novos produtos (SAAD et al., 2011).

Probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em concentrações adequadas, conferem benefícios à saúde daqueles que o consomem, bem como aumentam ativamente o balanço da microflora no intestino (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS / WORLD HEALTH ORGANIZATION - FAO/WHO, 2002; OLIVEIRA et al., 2011). Microrganismos probióticos foram primeiramente introduzidos no mundo como ingredientes funcionais em produtos lácteos, cereais matinais e “snacks”. Desconhecidos para muitas pessoas, os probióticos oferecem benefícios à saúde que vão além da saúde do sistema digestório (SINGH et al., 2011).

O café é um produto de grande importância para a economia nacional e fortemente presente no hábito alimentar dos brasileiros. Vem sendo considerado como um alimento funcional, pois além da cafeína, possui potássio, zinco, ferro, magnésio e diversos outros minerais em pequenas quantidades (KROLOW, 2008). O grão também possui aminoácidos, proteínas lipídeos, açúcares e polissacarídeos, além de compostos antioxidantes como ácido clorogênico (KROLOW, 2008). Além disso, os polifenóis presentes na composição do grão têm sido associados a ações prebióticas (BISPO; GUIMARÃES; MIRANDA, 2011)

Diante das tendências de sustentabilidade do mercado e da possibilidade de agregar valor funcional a um novo produto, este trabalho teve como objetivos o desenvolvimento e caracterização físico-química e sensorial de formulações de bebidas lácteas fermentadas a partir de microrganismos probióticos, utilizando como matérias-primas soro de queijo minas frescal e café solúvel como nova opção de sabor.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A obtenção das bebidas lácteas fermentadas e as análises foram realizadas nos laboratórios de Laticínios, de Análise Sensorial e no Laboratório Central de Análises, todos localizados no Departamento de Ciência dos Alimentos, na Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

2.1 Materiais

Para a elaboração das bebidas lácteas fermentadas foi utilizado leite em pó semidesnatado Itambé[®], soro proveniente da fabricação de queijo minas frescal, cedido pelo Laticínio Verde Campo, em Lavras – MG, açúcar cristal (sacarose), estabilizante específico para iogurtes e bebidas lácteas Estabgem 073 Gemacom[®], café solúvel Nescafé Equilibrado Nestlé[®] e cultura mista liofilizada DVS ABT-4 (Chr. Hansen[®]) de uso direto, contendo *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus*.

2.2 Planejamento experimental

Com o objetivo de definir as concentrações das matérias-primas das bebidas foram determinados intervalos de estudo para estabelecimento dos limites superior e inferior das variáveis, proporção soro/leite, açúcar e café solúvel (Tabela 1). Os limites máximos e mínimos para a variável café foram determinados por meio de pré-testes sensoriais (item 2.10.1), enquanto os limites de soro foram estabelecidos conforme legislação para esse tipo de produto (BRASIL, 2005) e açúcar segundo Damin, Sivieri e Lannes (2009). Através dos limites estabelecidos foi utilizado um planejamento experimental fatorial com três pontos centrais constituído por 11 ensaios (Tabela 2).

Tabela 1 Intervalos de estudo das variáveis experimentais com os limites inferiores e superiores de soro/leite, açúcar e café solúvel

Variáveis	Intervalos de estudo		
	-1	0	1
Soro/leite	20%	35%	50%
Açúcar	9%	10,50%	12%
Café solúvel	0,20%	12%	0,80%

Tabela 2 Planejamento experimental - Matriz do planejamento fatorial 2³ com as variáveis codificadas e originais

Formulações	Intervalos de estudo			Variáveis		
				Soro/Leite (Vol./Vol.)	Açúcar (massa/Vol.)	Café Solúvel (massa/Vol.)
1	-1	-1	-1	20% / 80%	9%	0,20%
2	1	-1	-1	50% / 50%	9%	0,20%
3	-1	1	-1	20% / 80%	12%	0,20%
4	1	1	-1	50% / 50%	12%	0,20%
5	-1	-1	1	20% / 80%	9%	0,80%
6	1	-1	1	50% / 50%	9%	0,80%
7	-1	1	1	20% / 80%	12%	0,80%
8	1	1	1	50% / 50%	12%	0,80%
9	0	0	0	35% / 65%	10,50%	0,50%
10	0	0	0	35% / 65%	10,50%	0,50%
11	0	0	0	35% / 65%	10,50%	0,50%

2.3 Obtenção das bebidas lácteas fermentadas utilizando soro de queijo minas frescal

Conforme ilustrado pelo fluxograma da Figura 1, em cada ensaio o produto foi elaborado a partir da mistura de leite em pó semidesnatado reconstituído, soro proveniente da fabricação de queijo minas frescal (20, 35 e 50%), sacarose (9, 10.5 e 12%), estabilizante (1%), cultura láctica (0,2%) e café solúvel (0.2, 0.5 e 0.8%).

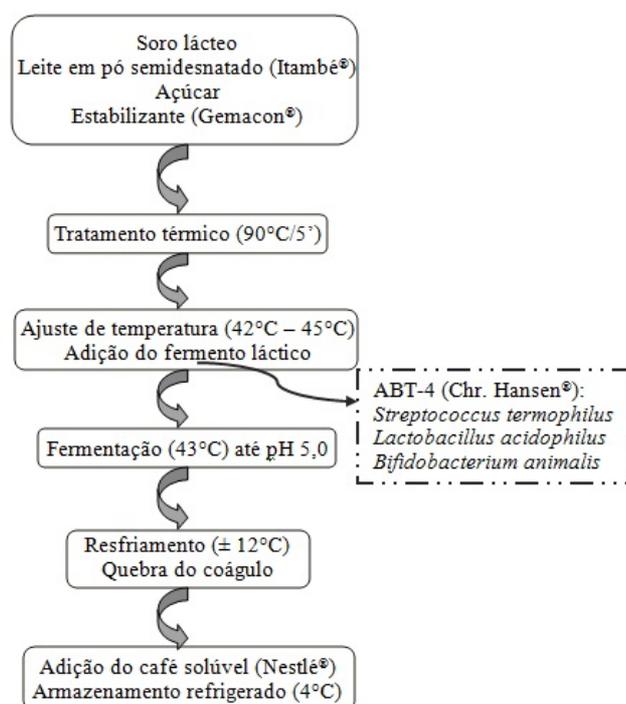


Figura 1 Fluxograma para obtenção das bebidas lácteas fermentadas

A mistura de soro, leite, açúcar e estabilizante foi levada ao fogo para pasteurização, em banho-maria, e sob agitação constante até atingir a temperatura de 90°C, permanecendo por 5 minutos sob essa condição. Em

seguida a mistura foi resfriada em banho de gelo e água até a temperatura de inoculação (42°C - 45°C). Atingida essa temperatura, foi adicionado o inóculo constituído por cultura mista probiótica (ABT 4 Chr Hansen[®]) contendo *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus*. O volume de cultura utilizado para que o produto apresentasse características probióticas seguiu as recomendações do fabricante contidas no rótulo. A fermentação foi conduzida em estufa (43°C) até atingir pH 5,0. Finalizada essa etapa, o produto foi resfriado em banho de gelo e água até temperatura aproximada de 12°C. Procedeu-se então com o rompimento do coágulo e adição do café solúvel (Nestlé[®]), originando o produto lácteo fermentado.

2.4 Determinação da cor

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

2.5 Determinação de pH

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

2.6 Análise de acidez titulável

A acidez titulável foi determinada por titulações com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1M utilizando fenolftaleína como indicador. Os resultados foram expressos em porcentagem de componentes com caráter ácido, como ácido láctico, de acordo com metodologia proposta por Pereira et al. (2001).

2.7 Análises microbiológicas

Para determinação da qualidade higiênico sanitária bem como o total de células viáveis dos micro-organismos probióticos utilizados para a fabricação das 11 formulações de bebida láctea fermentada sabor café, foram realizadas as análises microbiológicas descritas nos itens subsequentes.

2.7.1 Determinação de coliformes

Para a determinação de Coliformes foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP), conforme metodologia descrita por Silva, Junqueira e Silveira (2010).

2.7.2 Contagem total de fungos filamentosos e leveduras

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

2.7.3 Viabilidade de culturas probióticas

Os microrganismos probióticos *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* foram avaliados utilizando Ágar MRS (Man Rogosa and Sharpe). Para a contagem de *L. acidophilus* o MRS foi modificado com adição de solução de maltose 10%, de acordo com metodologia adaptada descrita por Silva, Junqueira e Silveira, 2010. Para a quantificação de *B. animalis* o MRS foi modificado com adição de 0,2% (m/v) de cloreto de lítio e 0,3% (m/v) de propionato de sódio segundo Vinderola e Reinheimer (1999). Para ambos os microrganismos as placas foram incubadas em anaerobiose (Anaerobac[®], Brasil) a 37°C por 72 h. As contagens foram descritas em log UFC mL.

2.8 Avaliação sensorial

A avaliação sensorial com consumidores foi realizada em duas etapas. Em uma primeira etapa a avaliação foi conduzida para determinação dos níveis máximo e mínimo de café solúvel a ser utilizada, enquanto na segunda etapa a avaliação foi realizada para determinar a aceitação sensorial das 11 formulações de bebida láctea fermentada sabor café em relação aos atributos: aparência, aroma, sabor, textura e impressão global.

2.8.1 Teste de aceitação preliminar

Foi realizado o recrutamento de consumidores para a participação dos testes sensoriais, de acordo com a afinidade e frequência do consumo de bebidas lácteas e/ou iogurtes bem como do consumo de café pelos mesmos.

Este teste foi realizado com o objetivo de verificar os limites máximos e mínimos de uma das variáveis em estudo (café). O teste de aceitação foi realizado em laboratório com 50 consumidores.

As bebidas lácteas foram produzidas em menor escala no Laboratório de Laticínios, do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras. Foram produzidas 4 diferentes formulações, nas quais variaram a concentração de soro e de café solúvel - 1 (20% soro e 0,2% café), 2 (20% soro e 0,8% café), 3 (50% soro e 0,2% café) e 4 (50% soro e 0,8% café). As amostras foram apresentadas aos consumidores monadicamente, de forma balanceada (WAKELING; MACFIE, 1995), codificadas com números de três dígitos e julgadas em relação à aparência, aroma, sabor e impressão global.

2.8.2 Teste de aceitação

Foi realizado o recrutamento de consumidores para a participação dos testes sensoriais de acordo com a afinidade e frequência do consumo de bebidas lácteas e/ou iogurtes, bem como do consumo de café pelos mesmos.

O teste de aceitação sensorial foi realizado com 51 consumidores, entre funcionários e alunos de graduação e pós-graduação do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras.

A avaliação foi conduzida 24 horas após a fabricação do produto, em cabines individuais e sob luz branca. Foram servidos monadicamente e de forma balanceada (WAKELING; MACFIE, 1995), 30 mL de amostra (temperatura \pm 10°C) em copos descartáveis de 50 mL, codificados com números de três dígitos.

Para a avaliação das amostras foi utilizado uma escala hedônica de nove pontos (1 – desgostei extremamente e 9 – gostei extremamente) (MINIM, 2010). Cada amostra foi avaliada pelos consumidores em relação aos seguintes

atributos: aparência, aroma, sabor, textura e impressão global. A intenção de compra em relação às bebidas foi determinada por meio de escala de cinco pontos (1- certamente não compraria; 5- certamente compraria). Para evitar a fadiga sensorial dos consumidores, o teste de aceitação foi dividido em três sessões, sendo que na primeira sessão foram servidas quatro amostras, na segunda mais quatro amostras e na terceira três amostras. Os 51 consumidores participaram das três sessões realizadas.

