

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

LOURDES MARIA PESSÔA MASSON

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA
FERMENTADA SUBMETIDA AO PROCESSAMENTO
TÉRMICO E/OU À HOMOGENEIZAÇÃO À ULTRA-
ALTA PRESSÃO

Rio de Janeiro
2010

LOURDES MARIA PESSÔA MASSON

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA
FERMENTADA SUBMETIDA AO PROCESSAMENTO
TÉRMICO E/OU À HOMOGENEIZAÇÃO À ULTRA-
ALTA PRESSÃO

Tese de Doutorado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação
em Tecnologia de Processos
Químicos e Bioquímicos em
Engenharia Química, Escola de
Química, Universidade Federal
do Rio de Janeiro como
requisito parcial à obtenção do
título de Doutor em Engenharia
Química

Orientadores: Verônica Maria de Araújo Calado e Amauri Rosenthal

Rio de Janeiro, RJ
2010

M419d Masson, Lourdes Maria Pessoa.

Desenvolvimento de bebida láctea fermentada submetida ao processamento térmico e/ou à homogeneização à ultra-alta pressão/ Lourdes Maria Pessoa Masson.- 2010.

xxxi, 123 f.:il.

Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2010.

Orientadores: Verônica Maria de Araújo Calado e Amauri Rosenthal

1. Homogeneização à Ultra-Alta Pressão. 2. Atributos sensoriais de bebidas lácteas probióticas. 3. Características reológicas, físico-químicas e microbiológicas de bebidas lácteas – Teses. I. Calado, Verônica Maria de Araújo. (Orient.). II. Rosenthal, Amauri. (Orient.). III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Programa em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química. IV. Título.

CDD: 637.141

LOURDES MARIA PESSÔA MASSON

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA SUBMETIDA AO
PROCESSAMENTO TÉRMICO E/OU À HOMOGENEIZAÇÃO À ULTRA-ALTA
PRESSÃO

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Tecnologia de Processos Químicos e
Bioquímicos em Engenharia Química,
Escola de Química, Universidade
Federal do Rio de Janeiro como
requisito parcial à obtenção do título
de Doutor em Engenharia Química

Aprovada em ____/____/____

Verônica Maria de Araújo Calado, DSc. Profa. EQ, UFRJ
(Orientador)

Amauri Rosenthal, DSc. Pesquisador. Embrapa Agroindústria de Alimentos
(Orientador)

Daniela de Grandi Castro Freitas, DSc. Pesquisador. Embrapa Agroind. Alimentos

Sonia Couri, DSc. Pesquisador. Embrapa Agroindústria de Alimentos

Marcelo Cristianini, DSc. Prof. FEA, UNICAMP

Selma Gomes Ferreira Leite, DSc. Profa. UFRJ

Suely Pereira Freitas, DSc. Profa. UFRJ

À memória de meus pais, Gloria e Francisco, pela dedicação e amor.
Ao Antonio, pelo carinho e força.
À Letícia, Alice e Clarisse, pela motivação e admiração.
Aos meus irmãos e irmãs pelo encorajamento.
Dedico com muito amor.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Dr^a Verônica Calado pela orientação cuidadosa e robusta.

À Dr^a Rosires Deliza pela orientação dedicada e consistente na etapa de desenvolvimento e caracterização sensorial das bebidas lácteas.

Ao Dr. Amauri Rosenthal pela orientação, força e apoio.

À Renata Torrezan por toda a presteza e respeito no desenvolvimento experimental deste trabalho.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos pela dedicação.

Aos estagiários Luana Tashima, Henrique Bevilaqua, Jéssica Gonçalves e Gabriel Baptista pela energia da juventude nos muitos momentos árdusos.

Aos profissionais da Embrapa Agroindústria de Alimentos pelo apoio constante.

Aos colegas e alunos do Instituto Federal do Rio de Janeiro (ex-CEFET Química) pela motivação e interesse no trabalho desenvolvido.

À Universidade Federal do Rio de Janeiro pelo oferecimento deste Curso de Doutorado e pela possibilidade de uso de equipamentos necessários a este estudo.

À Embrapa Agroindústria de Alimentos por possibilitar o uso de suas instalações e equipamentos para a realização de experimentos desta pesquisa.

E a Deus pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Enfim, agradeço a todos por tudo, na certeza de que todos somos um.

RESUMO

Nesta pesquisa foram desenvolvidas bebidas probióticas a partir de base láctea, constituída de leite desnatado cru ou esterilizado comercialmente (UHT) e soro de leite desidratado reconstituído, processada termicamente ou por Homogeneização à Ultra-Alta Pressão – HUAP. O objetivo foi estudar os efeitos dos fatores temperatura de entrada e nível de pressão provocados sobre as características reológicas, físico-químicas e microbiológicas desses produtos e compará-los aos controles obtidos por processo térmico. Adicionalmente, foi proposto um modelo matemático para avaliar o comportamento reológico dos diferentes tipos de bebidas produzidos. Na etapa de caracterização sensorial, dois tipos de produtos desenvolvidos foram analisados: bebida láctea fermentada adicionada de polpa de abacaxi adoçada com açúcar - $F_{\text{leite:soro/polpa+açúcar}}$ - ou com aspartame - $L_{\text{leite:soro/polpa+aspartame}}$ - , seguindo-se planejamento experimental (fatorial 2^2 com ponto central e dois pontos adicionais) e comparados a três produtos comerciais similares. Assim, a base láctea foi termicamente processada ($90^{\circ}\text{C}/60$ s), antes da etapa de fermentação com a cultura probiótica (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Streptococcus thermophilus*). A Análise Descritiva Quantitativa - ADQ - foi determinante na identificação da formulação mais adequada a uma bebida láctea fermentada. Os dados tratados por análise de variância (ANOVA) e análise de componentes principais (ACP) mostraram que as formulações dos produtos com maiores teores de soro (F_{50} e L_{50}) apresentaram os atributos sensoriais característicos a esse tipo de bebida. Após essa etapa e aplicando-se um segundo planejamento experimental (fatorial 2^2 com ponto central e repetição), a base láctea foi submetida aos níveis de pressão: 150, 200 e 250 MPa e de temperaturas de entrada: 15, 20 e 25°C ou 10, 15 e 20°C , utilizando-se como controles as bebidas obtidas a partir da base láctea termicamente processada: $90^{\circ}\text{C}/60$ s ou $43^{\circ}\text{C}/60$ s. Desse modo, diferentes amostras e controles foram elaborados: bebida láctea fermentada – BL -, adicionada de polpa de abacaxi adoçada com açúcar – BLA - ou com aspartame – BLL, objetivando-se avaliar o efeito do processo de HUAP sobre as características reológicas em condições de estado estacionário e de estado oscilatório. A maioria das amostras exibiu comportamento viscoelástico e tixotropia. Os testes em estado oscilatório mostraram ser a HUAP interessante por modular favoravelmente as propriedades viscoelásticas: módulos elástico (G') e viscoso (G''), bem como a viscosidade complexa (η^*) dessas bebidas. As amostras exibiram região de viscoelasticidade linear e comportamento característico de gel fraco. As bebidas lácteas não apresentaram diferenças significativas quanto aos fatores nível de pressão e temperatura de entrada nas variáveis dependentes relativas à caracterização físico-química. Quanto à caracterização microbiológica nem todos os produtos desenvolvidos atenderam à exigência legal de contagem de bactérias lácticas totais superior a 10^6 UFC/mL por um período de 28 dias, sendo isso possível apenas para os controles das bebidas termicamente processadas ($90^{\circ}\text{C}/60$ s ou $43^{\circ}\text{C}/60$ s). Na HUAP observou-se aumento da temperatura da base láctea (cerca de $22^{\circ}\text{C}/100$ MPa), como consequência do aquecimento adiabático gerado no interior do equipamento, em adição à turbulência, forças de cisalhamento e cavitação que o fluido sofre na válvula de homogeneização.

Palavras chaves: Homogeneização a Ultra-Alta Pressão (HUAP); Atributos sensoriais de bebidas lácteas probióticas; Características físico-químicas, microbiológicas e reológicas de bebidas lácteas.

ABSTRACT

In this research were developed probiotic beverages from the dairy base, consisting of raw skim milk or commercially sterilized (UHT) and reconstituted dried whey, thermally processed or by Ultra-High Pressure Homogenization – UHPH. The objective was to study the factors effects inlet temperature and pressure level caused on the rheological, physicochemical and microbiological characteristics of those products and compare them to controls obtained by thermal processes. Additionally, was proposed a mathematical model to evaluate the rheological behavior of different types of beverages produced. In the stage of sensory characterization, two types of products developed were analyzed: fermented dairy beverage with added pineapple pulp sweetened with sugar - $F_{\text{milk:whey/pulp} + \text{sugar}}$ - or aspartame - $L_{\text{milk:whey/pulp} + \text{aspartame}}$ - following 2^2 factorial experimental design with central point and two additional points, and compared to three similar commercial products. Thus, the dairy base was thermally processed (90°C/60 s) before the fermentation step with the probiotic lactic culture (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus*). Sensory evaluation by Quantitative Descriptive Analysis - QDA was crucial in identifying the most appropriate formulation of fermented dairy beverages. Data were statistically analyzed using analysis of variance (ANOVA) and principal component analysis (PCA). Results showed that formulations with higher levels of whey (F_{50} and L_{50}) showed the characteristic sensory attributes to this type of beverages. After this step, applying a second experimental design (2^2 factorial with central point), the dairy base was subjected to the pressure levels: 150, 200 and 250 MPa and inlet temperatures: 15, 20 and 25°C or 10, 15 and 20°C, using as controls beverages obtained from the dairy base thermally processed: 90°C/60 s or 43°C/60 s. Thus, different samples and controls were prepared: fermented dairy beverage – BL, fermented dairy beverage added pineapple pulp sweetened with sugar – BLA and fermented dairy beverage added pineapple pulp sweetened with aspartame – BLL, aiming to evaluate the UHPH process effect on the rheological properties under steady and oscillatory state conditions. Most samples exhibited viscoelastic behavior and thixotropy. The tests showed oscillatory state to be interesting for UHPH favorably modulate the viscoelastic properties: elastic modulus (G') and viscous (G'') as well as the complex viscosity ($|\eta^*|$) of these beverages. The samples exhibited a linear viscoelastic region and characteristic behavior of weak gel. The dairy beverages showed no significant differences regarding factors pressure level and inlet temperature on the physicochemical characterization. Concerning to the microbiological characterization, not every product developed met the legal requirement of total lactic acid bacteria count ($>10^6$ CFU/mL) for a period of 28 days and it only possible for the controls thermally processed (90°C/60s or 43°C/60s). In the UHPH was observed temperature increase of dairy base (about 22°C/100 MPa) as a result of adiabatic heating generated within the equipment, in addition to turbulence, shear forces and cavitation that the fluid undergoes in homogenization valve.

Keywords: Ultra-High Pressure Homogenization (UHPH); sensory attributes of probiotic dairy beverages; physicochemical, microbiological and rheological properties of dairy beverages.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUÇÃO	2
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 TENDÊNCIAS DO MERCADO BRASILEIRO DE LEITE E DERIVADOS	4
2.2 TECNOLOGIA DE ALTA PRESSÃO	5
2.2.1 Histórico e recentes avanços	5
2.2.2 Princípios físicos envolvidos nos métodos de homogeneização a alta pressão	7
2.3 ASPECTOS DE SAÚDE E TECNOLÓGICOS DE BEBIDAS LÁCTEAS E IOGURTES PROBIÓTICOS	8
2.4 PROCESSO DE HOMOGENEIZAÇÃO À ALTA PRESSÃO NA INDÚSTRIA DE LATICÍNIOS	11
2.5 CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS DE BEBIDAS LÁCTEAS E IOGURTES	14
2.6 CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DE BEBIDAS LÁCTEAS E IOGURTES	19
2.7 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS E FÍSICO-QUÍMICAS	22
2.8 PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA	23
3 OBJETIVOS	25
3.1 OBJETIVO GERAL	25
3.1.1 Objetivos específicos	25
4 MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 DESENVOLVIMENTO DAS BEBIDAS LÁCTEAS FERMENTADAS PROBIÓTICAS	26
4.1.1 Matérias-primas	26
4.1.1.1 Leite e soro	26
4.1.1.2 Polpa de abacaxi pasteurizada e congelada	27
4.1.1.3 Açúcar e aspartame	27
4.1.1.4 Cultura probiótica	28
4.1.2 Bases Lácteas	28
4.1.3 Processos	28
4.1.3.1 Pasteurização da base láctea para o desenvolvimento das bebidas fermentadas	28
4.1.3.2 Aplicação da HUAP na base láctea para obtenção das bebidas fermentadas	30
4.1.3.3 Pasteurização da base láctea (1) para elaboração dos controles das bebidas	32
4.1.3.4 Elaboração dos controles das bebidas lácteas a partir da base láctea (2)	33
4.2 CARACTERIZAÇÃO SENSORIAL	33
4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	34
4.4 CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA	35
4.4.1 Contagem das bactérias lácticas totais	35
4.4.2 Avaliação da qualidade higiênico-sanitária das bebidas lácteas	36
4.5 CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA	36
4.5.1 Avaliação do comportamento reológico das bebidas lácteas mediante testes em condições estacionárias	36
4.5.2 Avaliação das propriedades viscoelásticas das bebidas lácteas mediante testes em condições oscilatórias	37
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1 DESENVOLVIMENTO DA BEBIDA LÁCTEA E SELEÇÃO DA	38

FORMULAÇÃO POR ANÁLISE SENSORIAL	
5.2 AUMENTO DA TEMPERATURA DURANTE O PROCESSO DE HUAP	46
5.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS BEBIDAS LÁCTEAS	47
5.3.1 Composição centesimal das bebidas lácteas fermentadas	47
5.3.2 Acidez em ácido láctico e pH das bebidas lácteas fermentadas	52
5.3.3 Glicídeos redutores em lactose e não redutores em sacarose	55
5.4 CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS BEBIDAS LÁCTEAS	59
5.5 CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA	68
5.5.1 Efeito do processo HUAP nas características reológicas das bebidas lácteas testadas em condições de estado estacionário	68
5.5.1.1 Viscosidade aparente e tensão de cisalhamento dependentes do tempo e tixotropia	68
5.5.1.2 Avaliação estatística dos efeitos dos fatores pressão, temperatura de entrada e taxa de cisalhamento sobre as variáveis dependentes viscosidade aparente e tensão de cisalhamento nos diferentes tipos de bebidas	71
5.5.1.3 Comparação dos efeitos dos processos térmicos e de HUAP nas características reológicas de viscosidade aparente e tensão de cisalhamento das bebidas lácteas testadas nas condições de estado estacionário	75
5.5.1.4 Modelo matemático para ajuste dos resultados reológicos experimentais	77
5.5.2 Efeito do processo HUAP no comportamento reológico das bebidas lácteas fermentadas testadas em condições de estado oscilatório	81
5.5.2.1 Testes para definição da região de viscoelasticidade linear e da varredura da frequência (<i>frequency sweep</i>)	81
5.5.2.2 Propriedades viscoelásticas	81
5.5.2.3 Avaliação estatística dos efeitos dos fatores pressão, temperatura e frequências sobre as variáveis dependentes módulos elástico e viscoso, e viscosidade complexa	84
6 CONCLUSÃO	88
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
APÊNDICE 1	102
APÊNDICE 2	104
APÊNDICE 3	105
APÊNDICE 4	106
ANEXO	108

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Classificação dos níveis de pressão para diferentes aplicações	8
Tabela 2. Atributos usados em perfil convencional de iogurtes, definições e referências (modificada de Saint-Eve et al, 2004)	21
Tabela 3. Valores médios das análises do leite cru desnatado utilizado na elaboração das bebidas lácteas	26
Tabela 4. Valores médios das análises do soro de leite desidratado utilizado na elaboração das bebidas lácteas	26
Tabela 5. Valores médios das análises da polpa de abacaxi utilizada na elaboração das bebidas lácteas	27
Tabela 6. Planejamento experimental para o desenvolvimento das bebidas lácteas fermentadas	30
Tabela 7. Variáveis e níveis do planejamento experimental aplicado a partir da base láctea (1) processada por HUAP ₁ na elaboração das bebidas fermentadas BL, BLA e BLL= processo 1	31
Tabela 8. Variáveis e níveis do planejamento experimental aplicado a partir das bases lácteas (1) e (2) processadas por HUAP ₂ na elaboração das bebidas fermentadas BL, BLA e BLL= processos 2 e 3, respectivamente	31
Tabela 9. Referências dos métodos analíticos físico-químicos para bebidas lácteas	35
Tabela 10. Atributos sensoriais das bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi, definições e respectivas referências	38
Tabela 11. Médias dos atributos [§] sensoriais das bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi adoçadas com açúcar	39
Tabela 12. Médias dos atributos [§] sensoriais das bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi adoçadas com aspartame	40
Tabela 13. Médias e desvios-padrão ^a dos valores de temperaturas ^b usadas durante o processo de HUAP ₁	46
Tabela 14. Médias e desvios-padrão ^a dos valores de temperaturas ^b usadas durante o processo de HUAP ₂	46
Tabela 15. Valores das médias dos constituintes: umidade, cinzas, proteínas, carboidratos e extrato seco total dos diferentes tipos de bebidas lácteas fermentadas BL, BLA e BLL obtidas a partir da base láctea processada por HUAP ₁ [*] e seus respectivos controles obtidos por processo térmico ^{**}	49
Tabela 16. Resultados das contagens de bactérias lácticas totais (UFC/mL) das bebidas lácticas fermentadas	60
Tabela 17. Matriz do planejamento experimental e respostas das contagens de bactérias lácticas totais das amostras e controles BL, BLA e BLL dos processos 1, 2 e 3 no tempo zero (primeiro dia)	63
Tabela 18. Amostras das matérias-primas leite cru desnatado, leite UHT desnatado, soro reconstituído e das bases lácteas antes e após HUAP analisadas de acordo com o Número Mais Provável de coliformes totais (35°C) e de coliformes termotolerantes (45°C).	65
Tabela 19. Matriz do planejamento experimental (tabela 8) e respostas das contagens de bactérias lácticas totais das amostras e controles BL, BLA e BLL do processo 3 nos tempos 1, 14 e 28 dias	66
Tabela 20. Parâmetros dos modelos matemáticos propostos para as amostras e controles das bebidas lácteas BL, BLA e BLL, elaboradas a partir das bases lácteas (1) e (2) submetidas ao processo de HUAP ₂ , na faixa de taxa de cisalhamento de 0-300 s ⁻¹	80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evolução do volume da produção brasileira de leite nas últimas décadas.	4
Figura 2. Diagrama simplificado de produção das formulações das bebidas lácteas fermentadas: $F_{\text{leite:soro/polpa+açúcar}}$ com adição de polpa de abacaxi e açúcar e $L_{\text{leite:soro/polpa+aspartame}}$ com adição de polpa de abacaxi e aspartame para seleção da formulação adequada por análise sensorial.	29
Figura 3. Homogeneizador de Alta Pressão, modelo FPG7400H: 350.	30
Figura 4. Diagrama simplificado de produção do Processo HUAP ₁ e HUAP ₂ , de acordo com os desenhos experimentais apresentados nas Tabelas 7 e 8, para a obtenção das amostras das bebidas lácteas fermentadas (BL), com adição de polpa de abacaxi e açúcar (BLA) e com adição de polpa de abacaxi e aspartame (BLL) para as caracterizações microbiológicas, físico-químicas e reológicas.	32
Figura 5. Médias dos atributos sensoriais da ADQ das bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi adoçadas com açúcar. F= Formulação com açúcar (%soro/%polpa).	40
Figura 6. Médias dos atributos sensoriais da ADQ das bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi adoçadas com aspartame. L = Formulação com aspartame (%soro/%polpa).	41
Figura 7. PCA mostrando as posições (a) das amostras e (b) dos atributos sensoriais das bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi e adoçadas com açúcar ($F_{\text{leite:soro/polpa+açúcar}}$).	44
Figura 8. PCA mostrando as posições (a) das amostras e (b) dos atributos das bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi e adoçadas com aspartame ($L_{\text{leite:soro/polpa+aspartame}}$).	45
Figura 9. Composição centesimal das bebidas lácteas fermentadas (BL), com adição de polpa de abacaxi e açúcar (BLA) e com adição de polpa de abacaxi e aspartame (BLL), obtidas pelo processo HUAP ₁ com a base láctea (1) submetida aos diferentes níveis de pressão (MPa) e de temperatura de entrada (°C), assim como os controles BL, BLA e BLL obtidos pelo processo térmico (TT_90°C/60 s).	48
Figura 10. Diagrama de Pareto relativo aos efeitos do nível de pressão e da temperatura de entrada sobre as variáveis da composição centesimal: cinzas, umidade, extrato etéreo, proteínas, carboidratos para cada tipo de bebida (BL, BLA e BLL) preparado a partir da base láctea (1) processada por HUAP ₁ .	50
Figura 11. Médias dos (a) valores calóricos (kcal/100 g) e dos (b) teores de proteínas (g/ 100 g) dos produtos comerciais A, B e C; das bebidas lácteas fermentadas BL, BLA e BLL; e da bebida láctea sabor de pêssego tabelada (TACO, 2006).	51
Figura 12. Valores médios de acidez e de pH das bebidas lácteas fermentadas (BL, BLA e BLL) obtidas após a base láctea (1) (leite cru desnatado: soro de leite reconstituído) ter sido processada nos diferentes níveis de pressão e temperaturas de entrada da HUAP (1), do leite cru desnatado (L cru) e da base láctea (L+S) antes de serem processadas.	52
Figura 13. Diagrama de Pareto relativo aos efeitos do nível de pressão e da temperatura de entrada sobre o pH e a acidez titulável da bebida BL preparada a partir da base láctea (1) processada por HUAP ₁	54
Figura 14. Superfícies de respostas para os efeitos dos fatores temperatura de entrada e nível de pressão sobre as variáveis dependentes pH e acidez, respectivamente, para as bebidas lácteas fermentadas: BL (a) e (b); BLA (c) e (d); BLL (e) e (f).	54
Figura 15 Valores médios de lactose (g/100 g) das bebidas lácteas fermentadas (BL,	57

- BLA e BLL) obtidas após a base láctea (leite cru desnatado:soro de leite reconstituído) ser processada nos diferentes níveis de pressão e temperaturas de entrada da HUAP e seus controles obtidos por processo térmico (TT_90°C/60 s).
- Figura 16. Valores médios de sacarose (g/100 g) das bebidas lácteas fermentadas (BL, BLA e BLL) obtidas após a base láctea (leite cru desnatado:soro de leite reconstituído) ser processada nos diferentes níveis de pressão e temperaturas de entrada da HUAP e seus controles obtidos por processo térmico (TT_90°C/60 s). 58
- Figura 17. Diagramas de Pareto para as variáveis dependentes (a) açúcares redutores, em lactose, e (b) açúcares não redutores, em sacarose para a bebida BL. 58
- Figura 18. Diagramas de Pareto para a variável dependente contagem de bactérias lácticas totais (10^6 UFC/mL) dos diferentes tipos de bebidas lácteas fermentadas (a) BL, (b) BLA e (c) BLL obtidas a partir da base láctea (1) processada por HUAP₁. 61
- Figura 19. Valores das médias da contagem de bactérias lácticas totais ($5 \log_{10}$ UFC/mL) das bebidas lácteas: \square -BL; \square -BLA; e \square -BLL versus tipos de processos: HUAP (MPa/°C) e térmico (90°C/60 s). 62
- Figura 20. Comparação das médias da contagem de bactérias lácticas totais *versus* tipos de processos no tempo 0 processo 1 (HUAP₁ e base láctea (1); processo 2 (HUAP₂ e base láctea (1) e processo 3 (HUAP₂ e base láctea (2); e controles TT 90°C/60 s e TT 43°C/60 s. 64
- Figura 21. Comparação da contagem de bactérias lácticas totais *versus* tempo de armazenamento: 1, 14 e 28 dias do processo (3) para as bebidas lácteas BL, BLA e BLL obtidas a partir da base láctea (2) submetida ao processo de HUAP₂ e controle TT 43°C/60 s. 67
- Figura 22 (a), (c), (e), (g), (i), (k), (m), (o), (q) curvas de viscosidade aparente (mPa.s) e (b), (d), (f), (h), (j), (l), (n), (p), (r) curvas de tensão de cisalhamento (Pa) *versus* taxa de cisalhamento variando de 0 a 300 s⁻¹, em 300 s (curva ascendente), seguida de retorno a 0 s⁻¹ em 300 s (curva descendente) para as bebidas lácteas fermentadas BL, BLA e BLL, processadas por HUAP₂ (MPa/°C) e seus controles processados termicamente (base láctea (1) com leite cru: TT. 90°C/ 60s e base láctea (2) com leite UHT: TT. 43°C/ 60s). 69
- Figura 23. Diagramas de Pareto com o efeito estimado padronizado ($p < 0,05$) para as variáveis dependentes (a) tensão de cisalhamento e (b) viscosidade aparente. 71
- Figura 24. Médias da viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento com variação da (a) pressão (MPa): \square - 150, \square -200 e \square -250 e (b) temperatura de entrada (°C): \square -10, \square -15 e \square -20 para a bebida láctea fermentada com adição de polpa de abacaxi e aspartame – BLL. ANOVA: R-sqr= 0.8741; R-adj= 0.8407; 63 Runs; MS Pure Error= 0.0003697. ($P < 0.05$). 72
- Figura 25. Médias da tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento com variação da (a) pressão (MPa): \square - 150, \square -200 e \square -250 e (b) temperatura de entrada (°C): \square -10, \square -15 e \square -20 para a bebida láctea fermentada com adição de polpa de abacaxi e aspartame – BLL. ANOVA: R-sqr= 0.9394; R-adj= 0.9234; 63 Runs; MS Pure Error= 0.2231. ($P < 0.05$). 74
- Figura 26. Médias da (a) tensão de cisalhamento (Pa) e da (b) viscosidade aparente (Pa.s) *versus* tipo de bebida e tipo de processo para as taxas de cisalhamento (s⁻¹): \square - 10, \square -150 e \square -300 aplicadas às bebidas lácteas fermentadas BL, BLA e BLL. 76
- Figura 27. Superfícies de respostas de (a) tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento (s⁻¹) *versus* nível de pressão (MPa) e (b) viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento *versus* temperatura de entrada (°C) para todas as amostras de bebidas lácteas fermentadas. 81

- Figura 28 Região de viscoelasticidade linear típica em resposta ao modo *strain sweep* para bebida láctea fermentada. 0,1Hz: \blacklozenge G' e \blacklozenge G'' ; 1,0 Hz: \blacktriangle G' e \blacktriangleright G'' ; 10Hz: \blackstar G' e \bullet G'' . 81
- Figura 29. Espectro mecânico do gel observado nas amostras submetidas ao processo de HUAP (200 MPa e $T_1 = 15^\circ\text{C}$) das bebidas lácteas fermentadas (BL): \times G' , \ast G'' , \bullet η^* ; com adição de polpa de abacaxi e açúcar (BLA): \blacklozenge G' , \blacksquare G'' , \blacktriangle η^* ; e com adição de polpa de abacaxi e aspartame (BLL): $+$ G' , $-$ G'' and $-$ η^* . 82
- Figura 30. Espectro mecânico (0,5% strain) do gel observado nas amostras submetidas ao processo de HUAP e controles: (a) base láctea (1) + HUAP (200 MPa, 15°C); (b) base láctea (2) + HUAP (200 MPa, 15°C); (c) base láctea (1) + TT ($90^\circ\text{C}/60$ s); (d) base láctea (2) + TT ($43^\circ\text{C}/60$ s). 83
- Figura 31. Módulos dinâmicos das amostras e controles BLL obtidas a partir da base láctea 2 (leite UHT desnatado: soro de leite reconstituído) processada por HUAP₂ ou por processo térmico. (a) G' (b) G'' : \blacklozenge 150MPa- 10°C , \blacktriangle 250MPa- 10°C , \blacksquare 150MPa- 20°C , \bullet 250MPa- 20°C , $-$ 200MPa- 15°C , \blacksquare 200MPa- 15°C , \blacksquare 200MPa- 15°C , \blacksquare controle ($43^\circ\text{C}/60$ s). 84
- Figure 32. Viscosidade complexa *versus* nível de pressão e temperatura de entrada para as amostras: \blacklozenge -BL= bebida láctea (leite UHT desnatado+ soro de elite reconstituído); \blacksquare -BLA= BL com polpa de abacaxi (30 mL/100 mL) e açúcar (7 g/100 mL); \blacklozenge -BLL= BL com polpa de abacaxi (30 mL/100 mL) e aspartame (0.0388 g/100 mL) nas frequências: (a) 0,1Hz, (b) 1,0 Hz e (c) 10 Hz. 85

LISTA DE SÍMBOLOS

ADQ	Análise Descritiva Quantitativa
ANOVA	Análise de Variância
CLBVB	Caldo Lactosado Bile Verde Brilhante
E_a	Energia de ativação de Arrhenius
EC	Caldo <i>Escherichia coli</i>
g	grama
G^*	módulo complexo
G'	módulo elástico
G''	módulo viscoso
k	Índice de consistência
K	Kelvin
k_0	Fator de Arrhenius
kcal	kilocaloria
kJ	kilo Joule
L	Litro
m/m	concentração massa/massa
MEA	Agar Extrato de Malte
mg	miligrama
min	minutos
mL	mililitro
MPa	Mega Pascal
MRS	De Man, Rogosa & Sharpe Agar
n	Índice de escoamento
NMP	Número Mais Provável
°C	graus Celsius
Pa	Pascal
Pa.s	Pascal segundo
PCA	Análise de Componente Principal
pH	potencial Hidrogênio iônico
R	constante universal dos gases
s	segundo
s^{-1}	inverso do segundo
T	temperatura
t	tempo
$\tan \delta$	tangente de perda (delta)
UFC	Unidade Formadora de Colônia
η	viscosidade
η_0	viscosidade à taxa de cisalhamento zero
η_∞	viscosidade à taxa de cisalhamento infinito
η_P	viscosidade de Bingham
τ	tensão de cisalhamento
τ_0	tensão de escoamento
$\dot{\gamma}$	taxa de cisalhamento
$ \eta^* $	viscosidade complexa

1 INTRODUÇÃO

O atual nível do desenvolvimento tecnológico na área de alimentos, associado à crescente demanda de parcela expressiva de consumidores por alimentos minimamente processados, livres de aditivos e estáveis no armazenamento, sugere a exploração de processos alternativos aos tradicionais processos térmicos. Alguns métodos não-térmicos para a preservação de alimentos têm sido avaliados no seu potencial como um processo alternativo ou complementar aos métodos tradicionais de preservação. Tradicionalmente, na maioria dos métodos de preservação, os alimentos são submetidos a altas temperaturas por um determinado período de tempo. O processo térmico muitas vezes causa alterações indesejadas nos alimentos, como alterações sensoriais, reológicas, perda de características funcionais e nutricionais. A tendência atual do consumo de alimentos é cada vez mais na direção de produtos naturais e saudáveis. Os processos não-térmicos que vêm sendo estudados buscam aumentar a vida útil dos produtos. Dessa forma, são esperadas perdas mínimas de nutrientes e alterações sensoriais quase imperceptíveis.

Dentre as tecnologias alternativas de preservação ao processamento térmico convencional está a alta pressão, que pode ser utilizada para aumentar a vida útil dos alimentos, por permitir a inativação de microrganismos e enzimas indesejáveis sem afetar, significativamente, o teor de compostos responsáveis pela qualidade sensorial e nutricional do produto. Além disso, quando aplicada às soluções protéicas, a alta pressão causa mudanças conformacionais reversíveis ou não, pela quebra de certas interações químicas fracas, alterando a solubilidade e/ou propriedades funcionais e causando modificações favoráveis à funcionalidade tecnológica do produto protéico.

Atualmente, dois métodos de processamento de alimentos à alta pressão têm sido investigados: o método hidrostático (APH – Alta Pressão Hidrostática) e o método de homogeneização (HUAP – Homogeneização a Ultra-Alta Pressão) ou dinâmico (APD - Alta Pressão Dinâmica). O método de homogeneização a ultra-alta pressão (HUAP) tem sido proposto como uma alternativa à pasteurização do leite. A dinâmica do processo envolve inúmeros mecanismos de ruptura de células, em que a cavitação e o cisalhamento são observados. O equipamento é bem conhecido da indústria de laticínios para produção de leite homogeneizado, à pressão menor do que a necessária para ruptura de células microbianas.

A alta pressão atraiu a atenção da indústria de alimentos inicialmente no Japão, e atualmente em todo o mundo, na qual se consegue evitar deterioração de componentes e nutrientes dos alimentos, além de originar alimentos com textura e consistência especialmente favoráveis. Desde 1990, vários tipos de alimentos têm sido expostos à alta pressão e outros têm sido testados para serem lançados no mercado. No Japão, os primeiros produtos comercializados foram geléias, gelatinas e molhos, na Europa e nos Estados Unidos foram introduzidos produtos cárneos (presunto em fatias) e polpas de frutas. Hoje, são comercializados produtos como harenque, salmão e ostras no Japão e EUA; carnes de porco na Espanha e EUA; *roast beef* e salsichas, espaguete com molho de carne e produtos a base de arroz, purê/pasta de abacate nos EUA e iogurte com frutas no Japão, Itália e EUA.

Desde o estudo pioneiro de Bert Hite, no final do século XIX, têm sido publicados muitos trabalhos sobre a preservação de leite e derivados com alta pressão. Diversos estudos têm sido realizados sobre o uso da alta pressão na inativação de microrganismos patogênicos e deteriorantes do leite. Os resultados têm demonstrado que é possível a obtenção de leite cru pressurizado com qualidade microbiológica comparável àquela do leite pasteurizado.

Na fabricação de bebida láctea fermentada adicionada de polpa de fruta é fundamental o conhecimento das propriedades físicas e químicas do produto obtido industrialmente. Muitas pesquisas têm focado as proteínas e suas propriedades funcionais, como por exemplo, a modificação e rigidez do gel, bem como a sua capacidade de retenção de água em iogurtes. Portanto, também é essencial no desenvolvimento de novos produtos o conhecimento de suas propriedades reológicas e uma avaliação sensorial criteriosa.

A existência de poucas referências com dados reológicos, sensoriais, microbiológicos e físico-químicos sobre bebidas lácteas fermentadas adicionadas de polpa de frutas tropicais processadas por HUAP ou APD tem levado ao crescente interesse e à necessidade de estudo. Assim, nesta pesquisa, foram desenvolvidas bebidas probióticas a partir de base láctea, constituída de leite desnatado cru ou esterilizado comercialmente (UHT) e soro de leite desidratado reconstituído, processada termicamente ou por Homogeneização à Ultra-Alta Pressão – HUAP. O objetivo foi estudar os efeitos dos fatores temperatura de entrada e nível de pressão da HUAP provocados sobre as características reológicas, físico-químicas e microbiológicas dessas bebidas e comparar aos controles obtidos por processo térmico. Adicionalmente, foi proposto um modelo matemático para avaliar o comportamento reológico dos diferentes tipos de bebidas produzidos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TENDÊNCIAS DO MERCADO BRASILEIRO DE LEITE E DERIVADOS

A tendência mundial de produção de leite para os próximos anos é de aumento no volume produzido, principalmente nos países em desenvolvimento, como pode ser confirmado no Brasil nas últimas décadas (Figura 1).

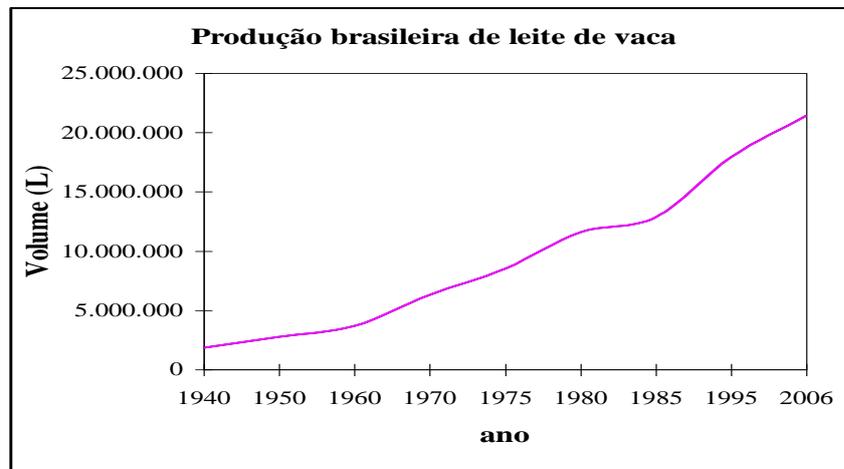


Figura 1. Evolução do volume da produção brasileira de leite nas últimas décadas. Fonte: BRASIL, 2010 (Embrapa Gado de leite, Instituto FNP/Anualpec 2006, DEAGRO/SPA/MAPA, Láctea Brasil, IBGE 2006 e FAO 2006).

Atualmente, o Brasil é o sexto maior produtor mundial de leite e a maioria dos 1,6 bilhões de litros de leite produzidos por ano é destinada ao mercado interno. Há uma pequena quantidade exportada para países africanos e para vizinhos latino-americanos. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) traçou o panorama dos principais produtos do agronegócio para os próximos onze anos. As perspectivas para a cadeia produtiva do leite são promissoras, com grande possibilidade de crescimento. Acredita-se que a produção nacional atingirá cerca de 37 bilhões de litros, o que representa aumento médio de 1,95% ao ano. Em consequência do aumento populacional e também do poder aquisitivo, o consumo deve crescer 1,98% ao ano. Outra tendência esperada é a manutenção dos resultados positivos das exportações, em que o volume a ser exportado nos próximos onze anos pode se aproximar dos 2 milhões de toneladas anuais (BRASIL, 2010).

Outra perspectiva que tem influenciado o setor produtivo é a de mudanças de hábitos de consumo, como a busca por praticidade e conveniência, produtos com baixo teor de gordura e crescente consciência dos aspectos nutricionais e de saúde. O agronegócio do leite e derivados desempenha papel relevante no suprimento de alimentos e na geração de emprego e renda. O Brasil tradicionalmente foi importador desses produtos, mas no período entre 1999 e 2006, com o aumento significativo da produção nacional, houve significativa redução na importação, passando de 384 milhões de litros para 55 milhões de litros. Em contrapartida, no mesmo período, observou-se elevação na exportação de produtos lácteos de 4,4 milhões de litros para 53 milhões de litros (EMBRAPA GADO DE LEITE, 2007). A pecuária leiteira no país tem se destacado nos últimos anos, por um intenso processo de especialização da produção, promovendo dessa forma um cenário bastante positivo (BRASIL, 2008).

A produção brasileira de iogurtes e bebidas lácteas fermentadas apresentou um crescimento significativo na última década e tudo indica que essa tendência será mantida nos próximos anos. Iogurte probiótico já ocupa uma forte posição no mercado mundial dos produtos lácteos e com grande tendência a crescer o seu consumo. Embora o desenvolvimento de alimentos probióticos envolva muitas etapas de processo e que devam ser considerados fatores, tais como: aceitação sensorial, estabilidades física, química e microbiológica, e, ainda, que atenda à expectativa de aceitação pelo consumidor, em relação ao produto e ao preço, esse mercado tem um futuro viável e de sucesso. Para que o consumidor pague pelo preço do produto, precisa estar convencido dos aspectos relativos à saúde. Assim, produtos lácteos probióticos têm sido largamente explorados pela indústria e pelos pesquisadores devido ao seu apelo de alimento benéfico à saúde tendo a sua demanda crescido continuamente (GRANATO *et al.*, 2010).

2.2. TECNOLOGIA DE ALTA PRESSÃO

2.2.1 Histórico e recentes avanços

Desde o estudo pioneiro de Bert Hite, no final do século XIX, foram publicados muitos artigos sobre a preservação de leite e derivados por alta pressão (BRUIN, JONGEN, 2003). O uso dessa tecnologia na inativação de microrganismos patogênicos e deterioradores

do leite tem sido demonstrado em diferentes pesquisas. Os resultados indicam ser possível a obtenção de leite cru pressurizado com qualidade microbiológica comparável ao de leite pasteurizado, uma vez que se tem demonstrado a eficiência do processo de HUAP na inativação de microrganismos, mediante a verificação da redução da contagem microbiana (PEREDA *et al.*, 2007).

Experimentos realizados em 1914, na Estação de Agricultura Experimental da Universidade da Virgínia (EUA), mostraram que a alta pressão poderia matar microorganismos e que diferentes organismos diferiam grandemente em sua resistência à ação da pressão (BRIDGMAN, 1949, HOOVER, 1993 apud BRUIN & JONGEN, 2003). Processos utilizando alta pressão têm atraído muita atenção dos pesquisadores nos últimos anos, principalmente, como alternativa ao processo térmico de conservação de produtos alimentícios (BRUIN & JONGEN, 2003). A utilização comercial dessa tecnologia no processamento de alimentos tem avançado constantemente e já é aplicada em diversos países da Europa, no Japão e nos EUA à grande variedade de produtos, tais como: geléias, gelatinas, molhos, presunto fatiado, polpa de frutas, iogurtes, ostras, peixes, defumados, refeições prontas, creme de abacate e produtos cárneos (SUZUKI, 2002; HUPPERTZ *et al.*, 2006). Segundo Tornello (2006), naquele ano, já existia no mundo 82 instalações industriais com volumes variando de 35 a 360 L e uma produção anual de mais de 100 mil toneladas de alimentos submetidos à alta pressão (TORNELLO, C., 2006, apud KNORR *et al.*, 2006).

O processo de homogeneização vem sendo usado pela indústria de laticínios e de alimentos desde a metade do século passado. A aplicação dessa tecnologia remonta ao início daquele século, quando Auguste Gaulin apresentou-a na Feira Mundial de Paris, em 1900. Embora seja uma tecnologia muito utilizada para estabilizar emulsões alimentícias, foi somente após 1970 que os pesquisadores descobriram os mecanismos envolvidos, mediante estudos de pesquisa básica. No início da década 1990, uma nova geração de homogeneizadores, conhecidos como homogeneizadores de alta pressão, foi desenvolvida (PAQUIN, 1999). Até recentemente, o uso da alta pressão foi limitado ao método de alta pressão hidrostática (APH) ou, como acontece com a homogeneização do leite, restrito ao processamento de baixa pressão (20 MPa). Devido aos avanços consideráveis observados nos sistemas de homogeneizadores, é possível alcançar pressões de processamento superiores a 350 MPa (ROACH & HARTE, 2008).

A Homogeneização a Ultra-Alta Pressão (HUAP) ou Alta Pressão Dinâmica (APD) é uma tecnologia que pode garantir um produto com características microbiológicas, físico-

químicas e sensoriais adequadas (PEREDA *et al.*, 2009). Essa tecnologia permite a modificação de componentes de alimentos. Pesquisas realizadas têm demonstrado que a HUAP pode afetar proteínas ou polissacarídeos e provocar desnaturação, agregação e formação de micropartículas. Também foi observado que a tecnologia pode ser aplicada para a formação de complexos entre proteínas e polissacarídeos. Esses efeitos sobre os componentes podem levar à modificação de suas propriedades funcionais tecnológicas (PAQUIN, 1999).

2.2.2 Princípios físicos envolvidos nos métodos de homogeneização à alta pressão

Um dos métodos da tecnologia de alta pressão baseado na homogeneização é a microfluidização, na qual se observa o princípio de colisões entre jatos de líquidos em alta velocidade. Nesse método, o fluido é dividido em dois canais da válvula de entrada e promove-se a colisão dos jatos no interior da câmara da reação. O outro método utilizado é o da homogeneização a alta pressão (HAP), utilizado nesta pesquisa, no qual o princípio envolvido na operação é similar ao dos homogeneizadores convencionais usados na indústria de laticínios, exceto pelo fato de poderem ser utilizadas pressões muito altas, de até 400 MPa. Portanto, essa tecnologia é também chamada de homogeneização a ultra-alta pressão (HUAP) dependendo do nível de pressão alcançado (PEREDA *et al.*, 2007).

A HUAP é um processo em base contínua que utiliza fundamentalmente um homogeneizador de alta pressão com o intuito de romper células. O produto é bombeado por dois intensificadores de pressão, sendo forçado a fluir através de uma válvula de homogeneização (FLOURY *et al.*, 2004). Isso produz uma velocidade muito elevada através do orifício e a expansão resultante é a responsável pela ruptura de células de microrganismos, causando mínimas alterações nas células do alimento. O termo “alta pressão” descreve a pressão dada ao produto antes da etapa de homogeneização. O produto, então, passa através de um orifício concêntrico onde a velocidade torna-se extremamente alta e a pressão extremamente baixa, causando a evaporação do fluido e começando o fenômeno de cavitação (POPPER & KNORR, 1990). A pressão de trabalho é atingida entre o intensificador de pressão e a válvula primária de homogeneização, após a qual ocorre a maior despressurização. A pressão é aplicada ao produto por um período de tempo da ordem de alguns milissegundos (FLOURY *et al.*, 2004).

Segundo Flourey *et al.* (2004), a fluidodinâmica verificada durante o processo de HUAP deve-se às intensas mudanças de energia que ocorrem na válvula de homogeneização, tendo sido avaliado por diversos autores os fenômenos físicos de cavitação, turbulência, impactos, tensão de cisalhamento, fricção, velocidade, queda de pressão e viscosidade dinâmica (WALSTRA, 1983 apud FLOURY *et al.*, 2000; PAQUIN, 1999, MIDDELBERG, 1995, PANDOLFE, 1999 apud SERRA *et al.*, 2007; DOULAH *et al.*, 1975 apud PINHO, 2006 e PINHO, 2006). Assim que o fluido sob pressão passa através da válvula de homogeneização, ele é acelerado e sua energia potencial é convertida em cisalhamento, impacto e cavitação. Observa-se como resultado, além da mistura do produto, a redução do tamanho de suas partículas. Entretanto, de acordo com Pereda *et al.* (2007), o limite de pressão entre a HAP e a HUAP nunca foi estabelecido, sugerindo então que seja considerada HUAP para níveis de pressão acima de 100 MPa. A HUAP pode ser classificada em pressões de homogeneização que variam entre 5 MPa (750 psi, 50 bar) a 400 MPa (58000 psi, 4000 bar), conforme a definição sugerida pela empresa inglesa Stansted Fluid Power Ltd. (2010) e apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação dos níveis de pressão para diferentes aplicações

Homogeneização à alta pressão	Nível de pressão (MPa)	Aplicação	Referências
HUAP: ultra - alta	100 - 400	diversas	Pereda <i>et al.</i> , 2007.
HAP: baixa - média	5 - 35	homogeneização de leite	Stansted Fluid Power Ltd., 2010.
HAP: média	35 - 70	diversas	
HAP: alta	70 - 175	ruptura de células, emulsificação	
HAP: ultra - alta	175 - 400	desenvolvimento de novos produtos	

2.3 ASPECTOS DE SAÚDE E TECNOLÓGICOS DE BEBIDAS LÁCTEAS E IOGURTES PROBIÓTICOS

Iogurte é formado durante a fermentação láctica lenta da lactose do leite pelas bactérias termofílicas ácido lácticas, *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, e pode ser adicionada de probióticos, principalmente, *Lactobacillus acidophilus* e

Bifidobacterium bifidum. Os dois primeiros, *S. thermophilus* e *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*, são necessários para converter o leite em iogurte, enquanto *L. acidophilus* e *B. bifidum* são usados devido as suas propriedades funcionais e promotoras de saúde (PENNA *et al.*, 2007).

O conceito de probiótico começou a ser usado no início dos anos 1990, entretanto, o termo já havia sido estabelecido por Lilly e Stillwell em 1965. Havenaar e Huis in't Veld, em 1992, ampliaram sua definição para “monocultura ou cultura mista de microorganismos vivos a qual quando aplicada ao homem ou aos animais como células secas ou em produtos fermentados, afeta benéficamente o hospedeiro por agir melhorando as propriedades da sua microflora natural” (SINDHU & KHETARPAUL, 2003). Bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e, em menor escala, *Enterococcus faecium*, são mais frequentemente empregadas como suplementos probióticos para alimentos, uma vez que elas têm sido isoladas de todas as porções do trato gastrointestinal do humano saudável (SAAD, 2006).