Para o cálculo do Índice de Aceitabilidade (IA), foi adotada a seguinte equação (1), conforme metodologia utilizada por Bispo et al. (2004):

$$IA\% = A \times 100/B \quad (1)$$

onde:

A = nota média obtida para o produto;

B = nota máxima dada ao produto.

O Índice de Aceitabilidade com boa repercussão foi considerado igual ou superior a 70% (BISPO et al., 2004).

2.9 Análise estatística

Os dados sensoriais foram analisados por meio de análise de fatores paralelos (PARAFAC) (CRUZ et al., 2012; NUNES; PINHEIRO; BASTOS, 2011), na qual a matriz dos dados constituiu-se das notas atribuídas por cada consumidor (K) aos atributos (J) a cada uma das 11 formulações (I) avaliadas, ou seja, uma matriz de *K-consumidores* x *I-formulações* x *J-atributos*. No método PARAFAC, segundo Cruz et al. (2012), um modelo trilinear é

encontrado de modo a minimizar a soma de quadrados dos resíduos, e_{ijk} , conforme a equação (2):

$$x_{ijk} = \sum a_{if} b_{jf} c_{kf} + e_{ijk} \quad (2)$$

Avaliou-se também os efeitos das variáveis estudadas (%soro, % açúcar e % café) e suas significâncias sobre as variáveis respostas (aparência, aroma, sabor, textura e impressão global), por meio da análise de Pareto.

As análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico SiSMapp versão 2.0 (NUNES, C. A., Lavras, Brasil).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise sensorial: pré-teste

O teste de aceitação preliminar demonstrou que houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as amostras para todos os atributos avaliados. Em relação à aparência, houve diferença da amostra 4 quando comparada as demais, apresentando-se essa como a mais aceita pelos consumidores. Quanto ao atributo aroma, foi observado diferença das amostras 1 e 3 (0,2% de café solúvel) em relação as amostras 2 e 4 (0,8% de café solúvel), indicando que a concentração de café foi determinante para a maior aceitação em relação a esse atributo.

Avaliando-se os atributos sabor e impressão global, notou-se diferença entre todas as amostras, apresentando-se a amostra 1 como a mais aceita. A partir desses resultados, foram fixados os valores máximos e mínimos para as variáveis do estudo, conforme delineamento utilizado.

3.2 Caracterização química, física, físico-química e microbiológica

De acordo com as análises de caracterização química, física e físico-química das 11 formulações avaliadas o produto atendeu aos requisitos estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 2005) para classificação como bebida láctea fermentada com adição.

Os valores de pH encontrados aproximaram-se aos do trabalho de Thamer e Penna (2006), que ficaram entre 4,72 e 4,83. Segundo os autores o controle de pH é importante no processo de fermentação, pois a separação do soro está diretamente relacionada com esse parâmetro. A utilização do fermento conhecido como ABT favoreceu tecnologicamente o produto nesse parâmetro, uma vez que esse não apresenta o *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, uma

das bactérias do iogurte responsáveis pela produção de ácido láctico durante o resfriamento e o armazenamento refrigerado (pós-acidificação) do produto (DAMIM et al., 2009; ZACARCHENCO; MASSAGUER-ROIG, 2004). Em estudo conduzido por Dualdo et al. (2010) com iogurte sabor morango, verificou-se queda nos valores de pH. Tal queda foi relacionada, entre outros fatores, a presença do *L. bulgaricus*.

Os valores de pH e acidez tem sua importância relacionada também com a apresentação visual do produto final durante sua conservação em baixas temperaturas. É de extrema importância que haja um rigoroso controle, de maneira a se evitar que ocorram possíveis separações de fases, acidificação elevada, influenciada pelo tempo de fermentação, além de alterações indesejáveis nas características sensoriais do produto (CALDEIRA et al., 2010; THAMER; PENNA, 2006; VINDEROLA; BAILO; REINHEIMER, 2000). Como o pH interfere diretamente na viabilidade da microflora probiótica em produtos lácteos fermentados, com o decaimento do mesmo, tem-se uma redução nas contagens de células viáveis de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* durante o armazenamento refrigerado (VINDEROLA; BAILO; REINHEIMER, 2000).

A acidez também exerce importante influência sobre os atributos de qualidade de produtos lácteos fermentados, sendo um dos principais fatores que limita sua aceitação. Uma baixa acidez, como a encontrada no presente trabalho, favorece a maior aceitabilidade do produto pelos consumidores. Além disso, a produção de ácido láctico, substância característica de produtos fermentados, proporciona seu sabor ácido típico e pode também acentuar o aroma do produto (THAMER; PENNA, 2006).

As análises microbiológicas das 11 formulações não revelaram contaminação por microrganismos dos grupos de coliformes, fungos filamentosos e leveduras. Quanto à verificação do número de células viáveis dos

probióticos utilizados na fermentação, verificou-se em média contagens entre 10^9 e 10^8 UFC/mL para *L. acidophilus* e *B. animalis* no produto fresco.

3.3 Análise sensorial: teste de aceitação

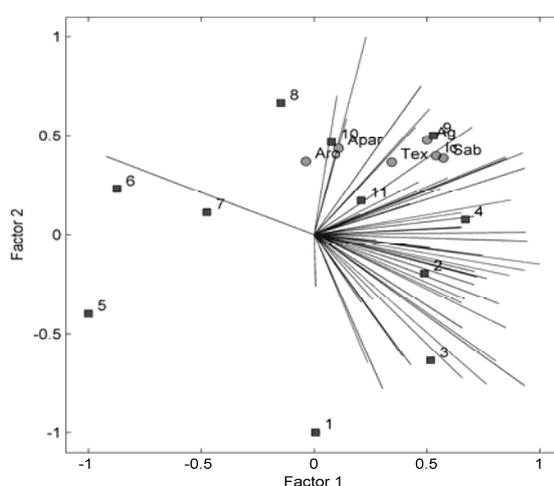
Os dados sensoriais foram organizados em uma modelo de matriz de três vias em relação às formulações (amostras), atributos e consumidores, conforme modelo descrito nos trabalhos de Cruz et al.(2012) e Nunes, Pinheiro e Bastos (2011).

Por meio da análise dos resultados obtidos do PARAFAC, representados pela Figura 2, observa-se que as amostras 5, 6 e 7 apresentaram aceitação diferenciada para todas as variáveis respostas analisadas (aroma, sabor, textura, aparência e aspecto global), o que pode ser atribuído à concentração de café solúvel mais elevada (0,8%) utilizada para conferir o sabor ao produto, conforme delineamento experimental. A amostra 8 apesar de também apresentar elevada concentração de café como as três citadas anteriormente, apresentou distinção no que diz respeito a aceitação do atributo aroma. Além do aroma mais acentuado de café, a maior concentração de soro (50%) e de açúcar (12%) podem ter contribuído de maneira positiva para a maior aceitação dos consumidores em relação a essa variável resposta quando comparada às amostras 5, 6 e 7.

Apresentando características opostas, a amostra 1 constituída pela menor concentração dos três fatores estudados (20% soro, 9% açúcar e 0,2% café solúvel) não obteve um bom resultado na aceitação dos atributos estudados na avaliação dos consumidores. Essa menor aceitação pode ser associada às características da amostra, como uma maior viscosidade devido à baixa concentração de soro, ao sabor doce diminuído devido à menor quantidade de açúcar, além da baixa concentração de café solúvel que, segundo alguns

consumidores descaracterizou um produto com café em sua composição. Para as amostras 2 e 3, por outro lado, observou-se uma melhor aceitação sensorial em relação aos atributos quando comparadas às demais amostras, tendo então, apresentado médias de aceitação variando entre 6 e 7 (entre os termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”).

As demais amostras avaliadas (4, 9, 10 e 11) apresentaram-se distribuídas em torno de uma densidade maior de consumidores e, associado a isso, apresentaram maiores médias de aceitação, podendo-se dizer que para essas amostras a aceitação foi maior em relação aos atributos aroma, textura, aparência e aspecto global. As concentrações de café dessas amostras variaram entre 0,2 e 0,5%, enquanto as concentrações de soro e açúcar destacaram-se por valores intermediários ou maiores (35% e 50% de soro e 10,5% e 12% de açúcar).



Aro = aroma; Apar = aparência; Tex = textura; Sab = sabor; Ag = aspecto global

Figura 2 Análise Paralela de Fatores (PARAFAC) com a dispersão das 11 formulações de bebida láctea fermentada sabor café em função dos dados obtidos das variáveis respostas analisadas (aroma, sabor, textura, aparência e aspecto global) através do teste de aceitação com consumidores.

De maneira similar, utilizando PARAFAC como metodologia para análise dos dados sensoriais, Cruz et al. (2012) também avaliaram a aceitação sensorial de seis iogurtes: dois naturais convencionais disponíveis no mercado nacional, um suplementado com *B. animalis* e outros três probióticos elaborados com as culturas *S. thermophilu* e *L. bulgaricus* com *B. longum* e *L. acidophilus*.

De modo geral, os resultados apresentados no presente trabalho indicam que para as amostras que apresentaram maiores médias de aceitação houve uma percepção semelhante dos atributos avaliados (aroma, textura, aparência e aspecto global) pelos consumidores.

É importante ressaltar que, a partir da análise dos efeitos das proporções de soro, açúcar e café sobre as respostas sensoriais, não houve influência significativa do soro e de nenhuma das interações dos fatores estudados sobre as variáveis respostas avaliadas (sabor, textura, aspecto global, aparência e aroma).

Avaliando-se o efeito dos três fatores analisados (concentração de soro, açúcar e café solúvel) em relação ao atributo aparência (Figura 3), verificou-se que não houve influência significativa positiva ou negativa de nenhum dos três fatores estudados.

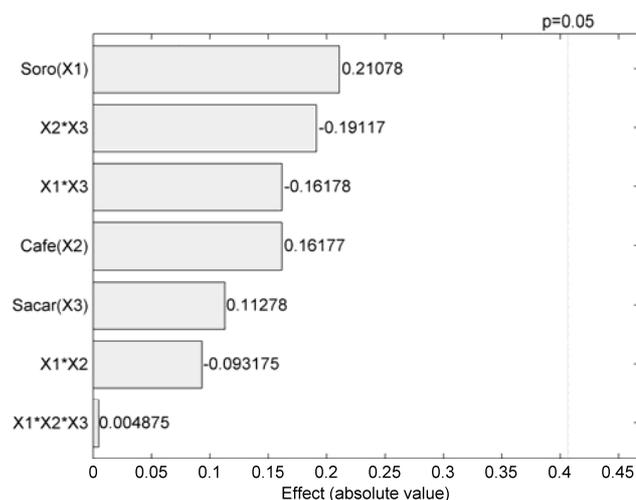


Figura 3 Análise da influência das variáveis soro, açúcar e café solúvel (PARETO) sobre o atributo aparência das 11 formulações bebida láctea fermentada sabor café

Em relação ao atributo sabor (Figura 4 A e B), observa-se que o café solúvel exerceu efeito significativo negativo na aceitação das amostras, ou seja, quanto maior a concentração de café das amostras avaliadas, menor foi a aceitação em relação a esse atributo. Alguns consumidores relataram que à medida que se aumentou a concentração de café de algumas amostras, as mesmas apresentaram um sabor amargo bastante acentuado, independente se possuíam maior ou menor concentração de soro e de açúcar na sua composição. A textura também foi influenciada significativamente de forma negativa pela concentração de café solúvel, ou seja, quanto maior a concentração de café nas amostras menor foram as médias de aceitação em relação à textura, como ilustra a Figura 4 (A e B). Uma hipótese que pode ser atribuída para a influência negativa do café sobre a textura das bebidas é a de que à medida que se elevou a concentração de café solúvel das amostras, houve uma percepção de adstringência do produto, que por sua vez tem relação com a percepção

diferenciada da textura, conforme relatado por alguns consumidores nas fichas de avaliação. Essa adstringência é conferida pelos ácidos clorogênicos que constituem os grãos de café (SIQUEIRA; ABREU, 2006).

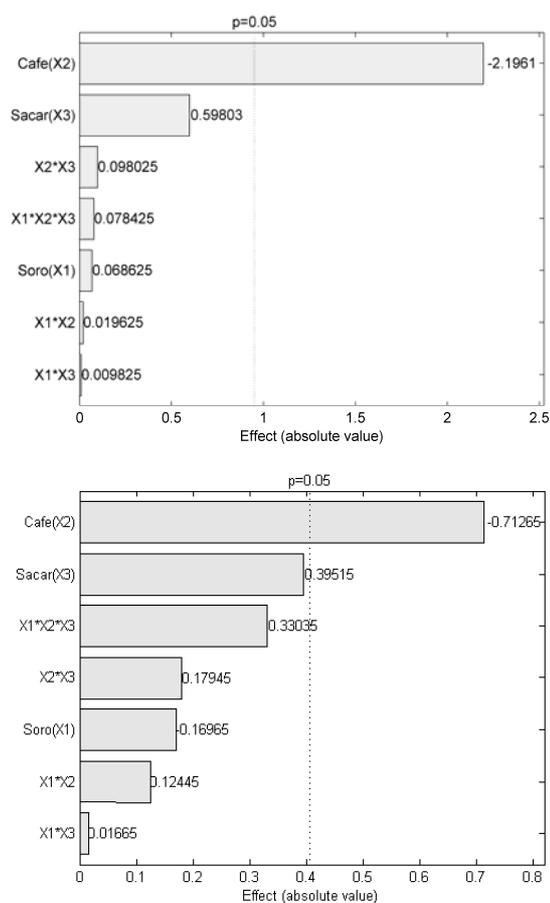


Figura 4 Análise da influência das variáveis soro, açúcar e café solúvel (PARETO) sobre os atributos sabor (A) e textura (B) das 11 formulações bebida láctea fermentada sabor café

Resultado semelhante foi observado por Felberg et al. (2010) em estudo com diferentes formulações de uma bebida produzida a partir “leite de soja” em pó, açúcar e café solúvel, no qual as formulações da bebida que apresentaram os menores níveis de açúcar ou os maiores níveis de café solúvel ou os menores níveis de açúcar e os maiores níveis de café solúvel foram as que possuíram menor aceitação sensorial diante da avaliação dos consumidores. Neste mesmo estudo, o café solúvel também teve influência significativa negativa sobre a aceitação do produto.

De modo contrário, o atributo aroma teve influência significativa positiva da concentração de café solúvel, isto é, à medida que a concentração de café solúvel das amostras foi aumentada, houve também um aumento da aceitação dos consumidores pela amostra avaliada, como pode ser observado na Figura 5. Diante disso, pode-se dizer que os consumidores preferiram um produto com aroma mais acentuado (maior concentração de café), porém com intensidade menor de sabor (menor concentração de café). Uma alternativa para correção desse problema tecnológico seria a utilização de um aromatizante de modo a tentar manter um aroma de café mais intenso com a menor concentração possível para o sabor.

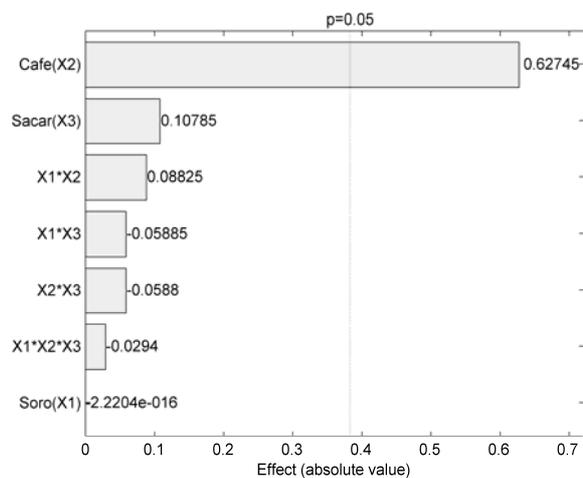


Figura 5 Análise da influência das variáveis soro, açúcar e café solúvel (PARETO) sobre o atributo aroma das 11 formulações bebida láctea fermentada sabor café

De modo semelhante, Ferreira et al. (2011) avaliando sensorialmente diferentes formulações de doce de leite com café e soro lácteo verificaram que as amostras com menores concentrações de café solúvel (1%) apresentaram maior aceitação dos consumidores em relação aos atributos aparência, textura, sabor e impressão global.

A aceitação em relação ao atributo impressão global teve influência de dois dos fatores estudados: o açúcar e o café solúvel. A concentração de açúcar exerceu efeito significativo positivo, indicando que quanto maior a concentração de açúcar, maior a aceitação das amostras pelos consumidores. De modo inverso, a concentração de café mais uma vez exerceu efeito significativo negativo, determinando que à medida que se aumentou a concentração de café solúvel, menor foi a aceitação pelos consumidores em relação ao atributo avaliado (Figura 6).

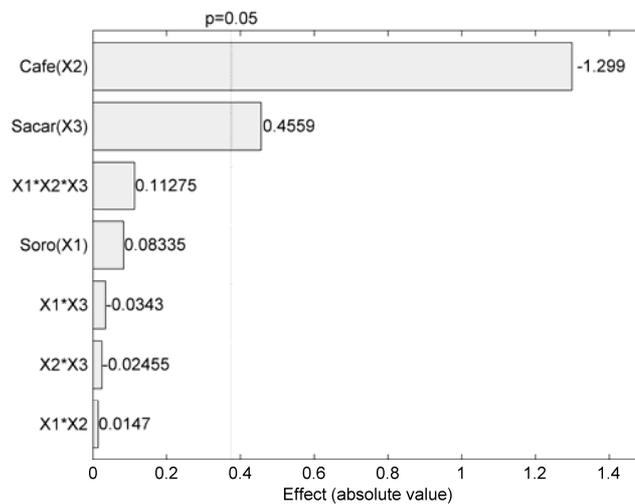


Figura 6 Análise da influência das variáveis soro, açúcar e café solúvel (PARETO) sobre o atributo impressão global das 11 formulações bebida láctea fermentada sabor café

O teste sensorial de aceitação realizado por 51 consumidores revelou que a média das notas de aceitação das amostras ficou entre 6 e 7 (entre os termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”).

Segundo Bispo et al. (2004) para que um produto seja sensorialmente aceito é necessário que se obtenha um Índice de Aceitabilidade (IA) igual ou superior a 70%. Para o atributo aparência todas as amostras exceto a amostra 1 obtiveram aceitabilidade satisfatória. Entretanto, como pode ser verificado na Tabela 4, o IA foi abaixo de 70% para algumas das amostras.

Tabela 4 Índice de aceitabilidade para as diferentes formulações de bebidas lácteas fermentadas sabor café

Ensaio	Índice de Aceitabilidade				
	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	Imp. Global
1	65,14	66,88	68,19	72,98	67,76
2	70,37	66,23	69,50	73,20	70,15
3	70,37	69,06	74,51	78,87	74,73
4	71,90	67,76	74,29	72,11	73,86
5	70,15	73,20	48,77	65,36	61,52
6	73,20	75,16	48,77	61,00	61,76
7	71,02	74,73	50,11	67,97	58,61
8	70,59	74,73	58,58	71,24	60,57
9	74,95	72,33	64,71	73,64	68,85
10	74,29	75,38	56,43	70,37	65,14
11	78,21	71,68	65,14	74,29	67,97

De maneira geral, as amostras que apresentaram maior IA foram aquelas que apresentavam menores concentrações de café solúvel e maiores concentrações de açúcar para os atributos sabor, textura e impressão global, mostrando que o excesso do ingrediente café pode prejudicar a aceitação do produto em relação a essas características. Semelhante resultado foi observado por outros autores, como Felberg et al. (2010), avaliando diferentes formulações de uma bebida de “leite de soja” com café solúvel, Mathias (2011) avaliando sensorialmente formulações de iogurte de café e Ferreira et al. (2011) em estudo da aceitação de formulações de doce de leite com café solúvel. De modo contrário, em relação aos atributos aparência e aroma, as formulações que mais agradaram aos consumidores foram aquelas cujas concentrações de café solúvel eram mais elevadas, favorecendo uma maior intensidade do aroma de café. Esses dados estão de acordo com os efeitos das variáveis apresentados anteriormente nas figuras (Figuras 3 a 6).

A interferência negativa das elevadas concentrações de café solúvel sobre a aceitação de alguns atributos sensoriais indicam que alterações nessas

concentrações poderiam causar diferenças relevantes e favoráveis no produto final.

Ao se desenvolver um novo produto, um ponto fundamental é avaliar sua aceitabilidade diante dos consumidores a que se destina o mesmo, de modo a prever seu comportamento no mercado (MOSCATTO; PRUDÊNCIO-FERREIRA; HAULY, 2004). A partir da análise dos resultados, observou-se que a amostra 4 ficou entre as mais preferidas pelos consumidores segundo a análise PARAFAC (Figura 2), a qual caracterizou-se por menor concentração de café, uma vez que o mesmo exerceu efeito negativo sobre a aceitação dos atributos sabor, textura e impressão global, além de maior concentração de açúcar, que contribui de maneira positiva na aceitação da bebida e, o IA de todos os atributos foi superior a 70%. Associado a tudo isso, a amostra 4 (50% de leite, 50% de soro, 12% de açúcar e 0,20% de café solúvel) adequou-se a proposta principal do estudo, que é o aproveitamento do soro como resíduo da indústria de alimentos.

4 CONCLUSÃO

- a) As 11 formulações apresentaram resultados satisfatórios nas análises químicas, físicas e físico-químicas atendendo aos requisitos estabelecidos pela legislação brasileira para classificação do produto como bebida láctea fermentada com adição.
- b) A avaliação sensorial com consumidores revelou um menor índice de aceitabilidade das formulações com maiores concentrações de café para os atributos sabor, textura e impressão global, porém, para os atributos aparência e aroma esse índice foi maior.
- c) A formulação selecionada para a etapa de vida de prateleira de acordo com os resultados satisfatórios das análises foi aquela constituída por 50% soro, 50% leite, 12% açúcar e 0,2% café solúvel.

REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official method of analysis**. 18th ed. Washington, 2005.

BISPO, E. S. et al. Processamento, estabilidade e aceitabilidade de marinado de vongole (*Anomalocardia brasiliiana*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 353–356, jul./set. 2004.

BISPO, E. S.; GUIMARÃES, A. G.; MIRANDA, M. S. Cacau e café e a aplicação de próbióticos e prebióticos. In: SAAD, S. M. I.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. (Org.). **Probióticos e prébióticos em alimentos, fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Varela, 2011. v. 1, p. 1-672.

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

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

CRUZ, A. G. et al. Adjustment for modeling consumer study covering probiotic and conventional yogurt. **Food Research International**, Barking, v. 45, p. 211–215, 2012.

DAMIN, M. R. et al. Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt. **Food Science and Technology**, London v. 42, n. 10, p. 1744–1750, 2009.