A categoria de probióticos encontra-se disponível no mercado de alimentos, particularmente, nos produtos lácteos fermentados ou não, cuja qualidade deve ser avaliada considerando-se os aspectos essenciais da ação das bactérias probióticas sobre o organismo. É importante destacar que nem todas as espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* apresentam as características essenciais requeridas para promover efeitos benéficos sobre a saúde. Para tanto, as culturas devem ser originárias do trato intestinal do hospedeiro, sobreviver nesse ambiente e, preferencialmente, colonizar o intestino. As espécies de maior interesse são *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. crispatus*, *L. gallinarum*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. murinus*, *L. intestinalis*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. ruminis*, *L. rhamnosus* e *L. salivarius*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. breve*, e *B. animalis*. Por outro lado, boa parte dessas cepas cresce com certa dificuldade em leite durante a produção de fermentados, sendo usual a prática de continuar incorporando, também, as culturas tradicionais de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* para favorecer o processo (DAVE & SHAH, 1996).

Iogurte é conhecido por seus efeitos nutracêutico, terapêutico e probiótico, tais como melhorador da digestão, ação benéfica no sistema imunológico, atividade anticarcinogênica e redução no colesterol sérico. As vantagens potenciais do uso de bactérias probióticas incluem a melhora na digestão de lactose, redução de enzimas bacterianas carcinogênicas e de incidência de diarreia, estimulação do sistema imune e prevenção de infecções no trato digestório (SAAD, 2006). Probióticos também atuam benéficamente produzindo vitaminas do

complexo B e, em casos de diarreia, favorecem a neutralização dos microorganismos patogênicos responsáveis pela infecção (SANDERS, 2000, SHAH, 2000 apud PENNA *et al.*, 2007).

Iogurte batido é preparado quebrando-se o gel formado após a fermentação e, então, enchendo-se recipientes individuais com o produto. Nesse tipo de produto, a combinação do alto conteúdo de sólidos e a adição de frutas e estabilizantes permite produzir diversas opções, controlando-se a sua textura e suas propriedades físicas (PENNA *et al.*, 2007). A separação do soro e as várias mudanças reológicas observadas devem-se aos excessivos rearranjos de partículas formadoras da rede do gel antes e durante o processo (LUCEY *et al.*, 1998). A microestrutura da proteína da matriz varia dependendo do conteúdo de proteína, do processamento térmico, da presença de gordura no leite, de agentes espessantes e estabilizantes e de exopolissacarídeos bacterianos formados durante a fermentação (HARWALKAR & KALAB, 1986; KALAB *et al.*, 1983, SCHELLHAASS & MORRIS, 1985, TEGGATZ & MORRIS, 1990 apud PENNA *et al.*, 2007). O processamento térmico do leite não previne a separação do soro e pode até mesmo aumentá-la (LUCEY *et al.*, 1998).

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas (BRASIL, 2005) especifica que bebida láctea é o produto obtido a partir da mistura de leite ou leite reconstituído e/ou soro de leite, fermentado ou não, com ou sem adição de outros ingredientes, em que a base láctea representa pelo menos 51% (m/m) do total de ingredientes do produto. No caso da obtenção de bebida láctea fermentada, deve-se empregar cultivo de microrganismos específicos e/ou adicionado de leite(s) fermentado(s) e que não poderá ser submetido a processamento térmico após a fermentação. A contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10^6 UFC/g ou mL, no produto final, para o(s) cultivo(s) láctico(s) específico(s) empregado(s), durante todo o prazo de validade. As bebidas lácteas sem adições e as bebidas lácteas com produto ou substância alimentícia devem cumprir o requisito físico-químico relativo ao teor de proteínas de origem láctea de, no mínimo, 2,0 e 1,2 g/100g, respectivamente. No entanto, a variedade de produtos encontrados no mercado é muito diversa e o consumidor não tem conhecimento do que está adquirindo no momento da compra (ALMEIDA *et al.*, 2001).

2.4 PROCESSO DE HOMOGENEIZAÇÃO À ALTA PRESSÃO NA INDÚSTRIA DE LATICÍNIOS

O desenvolvimento no *design* dos homogeneizadores permitiu utilizar a homogeneização em pressões muito mais elevadas, fato que abriu novas possibilidades na pesquisa, no desenvolvimento de produtos e novas áreas de aplicação (PAQUIN, 1999; FLOURY *et al.*, 2004; SANDRA & DALGLEISH, 2005). A homogeneização normal do leite, em que se utiliza pressão de até 20 MPa, praticamente não provoca nenhum efeito sobre as micelas de caseína, mas a homogeneização a ultra-alta pressão (HUAP > 200 MPa) ou o processo de alta pressão hidrostática (APH > 200 MPa) causam alguma dissociação. O processo térmico de pasteurização a alta temperatura e tempo curto (HTST: 72 °C, 15 s) também tem pouco ou nenhum efeito sobre as micelas de caseína. Entretanto, o aquecimento a temperaturas maiores causam desnaturação das proteínas do soro e promovem sua interação com as micelas de caseína, via ligações entre sulfidril e dissulfeto, especialmente entre a β -lactoglobulina e K-caseína. Essas mudanças afetam diversas propriedades das micelas, como a sua estabilidade térmica e coagulação (PENNA *et al.*, 2007).

O processamento a alta pressão também altera as propriedades do leite para a produção do iogurte, tal como ocorre na taxa de acidificação que é maior nesse caso que a observada no leite processado termicamente (85°C/20min) (NEEDS *et al.* 2000a). O processamento altera também a coagulação do leite observada em pH mais elevados (FERRAGUT *et al.* 2000 apud HUPPERTZ *et al.* 2006), apresenta menos sinerese (JOHNSTON *et al.* 1992; HARTE *et al.* 2003), aumenta a incorporação de proteínas do soro (NEEDS *et al.* 2000b) e aumenta a força do gel (NEEDS *et al.* 2000b; HARTE *et al.* 2003), quando se compara com os efeitos produzidos com leite não pressurizado. As propriedades de coagulação do leite processado por HUAP foram pesquisadas por Hayes e Kelly (2003), que observaram redução no tempo de gelatinização e aumento da firmeza dos géis preparados a partir do leite processado a 200 MPa. Essas mudanças foram atribuídas, principalmente, às variações do pH e do tamanho das partículas.

As possíveis aplicações dessa tecnologia na indústria de laticínios incluem a redução do tamanho de glóbulos de gordura, a inativação enzimática e a destruição de bactérias (FLOURY, *et al.*, 2004). O processo de homogeneização é usado na indústria de alimentos para reduzir a cremosidade do leite ou do creme e para criar ou aumentar a estabilidade de emulsões alimentícias. A estabilização é alcançada pela redução do tamanho e das mudanças

na estrutura dos glóbulos de gordura, as quais, ao mesmo tempo, promovem aumento na área superficial, o que facilita a absorção de substâncias de superfície ativa, tais como proteínas (KEENAN *et al.*, 1983; SHARMA & DALGLEISH, 1994; McCRAE *et al.*, 1994). O efeito da HUAP nas enzimas nativas do leite (lactoperoxidase, plasmina e fosfatase alcalina) foi estudado por Hayes & Kelly (2003b) e Hayes *et al.* (2005) apud Pereda *et al.* 2007, os quais observaram uma inativação maior quando a pressão era aumentada. Em relação à microbiologia, tanto a HAP quanto a HUAP têm sido comumente usadas no rompimento de células de culturas microbianas densas (SABOYA *et al.*, 2003 apud PEREDA *et al.*, 2007) causando a redução da população microbiana e promovendo a segurança microbiológica dos produtos alimentícios (KHEADR *et al.*, 2002; THIEBAUD *et al.*, 2003; HAYES *et al.*, 2005 apud PEREDA *et al.*, 2007). Processamentos utilizando pressões da ordem de 200 MPa podem atingir reduções de 5 ciclos logarítmicos em microrganismos relevantes ao processamento de alimentos, segundo estudo de Romeo Toledo (MERMELSTEIN, 1999 apud CAMPOS *et al.*, 2003).

Diferentes autores (VACHON *et al.*, 2002; HAYES *et al.*, 2005; PEREDA *et al.*, 2006 apud PEREDA *et al.*, 2007) têm sugerido o uso potencial da HUAP como possibilidade de substituir a combinação das etapas de pasteurização e homogeneização, a fim de obter leite comercial com a vida-de-prateleira similar ao leite convencional de mercado. Entretanto, a literatura relativa aos efeitos da HUAP na vida útil de leite é escassa. As mudanças físico-químicas e microbiológicas de leites processados por HUAP, com diferentes pressões e temperaturas, têm sido estudadas imediatamente após o processo, mas não durante o armazenamento (THIEBAUD *et al.*, 2003; HAYES *et al.*, 2005; PEREDA *et al.*, 2006 apud PEREDA *et al.*, 2007). Entretanto, o estudo realizado por Smiddy *et al.* (2007), citado em Pereda *et al.*, 2007, demonstrou ser de 4 a 7 dias a vida útil microbiológica do leite, quando processado por HUAP com níveis de pressão de 200 ou 250 MPa na primeira válvula e 5 MPa na segunda válvula.

Na pesquisa desenvolvida por Pereda *et al.* (2007), foram estudadas as diferentes condições do processo de HUAP (combinações de pressão e temperatura de entrada) comparando-as aos efeitos do calor (90°C, 15 s), bem como verificou-se a vida-de-prateleira microbiológica e físico-química do leite durante seu armazenamento a 4°C. Os resultados foram promissores, principalmente na condição de 300 MPa e 30°C, a qual mostrou-se uma boa opção a ser usada como única etapa substituta às etapas de pasteurização e homogeneização do processo convencional. Isso garantiu, ainda, a obtenção de leite comercial

com os aspectos de vida útil iguais ao do leite pasteurizado à alta temperatura, e, provavelmente, com reduzido efeito do calor devido ao curto tempo de retenção do produto, necessário durante a HUAP. Entretanto, concluíram serem necessárias pesquisas adicionais, nas quais seja considerada a avaliação dos efeitos da HUAP nos aspectos nutricionais e sensoriais do leite.

A HUAP é considerada capaz de produzir melhores partículas em emulsões, até um determinado nível de pressão, antes de ocorrer a coalescência ou agregação. Dessa forma, observam-se mudanças nas propriedades reológicas da emulsão (DESRUMAUX & MARCAND, 2002; FLOURY *et al.*, 2004). Hayes e Kelly (2003) mostraram que a aplicação da homogeneização em dois estágios foi, de modo geral, mais efetiva em diminuir o tamanho médio do glóbulo de gordura e favorecer as propriedades de coagulação do que o estágio simples, nas mesmas pressões aplicadas, especialmente a 200 MPa.

Walstra (1980) evidenciou que pequenas modificações no tamanho das micelas de caseína são produzidas pelos processos normais de homogeneização. A HUAP tem mostrado ser capaz de modificar a estrutura e características protéicas (DESRUMAUX & MARCAND, 2002; PAQUIN *et al.*, 2003; FLOURY *et al.*, 2004). A homogeneização (150 MPa) do soro, realizada em um microfluidizador anteriormente a sua secagem por atomização, provocou aumento na solubilidade de suas proteínas desnaturadas pelo calor, após a sua reconstituição (IORDACHE, JELEN, 2003, apud SANDRA & DALGLEISH, 2005).

Segundo Popper & Knorr (1990), o uso de HUAP, como método para eliminação microbiana, pode ser considerado um processo econômico, além de preservar a qualidade dos alimentos em que foi utilizado. Esse processamento permite a inativação microbiana a temperaturas baixas ou moderadas (CHEFTEL *et al.*, 1996). A aplicação de pressões altas requer baixo consumo energético quando comparado ao uso do calor. Exemplificando: a energia necessária para comprimir 1L de água até 400 MPa é de 19,2 kJ, enquanto que a energia requerida para aquecer a água em 5°C (de 20 para 25°C) é de 20,9 kJ/L.

Além da inibição e da destruição de microrganismos, a alta pressão influencia propriedades físico-químicas e tecnológicas do leite (TRUJILLO *et al.*, 2002). O processo térmico do leite, antes da etapa de fermentação na fabricação de iogurte, promove a desnaturação de proteínas do soro, principalmente a β -lactoglobulina e a α -lactoalbumina, e sua interação por meio de pontes dissulfeto com a k-caseína na superfície da micela. O efeito de “superfície” das proteínas do soro na micela previne a coalescência quando a fermentação abaixa o pH até o ponto isoelétrico da caseína. Assim, observa-se em iogurtes, produzidos a

partir de leite termicamente processado, uma matriz de micelas fina que favorece a firmeza do gel e aumenta a retenção do soro, ao contrário do que se verifica nos preparados a partir de leite cru. Embora o processamento térmico aumente a firmeza e reduza a sinerese do iogurte, estabilizantes e espessantes são adicionados ao leite para aperfeiçoar suas características reológicas e propriedades de retenção do soro (HARTE *et al.*, 2003).

Dessa forma, para estabelecer o pleno potencial comercial do processamento por alta pressão do leite e derivados, são requeridas mais pesquisas nos níveis básico e aplicado (HUPPERTZ *et al.*, 2006).

2.5 CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS DE BEBIDAS LÁCTEAS E IOGURTES

É importante o conhecimento das propriedades físicas e químicas de bebidas lácteas e iogurtes obtidos pelos processos de industrialização do leite. Dentre essas propriedades o comportamento reológico ocupa posição de destaque, sendo útil não só como medida de qualidade, mas também em projetos, avaliação e operação dos equipamentos processadores de alimentos, tais como as bombas, sistemas de agitação e tubulações (VIDAL *et al.*, 2003).

O papel da estrutura protéica na reologia de emulsão e gel é complexo e testes reológicos fornecem informações fundamentais sobre o comportamento viscoelástico, dependente do tempo e mecanismos moleculares acerca das mudanças na estrutura quando a proteína gelatiniza (PHILLIPS *et al.*, 1994, apud AHMED & RAMASWAMY, 2003). Proteínas alimentícias e laticínios são materiais complexos em sua composição e estrutura podendo exibir uma grande variedade de propriedades reológicas sob diferentes condições. Essas propriedades desses produtos são fortemente influenciadas pela temperatura, concentração e estado físico da dispersão (van VLIET & WALSTRA, 1980, apud AHMED & RAMASWAMY, 2003). Portanto, é recomendado estudar as propriedades reológicas de produtos protéicos e laticínios em função da temperatura e da alta pressão.

Vários autores têm relatado mudanças nas propriedades da caseína do leite, sendo que diversos métodos têm sido empregados na demonstração de que as micelas são desintegradas em partículas menores devido à alta pressão (NEEDS *et al.* 2000a e 2000b, HUPPERTZ *et al.*, 2002; HARTE *et al.*, 2003), havendo decréscimo da turbidez e luminosidade, bem como aumento da viscosidade do fluido (JOHNSTON *et al.*, 1992; TRUJILLO *et al.*, 2002). A dissociação induzida pela pressão no fosfato de cálcio coloidal e a desnaturação de algumas

proteínas do soro melhoram determinadas propriedades desse alimento, como o menor tempo de coagulação, melhora da rigidez do gel e na capacidade de retenção de proteína e umidade do coalho (LOPEZ FANDIÑO *et al.*, 1996; GARCIA-RISCO *et al.*, 2000).

Géis alimentícios são, frequentemente, estruturas complexas de misturas multicomponentes de biopolímeros hidratados. Nesses géis, a água está aprisionada em sua matriz, a qual produz uma característica semissólida (WALSTRA, 2003, apud van den BERG *et al.*, 2007). Diversos polissacarídeos, incluindo alginatos, pectinas, carragenas e amidos, e proteínas tais como gelatina, soja e proteínas do soro são comumente usadas na produção de géis alimentícios (STAINSBY, 1980, apud van den BERG, 2007). Atualmente, proteínas do soro têm sido muito utilizadas em géis alimentícios devido às suas propriedades funcionais e nutricionais. As proteínas do soro demonstram uma melhor formação de gel, após suas soluções serem submetidas ao aquecimento (AGUILERA, 1995; MULVIHILL, KINSELLA, 1987, apud van den BERG, 2007) ou processamento a alta pressão (IPSEN *et al.*, 2000, apud van den BERG, 2007).

Comumente é aceito (LUCEY *et al.*, 1997; LUCEY *et al.*, 1998; O’KENNEDY & KELLY, 2000) que as proteínas desnaturadas do soro e sua subsequente interação com as micelas de caseína são pré-requisitos para o desenvolvimento ótimo da estrutura do gel durante a acidificação e posterior estabilidade à sinerese. Na obtenção de iogurte batido, o gel formado é mecanicamente destruído, antes de ser refrigerado e envasado, induzindo à consideráveis mudanças nas suas propriedades reológicas, as quais também podem ser afetadas pelas características do gel original (THAMER & PENNA, 2006).

Testes reológicos fundamentais, em que se incluem àqueles em estados estacionário, dinâmico e transitório, produzem uma explicação do comportamento reológico de fluidos (TUNICK, 2000). A viscosidade de um fluido pode aumentar de forma linear ou não linear, com uma transição de comportamento newtoniano para não-newtoniano quando a concentração de sólidos totais aumenta. Essa mudança ocorre porque o menor teor de água, ou seja, uma maior fração volumétrica das partículas aumenta as interações entre as mesmas (WALSTRA & JENNESS, 1984, apud PATOCKA *et al.*, 2006).

Nos experimentos reológicos mais simples, as amostras são submetidas à taxa de cisalhamento ou tensão cisalhante e obtêm-se as curvas de fluxo (viscosidade aparente como função da taxa de cisalhamento $\eta(\dot{\gamma})$). Em alimentos, pode-se esperar encontrar propriedades de fluido newtoniano, principalmente nos líquidos “puros” (tais como óleos ou soluções salinas) e para soluções poliméricas diluídas ou para emulsões e suspensões diluídas. Nesses

casos, a viscosidade intrínseca $[\eta]$, ou seja, a viscosidade aparente de um simples agregado em suspensão em um solvente é o parâmetro mais importante para ser caracterizado. Sistemas de dispersões mais concentradas, coloidal ou não-coloidal, apresentam diversas propriedades de fluido não-newtoniano, tais como, fluidos pseudoplásticos ou dilatante, bem como mudanças de viscosidade dependentes do tempo (tixotropia e antitixotropia). A função viscosidade obtida, $\eta(\dot{\gamma}, t)$, pode ser descrita por modelos, tais como os expressos nas equações (1) e (2):

$$\text{Lei de Newton: } \tau = \eta \dot{\gamma} \quad (1)$$

$$\text{Lei da Potência: } \tau = \kappa \dot{\gamma}^n \quad (2)$$

em que η é a viscosidade aparente, τ a tensão de cisalhamento, $\dot{\gamma}$ a taxa de cisalhamento, κ o índice de consistência, e n o índice de escoamento.

O índice de consistência do fluido (n) pode variar: $n = 1$ (Lei de Newton), $n < 1$ ou $n > 1$ para descrever os comportamentos de fluido pseudoplásticos ou dilatantes, respectivamente. Além disso, alimentos mais complexos, geralmente, também podem apresentar tensão de escoamento (τ_0). Assim, alguns parâmetros são adicionados às equações de Newton ou à Lei da Potência para atender aos fenômenos com modelos mais complexos, como os apresentados nas equações (3) a (7):

$$\text{Bingham: } \tau = \tau_0 + \eta_P \dot{\gamma} \quad (3)$$

$$\text{Herschel–Bulkley: } \tau = \tau_0 + \kappa \dot{\gamma}^n \quad (4)$$

$$\text{Sisko: } \eta = \kappa \dot{\gamma}^{n-1} + \eta_\infty \quad (5)$$

$$\text{Cross: } \eta = \eta_\infty + (\eta_0 - \eta_\infty) / [1 + (\kappa \dot{\gamma})^{1-n}] \quad (6)$$

$$\text{Casson: } \tau^{1/2} = (\eta_\infty \dot{\gamma})^{1/2} + \tau_0^{1/2} \quad (7)$$

em que η_0 , η_∞ , η_P são viscosidades na taxa de cisalhamento zero, infinito e Bingham respectivamente, e τ_0 a tensão de escoamento (FISCHER *et al.*, 2009).

Diversos modelos tais como o de Herschel Bulkley e o de Casson têm sido usados para ajustar os dados de iogurte batido. Esses modelos, geralmente, descrevem razoavelmente bem parte da curva de viscosidade, mas não oferecem a possibilidade de avaliar as mudanças da estrutura desses produtos que ocorrem durante o cisalhamento (HARTE *et al.*, 2007). Muitas pesquisas evidenciam a influência de fatores como a concentração e a temperatura nos parâmetros reológicos de diversos produtos (BERTO *et al.*, 2003; HOLDSWORTH, 1971; IBARZ *et al.*, 1992; KAYA, 2001; VITALI & RAO, 1982; cit. em GRATÃO *et al.*, 2004).

A dependência da viscosidade de soluções newtonianas com a temperatura é, geralmente, expressa conforme a relação de Arrhenius (BARNES *et al.*, 2001), mostrada na

equação (8). A mesma pode ser utilizada para representar os dados experimentais de viscosidade aparente, possibilitando a determinação dos parâmetros E_a e η_0 .

$$\eta = \eta_0 \exp(-E_a/RT) \quad (8)$$

em que η_0 é um parâmetro da equação (viscosidade quando a taxa de cisalhamento tende a zero); E_a é a energia de ativação do escoamento ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$); R a constante dos gases ideais ($8,314\cdot 10^{-3} \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$) e T a temperatura absoluta (K).

Ensaio dinâmico envolve a aplicação oscilatória de tensão (stress) ou deformação (strain) e pode fornecer informações muito úteis sobre o processo de formação de gel. Na deformação controlada, a amostra é submetida a uma tensão de oscilação sinusoidal. Isso gera uma resposta ao estresse sinusoidal oscilante, que está, em certa medida, fora de fase com a tensão aplicada. A amplitude desse estresse e a diferença de fase entre ele e a tensão são medidos e, assim, a tensão é decomposta em um componente (resposta elástica), completamente em fase com ele, e em outro componente (resposta viscosa) 90° fora de fase (FERRY, 1980, apud LUCEY *et al.*, 1998). Alguns dos principais parâmetros que são, geralmente, determinados a partir dessas respostas, incluem o módulo elástico ou de armazenamento (G'), que é uma medida da energia armazenada por ciclo de oscilação, e o módulo de perda ou viscoso (G''), que é uma medida de energia dissipada como calor por ciclo, sendo a tangente de perda ($\tan \delta$) a relação entre as propriedades viscosas e elásticas (STEFFE, 1996, LUCEY *et al.*, 1998, KRISTO *et al.*, 2003).

Para melhor compreender os parâmetros viscoelásticos, é interessante observar o comportamento como sendo apenas hookeano ou apenas newtoniano. Se o material é um sólido hookeano, a tensão (stress) e a deformação (strain) estão em fase e $\delta = 0$. Assim, o módulo de perda ou viscoso (G'') e a viscosidade dinâmica (η') são iguais a 0, pois não há dissipação viscosa de energia. Neste caso, o módulo de armazenamento (G') é constante e igual ao módulo de cisalhamento (G). Se o material comporta-se como um fluido newtoniano, a tensão (stress) e a deformação (strain) estão 90° fora de fase ($\delta = \pi/2$); assim, a taxa de cisalhamento também está 90° fora de fase com a tensão de cisalhamento. Neste caso, G' e a viscosidade complexa $|\eta^*|$ são iguais a zero, pois o material não armazena energia. Desse modo, η' é constante e igual a viscosidade newtoniana (μ). Comportamento similar é frequentemente observado em fluidos não-newtonianos quando a frequência se aproxima de zero (STEFFE, 1996).

Varreduras de deformação e de tensão (*strain and stress sweeps*) são conduzidas sob taxas controladas de instrumentos de tensão, respectivamente, e ambas são conhecidas por

prover excelente base para comparação da natureza viscoelástica de produtos alimentícios. A faixa de viscoelasticidade linear dos parâmetros de varredura de deformação e tensão (*strain and stress sweeps*) pode ser usada para diferenciar géis fracos e fortes: géis fortes podem manter a região de viscoelasticidade linear sobre maiores deformações do que os géis fracos (STEFFE, 1996).

A varredura de frequência é provavelmente o modo mais comum dos testes oscilatórios, pois mostra quanto o material modifica do seu comportamento viscoso e elástico com a taxa de aplicação da deformação ou tensão (*strain or stress*). Neste teste, a frequência é aumentada enquanto a amplitude do sinal de entrada (*stress or strain*) é mantida constante. Sendo assim a varredura de frequência de grande aplicação na comparação de diferentes produtos alimentícios ou na comparação de efeitos de vários ingredientes e de processos na viscoelasticidade. Para efetivamente ser caracterizado o comportamento reológico de substâncias, as funções do material precisam ser determinadas em uma faixa ampla de frequências, usando para isso o conceito do teste de varredura de frequência (em radianos por segundo ou hertz) (STEFFE, 1996).

Uma solução diluída, uma solução concentrada e um gel mostram comportamentos distintos quando submetidos à varredura de frequência. Solução diluída apresenta G'' maior que G' em toda a faixa de varredura, mas aproximam-se um módulo do outro nas frequências mais altas. As curvas de G'' e G' cruzam-se no meio da faixa de varredura de frequência nas soluções concentradas, mostrando claramente uma tendência para o comportamento de sólido em frequências mais altas. A frequência onde ocorre o cruzamento das curvas algumas vezes é utilizada como um critério de avaliação do produto. Isto ocorre quando $G' = G''$, o ponto onde a fase lag (δ) = $\pi/4$. Géis apresentam G' significativamente maior que G'' , ao longo de toda a faixa de varredura de frequência. É importante observar que os módulos são funções fortes da frequência nas soluções diluídas e concentradas, mas praticamente constante em géis (STEFFE, 1996).

Em termos reológicos, iogurte é um material viscoelástico (fluido com comportamento misto, viscoso e elástico) e tixotrópico (dependente do tempo) (KRISTO *et al.*, 2003). Entre os fatores que influenciam as propriedades reológicas de iogurtes estão a composição do leite, o conteúdo de matéria seca, a quantidade da cultura usada, a temperatura de incubação e o tempo de armazenamento. Pequenas deformações observadas em testes com tensões

oscilatórias fornecem importantes informações do processo de formação de gel (KRISTO *et al.*, 2003).

A determinação das propriedades viscoelásticas de iogurtes é difícil, uma vez que se comportam como um gel muito fraco com uma estreita região viscoelástica linear (KEOGH & O'KENNEDY, 1998, apud HARTE *et al.*, 2007). Para evitar diferenças devido à quebra de estrutura durante a manipulação do iogurte, conforme citado em Harte *et al.* (2007), Ozer *et al.* (1997) misturaram as amostras antes de serem medidas e publicaram as propriedades viscoelásticas da estrutura residual ou recuperada. Iogurtes exibem tensão de escoamento, a tensão mínima requerida para iniciar o fluxo (STEFFE, 1996). A tensão de escoamento também é uma propriedade difícil de ser medida, porque depende da amostra propriamente e do tempo característico do processo no qual a amostra estará submetida. Segundo diversos autores, não há procedimento padrão para medir a tensão de escoamento e vários métodos têm sido sugeridos (CHENG, 1986; NGUYEN & BOGER, 1983; STEFFE, 1996; YOSHIMURA, PRUD'HOME, PRINCEN, & KISS, 1987, apud HARTE *et al.*, 2007).

Na fabricação de iogurte, o pré-tratamento do leite (padronização, processo térmico ou pressão e homogeneização) é um fator crucial que determina a qualidade do produto final (NEEDS *et al.*, 2000a e b; LUCEY, 2004; SANDRA & DALGLEISH, 2005; SERRA *et al.*, 2007). Tecnologias emergentes como a HUAP estão sendo muito estudadas para melhorar as propriedades reológicas do iogurte (HARTE *et al.*, 2003; LANCIOTTI *et al.*, 2004; SANDRA e DALGLEISH, 2005; SERRA *et al.*, 2007). As propriedades reológicas do iogurte batido têm sido objeto de vários estudos (van MARLE *et al.*, 1999).

A existência ainda escassa na literatura de dados reológicos sobre bebidas lácteas fermentadas adicionadas de polpa de frutas tropicais, com a base láctea submetida à homogeneização à alta pressão ou processada termicamente, leva ao crescente interesse e necessidade de estudo. O conhecimento desses parâmetros reológicos para esses produtos, bem como para os diversos fluidos manipulados nas indústrias de processamento de alimentos, são relevantes, uma vez que esses fluidos apresentam importância econômica (VIDAL *et al.*, 2003) e necessitam, assim, de uma criteriosa caracterização.

2.6 CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DE BEBIDAS LÁCTEAS E IOGURTES

As características sensoriais dos produtos alimentícios são relevantes, pois decorrem da interação entre os produtos e o consumidor. O conjunto dos requisitos de segurança, conveniência, nutricional e sensorial constitui a estrutura da qualidade do produto em si. Entretanto, a expectativa do consumidor envolve mais do que a satisfação desses requisitos, devendo ser satisfeitas também as necessidades fundamentais da dieta no momento da escolha do alimento a ser consumido (PERI, 2006). Do mesmo modo, observa-se o aumento do consumo de alimentos com atributos naturais e saudáveis (SLOAN, 2005), o que contribui ao interesse da indústria de alimentos à produção de géis ácidos sem a adição de estabilizantes e que não apresentem sinerese durante o armazenamento (LUCEY, 2004).

Segundo Hough (2006), a avaliação sensorial é o fator primordial na determinação da vida útil de diversos produtos alimentícios. Muitos alimentos frescos tais como iogurtes, após armazenamento relativamente prolongado, podem ser microbiologicamente seguros para consumo, mas serem rejeitados devido às mudanças em suas propriedades sensoriais. Produtos lácteos probióticos precisam apresentar não apenas o número mínimo de células para conferir os efeitos esperados na saúde, mas também serem aceitos sensorialmente (GRANATO *et al.*, 2010).

Diferentes descritores ou atributos têm sido utilizados para caracterizar a textura de iogurtes, mas não existe procedimento padronizado para avaliação sensorial desses produtos fermentados (HARTE *et al.*, 2007). Os seguintes atributos de textura são considerados muito importantes para o iogurte e outros produtos lácteos: firmeza, cremosidade, viscosidade, maciez, grumosidade, gredosidade e sinerese (MUIR, HUNTER, 1992; TAMIME, ROBINSON, 1999, apud HARTE *et al.*, 2007).

Saint-Eve *et al.* (2004), em uma das etapas do estudo sobre o impacto da qualidade olfativa e complexidade química de agentes flavorizantes na textura de iogurtes misturados, apresentaram os atributos levantados em perfil convencional de iogurtes. O objetivo foi treinar todos os provadores utilizando o mesmo vocabulário para descrever as propriedades sensoriais de iogurtes. O vocabulário final consistiu de oito atributos de aroma, três para o sabor e seis atributos de textura. As sessões de treinamento tornaram possível propor a definição para os atributos de textura e as referências químicas para os atributos de aroma e sabor, como mostra a Tabela 2.

Tabela 2. Atributos usados em perfil convencional de iogurtes, definições e referências (modificada de Saint-Eve et al, 2004)

Atributos	Definições e referências
Intensidade geral	Intensidade geral do aroma do iogurte
Adstringência	Sensação de secura na boca, similar à observada após beber vinho tinto novo
Aderência	Força necessária para remover o produto aderido na boca durante a mastigação
Cremosidade	Quantidade de textura cremosa da amostra
Textura	Resistência ao escoamento do produto entre a língua e o palato.
Maciez	Ausência de partículas sólidas detectáveis
Greosidade	Habilidade do produto em formar uma camada de um filme na boca
Amargo	Cafeína (0,5g/L em água)
Ácido	Ácido cítrico (1g/L em água)
Doce	Sacarose (16g/L em água)

Harte *et al.* (2007) avaliaram os parâmetros reológicos tensão de escoamento e viscosidade aparente de iogurtes produzidos em escala laboratorial, contendo diferentes concentrações de gomas, e em sete iogurtes comerciais. Os pesquisadores verificaram a existência de uma correlação significativamente positiva entre a tensão de escoamento com a firmeza inicial percebida sensorialmente pelos provadores treinados, tanto nos iogurtes produzidos no laboratório, quanto naqueles adquiridos no comércio. A viscosidade aparente foi correlacionada com a viscosidade sensorial para os produtos comerciais. A tensão de escoamento teve maior poder em detectar diferenças na firmeza inicial, necessitando de menos amostras e podendo ser considerada um bom avaliador da firmeza percebida sensorialmente pela equipe de provadores. Concluíram que as determinações da tensão de escoamento e da viscosidade aparente oferecem um potencial promissor na avaliação da qualidade de iogurtes, pois podem ser consideradas propriedades alvo.

Noronha *et al.* (2005), em estudo realizado sobre a percepção dos consumidores nos benefícios da aplicação de tecnologia de alta pressão no processamento de polpa de fruta, afirmaram que o desenvolvimento tecnológico precisa ser aplicado na elaboração do produto e ser atrativo ao consumidor. De modo análogo, relataram que as mudanças de hábitos e valores do consumidor estimularão a inovação tecnológica no desenvolvimento de novos produtos alimentícios adequados às necessidades do consumidor. Esses pesquisadores ressaltaram que a interdependência entre as necessidades do consumidor e as pesquisas de novas tecnologias precisa ser reconhecida pela indústria de alimentos, o que não é uma realidade sistematicamente implantada. E concluíram que o interrelacionamento entre a tecnologia e o comportamento do consumidor necessita receber mais atenção. Portanto, a avaliação sensorial foi considerada nesta pesquisa, a fim de garantir uma avaliação abrangente do produto.

2.7 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS E FÍSICO-QUÍMICAS

Há sempre preocupação de que alguns patógenos possam exibir resistência ao processamento com pressão e, conseqüentemente, representar um risco de veiculação de doença de origem alimentar. A *Listeria monocytogenes* é uma bactéria patogênica responsabilizada por surtos de doença após a ingestão de leite e derivados. A importância desse agente infeccioso na indústria de laticínios fundamenta-se na capacidade de crescer em condições de ampla faixa de pH (4,4 – 9,0) e de temperatura (1 a 45°C). No processo de HUAP, o dano ao microrganismo ocorre pela ruptura da parede celular com posterior morte da célula, teoricamente não induzindo à formação de proteínas de choque ou ativando outros sistemas de defesa celular (VACHON *et al.*, 2002, WUYTACK *et al.* 2002)

A capacidade de sobrevivência ou de multiplicação dos microrganismos que estão presentes em um alimento depende de uma série de fatores, dentre os quais aqueles relacionados às características do alimento (fatores intrínsecos) e os relacionados com o ambiente em que o alimento se encontra (fatores extrínsecos). São considerados fatores intrínsecos a atividade de água, a acidez, o pH, o potencial de oxiredução, a composição química, a presença de fatores antimicrobianos naturais e as interações entre os microrganismos presentes nos alimentos. Entre os extrínsecos, a umidade e a temperatura ambientais, bem como a composição química da atmosfera que envolve o alimento, são os principais. O conhecimento dos fatores intrínsecos e extrínsecos que agem sobre um determinado alimento permite prever sua vida útil e estabilidade microbiológica. O estudo das interações entre esses vários fatores que afetam a capacidade de sobrevivência e de multiplicação dos microrganismos nos alimentos deu origem ao conceito dos obstáculos de Leistner (*hurdle theory*), que por sua vez propiciou a construção da teoria da tecnologia dos obstáculos (*hurdle technology*). Portanto, objetivando-se obter um produto alimentício estável e seguro à saúde dos consumidores, pode ser utilizada simultaneamente mais de uma forma de controle microbiano nos alimentos (FRANCO & LANDGRAF, 2001).

Bactérias ácido lácticas têm sido usadas em todo o mundo para melhorar as características de preservação, sensorial e o valor nutricional de uma grande variedade de produtos, tais como leite, carnes e vegetais. A fermentação láctica de leite é de longe a mais estudada e conhecida. Uma grande variedade de produtos lácteos com diferentes *flavours*, texturas e propriedades promotoras de saúde pode ser obtida, a partir de leite utilizando

diferentes tecnologias e culturas *starters*. Aspectos importantes dessas culturas são: rápida acidificação, preservação microbiológica do leite, formação de flavours específicos, capacidade de modificar a textura e benefícios à saúde. A fermentação da lactose durante o crescimento bacteriano causa a acidificação do leite e, assim, protege o leite de deterioração microbiana e proliferação de patógenos. Outro efeito da acidificação é a neutralização das cargas negativas das proteínas do leite, resultando em coagulação. Além disso, as bactérias ácido lácticas convertem açúcares, ácidos orgânicos, proteínas e gorduras nos componentes típicos de aroma e flavour. Diversas cepas dessas bactérias também podem contribuir para melhorar a textura e viscosidade dos produtos fermentados por meio da síntese de exopolissacarídeos (RUAS-MADIEDO, 2002).

A inativação microbiana provocada pela HUAP tem sido testada usando-se diferentes combinações de pressão, temperatura e número de passagens através do homogeneizador e comparada a outras tecnologias tais como alta pressão hidrostática (APH). Entretanto, os mecanismos que operam na inativação microbiana na HUAP e na APH são diferentes e difíceis de serem comparados (WUYTACK *et al.*, 2002, apud SERRA *et al.*, 2007). Em termos gerais, aumentando-se a pressão e o número de passagens pelo homogeneizador, observa-se um efeito adicional na redução microbiana (GECICOVA *et al.*, 2002; HAYES *et al.*, 2004; KHEADR *et al.*, 2002; THIEBAUD *et al.*, 2003; VACHON *et al.*, 2001; WYUTACK *et al.*, 2002 apud SERRA *et al.*, 2007). Além disso, outros estudos (HAYES & KELLY, 2003a; VACHON *et al.*, 2001 apud SERRA, 2007) têm mostrado que fatores tais como pH, composição química das amostras ou processamento térmico prévio podem influenciar na eficiência do processo de HUAP.

A acidez pode reduzir significativamente a viabilidade das células, portanto torna-se essencial o seu monitoramento para garantir os efeitos desejados sobre a saúde. Assim, a contagem total de bactérias lácticas viáveis foi realizada nesta pesquisa, bem como o acompanhamento da acidez e pH das amostras analisadas, dentre outras caracterizações físico-química.

2.8 PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

A necessidade crescente da melhoria de produtos e processos, minimizando custos e tempos, maximizando rendimento, produtividade e qualidade de produtos, dentre outros,

transforma essa técnica sistemática de planejamento de experimentos em interesse de profissionais e pesquisadores nas diversas áreas do conhecimento. O planejamento experimental deve ser realizado para determinar a influência dos fatores (variáveis independentes) sobre as respostas desejadas (variáveis dependentes), sendo indispensável para que resultados confiáveis sejam obtidos e para que as análises estatísticas consistentes possam ser realizadas. Assim, pode-se destacar como vantagens do planejamento experimental aplicado à pesquisa, a possibilidade de redução do número de experimentos ou repetições e a melhor qualidade da informação obtida pelos resultados, o que significa uma sensível diminuição no trabalho, tempo e custo final (RODRIGUES & IEMMA, 2005).

A apreciação da variabilidade e algum entendimento de como usar as ferramentas descritivas e analíticas são requeridos para solucionar muitos tipos de problemas de engenharia. A estatística é o ramo da matemática aplicada envolvida com a variabilidade e seu impacto na tomada de decisão. Assim, os métodos estatísticos são usados para ajudar a entender que as sucessivas observações de um sistema ou fenômeno não produzem exatamente o mesmo resultado. Dessa forma, o julgamento estatístico dos fatores potenciais de variabilidade pode facilitar na tomada de decisão (MONTGOMERY *et al.*, 2004).

A metodologia do planejamento fatorial, associada à análise de superfícies de respostas, é uma ferramenta fundamentada na teoria estatística, que fornece informações seguras sobre o processo, minimizando o empirismo que envolve técnicas de tentativa e erro (BOX *et al.*, 1978, apud RODRIGUES & IEMMA, 2005). Os ensaios no ponto central podem fornecer informações úteis (erro puro) sobre o comportamento das respostas entre os níveis atribuídos aos fatores, além de evidenciar a qualidade da repetitividade do processo e da curvatura do plano. A situação ideal é aquela na qual podemos repetir ensaios nos pontos fatoriais e, além disso, realizar alguns ensaios no ponto central, o que nem sempre é possível quando os ensaios envolvem altos custos e grande demanda de equipamentos e tempo (CALADO, 2003; RODRIGUES & IEMMA, 2005).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver bebidas lácteas fermentadas probióticas com adição de polpa de abacaxi adoçada a partir de diferentes bases lácteas (leite cru desnatado ou leite UHT desnatado e soro de leite desidratado reconstituído) submetidas ao processo térmico e/ou de homogeneização à ultra-alta pressão (HUAP), visando um produto com qualidade sensorial, físico-química e microbiológica, bem como propor um modelo matemático que descreva o seu comportamento reológico.

3.1.1 Objetivos específicos

1. Desenvolver bebida láctea fermentada probiótica com adição de polpa de abacaxi adoçada.
2. Caracterizar sensorialmente o produto desenvolvido com a base láctea termoprocessada.
3. Submeter a base láctea aos processos de homogeneização à ultra-alta pressão (HUAP) e de pasteurização, seguido da fermentação e preparo das formulações das bebidas.
4. Estudar, comparativamente, os efeitos dos processos usados sobre as características reológicas, físico-químicas e microbiológicas das bebidas probióticas desenvolvidas.
5. Propor modelo matemático para o comportamento reológico do produto.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DESENVOLVIMENTO DAS BEBIDAS LÁCTEAS FERMENTADAS PROBIÓTICAS

4.1.1 Matérias-primas

4.1.1.1 Leite e soro

As avaliações físico-químicas do leite cru desnatado (Cooperativa de Laticínios de Macuco, RJ) e do soro de leite desidratado (Laticínios Porto Alegre Ind. e Com. Ltda., MG) utilizados na elaboração das bebidas lácteas fermentadas são apresentados nas Tabelas 3 e 4, respectivamente. A qualidade desses ingredientes pode ser evidenciada por meio de determinações físico-químicas, cujos resultados demonstram estarem os mesmos de acordo com as exigências legais para consumo (BRASIL, 2005).

Tabela 3. Valores médios das análises do leite cru desnatado utilizado na elaboração das bebidas lácteas

Análise ^a	Método	Resultado	Padrão	Unidade
Acidez titulável	LANARA/MA (1981)	0,14	0,14 - 0,18	g ácido láctico/100mL
pH (20°C)	pHmetro digital	6,80	6,70-6,90	faixa
Gordura	FIL 1C: (1987)	0,5 ^b	Máx. 0,5	g/100 g
Proteína	FIL 20 B: (1993)	3,5	Mín. 2,9	g/100 g
Densidade a 15°C	LANARA/MA, (1981)	1,033.4	1,028 a 1,034	g/mL
Índice Crioscópico	FIL 108 A: (1969)	-0,535	Máx.-0,530 (eq. a -0,512°C)	°H
ESD	FIL 21B: (1987)	8,45	Mín 8,40	g/100 g
Conservadores	LANARA/MA, (1981)	Ausente	Ausente	faixa
Antibiótico	Enzimático	Ausente	Ausente	faixa

^aAnálises realizadas pela Cooperativa de Laticínios de Macuco, RJ. ^bDesnate feito na Cooperativa imediatamente antes da coleta da amostra refrigerada a 4°C.

Tabela 4. Valores médios das análises do soro de leite desidratado utilizado na elaboração das bebidas lácteas

Análise ^a	Método	Resultado	Padrão	Unidade
Umidade	ADMI	2,80	Máx. 3,50	%
Proteína	Kjeldahl	13,07	Mín. 11,00	%
Gordura	Butirométrico	0,50	Máx. 1,50	%
Cinzas	ADPI	6,40	Máx. 8,00	%
Acidez	AOAC	0,14	Máx. 0,18	% ác.lático
pH (sol. 10% a 20°C)	pHmetro digital	6,00	Mín. 5,80	faixa
Cloreto	AOAC	2,91	Máx. 9,00	%
Lactose	Cálculo	77,23	Aprox.. 78	%
Res. Antib. betalactâmicos	Enzimático	Ausente	Ausente	faixa
Res. Antib. Tetraciclina	Enzimático	Ausente	Ausente	faixa

^aAnálises realizadas pelo Laticínios Porto Alegre Ind. e Com. Ltda., MG.

Leite UHT desnatado (Parmalat Brasil S/A Ind. de Alimentos, Itaperuna, RJ) também foi utilizado na elaboração de base láctea em substituição ao leite cru desnatado em algumas etapas. O rótulo do produto apresentou a informação nutricional por 100 g: valor calórico, 63 Kcal (3% VD*); carboidratos, 9,4 g (3% VD); proteínas, 6,3 g (8% VD); cálcio, 240 mg (24% VD); sódio, 143 mg (1% VD). *Valores diários com base em uma dieta de 2.000 kcal.

4.1.1.2 Polpa de abacaxi pasteurizada e congelada

Na elaboração das bebidas fermentadas, foram utilizadas polpas de abacaxi integral, pasteurizadas e congeladas (Icefruit-Maisa, SP), as quais apresentaram no rótulo a informação nutricional por 100 g do produto: valor calórico, 50 Kcal (2% VD*); carboidratos, 12 g (3% VD), dos quais 6 g de açúcares; proteínas, menor que 1 g (1% VD); fibra alimentar, menor que 1 g (2% VD); cálcio, 16 mg (2% VD), ferro, 0,4 mg (3% VD); sódio, 30 mg (1% VD) e vitamina C, 13 mg (20 % VD). *Valores Diários de Referência com base em uma dieta de 2500 calorias. Os parâmetros físico-químicos de pH, acidez total em ácido cítrico (g/100g) e °Brix (g/100g), dessas polpas de abacaxi são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Valores médios das análises da polpa de abacaxi utilizada na elaboração das bebidas lácteas

Análise ^a	Método	Resultado	Padrão	Unidade
pH	981,12, AOAC (2005)	3,56	3,00 - 3,60	faixa
Acidez total	942,15, AOAC (2005)	0,58	0,60	g/100g
°Brix	932,14, AOAC (2005)	11,0	11,0 - 13,0	g/100g

^aAnálises realizadas no Laboratório de Físico-química da Embrapa Agroindústria de Alimentos, RJ.

4.1.1.3 Açúcar e aspartame

As polpas de abacaxi pasteurizadas e congeladas, após descongelamento e imediatamente antes de serem adicionadas às bases lácteas fermentadas foram adoçadas com açúcar refinado (Cosan-Açúcar União, RJ) ou aspartame (Nutrasweet do Brasil Ltda., SP). As concentrações dos adoçantes utilizados foram estabelecidas conforme os resultados observados por Marcellini *et al.* (2006) em estudo sobre a caracterização sensorial através do perfil livre de suco de abacaxi concentrado, reconstituído e adoçado com diferentes edulcorantes e sacarose. Assim, nesse estudo foi utilizada a equivalência de dulçor de 7 g de

sacarose para 0,0388 g de aspartame para cada 100 mL de polpa de abacaxi, a mesma estabelecida por aqueles pesquisadores.

4.1.1.4 Cultura probiótica

A cultura láctica probiótica (Bio Rich Christian Hansen Ind. e Com. Ltda.), constituída de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Streptococcus thermophilus*, na concentração de 1 g/L e contagem inicial de células viáveis igual a 10^7 UFC/mL foi inoculada em todas as bases lácteas, de modo direto e após o processo térmico ou de HUAP.

4.1.2 Bases Lácteas

As bases lácteas (1) e (2) foram preparadas adicionando-se para cada 50 mL de soro de leite desidratado reconstituído em água mineral (Minalba) (4,5 g/ 50 mL), o mesmo volume de leite cru desnatado ou leite UHT desnatado, respectivamente, nas proporções que garantissem um conteúdo de sólidos totais de cerca de 9 g/100 mL. Assim, em diferentes etapas desta pesquisa foram utilizados dois substratos: base láctea (1) e base láctea (2), conforme indicado em cada situação.