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

DUALDO, L. C. S. et al. Avaliação da pós-acidificação e viabilidade de bactérias lácticas utilizando o método convencional e o sistema Compact Dry[®] TC durante a estocagem refrigerada de iogurtes. **Revista do Instituto do Laticínio “Cândido Tostes”**, Juiz de Fora, v. 374, n. 65, p. 33-40, maio/jun. 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/ WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. London, 2002.

FELBERG, I. et al. Formulation of a soy-coffee beverage by response surface methodology and internal preference mapping. **Journal of Sensory Studies**, Westport, v. 25, p. 226–242, 2010.

FERREIRA, L. O. et al. Sensory evaluation of “Dulce de leche” with coffee and whey using different affective data analysis methods. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 4, p. 998–1005, out./dez. 2011.

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

KROLOW, A. C. R. **Iogurte integral sabor café**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. Comunicado Técnico. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/comunicados/comunicado_193.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2012.

MATHIAS, T. R. S. **Desenvolvimento de iogurte sabor café: avaliação sensorial e reológica**. 2011. 191 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa, MG: UFV, 2010. 308 p.

MOSCATTO, J. A.; PRUDÊNCIO-FERREIRA, S. H.; HAULY, M. C. O. Farinha de yacon e inulina como ingredientes na formulação de bolo de chocolate. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 634-640, 2004.

NUNES, C. A.; PINHEIRO, A. C. M.; BASTOS, S. C. Evaluating consumer acceptance tests by three-way internal preference mapping obtained by parallel factor analysis (PARAFAC). **Journal of Sensory Studies**, Westport, v. 26, p. 167–174, 2011.

PEREIRA, D. B. C. et al. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. 2. ed. Juiz de Fora: Oficina de Impressão, 2001.

SAAD, S. M. I. et al. Probióticos e prebióticos em alimentos: aspectos tecnológicos, legislação e segurança no uso. In: SAAD, S. M. I.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. (Org.). **Probióticos e prébióticos em alimentos, fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Varela, 2011. p. 23–49.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 2010. 317 p.

SINGH, K. et al. Probiotics: a review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, Beijing, v. 1, n. 2, p. 287–290, 2011.

SIQUEIRA, H. H.; ABREU, C. M. P. Composição físico-química e qualidade do café submetido a dois tipos de torração e com diferentes formas de processamento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 112–117, jan./fev. 2006.

TEBALDI, V. M. R. **Elaboração de bebida láctica de soro de ricota e extrato hidrossolúvel de soja**. 2005. 79 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 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**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 589–595, jul./set. 2006.

VINDEROLA, C. G.; BAILO, N.; REINHEIMER, J. A. Survival of probiotic in Argentina yogurts during refrigerate storage. **Food Research International**, Barking, v. 33, n. 2, p. 97-102, 2000.

VINDEROLA, C. G. et al. Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, Barking, v. 12, p. 579–589, 2002.

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

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

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

**CAPÍTULO 3 Vida de prateleira de bebida láctea fermentada probiótica
utilizando soro lácteo e café solúvel**

RESUMO

A busca do consumidor por produtos saudáveis e que tragam benefícios à saúde tem despertado uma nova tendência no mercado. O aproveitamento do soro, anteriormente tratado como resíduo de grande impacto para o meio ambiente, hoje considerado um subproduto de elevado valor nutritivo, também se enquadra nas tendências atuais de mercado. Na área de laticínios essa nova tendência se apresenta sob a forma de produtos funcionais, como iogurtes, leites e bebidas lácteas fermentadas e até mesmo queijos adicionados de microrganismos probióticos. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a vida de prateleira de uma formulação de bebida láctea fermentada à base de soro lácteo e café solúvel a partir de análises químicas, físico-químicas, microbiológicas, reológicas e sensoriais ao longo de 28 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. Os resultados obtidos demonstraram que a bebida apresentou estabilidade dos valores de pH e acidez titulável, bem como a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* (entre 10^7 e 10^8 UFC/mL) ao longo de todo o período de armazenamento estudado. O *Bifidobacterium animalis* apresentou viabilidade conforme preconiza a legislação brasileira apenas até 21° dia de armazenamento. O teste sensorial realizado com o produto em cada um dos cinco tempos de estocagem demonstrou que o mesmo possuiu boa aceitação em relação aos aspectos globais do produto diante dos consumidores. A análise das características reológicas não revelou alteração significativa dos parâmetros reológicos do produto ao longo do período de armazenamento refrigerado avaliado.

Palavras-chave: Soro lácteo. Vida de prateleira. Probióticos. Aceitação.

ABSTRACT

Consumer search for healthy products that bring health benefits and has sparked a new trend in the market. The use whey, formerly treated as waste of great impact to the environment, today considered a subproduct of high nutritional value, also fits the current market trends. In the dairy this new trend is presented in the form of functional products, such as yoghurts, milk and fermented milk drinks and even cheeses added probiotic microorganisms. In this context, this study had as objective to evaluate the shelf-life of a formulation of fermented dairy drink based on whey and instant coffee from chemical, physico-chemical, microbiological, rheological and sensory analysis over 28 days of refrigerated storage at 4°C. The results showed that the beverage showed stability of pH values and titratable acidity, as well the viability of *Lactobacillus acidophilus* (between 10^7 and 10^8 CFU/mL) throughout the storage period studied. The *Bifidobacterium animalis* showed viable as recommended by the Brazilian legislation only until 21th day of storage. The sensory test carried out with the product in each of the five days of storage demonstrated that it has good acceptance than the global aspects of the product on the consumer. The rheological characteristics analysis did not reveal significant alteration from rheological properties of the product during refrigerated storage period evaluated.

Keywords: Whey. Shelf-life. Probiotics. Acceptance.

1 INTRODUÇÃO

A busca cada vez maior do consumidor por produtos que tenham propriedades benéficas à saúde tem despertado na indústria de alimentos uma crescente corrida para o desenvolvimento de produtos que atendam a essas necessidades e às expectativas do consumidor. A indústria de laticínios tem se beneficiado do “despertar pela saúde” do consumidor, colocando no mercado uma série de produtos inovadores, que vão desde iogurtes até bebidas lácteas fermentadas e queijos, por meio da utilização de matérias-primas de boa qualidade e que apresentam propriedades funcionais.

Culturas probióticas têm sido amplamente exploradas pelas indústrias de laticínios como ferramenta para o desenvolvimento de novos produtos funcionais (VASILJEVIC; SHAH, 2008). Como uma das principais características, esses microrganismos são resistentes aos ácidos e a bile e apresentam capacidade de aderir à mucosa intestinal (CUNHA et al., 2008).

Bactérias probióticas apresentam crescimento lento em função de sua baixa atividade proteolítica, sendo prática comum a adição de bactérias do iogurte para reduzir o tempo de fermentação (DOLEYRES; LACROIX, 2005; KLAVER; KINGMAN; WEERKAMP, 1993). O *Lactobacillus bulgaricus*, entretanto, interfere na viabilidade de bactérias probióticas por promover a pós-acidificação do produto durante o armazenamento refrigerado, devido à produção de ácido láctico, reduzindo a viabilidade de bactérias probióticas e a aceitação pelos consumidores (CHR HANSEN, 2002). No desenvolvimento de novos produtos a determinação da vida de prateleira é de grande importância, uma vez que permite verificar até que ponto o produto se torna aceitável ao consumo (GRANATO et al., 2010).

De modo a corrigir o problema da pós-acidificação, a tendência é utilizar fermentos conhecidos como ABT, que contêm *Streptococcus thermophilus*,

Lactobacillus acidophilus e *Bifidobacterium sp.*, sendo capazes de manter a viabilidade celular durante o armazenamento do produto (DAVE; SHAH, 1998; OLIVEIRA et al., 2001; VINDEROLA et al., 2002). É importante destacar que as bactérias probióticas devem estar presentes no produto numa concentração mínima de 10^6 UFC/g ou sua ingestão diária deve ser cerca de 10^8 UFC/g de forma a compensar a possível redução desses microrganismos durante a passagem pelo intestino (SHAH, 2007).

Dentre as características sensoriais, as bebidas lácteas destacam-se por ser refrescantes, apresentarem textura suave e baixa viscosidade quando comparada ao iogurte tradicional (ALMEIDA; TAMIME; OLIVEIRA, 2009). A utilização de soro na produção de bebidas lácteas constitui uma forma de aproveitamento racional de um subproduto com importante valor nutritivo (ALMEIDA; BONASSI; ROÇA, 2001), reduzindo o impacto ambiental do descarte desse resíduo no meio ambiente, bem como os custos envolvidos no processo produtivo, além de contribuir nas características reológicas do produto.

O aumento no consumo desse tipo de produto pode ser impulsionado com o desenvolvimento de sabores diferenciados, que agradem ao consumidor atendendo às suas expectativas. O café, além de estar inserido no hábito alimentar da população brasileira, vem sendo considerado um alimento funcional pela presença de minerais, aminoácidos, açúcares, além de fenóis antioxidantes (KROLOW, 2008). Essas características agregam mais valor a um produto de amplo consumo no país.

Diante do exposto, este trabalho teve o objetivo de avaliar a vida de prateleira da formulação de bebida láctea fermentada sabor café (50% soro, 50% leite, 12% açúcar e 0,2% café solúvel), selecionada na etapa anterior do estudo, a partir de análises químicas, físico-químicas, microbiológicas, reológicas e sensoriais ao longo de 28 dias de armazenamento refrigerado a 4°C.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A obtenção das bebidas lácteas fermentadas e as análises foram realizadas nos laboratórios de Laticínios, de Análise Sensorial, de Microbiologia de Alimentos e de Refrigeração e Engenharia de Alimentos, todos localizados no Departamento de Ciência dos Alimentos, na Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais. Nessa etapa a formulação que obteve resultados satisfatórios nas análises físico-químicas e sensorial foi conduzida para determinação da vida de prateleira.

2.1 Obtenção das bebidas lácteas fermentadas utilizando soro lácteo

A mistura de soro, leite, açúcar e estabilizante foi levada ao fogo para pasteurização, em banho-maria, e sob agitação constante até atingir a temperatura de 90°C, permanecendo por 5 minutos sob essa condição. Em seguida a mistura foi resfriada em banho de gelo e água até a temperatura de inoculação (42°C - 45°C). Atingida essa temperatura, foi adicionado o inóculo constituído por cultura mista probiótica (ABT 4 Chr Hansen®) contendo *Streptococcus thermophilus*, *Bififobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus*. O volume de cultura utilizado para que o produto apresentasse características probióticas seguiu as recomendações do fabricante contidas no rótulo. A fermentação foi conduzida em estufa (43°C) até atingir pH 5,0. Finalizada essa etapa, o produto foi resfriado em banho de gelo e água até temperatura aproximada de 12°C. Procedeu-se então com o rompimento do coágulo e adição do café solúvel (Nestlé®), originando o produto lácteo fermentado. Posteriormente o produto foi evasado em garrafas de polietileno de alta densidade (500 mL) e armazenado para análises químicas, físico-químicas, microbiológicas e reológicas em intervalos 0, 7, 14, 21 e 28 dias de estocagem

refrigerada a 4°C. O fluxograma dos procedimentos gerais para a fabricação das bebidas é ilustrado pela Figura 1.