4.1.3 Processos

4.1.3.1 Pasteurização da base láctea para o desenvolvimento das bebidas fermentadas

Para a obtenção das bebidas lácteas fermentadas probióticas, diferentes volumes de leite cru desnatado (70, 60 e 50 mL/100 mL) e de soro de leite desidratado e reconstituído (30, 40 e 50 mL/ 100 mL) foram misturados e assim preparadas formulações com diferentes proporções de leite:soro. Essas bases lácteas foram pasteurizadas em equipamento UHT, modelo ARMFIELD FT 25D S.S.H.E. (Embrapa Agroindústria de Alimentos Rio de Janeiro – RJ, Brasil), submetidas ao aquecimento de 90°C/60 s e resfriamento até $(43 \pm 1)^\circ\text{C}$, envasadas em garrafas estéreis de vidro com tampa rosqueável, nas quais a cultura láctica

probiótica havia sido adicionada. As amostras foram misturadas e incubadas a $(43 \pm 1)^\circ\text{C}$ para fermentação, até que o pH atingisse o valor igual a 4,5 (cerca de 210 min). Na bebida fermentada e resfriada $(10 \pm 1)^\circ\text{C}$, adicionou-se, a polpa de abacaxi (10, 20 e 30 mL/100mL), previamente descongelada e adoçada com açúcar ou com aspartame. As bebidas obtidas foram misturadas separadamente e acondicionadas em garrafas de vidro estéreis sendo, então, armazenadas a $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ até o momento das análises, de acordo com o diagrama simplificado de produção (Figura 2).

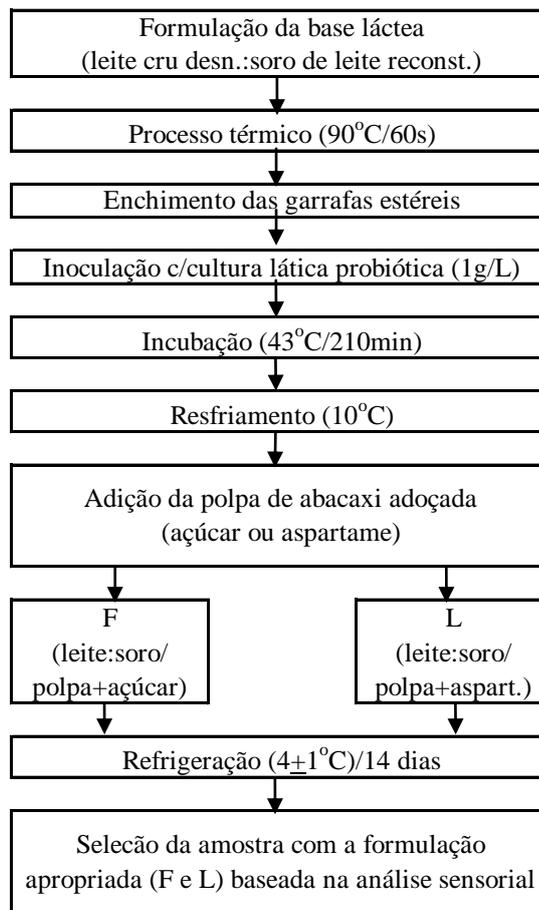


Figura 2. Diagrama simplificado de produção das formulações das bebidas lácteas fermentadas: $F_{\text{leite:soro/polpa+açúcar}}$ = com adição de polpa de abacaxi e açúcar e $L_{\text{leite:soro/polpa+aspartame}}$ = com adição de polpa de abacaxi e aspartame para seleção da formulação adequada por análise sensorial.

Assim, foram preparadas sete formulações adoçadas com açúcar ($F_{\text{leite:soro/polpa+açúcar}}$) e sete com aspartame ($L_{\text{leite:soro/polpa+aspartame}}$), de acordo com delineamento experimental inteiramente ao acaso (Tabela 6), com esquema fatorial 2^2 e adição de ponto central (experimentos de 1 a 5). Foram acrescentados, ainda, dois pontos extras (experimentos 6 e 7). Previamente, foram preparadas sete formulações sem adição de polpa de abacaxi e de açúcar ou aspartame (BL), totalizando, assim, três diferentes tipos de bebidas lácteas

fermentadas. Entretanto, só foram destinadas à análise sensorial as formulações com polpa e adoçadas, para serem comparadas com as similares encontradas no comércio. A partir dos resultados dessa análise, escolheu-se a formulação mais adequada, sob o aspecto sensorial, para o prosseguimento da pesquisa.

Tabela 6. Planejamento experimental para o desenvolvimento das bebidas lácteas fermentadas

Experimento	Variáveis codificadas		Variáveis originais	
	X ₁	X ₂	Base láctea (leite:soro) (mL:mL/100mL)	Polpa de abacaxi (mL/100 mL)
1	-1	-1	70:30	10
2	1	-1	50:50	10
3	-1	1	70:30	30
4	1	1	50:50	30
5	0	0	60:40	20
6	-1	0	70:30	20
7	1	0	50:50	20

4.1.3.2 Aplicação da HUAP na base láctea para obtenção das bebidas fermentadas

As bases lácteas (1) e (2) foram pressurizadas utilizando-se o homogeneizador de alta pressão dinâmica modelo FPG7400H: 350 (*STANSTED Fluid Power Ltd., Essex-UK*, existente na planta piloto da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Figura 3), com vazão de 250 mL min⁻¹.



Figura 3. Homogeneizador de Ultra-Alta Pressão, modelo FPG7400H: 350.

Termopares instalados em diferentes posições do equipamento monitoraram a temperatura de entrada da base láctea (T_1), a temperatura anterior à primeira válvula de homogeneização (T_2), a temperatura após a segunda válvula de homogeneização (T_{11}) e a temperatura após o trocador de calor de serpentina para resfriamento da base láctea (T_{12}), todos conectados ao *data logger* Modelo 692-8010, *Barnant Co., Barrington IL*, utilizado para registro dos dados. Para aplicação da HUAP, dois planejamentos experimentais distintos foram adotados em diferentes etapas da pesquisa: (1) HUAP₁= níveis de pressão de 150, 200 e 250 MPa e temperaturas de entrada da base láctea iguais a 15, 20 e 25°C; e (2) HUAP₂= níveis de pressão de 150, 200 e 250 MPa e temperaturas de entrada iguais a 10, 15 e 20°C, de acordo com o planejamento experimental fatorial 2² com adição de pontos centrais proposto para os processamentos (Tabelas 7 e 8). Como pode ser observado, foram arbitradas novas temperaturas para o processo de HUAP₂, devido ao fato de serem mais coerentes às condições operacionais, uma vez que as bases lácteas ao serem preparadas atingiam uma temperatura, em média, inferior a 10°C. Elevar a temperatura de entrada até 25°C, expunha essa base a um tempo longo de aquecimento e estabilização, o que favorecia o fato indesejado de possível multiplicação microbiana antes do início do processo.

A partir dessa etapa, todas as demais seguiram o descrito no item 4.1.3.1. Assim, foram obtidos os diferentes tipos de bebidas a partir da base láctea processada por HUAP₁ ou HUAP₂. Usar-se-á aqui a seguinte convenção: BL= bebida láctea fermentada, BLA= bebida láctea fermentada com polpa de abacaxi e açúcar, BLL= bebida láctea fermentada com polpa de abacaxi e aspartame.

Tabela 7. Variáveis e níveis do planejamento experimental aplicado a partir da base láctea (1) processada por HUAP₁ na elaboração das bebidas fermentadas BL, BLA e BLL= processo 1

Variáveis	Símbolos	Níveis das variáveis		
		-1	0	1
Pressão (MPa)	X ₁	150	200	250
Temperatura de entrada (°C)	X ₂	15	20	25

Tabela 8. Variáveis e níveis do planejamento experimental aplicado a partir das bases lácteas (1) e (2) processadas por HUAP₂ na elaboração das bebidas fermentadas BL, BLA e BLL= processos 2 e 3, respectivamente

Variáveis	Símbolos	Níveis das variáveis		
		-1	0	1
Pressão (MPa)	X ₁	150	200	250
Temperatura de entrada (°C)	X ₂	10	15	20

Nessa etapa, as formulações usadas no preparo da base láctea já haviam sido pré-definidas por análise sensorial e todas as amostras foram mantidas na temperatura de (4 ± 1)°C

para as posteriores caracterizações, conforme apresentado no diagrama simplificado da Figura 4.

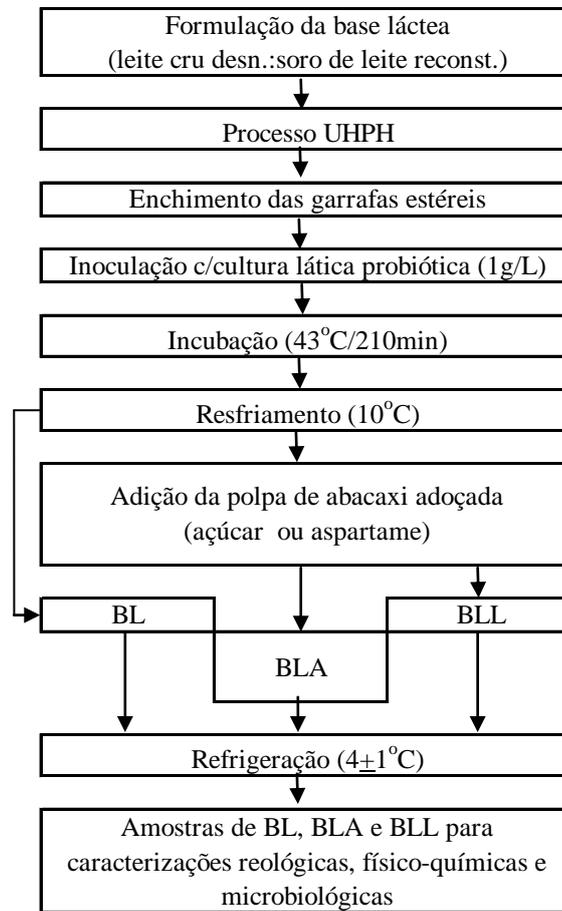


Figura 4. Diagrama simplificado de produção do Processo HUAP₁ e HUAP₂, de acordo com os desenhos experimentais apresentados nas Tabelas 7 e 8, para a obtenção das amostras das bebidas lácteas fermentadas (BL), com adição de polpa de abacaxi e açúcar (BLA) e com adição de polpa de abacaxi e aspartame (BLL), para as caracterizações microbiológicas, físico-químicas e reológicas.

4.1.3.3 Pasteurização da base láctea (1) para elaboração dos controles das bebidas

Para a obtenção dos controles termicamente processados (90°C/60 s) das bebidas fermentadas (BL, BLA e BLL), a base láctea (1) foi pasteurizada no mesmo equipamento e conforme descrito no item 4.1.3.1.

4.1.3.4 Elaboração dos controles das bebidas lácteas a partir da base láctea (2)

Os controles das bebidas lácteas fermentadas (BL, BLA e BLL) foram preparados com a base láctea (2) aquecidas até a temperatura de inoculação da cultura probiótica (43°C/60 s) e nas mesmas condições apresentadas nos itens 4.1.3.1.

4.2 CARACTERIZAÇÃO SENSORIAL

Neste estudo, foram desenvolvidas diferentes formulações de bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi e adoçadas com sacarose ($F_{\text{leite:soro/polpa+açúcar}}$) ou aspartame ($L_{\text{leite:soro/polpa+aspartame}}$), a partir da base láctea (1) pasteurizada termicamente (90°C/60 s) e planejamento apresentado na Tabela 6 do item 4.1.3.1. Para caracterizar as amostras e identificar a formulação termicamente processada mais apropriada em termos das características sensoriais (tais como: aparência, textura, sabor, aroma e sensação bucal), utilizou-se a Análise Descritiva Quantitativa – ADQ (MEILGAARD *et al.*, 1999). A razão do uso dos dois tipos de adoçantes foi devido à possibilidade de comparar os produtos desenvolvidos entre si e com os produtos comerciais similares encontrados no mercado local, que são preferencialmente adoçados com aspartame.

A bebida formulada selecionada sensorialmente foi posteriormente utilizada no estudo com o processo de homogeneização a ultra-alta pressão (HUAP). Assim, uma equipe de oito provadores (três homens e cinco mulheres com idade entre 35-55 e 30-50 anos, respectivamente), previamente selecionada, participou da geração e da definição dos atributos sensoriais em sessões nas quais analisaram as diferentes formulações desenvolvidas e três marcas de amostras comerciais (C, L, M). Estabeleceu-se uma lista de atributos que melhor descreveram as amostras, assim como suas definições e termos de referência para a elaboração da ficha de caracterização do produto. Sinônimos e termos relacionados foram reduzidos pela equipe e sessões de treinamento foram realizadas utilizando-se as fichas contendo os termos descritivos obtidos consensualmente. Seguindo o procedimento padronizado da ADQ (STONE & SIDEL, 2004), as amostras foram servidas monadicamente e avaliadas em cabines individuais sob luz branca (Lab. Avaliação Sensorial e Instrumental da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). As fichas com os escores

foram preparadas individualmente para avaliação da intensidade de cada descritor, marcando, em uma escala não estruturada de 9 cm, o termo mais adequado de acordo com o estabelecido previamente: à esquerda, ausente (zero) e pouco (1), e à direita, muito (9). Os dados, coletados em duplicata e utilizando-se o software FIZZ, 2005, (BIOSYSTEMES, version 2.10), foram analisados mediante análise de variância (ANOVA) e análise de componentes principais (ACP). Essas duas ferramentas estatísticas são valiosas e amplamente utilizadas na análise de dados sensoriais (BORGOGNONE *et al.*, 2001) para avaliar a influência das diferentes formulações nos atributos sensoriais. Para isso, foi considerado o nível de significância de 5%.

4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

Com o objetivo de caracterizar os produtos desenvolvidos em relação ao seu aspecto físico-químico, as amostras das bebidas lácteas fermentadas BL, BLA e BLL, obtidas a partir da base láctea (1) submetida ao processo de HUAP₁, e seus controles (90°C/60 s) foram analisados em duplicata, utilizando-se os métodos analíticos AOAC (2005) e IAL (2005) (Tabela 9). A legislação nacional (BRASIL, 2005) estabelece para esse tipo de alimento a necessidade de serem conhecidos os valores de: pH, acidez titulável em ácido láctico, substâncias voláteis, extrato seco total, cinzas, gordura, proteínas, glicídios redutores em lactose e glicídios não-redutores em sacarose. A acidez titulável (g ácido láctico/100 g) e o pH (BRASIL, 2005) foram analisados em potenciômetro da marca METROHM 785DMP TITRINO.

Os cálculos dos valores calóricos e da composição centesimal de todos os produtos desenvolvidos foram feitos baseando-se na legislação brasileira (BRASIL, 2003) e comparados aos produtos comerciais (C, L e M), bem como ao produto similar (bebida láctea de pêssgo) encontrado em tabela nutricional de referência (TACO, 2005).

Os teores de carboidratos foram obtidos por diferença. De modo semelhante, foram calculados os teores de extrato seco total (EST), em que foram somados todos os constituintes, exceto a umidade. O cálculo do valor calórico de cada bebida desenvolvida foi obtido considerando-se os valores teóricos de 4 kcal/g para proteínas e para carboidratos e de 9 kcal/g para lipídios (extrato etéreo) (BRASIL, 2003).

Tabela 9: Referências dos métodos analíticos físico-químicos para bebidas lácteas

Determinações	Referências dos métodos
pH	981.12 AOAC (2005)
Acidez titulável	947.05 AOAC (2005)
Umidade	925.45D AOAC (2005)
Extrato seco total	484/IV IAL (2005)
Cinzas	945.46 AOAC(2005)
Gordura	933.05 AOAC (2005)
Proteínas (N total x F=6,38)	930.29 AOAC (2005)
Glicídios redutores, em lactose	488/IV IAL (2005)
Glicídios não redutores, em sacarose	489/IV IAL (2005)

4.4 CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA

O monitoramento da viabilidade das células é essencial para garantir os efeitos desejados sobre a saúde, assim, foi realizada a contagem total de bactérias lácticas viáveis. Para tal, utilizou-se como meio de cultura Agar MRS (De Man, Rogosa & Sharpe Agar Oxoid CM 361). O método analítico utilizado é recomendado e descrito pelo Grupo E-104 da *International Dairy Federation, International Standards Organization e Association of Official Analytical Chemists* (IDF/ISO/AOAC GROUP E-104, 1995) e consta do Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos da editora Varela (SILVA *et al.*, 2007) e dos Procedimentos Operacionais Padronizados (A 033 e A 009) do laboratório onde as análises ocorreram. As amostras das bebidas lácteas analisadas (BL, BLA e BLL) foram elaboradas com as bases lácteas (1) ou (2) submetidas aos processos de HUAP₁ ou HUAP₂ e os respectivos controles processados termicamente como descrito nos itens 4.1.3.3 e 4.1.3.4.

4.4.1 Contagem das bactérias lácticas totais

As análises foram realizadas com as amostras frescas sob temperatura de $(4 \pm 1)^{\circ}\text{C}$. Para o preparo das amostras, foram inicialmente diluídos volumes de 10 mL de cada amostra em 90 mL de água peptonada contida em saco de polietileno estéril, homogeneizando, em seguida, em *stomacher* durante 2 minutos. Foram realizadas diluições sucessivas de 1 mL da amostra de diluição 10^{-1} até a diluição 10^{-5} . Foram retirados volumes de 1mL das amostras de diluições 10^{-4} até 10^{-5} e submetidos ao procedimento de plaqueamento em profundidade com sobrecamada do meio Agar MRS, para garantir a anaerobiose necessária ao crescimento das bactérias lácticas. Todas as placas, em duplicata, foram incubadas invertidas na temperatura de

35°C durante 3 dias, quando então procedeu-se a contagem direta das células viáveis, no tempo zero (dia 1). As contagens também foram realizadas com as amostras frescas e estocadas sob temperatura de $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ aos 14 e 28 dias.

4.4.2 Avaliação da qualidade higiênico-sanitária das bebidas lácteas

Para a avaliação higiênico-sanitária, todas as matérias-primas e bebidas lácteas fermentadas desenvolvidas foram submetidas à enumeração de coliformes totais e coliformes à 45°C. Para a determinação do Número Mais Provável – NMP – de coliformes totais, utilizou-se a técnica de tubos múltiplos, semeando-se as amostras em Caldo Lactosado Bile Verde Brilhante– CLBVB- (OXOID) e incubando-se a 35°C por 48h. A enumeração do NMP para coliformes à 45°C foi realizada a partir dos tubos positivos (com gás) das amostras do CLBVB repicadas para caldo EC e Triptona (DIFCO) e incubadas a 45°C por 48h em banho-maria. Todas as análises seguiram os métodos preconizados por Silva, Junqueira e Silveira (1997). Os resultados obtidos foram confrontados com os padrões microbiológicos estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2002).

4.5 CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA

O comportamento da viscosidade aparente e tensão de cisalhamento (estado estacionário) e as propriedades viscoelásticas (estado oscilatório) de todas as amostras e controles das bebidas fermentadas, obtidas a partir da base láctea (1) ou (2) submetida ao processo de HUAP₁ e HUAP₂, foram medidos em um reômetro com tensão controlada (ARG2 existente no Laboratório de Propriedades Físicas da Escola de Química da UFRJ), sendo os dados obtidos analisados pelo software *TA Orchestrator* acoplado ao reômetro.

4.5.1 Avaliação do comportamento reológico das bebidas lácteas mediante testes em condições estacionárias

Foram realizados testes em estado estacionário, para avaliar o comportamento de escoamento das amostras, mediante a obtenção dos parâmetros de tensão de cisalhamento e de

viscosidade aparente. Todas as amostras foram homogeneizadas na própria embalagem durante 30 s, antes de serem transferidas para a seringa utilizada na medição do volume de 19,5 mL, padronizado para cada teste. A geometria utilizada para essas medições foi cilindros concêntricos com raios interno e externo de 14 e 15 mm, respectivamente. A altura imersa do cilindro foi 42 mm, com *gap* de 5,92 mm. A programação utilizada do equipamento foi: temperatura de $10 \pm 1^\circ\text{C}$, regulada por banho termostático com água circulante e estabilização por 5 min, 2 ciclos com taxa de cisalhamento variando de 0 a 300 s^{-1} , em 300 s (curva ascendente), seguido de retorno a 0 s^{-1} em 300 s (curva descendente).

4.5.2 Avaliação das propriedades viscoelásticas das bebidas lácteas mediante testes em condições oscilatórias

Todas as amostras foram submetidas aos testes dinâmicos, a fim de se conhecerem algumas propriedades viscoelásticas, mediante a determinação dos módulos de armazenamento ou elástico (G'), de perda ou viscoso (G''), bem como a viscosidade complexa ($|\eta^*|$) e a tangente de perda ($\tan \delta$). Esses parâmetros foram obtidos submetendo-se as amostras numa região de viscoelasticidade linear, na faixa de frequência entre 0,01 a 10Hz e deformação (*strain*) 0,5% (tempo 190s, 21 pontos de dados coletados). A magnitude da deformação foi determinada a partir de experimentos iniciais com amplitude de deformação (*strain sweep*) entre 0,01 a 1% e frequências de 0,1, 1,0 e 10Hz aplicados para cada amostra. As análises foram feitas no reômetro descrito no item 4.5, sob as mesmas condições de temperatura ($10 \pm 1^\circ\text{C}$) e volume de amostra (19,5 mL).

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Análise de componentes principais (PCA) foi aplicada para avaliar a influência das diferentes formulações nos atributos sensoriais. Análise de variância (ANOVA) foi usada na pesquisa da influência das formulações e dos processos no comportamento reológico, na caracterização físico-química e microbiológica considerando-se o nível de significância de 5% para todas as análises. A superfície de respostas também pode ser aplicada, devido aos resultados obtidos nos planejamentos propostos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DESENVOLVIMENTO DA BEBIDA LÁCTEA E SELEÇÃO DA FORMULAÇÃO POR ANÁLISE SENSORIAL

Os atributos sensoriais relativos à aparência, aroma, textura, sabor e sensação bucal, respectivas definições e referências para as bebidas fermentadas são mostrados na Tabela 10.

Tabela 10. Atributos sensoriais das bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi, definições e respectivas referências

Atributos	Definição	Referências
<i>Aparência</i>		
Cor	Varição do branco leitoso ao amarelo claro	Branca—amostra formulada L _{30/10} Amarela—amostra comercial C*
Característica de bebida láctea fermentada	Característica de bebida láctea fermentada	Pouco - amostra formulada L _{30/10} Muito-amostra comercial M*
<i>Aroma</i>		
Doce	Doçura relativa aos açúcares/edulcorantes presentes	Pouco - amostra formulada F _{30/10} Muito-amostra comercial C*
Ácido	Acidez proveniente da presença de ácidos orgânicos	Pouco-amostra comercial M* Muito-amostra comercial L*
Característico de abacaxi	Característico de abacaxi	Pouco-amostra formulada F _{30/10} Muito-amostra comercial L*
<i>Textura</i>		
Consistente	Resistência ao escoamento do produto entre a língua e o palato	Pouco-amostra comercial M* Muito – amostra formulada L _{30/10}
Gredosa	Habilidade do produto em formar uma camada de um filme na boca	Pouco-amostra comercial M* Muito-amostra formulada L _{30/10}
Grumosa	Percepção da presença de partículas sólidas ou grumos	Ausência—amostra comercial M* Muito-amostra formulada L _{30/10}
<i>Sabor</i>		
Gosto Doce	Doçura relativa aos açúcares/edulcorantes presentes	Pouco - amostra formulada F _{30/10} Muito—amostra comercial M*
Artificial	Percepção da presença de edulcorante artificial	Pouco-amostra formulada L _{30/10} Muito-amostra comercial C*
Gosto Ácido	Acidez proveniente da presença de ácidos orgânicos	Pouco—amostra comercial M* Muito - amostra formulada F _{50/30}
Característico de bebida láctea com polpa de abacaxi	Característico de bebida láctea com polpa de abacaxi	Pouco - amostra formulada F _{30/10} Muito—amostra comercial M*
<i>Sensação bucal</i>		
Adstringente	Sensação de secura na boca	Pouco—amostra comercial M* Muito-amostra formulada L _{40/20}

*L, M, C = marcas comerciais de bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi e adoçadas com aspartame; L=%soro/%polpa, F=%soro/%polpa

As Tabelas 11 e 12 apresentam, respectivamente, as médias dos atributos sensoriais analisados pela ADQ das sete formulações com açúcar e das sete com aspartame. As Figuras 5 e 6 ilustram estes resultados na forma gráfica.

Tabela 11. Médias dos atributos[§] sensoriais das bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi adoçadas com açúcar

Atributos	Formulação (%soro/%polpa)/ médias						
	F _{30/10}	F _{30/20}	F _{30/30}	F _{40/20}	F _{50/10}	F _{50/20}	F _{50/30}
<i>Aparência</i>							
Cor	2,47 ^e	3,56 ^{cd}	5,16 ^a	3,86 ^{bc}	2,85 ^{de}	4,88 ^a	4,75 ^{ab}
Característica de bebida láctea fermentada	3,16 ^{cd}	2,77 ^d	2,67 ^d	4,28 ^{bc}	6,10 ^a	5,65 ^a	4,96 ^{ab}
<i>Aroma</i>							
Doce	3,34 ^b	2,59 ^c	3,26 ^b	2,51 ^c	3,87 ^a	3,86 ^a	3,79 ^{ab}
Ácido	4,55 ^a	4,25 ^{ab}	3,87 ^b	3,33 ^c	4,07 ^b	3,79 ^{bc}	3,90 ^b
Característico de abacaxi	3,07 ^{bcd}	2,67 ^d	3,53 ^{abc}	3,65 ^{ab}	3,98 ^a	2,85 ^{cd}	3,53 ^{abc}
<i>Textura</i>							
Consistente	6,32 ^b	8,48 ^a	7,27 ^b	4,96 ^c	3,69 ^d	4,04 ^{cd}	4,92 ^c
Gredosa	6,54 ^a	7,27 ^a	6,14 ^a	4,54 ^b	2,98 ^c	3,68 ^{bc}	3,54 ^{bc}
Grumosa	4,26 ^b	6,00 ^a	6,39 ^a	3,23 ^{bc}	1,93 ^{cd}	1,73 ^d	2,40 ^{cd}
<i>Sabor</i>							
Gosto Doce	4,33 ^c	4,07 ^c	4,92 ^{abc}	4,62 ^{bc}	4,53 ^{bc}	5,79 ^a	5,31 ^{ab}
Artificial	2,41 ^a	2,04 ^{ab}	1,98 ^b	2,13 ^{ab}	1,96 ^b	2,11 ^{ab}	1,82 ^b
Gosto Ácido	4,85 ^b	6,09 ^a	6,26 ^a	4,45 ^b	4,92 ^b	4,28 ^b	3,87 ^b
Característico de bebida láctea com polpa de abacaxi	3,42 ^{cd}	3,21 ^d	4,04 ^{bcd}	4,52 ^{abc}	5,33 ^a	5,20 ^{ab}	5,43 ^a
<i>Sensação bucal</i>							
Adstringente	4,26 ^{bc}	5,45 ^a	4,92 ^{ab}	4,03 ^{bc}	4,00 ^{bc}	3,23 ^c	3,61 ^c

Para um mesmo atributo, médias seguidas de letras diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

[§] Avaliados em escala não estruturada variando de 0: ausente, 1: pouco a 9: muito.

Tabela 12. Médias dos atributos[§] sensoriais das bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi adoçadas com aspartame

Atributos	Formulação (%soro/%polpa)/ médias						
	L _{30/10}	L _{30/20}	L _{30/30}	L _{40/20}	L _{50/10}	L _{50/20}	L _{50/30}
<i>Aparência</i>							
Cor	2,73 ^{cd}	3,92 ^b	4,25 ^b	3,62 ^{bc}	2,63 ^d	4,42 ^b	5,50 ^a
Característica de bebida láctea fermentada	1,98 ^c	3,36 ^{bc}	2,83 ^c	4,81 ^{ab}	5,83 ^a	5,75 ^a	5,75 ^a
<i>Aroma</i>							
Doce	4,48 ^a	4,17 ^b	3,54 ^{bc}	4,50 ^a	4,26 ^{ab}	3,36 ^c	3,15 ^c
Ácido	4,58 ^a	4,34 ^{ab}	5,31 ^a	4,83 ^a	4,69 ^a	4,05 ^{ab}	3,13 ^b
Característico de abacaxi	3,81 ^{bc}	3,31 ^c	3,18 ^c	4,84 ^a	4,18 ^b	3,33 ^c	3,17 ^c
<i>Textura</i>							
Consistente	7,72 ^a	5,95 ^b	7,03 ^{ab}	4,64 ^c	3,69 ^{cd}	2,59 ^d	3,06 ^d
Gredosa	6,89 ^a	5,56 ^a	5,63 ^a	3,85 ^b	3,77 ^{bc}	2,36 ^c	3,17 ^{bc}
Grumosa	5,55 ^a	3,62 ^b	5,91 ^a	2,87 ^{bc}	2,02 ^{cd}	0,86 ^d	1,41 ^{cd}
<i>Sabor</i>							
Gosto Doce	4,82 ^b	4,63 ^b	5,10 ^{ab}	4,42 ^b	4,97 ^{ab}	4,27 ^b	5,87 ^a
Artificial	2,77 ^{bc}	2,12 ^c	2,08 ^c	2,40 ^{bc}	2,75 ^{bc}	3,50 ^{ab}	4,08 ^a
Gosto Ácido	7,61 ^a	6,51 ^{bc}	7,42 ^{ab}	6,51 ^{bc}	5,47 ^{cd}	5,83 ^{cd}	4,88 ^d
Característico de bebida láctea com polpa de abacaxi	3,54 ^c	4,55 ^b	5,25 ^{ab}	5,71 ^a	5,71 ^a	4,90 ^b	5,23 ^{ab}
<i>Sensação bucal</i>							
Adstringente	6,38 ^a	5,69 ^{ab}	6,15 ^a	5,59 ^{ab}	4,42 ^c	4,79 ^{bc}	4,21 ^c

Para um mesmo atributo, médias seguidas de letras diferentes são significativamente diferentes ($p < 0,05$).

[§] Avaliados em escala não estruturada variando de 0: ausente, 1: pouco a 9: muito.

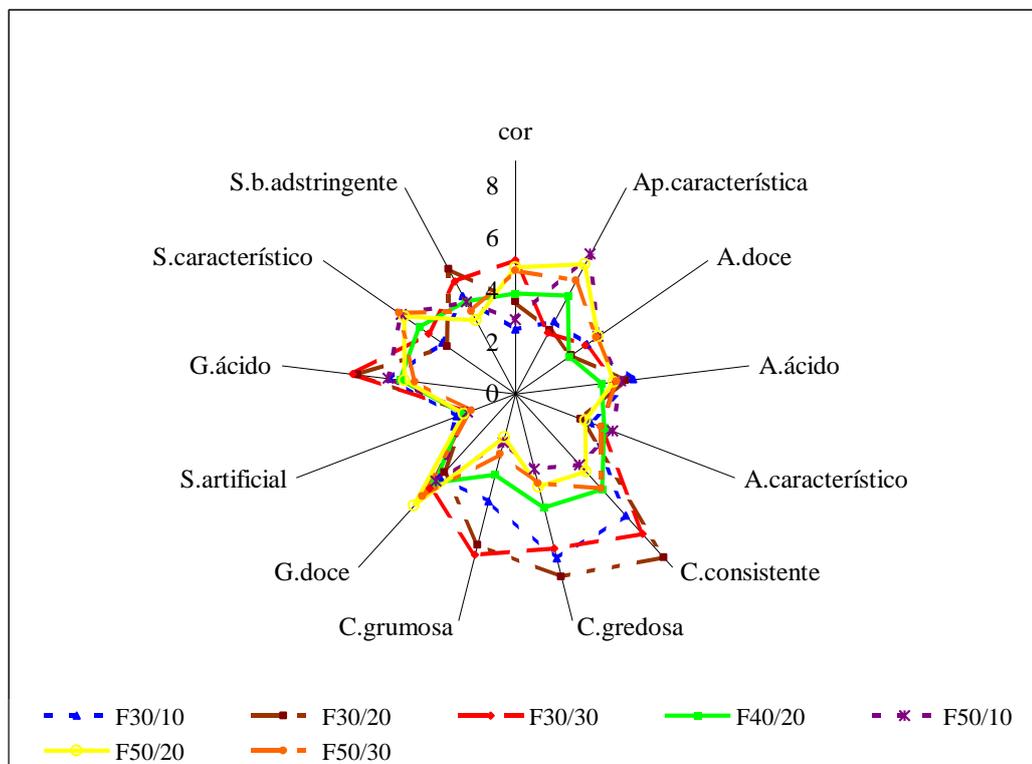


Figura 5. Médias dos atributos sensoriais da ADQ das bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi adoçadas com açúcar. F= Formulação com açúcar (%soro/%polpa).

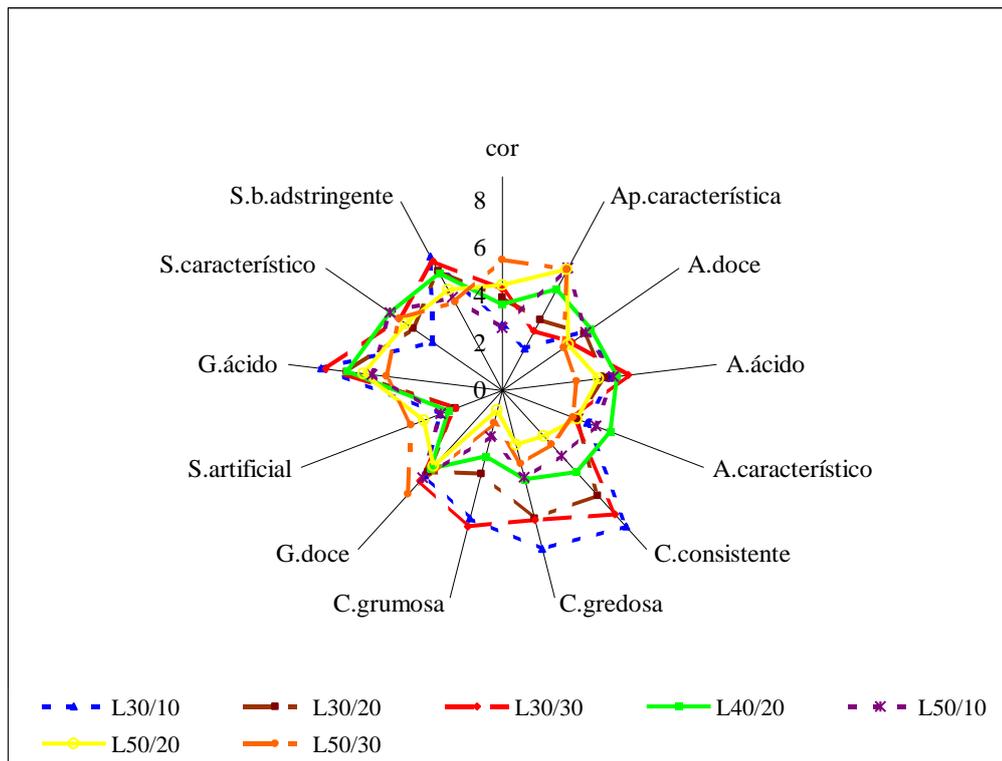


Figura 6. Médias dos atributos sensoriais da ADQ das bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi adoçadas com aspartame. L = Formulação com aspartame (%soro/%polpa).

As amostras das formulações adoçadas com açúcar com maiores concentrações de soro e polpa ($F_{50/30}$ e $F_{50/20}$) e menor concentração de soro e maior concentração de polpa ($F_{30/30}$) apresentaram, para o atributo cor, os valores médios mais altos (mais amarelas), mas quase não diferiram entre si ($p > 0,05$). Para o atributo aparência característica de bebida láctea, as formulações com maior concentração de soro ($F_{50/10}$, $F_{50/20}$ e $F_{50/30}$) apresentaram as médias mais elevadas e diferentes estatisticamente das demais. Nos atributos avaliados relacionados à textura (consistente, gredosa e grumosa), as amostras com menor teor de soro ($F_{30/10}$, $F_{30/20}$ e $F_{30/30}$) apresentaram os valores médios mais elevados e foram consideradas significativamente diferentes das amostras com maior teor de soro ($F_{50/10}$, $F_{50/20}$ e $F_{50/30}$). As amostras do ponto central ($F_{40/20}$) apresentaram as menores médias para o atributo aroma (doce e ácido). O atributo aroma característico de abacaxi foi percebido mais acentuadamente tanto na amostra $F_{40/20}$ quanto nas amostras com maior teor de polpa de abacaxi ($F_{30/30}$ e $F_{50/30}$), bem como na amostra $F_{50/10}$ como indicam os valores das médias observadas. Quanto ao atributo de sabor gosto doce, as amostras com maior teor de polpa ($F_{30/30}$ e $F_{50/30}$), independentes do teor de soro, apresentaram os valores médios mais elevados e sem diferença significativa. Para o

sabor gosto ácido, não houve diferença significativa entre as amostras, exceto para as formulações com menor teor de soro e teores de polpa de 20 e 30% ($F_{30/20}$ e $F_{30/30}$) que apresentaram os valores mais elevados nesse atributo. Em relação ao atributo sensação bucal (adstringente), as amostras com maior teor de soro e polpa ($F_{50/20}$ e $F_{50/30}$) apresentaram as médias mais baixas e com diferença significativa das amostras com menor teor de soro ($F_{30/20}$ e $F_{30/30}$). Entretanto, o oposto pode ser verificado para o atributo sabor característico de bebida láctea com polpa de abacaxi; ou seja, as formulações F_{40} e F_{50} mostraram-se com as médias mais elevadas e sem diferença significativa entre si.

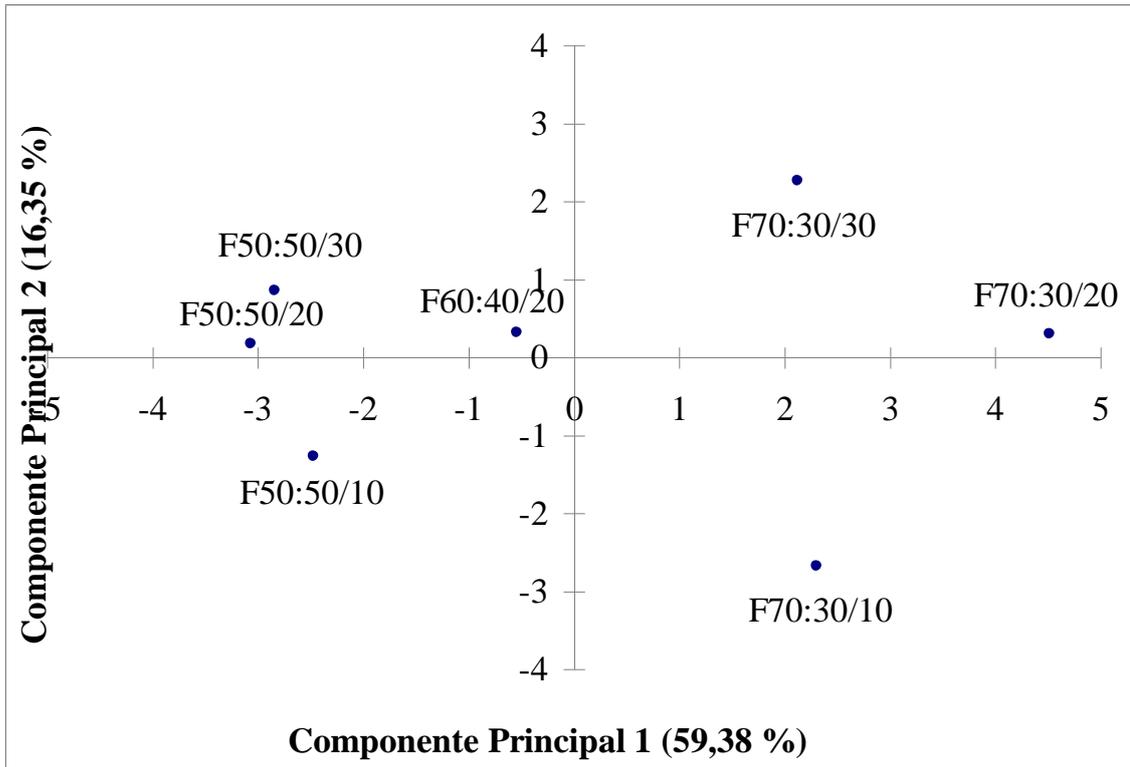
Para as formulações com aspartame, observou-se um quadro bastante semelhante, destacando-se, entretanto, alguns atributos relacionados à textura e ao sabor artificial, como mostram os resultados da Tabela 12 e Figura 6. O sabor artificial foi percebido mais intensamente nessas amostras do que nas adoçadas com açúcar, fato esse comprovado pelos valores das médias terem sido relativamente mais elevados. Apenas nas formulações com alta % de soro (L_{50}), a textura apresentou menores valores das médias nas amostras com aspartame.

A Análise de Componente Principal (ACP) foi aplicada aos dados sensoriais das 14 formulações de bebidas lácteas desenvolvidas. As posições das amostras das sete formulações adoçadas com açúcar e das sete formulações adoçadas com aspartame são mostradas nas Figuras 7 (a) e 8 (a), respectivamente. A distribuição dos atributos sensoriais são mostrados nos espaços definidos pela primeira e segunda dimensões nas Figuras 7 (b) e 8 (b), respectivamente. A soma dos componentes principais 1 e 2 (CP1 e CP2) respondeu por 76% de variações entre as amostras das formulações com açúcar e por 80% de variações entre as amostras das formulações com aspartame. Para as formulações com açúcar, o CP1 explicou 59% da variância, enquanto o CP2 explicou 16%. Enquanto nas amostras das formulações com aspartame, CP1 correspondeu a 59% das variações e CP2 a 21%.

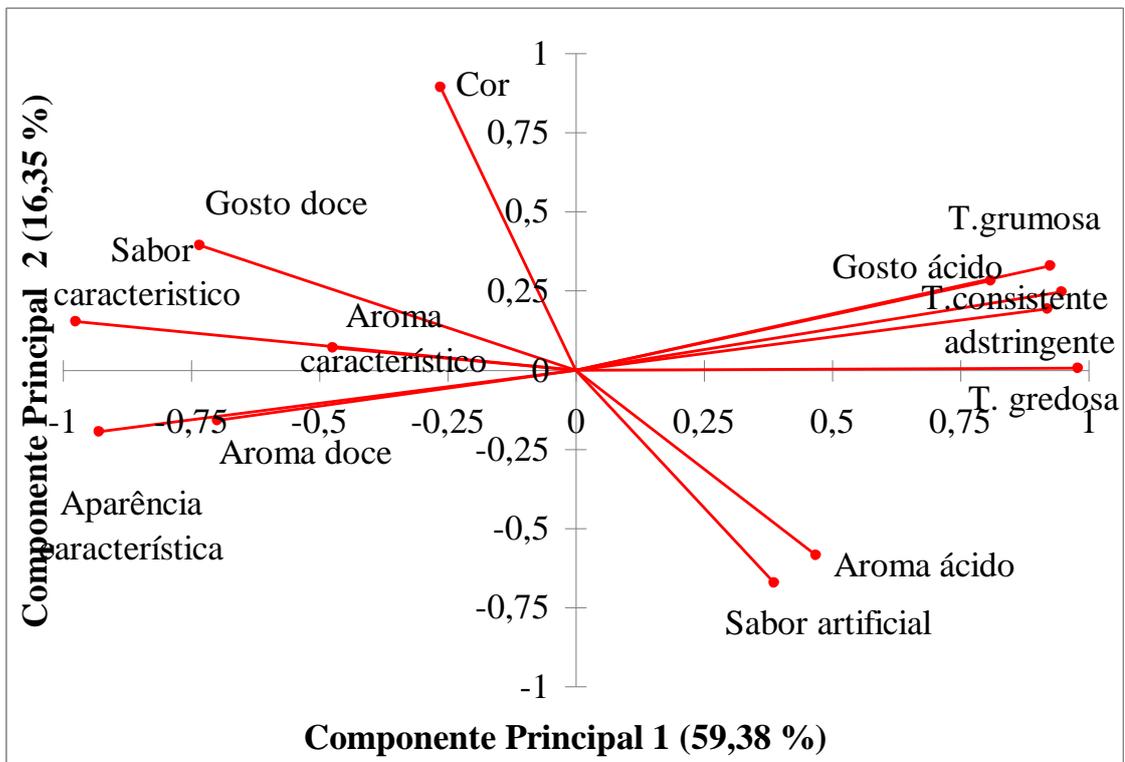
No caso da formulação com açúcar, observou-se, ainda, que CP1 representou muito bem os atributos aparência característica, textura consistente, gredosa e grumosa, sabor ácido, sensação bucal adstringente e razoavelmente bem aromas doce e ácido e CP2 representou bem o atributo cor e razoavelmente bem o sabor artificial. Para a formulação com aspartame, observou-se que o CP1 descreveu bem os atributos aparência característica, sabor artificial, gosto ácido, aroma ácido, sensação bucal adstringente, textura consistente, grumosa e gredosa e CP2 descreveu bem o aroma característico. Os atributos sabor característico, aroma doce,

cor e gosto doce foram razoavelmente descritos pelos CP1 e CP2. Conclui-se então que as formulações com açúcar e com aspartame têm características sensoriais diferentes.

A partir dos resultados de ACP pode ser verificado que as formulações com maiores teores de soro (F₅₀ e L₅₀), tanto para as adoçadas com açúcar quanto para as com aspartame, foram caracterizadas como tendo maior intensidade dos atributos sensoriais aroma, aparência e sabor característicos. Entretanto, os atributos considerados indesejados (gosto ácido, sensação bucal adstringente, texturas grumosa e gredosa) foram percebidos com maior intensidade nas amostras das formulações com menor teor de soro (F₃₀ e L₃₀), praticamente independente das concentrações de polpa de abacaxi. Desse modo, os resultados revelaram que as formulações com maior teor de soro (F₅₀ e L₅₀) são consideradas as mais apropriadas em termos dos atributos sensoriais para o prosseguimento da pesquisa, considerando-se as características esperadas para bebida láctea fermentada.