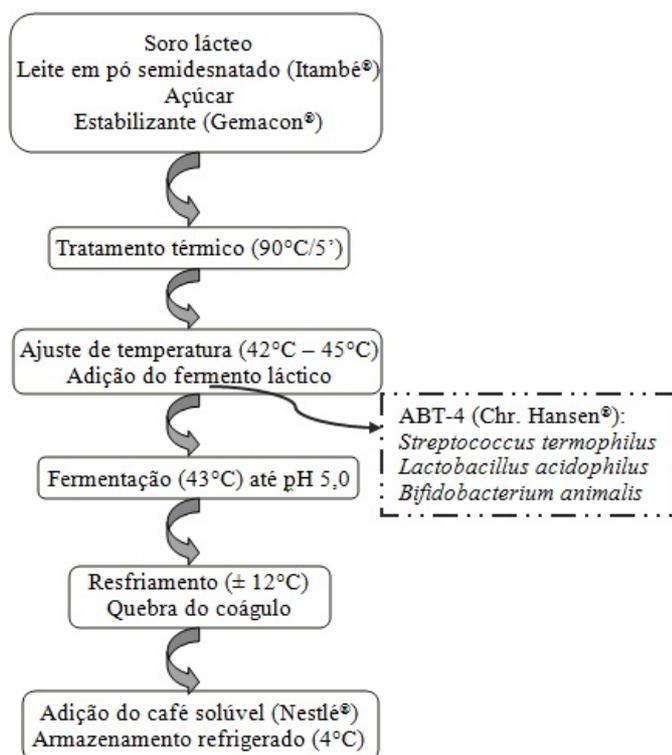


Figura 1 Fluxograma para obtenção das bebidas lácteas fermentadas

2.2 Determinação de pH

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

2.3 Análise de acidez titulável

A acidez titulável foi determinada por titulações com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1M utilizando fenolftaleína como indicador. Os resultados foram expressos em porcentagem de componentes com caráter ácido, como ácido láctico, de acordo com metodologia proposta por Pereira et al. (2001).

2.4 Análises microbiológicas

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

2.4.1 Determinação de coliformes

Para a determinação de Coliformes foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP), conforme metodologia descrita por Silva, Junqueira e Silveira (2010).

2.4.2 Contagem total de fungos filamentosos e leveduras

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

2.4.3 Viabilidade de culturas probióticas

Os microrganismos probióticos *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* foram avaliados utilizando Ágar MRS (Man Rogosa and Sharpe). Para a contagem de *L. acidophilus* o MRS foi modificado com adição de solução de maltose 10% de acordo com metodologia adaptada descrita por Silva, Junqueira e Silveira (2010). Para a quantificação de *B. animalis* o MRS foi modificado com adição de 0,2% (m/v) de cloreto de lítio e 0,3% (m/v) de propionato de sódio segundo Vinderola e Reinheimer (1999). Para ambos os microrganismos as placas foram incubadas em anaerobiose (Anaerobac[®], Brasil) a 37°C por 72 h. As contagens foram expressas em log UFC/mL.

2.5 Análises reológicas

As medidas reológicas foram realizadas por meio de um viscosímetro rotacional de cilindros concêntricos da marca BROOKFIELD DVIII Ultra (*Brookfield Engineering Laboratories, Stoughton, USA*), usando o adaptador para pequenas amostras 13R/RP (19,05 mm de diâmetro e 64,77 mm de profundidade) e o sensor de cisalhamento coaxial SC4-18 (17,48 mm de diâmetro e 31,72 mm de comprimento). As amostras foram submetidas a uma rampa crescente de taxa de deformação que variou linearmente de 6.60 s⁻¹ a 79.20 s⁻¹ sendo tomados 12 pontos.

Com os valores de tensão de cisalhamento (τ) e taxa de deformação ($\dot{\gamma}$) foram calculados os parâmetros reológicos índice de consistência (k) e índice de comportamento do fluido (n) e tensão inicial (τ_0) para os modelos de Herschel-Bulkley (Equação 1) e de Lei da Potência (Equação 2). Todos os parâmetros reológicos foram obtidos usando o *software Reocalc* (Versão V.3.1, *Brookfield Engineering Laboratories, Stoughton, USA*) para captura dos dados.

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

onde:

τ = tensão de cisalhamento (Pa);

k_H = índice de consistência (Pa.s);

γ = Taxa de cisalhamento (s^{-1});

n = índice de comportamento do fluido;

τ_0 = tensão de cisalhamento inicial (Pa).

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

onde:

τ = tensão de cisalhamento (Pa);

k = índice de consistência (Pa.s);

γ = Taxa de cisalhamento (s^{-1});

n = índice de comportamento do fluido.

2.6 Delineamento estatístico

As análises da vida de prateleira seguiram delineamento experimental inteiramente casualizado, composto por cinco tempos de análises. Os dados obtidos das análises de pH, acidez titulável e dos parâmetros reológicos foram avaliados por análise de variância (ANOVA de medidas repetidas), teste de Tukey e análise de regressão, utilizando *software* Sisvar 5.0 (FERREIRA, 2000), a fim de verificar a significância estatística das diferenças entre as amostras ao nível de 5%. Os dados obtidos das análises microbiológicas foram avaliados por análise de variância (ANOVA de medidas repetidas), teste T (Bonferroni) e análise de regressão, utilizando *software* Sisvar 5.0 (FERREIRA, 2000), a fim de verificar a significância estatística das diferenças entre as amostras ao nível de 5%. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.7 Análise Sensorial: teste de aceitação

Foi realizado o recrutamento de consumidores para a participação dos testes sensoriais de acordo com a afinidade e frequência do consumo de bebidas lácteas e/ou iogurtes, bem como do consumo de café pelos mesmos.

Ao longo dos 28 dias de armazenamento procedeu-se com a fabricação semanal das bebidas lácteas para realização do teste de aceitação com consumidores ao final do armazenamento. Os ensaios foram montados de maneira inversa, ou seja, o primeiro produzido correspondeu ao último tempo avaliado, totalizando cinco ensaios (tempos de armazenamento).

O teste de aceitação foi realizado por um grupo de 120 consumidores, entre estudantes de graduação e pós-graduação e funcionários do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras.

A avaliação foi conduzida em cabines individuais e sob luz branca. As amostras foram servidas monadicamente e de forma balanceada (WAKELING; MACFIE, 1995), 30 mL do produto (temperatura 10°C) em copos descartáveis de 50 mL, codificados com números de três dígitos.

Para a avaliação das amostras foi utilizado uma escala hedônica de nove pontos (1 – desgostei extremamente e 9 – gostei extremamente) (MINIM, 2010), através da qual atributo avaliado foi o aspecto global do produto. Ainda foram avaliadas as frequências de consumo de bebidas lácteas e de café pelos consumidores.

2.8 Análise estatística

Os dados da análise sensorial foram submetidos a uma análise multivariada através de análise de componentes principais utilizando o programa estatístico SiSMapp versão 2.0 (NUNES, C. A., Lavras, Brasil).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Vida de prateleira

Um fator importante a ser considerado no armazenamento de produtos lácteos fermentados está associado a valores de pH e acidez titulável detectados ao longo do armazenamento, uma vez que valores muito baixos de pH ou muito elevados de acidez alteram características sensoriais do produto diminuindo sua aceitação (THAMER; PENNA, 2006; VINDEROLA; BAILO; REINHEIMER, 2000). Os valores médios de pH e acidez titulável da bebida láctea sabor café ao longo dos 28 dias de armazenamento encontra-se na Figura 2.

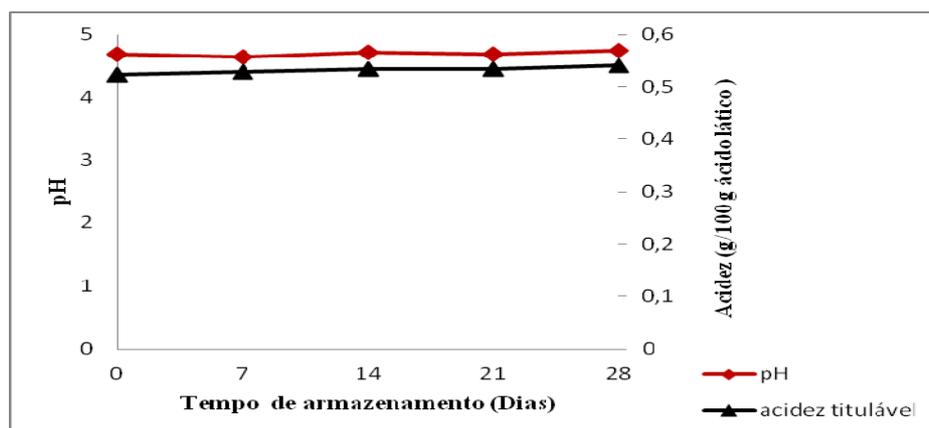


Figura 2 Teores de pH e acidez titulável da bebida láctea sabor café com soro lácteo durante os 28 dias de armazenamento a 4°C

Pela análise dos dados não houve diferença significativa no pH e na acidez do produto durante o armazenamento. Pode-se observar que os valores de pH e acidez da bebida ao longo dos cinco tempos estudados mantiveram-se constantes, o que pode estar relacionado aos tipos de microrganismos utilizados na fermentação do produto (cultura ABT), conhecida por promover uma baixa

pós-acidificação devido à ausência do *L. bulgaricus* (DAMIM et al., 2009; ZACARCHENCO; MASSAGUER-ROIG, 2004), além de reduzir o período de fermentação do produto. Associado ao tipo de fermento utilizado, o produto foi retirado da fermentação com um pH mais elevado (pH= 5,0), justamente com o objetivo de se evitar uma possível pós-acidificação que poderia ter sido iniciada durante o período de resfriamento do produto para posterior armazenamento refrigerado a 4°C, uma vez que mesmo encerrada a fermentação, a mesma continua muito lentamente durante o resfriamento (THAMER; PENNA, 2006). A manutenção dos níveis de pH e acidez mostrou-se benéfica para as características do produto uma vez que, conforme alguns autores, variações de pH e acidez podem contribuir para o desenvolvimento de características sensoriais e estruturais indesejáveis ao produto, além de causar a redução na viabilidade de bactérias probióticas (THAMER; PENNA, 2006; VINDEROLA; BAILO; REINHEIMER, 2000).

Diferentemente dos resultados obtidos neste trabalho, Kailasapathy, Harmstorf e Phillips (2008) apresentaram uma significativa queda dos valores de pH e aumento dos valores de acidez durante o período de armazenamento dos diferentes tipos de iogurte avaliados. Os autores atribuíram os resultados obtidos a uma provável continuidade do processo de fermentação pelas bactérias do ácido láctico, embora os iogurtes tenham sido fabricados utilizando apenas *S. thermophilus*. Antunes, Cazzeto e Bolini (2005), avaliando o efeito da adição de concentrado proteico de soro na pós-acidificação durante armazenamento refrigerado relataram que a pós-acidificação observada ocorreu principalmente em função da presença do *L. bulgaricus*.

De acordo com os padrões de higiene preconizados pela legislação em vigor (BRASIL, 2005) e considerando o padrão para coliformes a 35°C e a 45°C, não se verificou contaminação por bactérias desse grupo. Para contagem

total de bolores e leveduras, também não se detectou a presença na bebida ao longo do período de armazenamento.

A viabilidade de microrganismos probióticos como *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp. em produtos lácteos depende de uma série de fatores como a cepa da bactéria utilizada, utilização de culturas “starter”, interação entre espécies presentes, tempo de fermentação, condições de armazenamento, disponibilidade de nutrientes, pós-acidificação durante o armazenamento, dentre outras (KAILASAPATHY; HARMSTORF; PHILLIPS, 2008; VINDEROLA; BAILO; REINHEIMER, 2000; VINDEROLA et al., 2000). A viabilidade de *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus* utilizados na fermentação da bebida láctea sabor café são demonstradas nas Figuras 3 e 4, respectivamente.