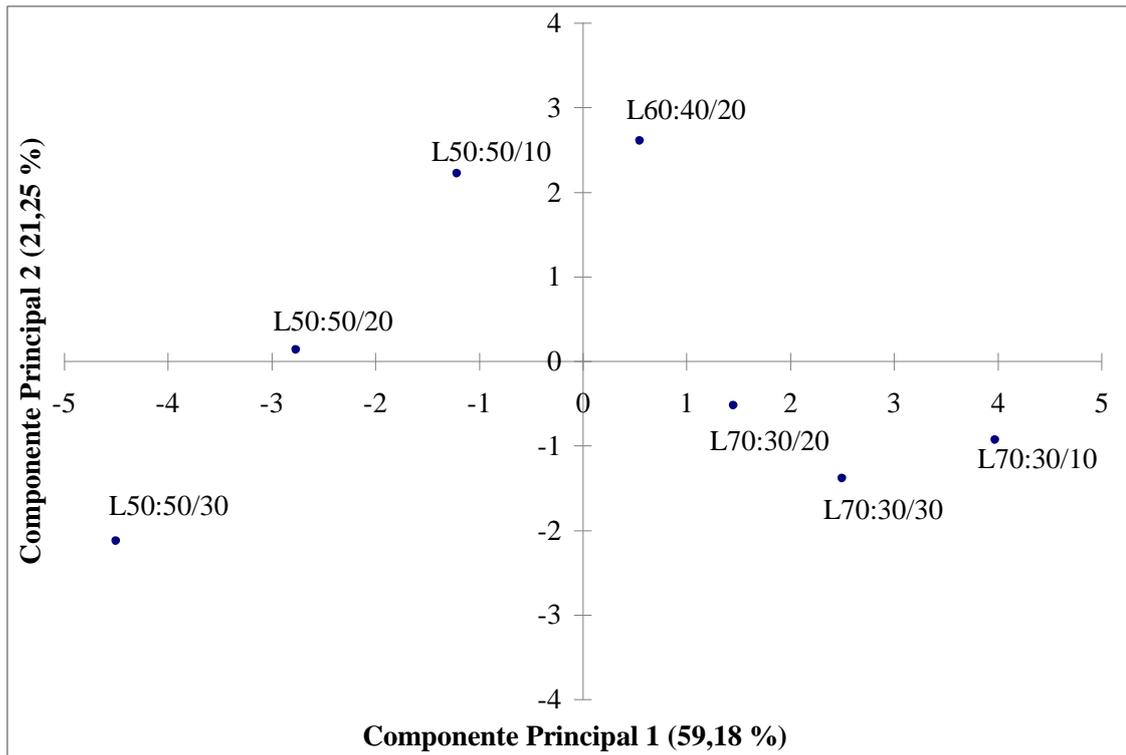


(a)

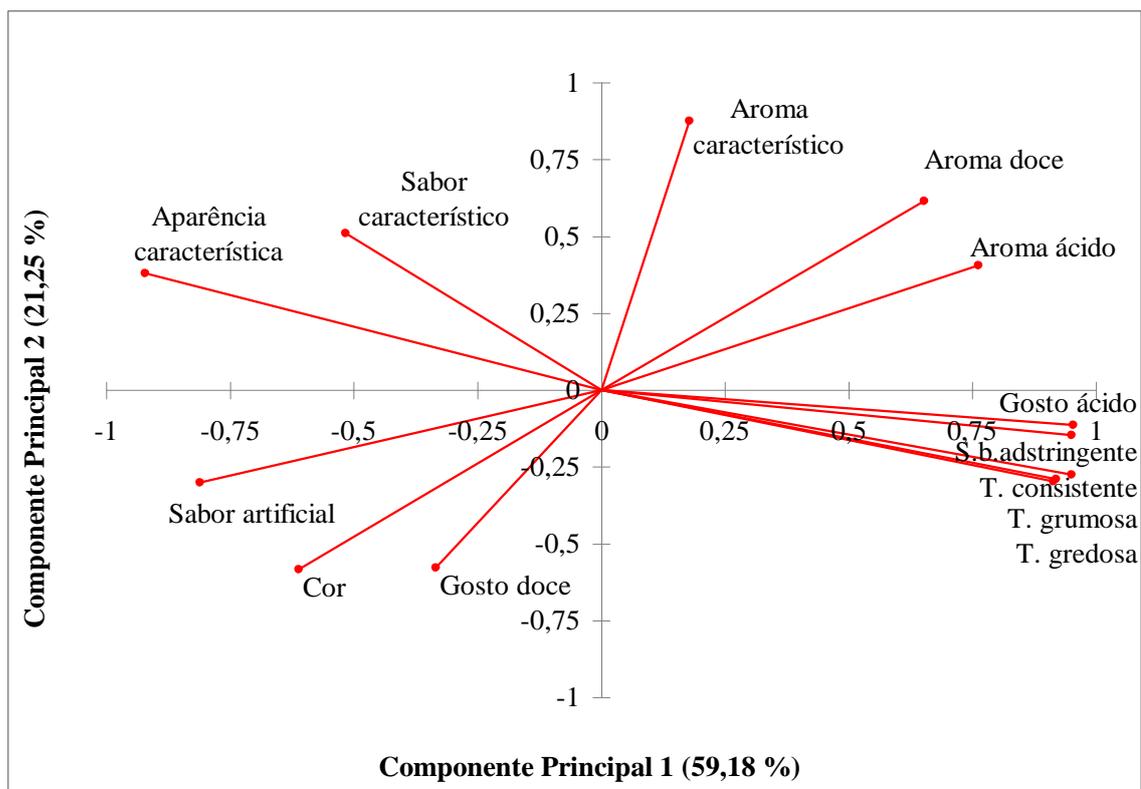


(b)

Figura 7. PCA mostrando as posições (a) das amostras e (b) dos atributos sensoriais das bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi e adoçadas com açúcar (F_{leite:soro/polpa+açúcar}).



(a)



(b)

Figura 8 PCA mostrando as posições (a) das amostras e (b) dos atributos das bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi e adoçadas com aspartame ($L_{\text{leite:soro/polpa+aspartame}}$).

5.2. AUMENTO DA TEMPERATURA DURANTE O PROCESSO HUAP

Para cada nível de pressão aplicada no processo de HUAP₁ ou HUAP₂ (150, 200 e 250 MPa) das bases lácteas (1) e (2) descritas no item 4.1.1, os termopares registraram dez temperaturas reais para cada: entrada (T₁), antes da primeira válvula de homogeneização (T₂), após a segunda válvula de homogeneização (T₁₁) e após o trocador de calor para resfriamento da base láctea (T₁₂), conforme mostrado nas Tabelas 13 e 14, de acordo com as respectivas temperaturas de entrada teóricas (T₁) 15, 20 e 25°C; e 10, 15 e 20°C, dos respectivos processos HUAP₁ e HUAP₂.

Tabela 13. Médias e desvios-padrão^a dos valores de temperaturas^b usadas durante o processo de HUAP₁

Pressão (MPa)	T ₁ (°C)	T ₂ (°C)	T ₁₁ (°C)	T ₁₂ (°C)
150	14,50 ± 0,47	21,36 ± 0,31	51,63 ± 1,22	34,09 ± 1,19
150	24,88 ± 0,23	28,79 ± 0,75	58,57 ± 1,06	38,17 ± 0,95
250	16,73 ± 0,29	26,17 ± 0,75	74,84 ± 0,61	46,21 ± 1,07
250	24,56 ± 0,18	34,04 ± 0,70	80,90 ± 1,43	51,78 ± 1,15
200	19,82 ± 0,17	28,70 ± 0,17	68,30 ± 1,49	44,03 ± 1,86
200	19,92 ± 0,08	28,80 ± 0,32	69,56 ± 0,53	45,01 ± 0,43
200	20,06 ± 0,05	29,15 ± 0,18	69,57 ± 0,64	45,51 ± 0,47

^amédias e desvios-padrão de 10 replicatas de cada temperatura, ^b temperaturas: entrada (T₁), antes da primeira válvula de homogeneização (T₂), após a segunda válvula de homogeneização (T₁₁) e após o trocador de calor (T₁₂)

Tabela 14. Médias e desvios-padrão^a dos valores de temperaturas^b usadas durante o processo de HUAP₂

Pressão (MPa)	T ₁ (°C)	T ₂ (°C)	T ₁₁ (°C)	T ₁₂ (°C)
150	9,68 ± 0,18	20,73 ± 0,84	48,73 ± 1,14	22,76 ± 1,42
150	18,33 ± 0,15	24,36 ± 0,24	54,18 ± 0,60	24,75 ± 0,35
250	9,71 ± 0,19	20,84 ± 0,25	68,65 ± 0,75	29,64 ± 0,43
250	18,59 ± 0,11	26,89 ± 0,70	76,56 ± 1,12	31,19 ± 0,56
200	15,60 ± 0,19	23,38 ± 0,18	63,28 ± 0,68	27,09 ± 0,45
200	15,73 ± 0,18	23,55 ± 0,12	64,08 ± 0,99	27,35 ± 0,28
200	15,86 ± 0,17	23,99 ± 0,31	64,33 ± 0,47	27,25 ± 0,17

^amédias e desvios-padrão de 10 replicatas de cada temperatura, ^b temperaturas: entrada (T₁), antes da primeira válvula de homogeneização (T₂), após a segunda válvula de homogeneização (T₁₁) e após o trocador de calor (T₁₂)

Os valores registrados indicaram que houve aumento da temperatura para todos os níveis de pressão durante cada processo. À medida que a temperatura de entrada T₁ e o nível de pressão aumentaram, respectivamente, de 15 a 25°C ou de 10 a 20°C e de 150 a 250 MPa, maiores foram as temperaturas T₁₁ e, conseqüentemente, T₁₂. Os valores das temperaturas T₁₁ são mais baixos quando as temperaturas de entrada T₁ também são menores. Observou-se na Tabela 13 para o nível de pressão de 250 MPa, uma diferença entre a T₁₁ (76,56°C) e T₁ (18,59°C) igual a 57,97°C, enquanto na Tabela 14 a diferença entre a T₁₁ (80,90°C) e T₁

(24,56°C) foi igual a 56,34 °C, para o mesmo nível de pressão de 250 MPa. O aumento linear da temperatura também foi verificado por Pereda *et al.*(2007) ao utilizarem a HUAP aplicada a leite, onde registraram para uma temperatura de entrada T_1 igual a 30 °C e pressão de 200 MPa uma variação de 48,7°C. O aumento de temperatura observado durante o processo de HUAP é resultado dos fenômenos fluidodinâmicos que ocorrem na válvula de homogeneização como turbulência, cisalhamento, cavitação, aumento da velocidade, dentre outros (HAYES & KELLY, 2003; THIEBAUD *et al.*, 2003). Após atingir a T_{11} , a base láctea passa pelo trocador de calor e é resfriada rapidamente, atingindo a temperatura T_{12} em fração de segundos. Pôde-se observar, durante todos os experimentos realizados, que quanto mais baixa a temperatura do sistema de resfriamento do trocador de calor, menores são as temperaturas T_{12} das amostras. Assim, estabilizando-se a temperatura desse sistema, há a possibilidade de ajustar a temperatura de saída T_{12} , mesmo havendo o aumento de T_{11} devido aos fenômenos físicos discutidos acima. O tempo curto de aquecimento observado durante o processo de HUAP (centésimos de segundos) em comparação ao tempo de aquecimento durante a pasteurização térmica é muito importante na obtenção de produtos com menos danos provocados pelo calor, evitando-se assim os seus efeitos sensoriais e nutricionais adversos (PEREDA *et al.*, 2007).

5.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS BEBIDAS LÁCTEAS

5.3.1 Composição centesimal das bebidas lácteas fermentadas

A Figura 9 apresenta os resultados das médias das análises (duplicatas) dos constituintes da composição centesimal das bebidas BL, BLA e BLL, obtidas a partir da base láctea (1) pelo processo de HUAP₁, com os níveis de pressão e temperatura de entrada variando de acordo com o desenho experimental mostrado na Tabela 7 do item 4.1.3, e seus respectivos controles processados termicamente (90°C/60 s). Observou-se maior influência dos ingredientes utilizados nas formulações dos diferentes tipos de bebidas quando comparados aos tipos de processos (HUAP₁ e 90°C/60 s). Pode-se constatar pela composição das bebidas BL e BLL, quanto ao teor de umidade, que as mesmas apresentaram uma semelhança estatística entre si e uma diferença significativa ($p \leq 0,05$) da bebida BLA. Portanto, o acréscimo de 7 g de açúcar (sacarose) por 100 mL de polpa na bebida BLA, pode

ser considerado o fator responsável pelo aumento significativo do teor de sólidos totais e, consequentemente, o que acarretou na redução de umidade e no aumento de carboidratos dessa bebida. Todos os demais constituintes (cinzas, extrato etéreo e proteínas) apresentaram seus teores dentro de pequena faixa de variação, conforme esperado.

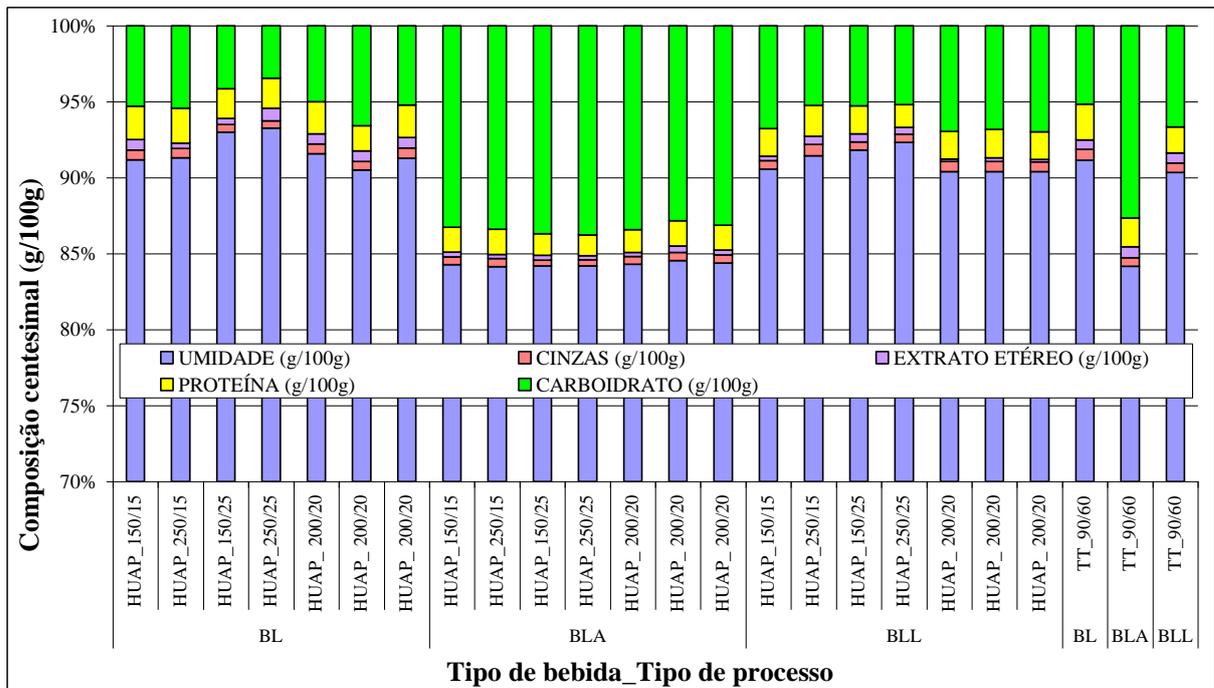


Figura 9. Composição centesimal das bebidas lácteas fermentadas (BL), com adição de polpa de abacaxi e açúcar (BLA) e com adição de polpa de abacaxi e aspartame (BLL), obtidas pelo processo HUAP₁ com a base láctea (1) submetida aos diferentes níveis de pressão (MPa) e de temperatura de entrada (°C), assim como os controles BL, BLA e BLL obtidos pelo processo térmico (TT_90°C/60 s).

Observou-se, ainda neste estudo, que todos os produtos desenvolvidos atenderam aos requisitos legais quanto ao teor de proteínas (fator de conversão usado para proteínas lácteas, $F= 6,38$) (BRASIL, 2005). Verificou-se para a bebida e controle BL, na qual não houve adição nem de polpa de abacaxi nem de adoçantes, cuja base láctea (1) foi processada por HUAP₁ ou termicamente, que os valores médios dos teores de proteínas foram iguais a $(2,05 \pm 0,21)$ g/100 g e $(2,33 \pm 0,10)$ g/100 g, respectivamente, e ambos maiores que 2,0 g/100 g exigidos legalmente (BRASIL, 2005). Para as bebidas BLA ou BLL, os valores das médias dos teores de proteínas observados foram, respectivamente, iguais a $(1,55 \pm 0,12)$ g/100 g e $(1,81 \pm 0,18)$ g/100 g, conforme apresentado na Tabela 15, e também estão de acordo com a legislação brasileira, que estabelece, nesse caso de bebidas lácteas fermentadas com adição, valores acima de 1,2 g de proteínas/100 g (BRASIL, 2005).

Tabela 15. Valores das médias dos constituintes: umidade, cinzas, proteínas, carboidratos e extrato seco total dos diferentes tipos de bebidas lácteas fermentadas BL, BLA e BLL obtidas a partir da base láctea processada por HUAP₁* e seus respectivos controles obtidos por processo térmico**

TIPO DE BEBIDA	PROCESSO	UMIDADE (g/100g)	CINZAS (g/100g)	EXTRATO ETÉREO (g/100g)	PROTEÍNA (F=6,38) (g/100g)	CARBOIDRATO (g/100g)	EXTRATO SECO TOTAL (g/100g)	VALOR CALÓRICO (kcal/100g)
BL	HUAP_150/15	91,17	0,64	0,70	2,20	5,29	8,84	36,28
	HUAP_250/15	91,30	0,64	0,35	2,30	5,42	8,70	34,01
	HUAP_150/25	92,99	0,51	0,41	1,95	4,15	7,01	28,03
	HUAP_250/25	93,26	0,50	0,83	1,98	3,45	6,75	29,13
	HUAP_200/20	91,58	0,63	0,68	2,11	5,01	8,42	34,54
	HUAP_200/20	90,51	0,55	0,70	1,66	6,59	9,49	39,24
	HUAP_200/20	91,29	0,67	0,69	2,14	5,22	8,71	35,63
BLA	HUAP_150/15	84,27	0,51	0,34	1,63	13,26	15,73	62,60
	HUAP_250/15	84,14	0,54	0,27	1,66	13,40	15,86	62,65
	HUAP_150/25	84,21	0,37	0,33	1,40	13,69	15,79	63,31
	HUAP_250/25	84,19	0,41	0,27	1,37	13,76	15,82	62,97
	HUAP_200/20	84,32	0,51	0,26	1,50	13,43	15,69	62,00
	HUAP_200/20	84,56	0,53	0,43	1,66	12,84	15,45	61,81
	HUAP_200/20	84,38	0,53	0,34	1,63	13,12	15,62	62,06
BLL	HUAP_150/15	90,57	0,55	0,30	1,82	6,77	9,43	37,00
	HUAP_250/15	91,44	0,75	0,54	2,04	5,23	8,56	33,94
	HUAP_150/25	91,82	0,54	0,53	1,85	5,27	8,19	33,25
	HUAP_250/25	92,34	0,52	0,45	1,50	5,20	7,67	30,83
	HUAP_200/20	90,41	0,67	0,15	1,82	6,96	9,60	36,43
	HUAP_200/20	90,41	0,65	0,26	1,85	6,83	9,59	37,06
	HUAP_200/20	90,41	0,65	0,16	1,82	6,98	9,60	36,58
BL	TT_90/60	91,16	0,73	0,62	2,33	5,17	8,85	35,58
BLA	TT_90/60	84,16	0,57	0,73	1,91	12,64	15,84	64,73
BLL	TT_90/60	90,34	0,64	0,65	1,72	6,66	9,67	39,37

*HUAP_pressão/temperatura (MPa/°C); **TT_temperatura/tempo (90°C/60s). Resultados das médias das análises feitas em duplicatas.

A análise estatística dos efeitos dos fatores nível de pressão e temperatura de entrada sobre as variáveis dependentes relativas à composição centesimal: cinzas, umidade, extrato etéreo, proteínas e carboidratos pode ser visto nos diagramas de Pareto apresentados na Figura 10 para as bebidas BL, BLA e BLL. Em relação ao teor de cinzas, apenas o termo quadrático da pressão foi significativo para a bebida BL (a). Para o teor de umidade (d, e, f), o termo quadrático de pressão foi significativo para todas as bebidas (BL, BLA e BLL), enquanto a temperatura de entrada foi significativa apenas para as bebidas BL e BLL. Os efeitos dos fatores pressão e temperatura de entrada foram significativos sobre o extrato etéreo (g, h, i) para a bebida BL, enquanto apenas a temperatura de entrada não foi significativa para BLL, nenhum dos fatores foi significativo para a bebida BLA. Quanto ao teor de proteínas (j, k, l), a bebida BL não sofreu efeito significativo de nenhum dos fatores estudados, mas as bebidas BLA e BLL tiveram efeito estatístico significante em relação ao termo quadrático da temperatura e apenas a BLA apresentou o efeito significativo da pressão, bem como o efeito do termo de interação da pressão e temperatura de entrada foi significante apenas para BLL. Por fim, ao ser avaliado o teor de carboidratos (m, n, o), observou-se que o efeito da pressão foi significativo para todas as bebidas, entretanto, a temperatura de entrada só não foi significativa para a bebida BLA.

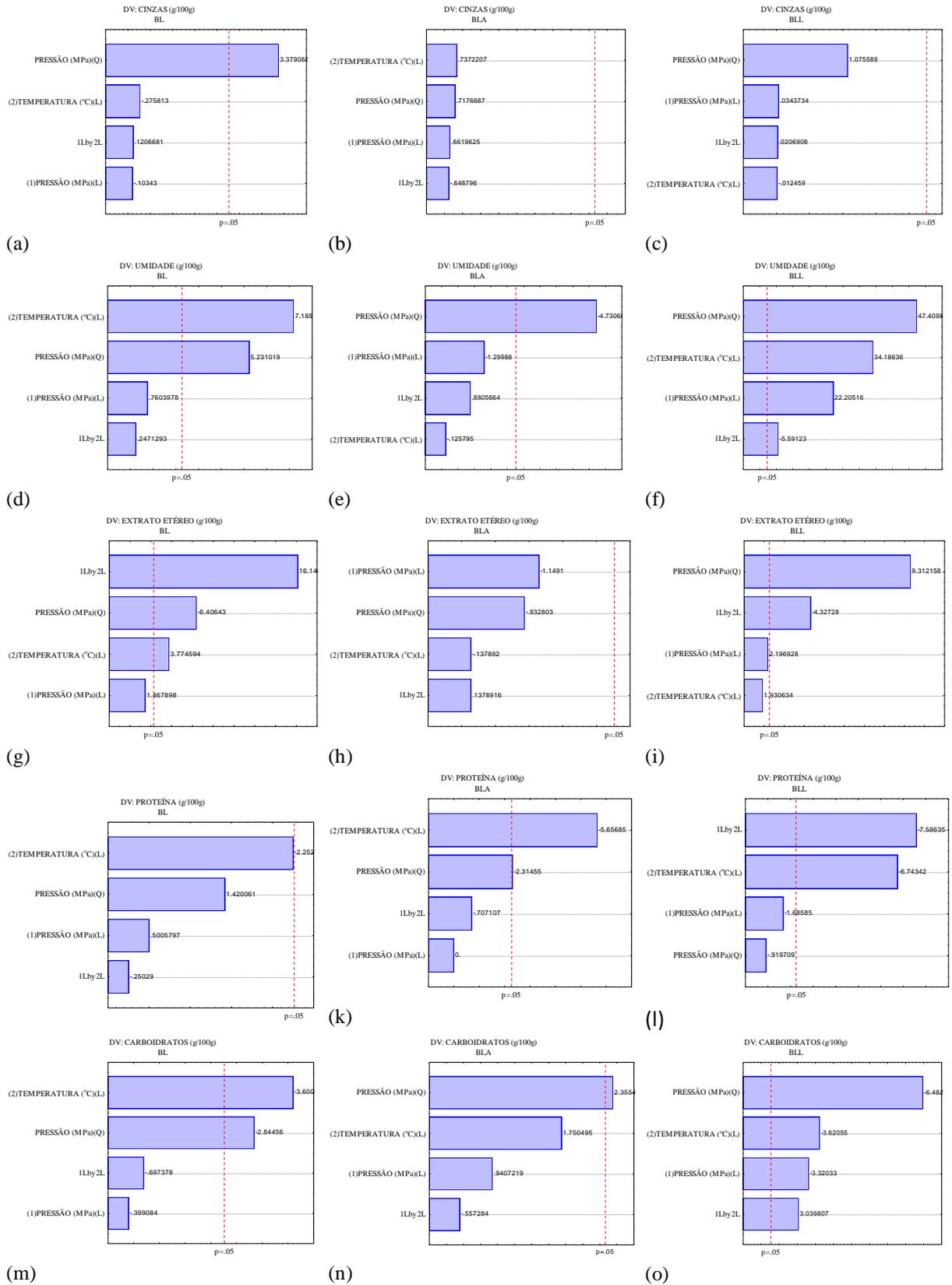


Figura 10. Diagrama de Pareto relativo aos efeitos do nível de pressão e da temperatura de entrada sobre as variáveis da composição centesimal: cinzas, umidade, extrato etéreo, proteínas, carboidratos para cada tipo de bebida (BL, BLA e BLL) preparado a partir da base láctea (1) processada por HUAP₁.

Desse modo, considerando-se a avaliação dos efeitos dos fatores pressão e temperatura de entrada sobre as variáveis relacionadas à composição centesimal da bebida BL, obtida nas condições descritas, conclui-se que o fator pressão só não foi significativo sobre o teor de proteínas e não houve diferença significativa entre a BL e seu respectivo controle. Não devem ser considerados os resultados dos diagramas de Pareto para as demais bebidas BLA e BLL por serem obtidas após o acréscimo da polpa de abacaxi adoçada às bases lácteas submetidas ao processo de HUAP. Desse modo, a bebida BL foi considerada o controle dos tipos de bebidas.