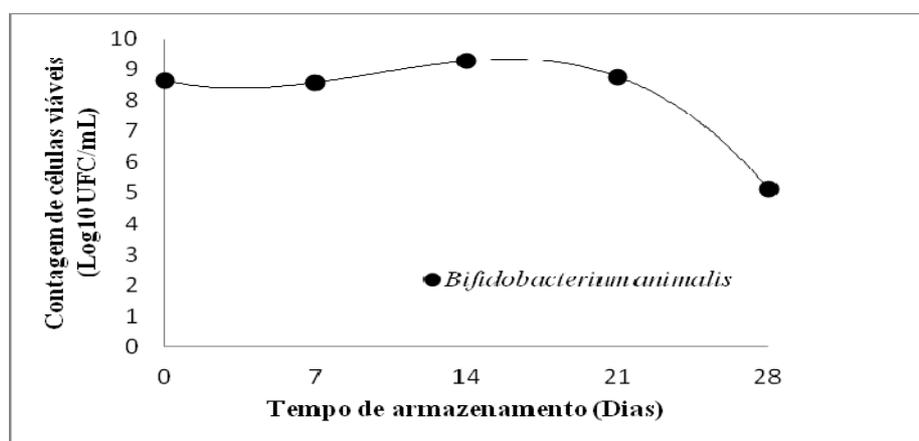


Figura 3 Viabilidade de *Bifidobacterium animalis* em bebida láctea sabor café durante os 28 dias de armazenamento a 4°C

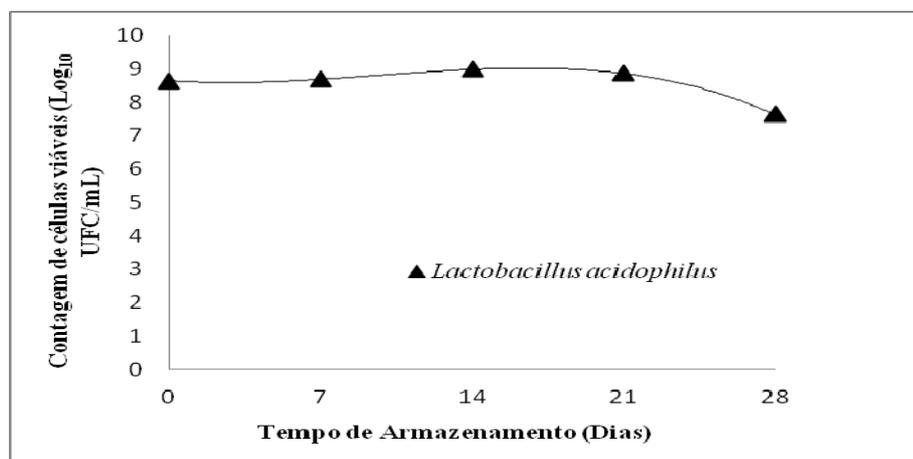


Figura 4 Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* em bebida láctea sabor café durante os 28 dias de armazenamento a 4°C

A contagem de *Bifidobacterium animalis* decresceu de $4,8 \times 10^8$ UFC/mL no tempo zero (produto fresco) para $1,10 \times 10^5$ UFC/mL ao final dos 28 dias de armazenamento, enquanto a contagem de *Lactobacillus acidophilus* passou de $5,30 \times 10^8$ UFC/mL para $6,30 \times 10^7$ UFC/mL ao final do armazenamento. A partir desse resultado notou-se que apenas o *L. acidophilus* manteve o número de células viáveis no produto durante todo o período de armazenamento. Segundo a legislação vigente, para que o produto seja considerado funcional, ele deve apresentar até o final do seu prazo de validade pelo menos entre 10^8 e 10^9 UFC na porção diária, o que equivale ao consumo de 100 g de produto contendo entre 10^6 e 10^7 UFC de microrganismos probióticos (BRASIL, 2002). O resultado obtido pode ser atribuído a interferência de fatores como nível de oxigênio no produto, permeabilidade de oxigênio através da embalagem, disponibilidade de nutrientes, presença de compostos antimicrobianos, interação entre espécies presentes, condições de armazenamento, dentre outros fatores que afetam a viabilidade de bactérias probióticas (KAILASAPATHY; HARMSTORF; PHILLIPS, 2008; MACEDO

et al., 2008; VINDEROLA; BAILO; REINHEIMER, 2000; VINDEROLA et al., 2000).

A presença do café solúvel (produto altamente concentrado), utilizado como ingrediente para compor o sabor da bebida, pode ter interferido na viabilidade de ambos os probióticos, mas especialmente na viabilidade do *B. animalis* (mais sensível a variações do meio), devido à natureza ácida de seus constituintes. Dentre os constituintes típicos do café destacam-se a cafeína, os ácidos carboxílicos e os ácidos fenólicos, que indiretamente podem ter influenciado na acidificação, mesmo que suave, da bebida láctea durante o armazenamento (MAMEDE et al., 2010; SIQUEIRA; ABREU, 2006; VIGNOLI; BASSOLI, 2007).

Associado à presença do café, a concentração mais elevada de açúcar utilizada na formulação (12%) também pode ter interferido negativamente na viabilidade do *B. animalis*. De acordo com alguns autores, altas concentrações de açúcar adicionadas ao leite antes da fermentação podem inibir bactérias do iogurte devido aos efeitos osmóticos dos solutos e a baixa atividade de água (SHAH, 2000; VINDEROLA; REINHEIMER, 2000). Segundo Gardini et al. (1999) o conteúdo de sólidos totais do produto afeta a viabilidade de probióticos.

Ozcan et al. (2010) avaliando a viabilidade de *Bifidobacterium bifidum* e *L. acidophilus* em pudim de arroz verificaram diferenças significativas entre o número de células viáveis desses dois microrganismos ao longo do tempo. Foi observado também que a concentração de bifidobactéria foi maior durante o período de armazenamento que a de lactobacilos, porém a viabilidade de *L. acidophilus* foi menos afetada a que a de *B. bifidum* durante os 21 dias de armazenamento. Os autores ainda concluíram que o pudim de arroz poderia ser utilizado como produto para carrear probióticos, uma vez que as contagens dos dois microrganismos utilizados mantiveram-se elevadas durante todo o período de armazenamento.

Baixas contagens de culturas probióticas foram observadas por Vinderola, Bailo e Reinheimer (2000), ao estudarem a viabilidade de bactérias do iogurte durante o armazenamento refrigerado a 5°C por quatro semanas. Os autores observaram que o nível de perda da viabilidade depende do tipo de iogurte (firme ou líquido, semidesnatado ou integral) bem como da cultura láctica utilizada. Inicialmente as contagens de *L. acidophilus* e *B. bifidum* variaram entre 10⁶ e 10⁷ UFC/ml, enquanto ao final do armazenamento as contagens eram menores que 10⁴ UFC/ml.

Almeida et al. (2008) em estudo da viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum* em iogurte com polpa de açaí verificaram que o crescimento das culturas não foi inibido pelos baixos valores de pH durante os 21 dias de armazenamento. Além disso, a pós-acidificação não exerceu influência nas características dos iogurtes com polpa de açaí.

Segundo Cunha et al. (2008) as características reológicas são essenciais para a aceitabilidade de um produto, podendo a viscosidade ser utilizada para classificar o comportamento de diversos fluidos. A Tabela 1 representa as médias da variável viscosidade ao longo do período de armazenamento. A análise dos dados demonstrou não ter havido diferença significativa para a variável em questão durante os 28 dias de armazenamento do produto.

Tabela 1 Médias harmônicas da variável viscosidade de bebidas lácteas sabor café durante os 28 dias de armazenamento refrigerado a 4°C

Tempos de armazenamento (Dias)	Viscosidade
	Médias
0	82,7033 ^a
7	93,0800 ^a
14	89,2900 ^a
21	82,7067 ^a
28	94,3233 ^a

*Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si (p ≤ 0,05)

Segundo Vinderola, Bailo e Reinheimer (2000), a estabilidade da viscosidade do produto relaciona-se com manutenção de níveis constantes de pH obtido. Um rigoroso controle dos valores de pH evita que ocorram possíveis separações de fases, acidificação elevada, influenciada pelo tempo de fermentação e alterações indesejáveis nas características sensoriais do produto.

A partir da análise dos dados, obtiveram-se os parâmetros reológicos para dois modelos de comportamento de fluido, como ilustram as Tabelas 2 e 3.

Tabela 2 Parâmetros reológicos da Bebida Láctea Fermentada sabor Café para o modelo da Lei da Potência ao longo dos 28 dias de armazenamento refrigerado a 4°C

Tempo (Dias)	K (Pa.s)	n	R ²
0	1085 ^a	0,28667 ^b	97,03
7	1072 ^a	0,31667 ^b	96,50
14	1172 ^a	0,28667 ^b	95,93
21	1003 ^a	0,30000 ^b	95,93
28	1064 ^a	0,32000 ^b	94,73

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

Tabela 3 Parâmetros reológicos da Bebida Láctea Fermentada sabor Café para o modelo de Herschell-Bulkley ao longo dos 28 dias de armazenamento refrigerado a 4°C

Tempo (Dias)	K (Pa.s)	n	T ₀	R ²
0	353 ^a	0,5133 ^a	0,8467 ^a	99,16
7	329 ^a	0,5733 ^{ab}	0,8967 ^{ab}	98,46
14	370 ^{ab}	0,5267 ^{ab}	0,8200 ^{ab}	97,93
21	238 ^{bc}	0,6167 ^{bc}	0,9300 ^{ab}	98,63
28	462 ^c	0,5000 ^c	0,7200 ^b	96,53

*Médias seguidas de mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$). K – índice de consistência. n – índice de comportamento do fluido. T₀ – tensão de cisalhamento inicial. R² – coeficiente de determinação

Observando-se os coeficientes de determinação (R²) dos parâmetros reológicos obtidos pode-se concluir que a bebida láctea fermentada sabor café ajustou-se melhor ao modelo de Herschell-Bulkley. A bebida láctea apresentou

comportamento de fluido não newtoniano, com características de pseudoplasticidade, ou seja, existe um decréscimo na viscosidade com o aumento da tensão de cisalhamento (McCLEMENTS, 2005). As alterações dos parâmetros reológicos podem ter sido decorrentes da presença do estabilizante na constituição do produto, bem como de possíveis sinergismos entre demais componentes da formulação da bebida.

Alguns autores (KOKSOY; KILIC, 2004; PENNA; SIVIERI; OLIVEIRA, 2001) afirmam que o modelo da Lei da Potência (Ostwald de Waale) é o que melhor caracteriza bebidas lácteas, porém, outros autores como Teles e Flôres (2007), estudando o comportamento reológico de iogurte desnatado adicionado de sólidos, mostraram que algumas amostras se ajustaram melhor ao modelo de Herschell-Buckley.

A Figura 5 (A e B) representa as relações entre tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento (curvas ascendentes e curvas descendentes) para a bebida láctea fermentada sabor café ao longo do armazenamento refrigerado. Verificou-se que as curvas não apresentaram uma relação linear entre tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento, caracterizando mais uma vez o produto em estudo como um fluido não newtoniano.

De forma geral, a viscosidade aumenta com o incremento da concentração de sólidos solúveis. Caldeira et al. (2010) em estudo com bebida láctea à base de soro de leite de búfala verificaram que as formulações com menores teores de soro (10 e 20%), ou seja, com maior teor de sólidos, apresentaram maiores valores para viscosidade. Uma maior viscosidade está associada à redução do fluido para lubrificação intermolecular e formação de hidratos pelos íons e moléculas e agregados moleculares, que aumentam o atrito entre as camadas do fluido (GOMES; PENNA, 2009).

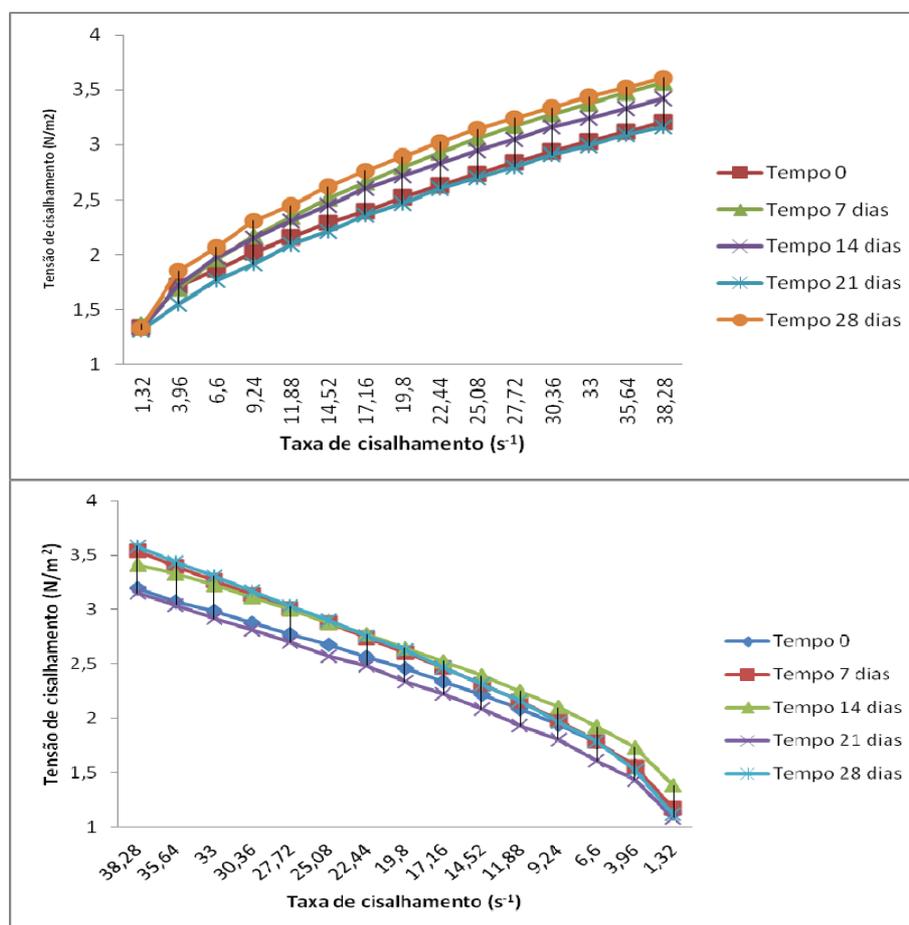


Figura 5 Reogramas da bebida láctea fermentada sabor café obtido a partir da relação entre taxa e tensão de cisalhamento durante o armazenamento, curvas ascendentes (A) e curvas descendentes (B)

Pode-se dizer que o comportamento da bebida láctea em relação às características reológicas teve influência dos ingredientes não lácteos a ela adicionados, especialmente pela adição de estabilizante ao produto para se evitar a sinerese. Teles e Flôres (2007), obtiveram um aumento da viscosidade de iogurte natural desnatado com adição de gelatina, goma guar, goma xantana e

leite em pó desnatado. Esse resultado revela uma relação direta entre viscosidade com a porcentagem de sólidos totais do produto.

As condições de fermentação também podem interferir nas características reológicas, segundo Haque, Richardson e Morris (2001). Aumentando-se a temperatura (de 37 a 46°C) ocorre um aumento na taxa de redução do pH na formação da estrutura, na firmeza do gel e na viscosidade do iogurte. A formação do gel se atribui ao aumento na extensão e na força de ligações hidrofílicas quando a temperatura de fermentação é alcançada (HAQUE; RICHARDSON; MORRIS, 2001).

Mohebbi e Ghoddusi (2008), em estudo com iogurtes contendo bactérias probióticas verificaram a influência de culturas *starter* sobre as características reológicas de bioiogurtes durante 14 dias de armazenamento refrigerado a 4°C. Os autores concluíram que o tipo de cultura *starter* utilizada teve influência significativa sobre alguns parâmetros reológicos como dureza, elasticidade, coesividade, adesividade, mastigabilidade e gomosidade. Fazendo-se uma comparação com esses resultados, pode-se dizer que no presente trabalho a cultura *starter* utilizada (*S. thermophilus*) e os demais ingredientes utilizados na fabricação da bebida láctea fermentada sabor café não interferiram de maneira significativa para alteração dos parâmetros reológicos do produto durante o período de armazenamento estudado.

Neste estudo tanto a adição do estabilizante, para evitar a sinerese, como as utilizações do café solúvel, como sabor da bebida, influenciaram para o aumento do teor de sólidos totais do produto, o que favoreceria o incremento na viscosidade. Porém, além de se tratar de uma formulação com maior concentração de soro e, conseqüentemente, com menor teor de sólidos, a viscosidade tende a diminuir ao longo do armazenamento devido ao consumo de açúcares pelos microrganismos, pela destruição de fracas ligações físicas

existentes, bem como pela diminuição da energia de interação entre as moléculas (HORNE, 1998; LUCEY, 2002; RAIMUNDO et al., 2007).

3.2 Avaliação sensorial: teste de aceitação durante o armazenamento

Os dados relativos à frequência de consumo de café e à frequência de consumo de bebidas lácteas fermentadas ou iogurtes estão ilustrados nas Figuras 6 e 7, respectivamente.

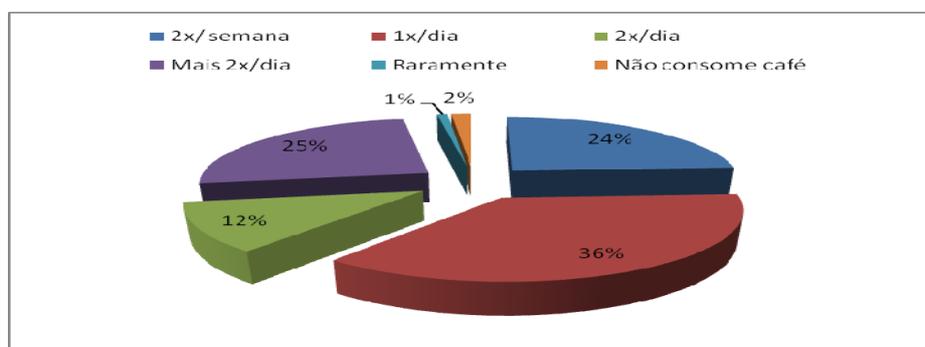


Figura 6 Frequência do consumo de café pelos consumidores participantes da avaliação sensorial de bebida láctea fermentada sabor café com soro lácteo

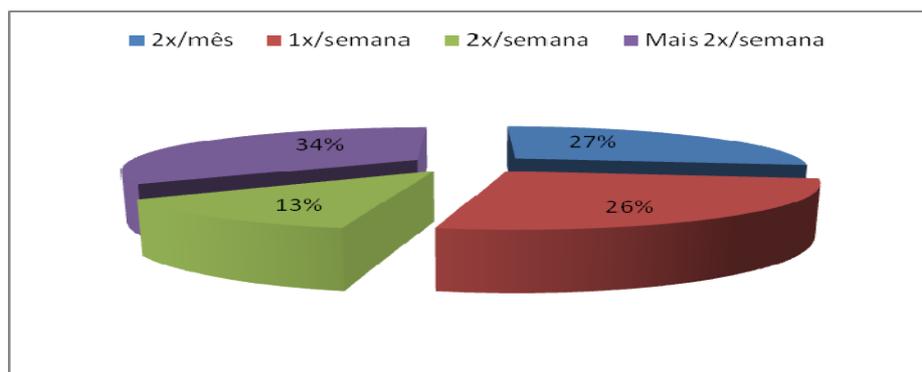


Figura 7 Frequência do consumo de bebidas lácteas e/ou iogurtes pelos consumidores participantes da avaliação sensorial de bebida láctea fermentada sabor café com soro lácteo

O estudo de frequência de consumo com os consumidores que participaram do teste de aceitação da bebida láctea fermentada sabor café revelou que 36% das pessoas consomem café pelo menos uma vez ao dia, enquanto 34% têm o hábito de consumir bebidas lácteas ou iogurtes mais de duas vezes por semana.

A Figura 8 representa o mapa de preferência interno com a representação das amostras (quadrados) das bebidas lácteas estocadas durante 0, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento refrigerado e dos consumidores (pontos).

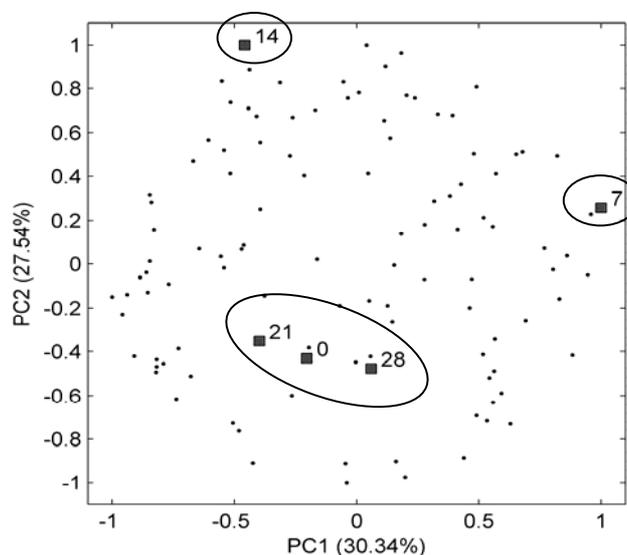


Figura 8 Mapa de preferência interno da bebida láctea sabor café com soro de lácteo em relação às notas de aceitação global da bebida nos cinco diferentes tempos de armazenamento refrigerado a 4°C

Observou-se a formação de três grupos distintos dos tempos de armazenamento avaliados da bebida láctea sabor café de acordo com os dados de aceitação sensorial. A formação desses grupos pode ser atribuída a uma similaridade entre as bebidas no que se refere aos aspectos globais identificados pelos consumidores. Embora as amostras estejam separadas no mapa (Figura 8),

observa-se uma distribuição homogênea dos consumidores, não sendo possível eleger a(s) amostra(s) preferidas em relação ao aspecto global.

Diferente dos resultados obtidos neste trabalho, Maity, Kumar e Misra (2008) observaram uma diminuição na aceitação sensorial de uma bebida à base de soro contendo probióticos (*L. rhamnosus*, *B. bifidum* e *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*) ao longo dos 15 dias de armazenamento refrigerado avaliados. Essa diminuição na aceitação foi associada ao desenvolvimento de um leve gosto azedo pelo produto ao final do período de estocagem.

De maneira geral, o produto apresentou boa aceitação pelos consumidores ao longo dos diferentes tempos de armazenamento, sendo que as notas médias dos diferentes tempos variam entre 6,17 e 6,55 (entre os termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”).

4 CONCLUSÃO

- a) Ao longo dos 28 dias de armazenamento refrigerado a 4°C da bebida láctea sabor café com probióticos os valores de pH e acidez titulável não apresentaram diferença significativa, permanecendo constantes, assim como o comportamento reológico.
- b) O produto manteve número de células viáveis para *B. animalis* apenas até o 21º dia de armazenamento refrigerado a 4°C, conforme estabelece a legislação brasileira para classificação como produto probiótico.
- c) Para o *L. acidophilus* a bebida láctea fermentada sabor café permaneceu com número de células viáveis até o 28º dia de armazenamento refrigerado a 4°C.
- d) O estudo de frequência revelou que 36% dos participantes do teste de aceitação consomem café pelo menos uma vez ao dia, enquanto 34% têm o hábito de consumir bebidas lácteas ou iogurtes mais de duas vezes por semana.
- e) A aceitação sensorial do produto também não foi afetada pelo tempo de armazenamento, tendo o produto apresentado uma boa aceitação global pelos consumidores.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, K. E.; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas com soro de queijo minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 2, p. 187–192, maio/ago. 2001.
- ALMEIDA, K. E.; TAMIME, A. Y.; OLIVEIRA, M. N. Influence of total solids contents of milk whey on the acidifying profile and viability of various lactic acid bacteria. **Food Science and Technology**, London v. 42, p. 672–678, 2009.
- ALMEIDA, M. H. B. et al. Potentially probiotic açai yogurt. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 61, n. 2, p. --, May 2008.
- ANTUNES, A. E. C.; CAZZETO, T. F.; BOLINI, H. M. A. Viability of probiotic micro-organisms during storage, postacidification and sensory analysis of fat-free yogurts with added whey protein concentrate. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 58, n. 3, p. 169–173, Aug. 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.16, de 23 de agosto de 2005. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 ago. 2005 , Seção 1, p. 7.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 2, de 7 de janeiro de 2002. Regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, p.191. 17 jul. 2002.
- CALDEIRA, L. A. C. et al. Desenvolvimento de bebida láctea sabor morango utilizando diferentes níveis de iogurte e soro lácteo obtidos com leite de búfala. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 10, p. 2193–2198, out. 2010.
- CHR HANSEN. Culturas probióticas em produtos lácteos. **Food Ingredients Brasil**, São Paulo, v. 3, n. 17, p. 20-27, 2002.
- CRUZ, A. G. et al. Survavil analysis methodology to predict the shelf-life of probiotic flavored yogurt. **Food Research International**, Barking, v. 43, p. 1444–1448, 2010.

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

DAMIN, M. R. et al. Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt. **Food Science and Technology**, London, v. 42, n. 10, p. 1744–1750, 2009.

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

DOLEYRES, Y.; LACROIX, C. Technologies with free and immobilised cells for probiotic bifidobacteria production and protection. **International Dairy Journal**, Barking, v. 15, p. 973–988, 2005.

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

GARDINI, F. et al. Evaluation of aroma production and survival of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* in fermented milks. **International Dairy Journal**, Barking, v. 9, p. 125–134, 1999.

GOMES, R. G.; PENNA, A. L. B. Características reológicas e sensoriais de bebidas lácteas funcionais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 629–646, jul./set. 2009.

GRANATO, D. et al. Probiotic dairy products as functional foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 9, p. 455–470, 2010.

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

HORNE, D. S. Casein interactions: casting light on the Black Boxes, the structure in dairy products. **International Dairy Journal**, Barking, v. 8, n. 3, p. 171-177, 1998.

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

KAILASAPATHY, K.; HARMSTORF, I.; PHILLIPS, M. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* in stirred fruit yogurts. **Food Science and Technology**, London, v. 48, p. 1317–1322, 2008.

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

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

KROLOW, A. C. R. **Iogurte integral sabor café**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. Comunicado Técnico. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/comunicados/comunicado_193.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2012.

LUCEY, J. A. Formation and physical properties of milk protein gels. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 2, p. 281-294, 2002.

MACEDO, L. N. et al. Efeito prebiótico do mel sobre o crescimento e viabilidade de *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. em leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 935-942, 2008.

MAITY, T. K.; KUMAR, R.; MISRA, A. K. Development of healthy whey drink with *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum* and *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*. **Mljekarstvo**, Zagreb, v. 58, n. 4, p. 315–325, 2008.

MAMEDE, M. E. O. et al. Avaliação sensorial e química de café solúvel descafeinado. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 2, p. 311–324, abr./jun. 2010.

MC CLEMENTS, J. **Food biopolymers and colloids research laboratory**. Disponível em: <<http://www.unix.oit.umass.edu/~mcclemen/581Rheology.html>>. Acesso em: 24 mar. 2012.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa, MG: UFV, 2010. p. 308.

MOHEBBI, M.; GHODDUSI, H. B. Rheological and sensory evaluation of yoghurts containing probiotic cultures. **Journal of Agricultural Science and Technology**, Tehran, v. 10, n. 2, p. 147–155, 2008.

OLIVEIRA, M. N. et al. Effect of Milk supplementation and cultura composition on acidification textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bactéria. **International Dairy Journal**, Barking, v. 11, p. 935–942, 2001.

OZCAN, T. et al. Viability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-12 in rice pudding. **Mljekarstvo**, Zagreb, v. 60, n. 2, p. 135–144, 2010.

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

PEREIRA, D. B. C. et al. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. 2. ed. Juiz de Fora: Oficina de Impressão, 2001.

RAIMUNDO, E. et al. Cor, viscosidade e bactérias lácticas em suco de laranja pasteurizado e submetido ao efeito da luz durante o armazenamento. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 18, n. 4, p. 449–456, out./dez. 2007.

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

SHAH, N. P.; LANKAPUTHRAB, W. E. V. Improving viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium spp.* in yogurt. **International Dairy Journal**, Barking, v. 7, p. 349-356, 1997.

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

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 2010. 317 p.

SIQUEIRA, H. H.; ABREU, C. M. P. Composição físico-química e qualidade do café submetido a dois tipos de torração e com diferentes formas de processamento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 112–117, jan./fev. 2006.

TELES, C. D.; FLÔRES, S. H. Influência da adição de espessantes e leite em pó nas características reológicas do iogurte desnatado. **Boletim do Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 25, n. 2, p. 247-256, 2007.

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

VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Probiotics: from metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, Barking, v. 18, p. 714–728, 2008.

VIGNOLI, J. A.; BASSOLI, D. G. Determinação de ácidos carboxílicos e fenólicos em café solúvel utilizando HPLC/DAD. **Revista Analytica**, São Paulo, n. 27, p. 76–79, fev./mar. 2007.

VINDEROLA, C. G.; BAILO, N.; REINHEIMER, J. A. Survival of probiotic in Argentina yogurts during refrigerate storage. **Food Research International**, Barking, v. 33, p. 97-102, 2000.

VINDEROLA, C. G. et al. Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, Barking, v. 12, p. 579–589, 2002.

VINDEROLA, C. G. et al. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and non probiotic microflora in Argentinian fresco cheese. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 9, p. 1905–1911, 2000.

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

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

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

ANEXOS

ANEXO A

FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL

Sexo: M () ; F () Data: _____

Faixa etária: () 15, a 25 anos; () 26, a 35 anos; () 36, a 45 anos;
() 46, a 60 anos; () mais que 60 anos

Frequência de consumo de bebidas lácteas:

() 2 vezes ao mês; () 1 vez por semana; () 2 vezes por semana;
() mais de 2 vezes por semana.

Frequência de consumo de café:

() 2 vezes por semana; () 1 vez ao dia; () 2 vezes ao dia;
() mais de 2 vezes ao dia.

Avalie a amostra as amostras e indique, utilizando a escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou dos atributos APARENCIA, AROMA, SABOR e IMPRESSÃO GLOBAL.

	Amostra n°	Nota Aparência	Nota Aroma	Nota Sabor	Nota Impressão global
9 - gostei extremamente	_____	_____	_____	_____	_____
8 - gostei muito	_____	_____	_____	_____	_____
7 - gostei moderadamente	_____	_____	_____	_____	_____
6 - gostei ligeiramente	_____	_____	_____	_____	_____
5 - nem gostei/nem desgostei	_____	_____	_____	_____	_____
4 - desgostei ligeiramente	_____	_____	_____	_____	_____
3 - desgostei moderadamente	_____	_____	_____	_____	_____
2 - desgostei muito	_____	_____	_____	_____	_____
1 - desgostei extremamente	_____	_____	_____	_____	_____

Comentários: _____

Agora, por favor, avalie a intenção de compra em relação a cada uma das amostras avaliadas.

	Amostra n°	Nota intenção de compra
5 - Certamente compraria	_____	_____
4 - Provavelmente compraria	_____	_____
3 - Indiferente (não sei)	_____	_____
2 - Provavelmente não compraria	_____	_____
1 - Certamente não compraria	_____	_____

Figura 1 Ficha de avaliação sensorial utilizada no pré-teste de aceitação de bebida láctea fermentada sabor café com soro de queijo minas frescal realizado com consumidores para a definição dos limites máximo e mínimo da concentração de café solúvel

Avaliação Sensorial de Bebida Láctea Fermentada

Nome: _____ Data: _____ Sexo: () Feminino () Masculino

Frequência de consumo de bebida láctea: () 1 vez ao mês; () 2 vezes ao mês; () 1 vez por semana; () 2 vezes por semana; () todos os dias

Faixa etária: () 15 a 30 anos; () 31 a 45 anos; () 45 a 60 anos; () mais que 60 anos

Por favor, prove as amostras da esquerda para direita e avalie, utilizando a escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou da aparência, do aroma, do sabor, da textura e da impressão global de cada uma delas. Lave a boca com água entre uma amostra e outra.

- 9 – Gostei extremamente
8 – Gostei muito
7 – Gostei moderadamente
6 – Gostei ligeiramente
5 – Nem gostei/nem desgostei
4 – Desgostei ligeiramente
3 – Desgostei moderadamente
2 – Desgostei muito
1 – Desgostei extremamente

Nº amostra	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	Impressão global

Comentários: _____

Agora avalie, de acordo com a escala abaixo, a intenção de compra das bebidas.

- 5 – Certamente compraria
4 – Provavelmente compraria
3 – Tenho dúvidas se compraria
2 – Provavelmente não compraria
1 – Certamente não compraria

Nº amostra	Intenção de compra

Figura 2 A Ficha de avaliação sensorial de aceitação utilizada no teste de aceitação sensorial com consumidores dos 11 tratamentos de bebida láctea sabor café com soro de queijo minas frescal

FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL

Sexo: M (); F ()

Frequência de consumo de bebidas lácteas:

() 2 vezes ao mês; () 1 vez por semana; () 2 vezes por semana;
 () mais de 2 vezes por semana.

Frequência de consumo de café:

() 2 vezes por semana; () 1 vez ao dia; () 2 vezes ao dia;
 () mais de 2 vezes ao dia.

Avalie a amostra e indique, utilizando a escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou do **ASPECTO GLOBAL**.

	Amostra n°	Nota Aspecto global
9 – gostei extremamente	_____	_____
8 – gostei muito		
7 – gostei moderadamente		
6 – gostei ligeiramente		
5 – nem gostei/nem desgostei		
4 – desgostei ligeiramente		
3 – desgostei moderadamente		
2 – desgostei muito		
1 – desgostei extremamente		

Por favor, indique agora sua intenção de compra em relação ao **produto**

() Compraria
 () Não compraria

Comentários: _____

Figura 3A Ficha de avaliação sensorial utilizada no teste de avaliação sensorial de aceitação de bebida láctea sabor café com soro de queijo minas frescal nos cinco tempos de armazenamento refrigerado a 4°C