A Figura 11 apresenta a comparação entre o valor calórico (kcal/100g) e o teor de proteínas (g/100g) de três produtos comerciais similares de baixa caloria com sabor abacaxi e adição de aspartame (marcas A, B e C), com os valores das médias calculadas obtidas da análise química dos produtos desenvolvidos (BL, BLA e BLL) e, ainda, com um produto similar (bebida láctea sabor pêssego), cuja composição consta da tabela de composição nutricional brasileira TACO (2006). Embora, todos os produtos estejam de acordo com a legislação quanto ao teor protéico, pode ser constatada uma variação de cerca de 36 a 60% de proteínas entre os produtos comerciais. De modo análogo, verifica-se uma variação de cerca de 54% no valor calórico entre os mesmos produtos comerciais, o que caracteriza uma relevante falta de padronização entre os mesmos.

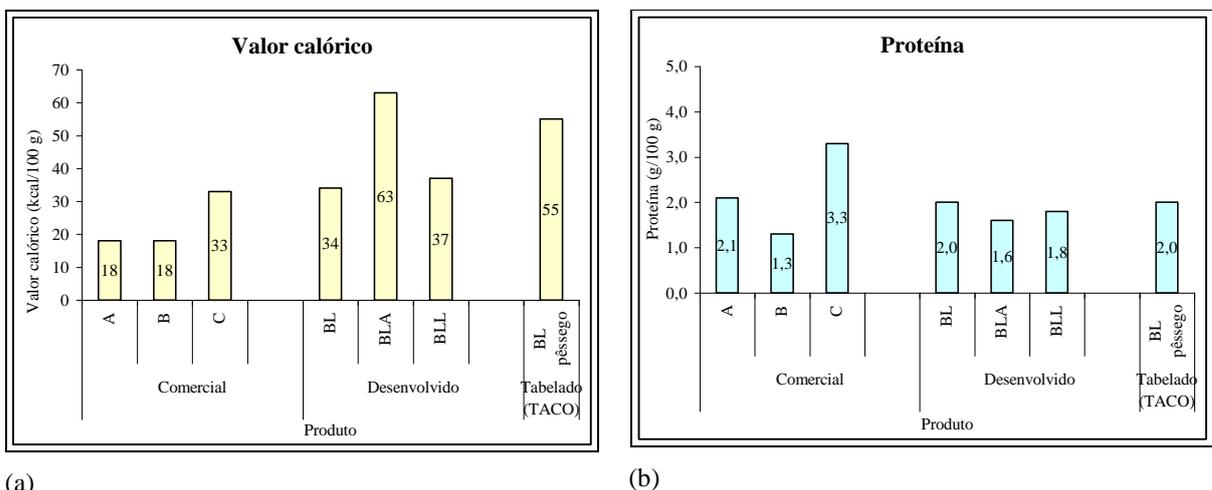


Figura 11. Médias dos (a) valores calóricos (kcal/100 g) e dos (b) teores de proteínas (g/ 100 g) dos produtos comerciais A, B e C; das bebidas lácteas fermentadas BL, BLA e BLL; e da bebida láctea sabor de pêssego tabelada (TACO, 2006).

O Apêndice 1 as curvas das superfícies de respostas para as variáveis dependentes (VD) constituintes da composição centesimal: cinzas, umidade, extrato etéreo, proteína,

carboidrato e extrato seco total em função dos fatores nível de pressão e temperatura de entrada para as bebidas lácteas fermentadas (BL, BLA e BLL), visando mostrar a consistência estatística dos resultados analíticos da caracterização físico-química realizada.

5.3.2 Acidez em ácido lático e pH das bebidas lácteas fermentadas

As formulações das bebidas BL, BLA e BLL foram analisadas em relação à acidez titulável (g ácido lático/100 g) e pH (BRASIL, 2005). Conforme apresentado na Figura 12, os valores médios de acidez variaram na faixa de 0,50 a 0,68 g ácido lático /100 g e os de pH entre 3,95 e 4,38, para as amostras das bebidas nos diferentes níveis de pressão e temperaturas de entrada aplicados na base láctea (1) submetida ao processo HUAP₁. Os resultados mostraram-se conforme o esperado, uma vez que o produto fermentado apresenta um aumento significativo de acidez e, conseqüentemente, uma redução de pH, quando comparados aos valores de acidez e pH do leite cru desnatado, respectivamente, 0,16 g de ácido lático/100g e pH= 6,69, e da base láctea (1) (leite cru desnatado: soro de leite reconstituído), 0,19 g de ácido lático/100g e pH= 6,55 antes dos processo de HUAP₁ e térmico.

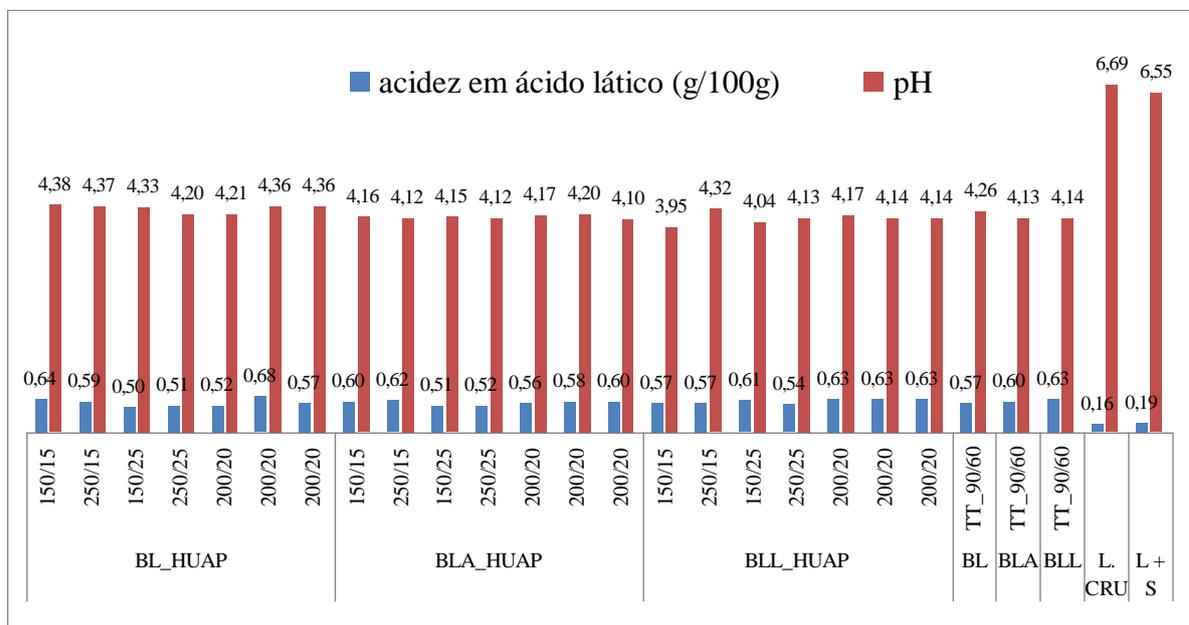


Figura 12. Valores médios de acidez e de pH das bebidas lácteas fermentadas (BL, BLA e BLL) obtidas após a base láctea (1) ser processada nos diferentes níveis de pressão (MPa) e temperaturas de entrada (°C) da HUAP₁, do leite cru desnatado (L cru) e da base láctea (L+S) antes de processadas.

Pela análise da Figura 12, além de se verificar, de modo significativo, o aumento da acidez e a diminuição do pH de todas as amostras e controles, quando comparados à acidez da base láctea e do leite cru desnatado, ainda pode ser observado os menores valores de pH e os maiores valores de acidez para as amostras e controles de BLA, as quais apresentaram os maiores teores de sólidos totais (15,8 g/100 g), quando comparadas à amostras de BL e seu controle (8,5 g/100 g). A amostra BLL e seu controle com teores de sólidos totais (9,5 g/100g), apenas ligeiramente superior ao da amostra e controle BL, também se comportou de modo semelhante à amostra BLA. A maior acidez naturalmente presente na polpa de abacaxi adicionada às amostras e controles BLA e BLL, bem como o efeito da diluição causado pela adição de 30g da polpa de abacaxi para cada 100 mL da bebida láctea quando comparadas à BL, provavelmente, repercutiram na redução dos valores de pH e aumento da acidez nessas bebidas. Wolfschoon-Pombo *et al.* (1983) em pesquisa com iogurtes produzidos com diferentes teores de sólidos totais, verificaram que a acidez titulável aumentou e o pH diminuiu, significativamente, em função do aumento dos sólidos totais, o que de certo modo ajuda a explicar o verificado nesta pesquisa.

O planejamento fatorial 2^2 com pontos centrais, proposto no capítulo 4, permitiu o estudo da influência dos fatores nível de pressão e da temperatura de entrada sobre os dados de acidificação (acidez titulável e pH) para a bebida BL, como mostram os diagramas de Pareto na Figura 13. Para a bebida BL não foram verificados efeitos estatisticamente significativos do nível de pressão nem da temperatura de entrada sobre o pH ou a acidez titulável. Os resultados mostram-se coerentes, uma vez que o teor inicial de lactose na base láctea é constante e após a fermentação parte desse açúcar é transformada em ácido lático, o qual provoca a redução do pH e o aumento da acidez. Entretanto, a adição da polpa de abacaxi adoçada (sacarose ou aspartame) nas bebidas BLA e BLL provocou a variação do pH para valores menores devido ao acréscimo de acidez da polpa (0,58 g ácido cítrico/100g e pH 3,56) nessas bebidas, além das modificações provocadas pela fermentação da lactose em si.

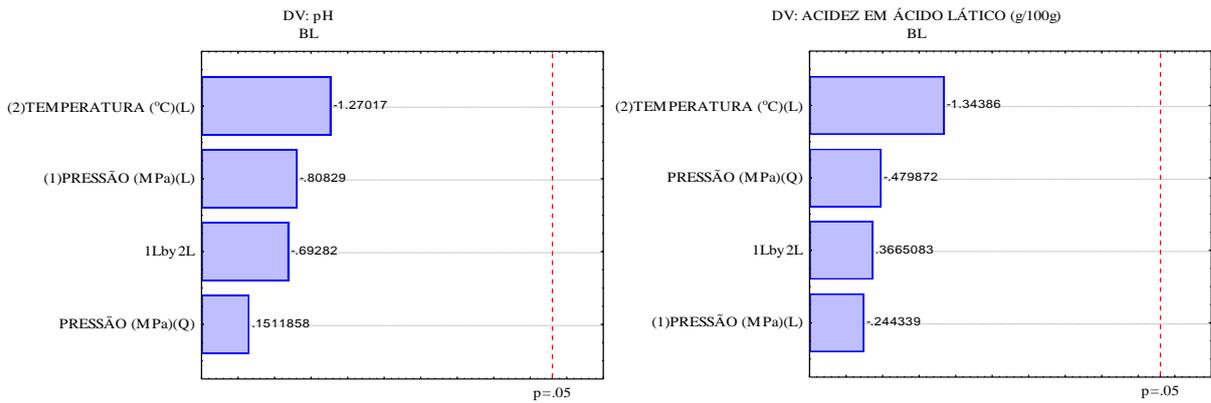
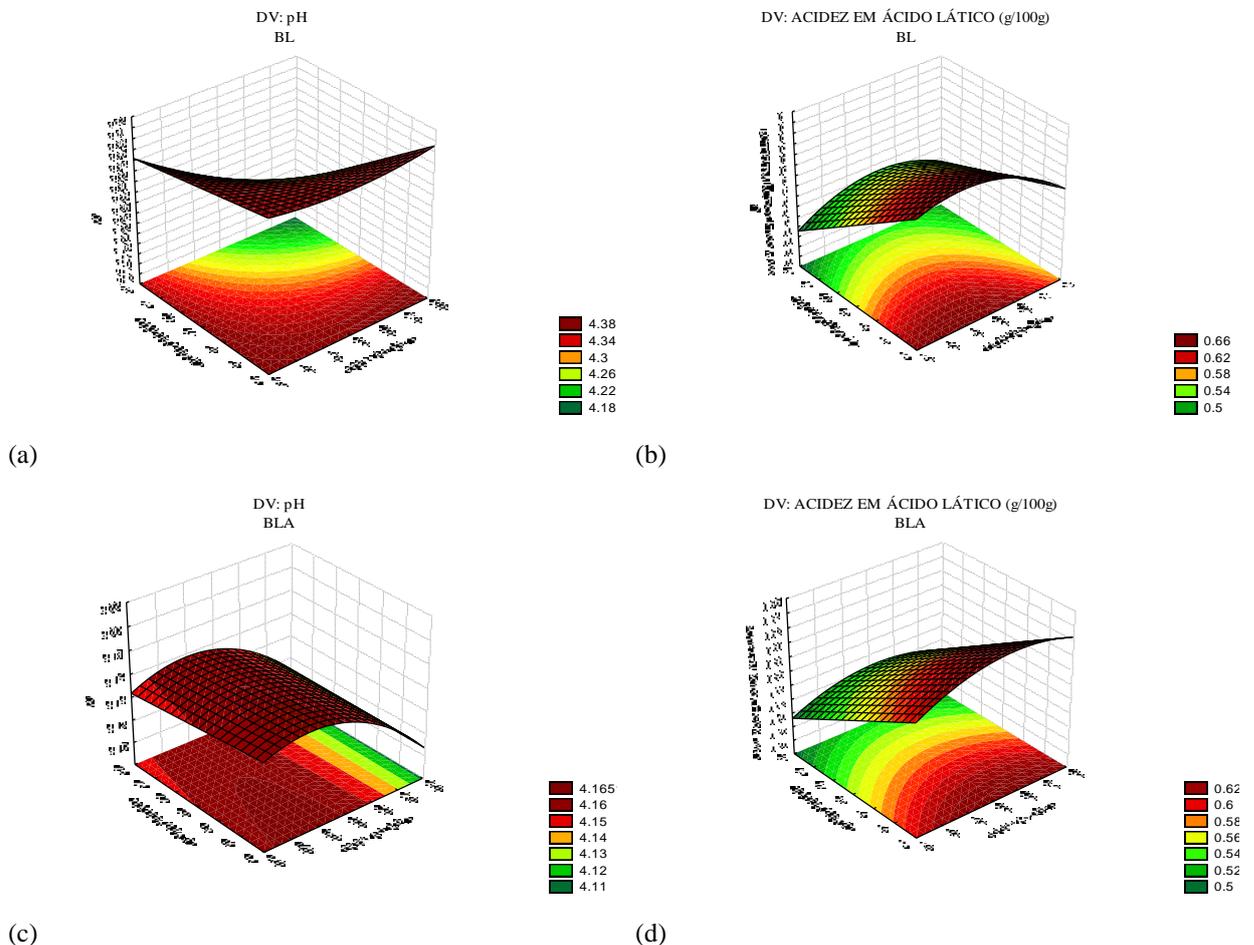


Figura 13. Diagrama de Pareto relativo aos efeitos do nível de pressão e da temperatura de entrada sobre o pH e a acidez titulável da bebida BL preparada a partir da base láctea (1) processada por HUAP₁.

As superfícies de respostas para as variáveis pH e acidez titulável foram obtidas para melhor visualização dos efeitos interativos dos fatores: temperatura de entrada e nível de pressão para cada uma das bebidas BL, BLA e BLL como mostra a Figura 14 (a) a (f).



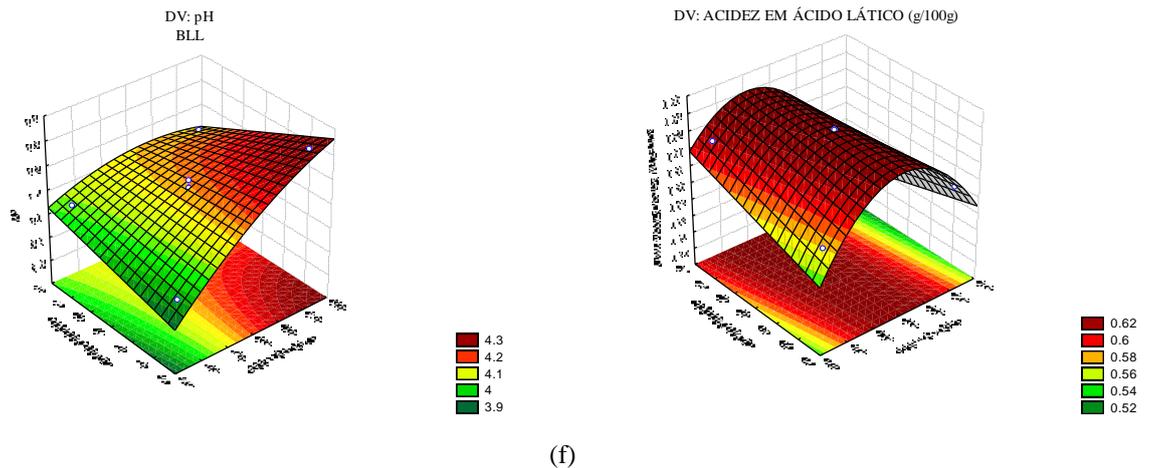


Figura 14. Superfícies de respostas para os efeitos dos fatores temperatura de entrada e nível de pressão sobre as variáveis dependentes pH e acidez, respectivamente, para as bebidas lácteas fermentadas: BL (a) e (b); BLA (c) e (d); BLL (e) e (f).

Observou-se que as bebidas BL, BLA e BLL apresentaram diferentes projeções das superfícies de respostas para o pH e para a acidez titulável, por se tratarem de diferentes tipos de produtos, conforme o esperado. Serra *et al.* (2009) ao verificarem que iogurtes obtidos a partir de leite processado por HUAP, com níveis de pressão de 300 MPa e temperatura de entrada de 30°C ou 40°C, apresentaram os menores valores de ácido lático. Sugeriram, então, serem estas condições de processo uma interessante alternativa para melhorar a viabilidade de bactérias probióticas em iogurtes. Estes resultados propõem ser o processamento de HUAP a 300 MPa uma alternativa potencial aos processos térmicos convencionais, a fim de se obter produtos de qualidade sem a necessidade de adição de sólidos não gordurosos. Entretanto, esses níveis de temperatura de entrada e de pressão utilizados são bem superiores aos aplicados na presente pesquisa, sendo assim, as condições utilizadas nesta pesquisa não foram suficientemente intensas para permitirem observações semelhantes.

5.3.3 Glicídeos redutores em lactose e não redutores em sacarose

A lactose, o açúcar presente em todos os leites na concentração variável de 45-50 g/L, origina-se da glicose sanguínea isomerizada no tecido mamário em galactose, que ao se ligar a outra glicose dá origem a esse açúcar, considerado um bom substrato para microorganismos com consequente produção de ácido lático (ORDONEZ, 2005). Neste estudo, por meio de cálculos estimou-se um teor da ordem de 6,0 a 7,0 g de lactose/100 mL na base láctea,

constituída de partes iguais de leite desnatado cru (2,5 a 3,0 g de lactose/50 mL) e soro de leite desidratado reconstituído (3,5 a 4,0 g de lactose/50 mL de água), antes da inoculação com as bactérias lácticas probióticas e fermentação. A Figura 15 apresenta os teores médios de lactose para todas as bebidas desenvolvidas (BL, BLA e BLL) e seus controles, após a base láctea (1) ser processada, respectivamente, por HUAP₁ ou termicamente. Esses valores variaram entre 3,31 e 5,13 g lactose/100g para as amostras e controles de BL; de 3,81 a 5,29 g lactose/100g para as BLA; e de 3,37 a 5,23 g lactose/100g para as BLL. Desse modo, pode-se constatar que nem toda a lactose originalmente presente na base láctea foi consumida pela cultura láctea probiótica durante a etapa de fermentação, restando teores de lactose da ordem de 3,3 a 5,3% de lactose, em média, nas bebidas lácteas. Almeida *et al.* (2001), em pesquisa para avaliar as características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal, verificaram que não houve diferença significativa da metabolização da lactose durante o período de armazenamento, constatando o maior consumo no período inicial de armazenamento (14 dias), onde observou a queda de 4,6 para 4,0 g de lactose por 100 g de bebida láctea. Segundo Tamime & Robinson (2007), o catabolismo da lactose pelos microrganismos resulta, principalmente, na produção de ácido láctico, responsável pelas características de sabor de iogurtes, entretanto, esses produtos podem conter entre 4,0 a 5,0 g de lactose por 100 mL de iogurte, quando o leite é fortificado com 14% de sólidos não gordurosos. Portanto, os valores das médias de lactose encontrados nessa pesquisa estão de acordo com os das referências de literatura. Em pesquisa realizada por Serra *et al.* (2009), amostras de iogurtes obtidas a partir de leite processado por HUAP com temperatura de entrada de 40°C e níveis de pressão de 200 ou 300 MPa, apresentaram os maiores valores residuais de lactose, reflexo das menores atividades metabólicas das bactérias nessas condições, quando comparadas às amostras obtidas mediante processo térmico (90°C/90 s).

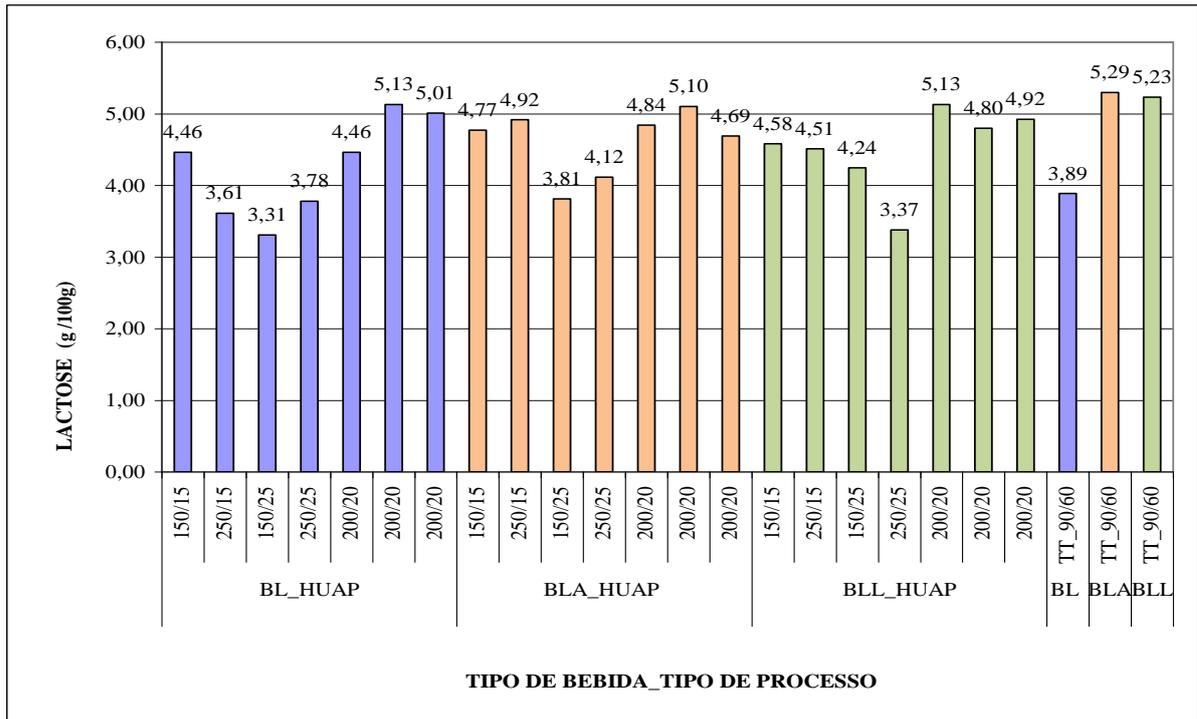


Figura 15. Valores médios de lactose (g/100 g) das bebidas lácteas fermentadas (BL, BLA e BLL) obtidas após a base láctea (leite cru desnatado:soro de leite reconstituído) ser processada nos diferentes níveis de pressão e temperaturas de entrada da HUAP₁ (MPa/°C) e seus controles obtidos por processo térmico (TT_90°C/60 s).

As bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi e adoçadas com açúcar (sacarose) – BLA – apresentaram os maiores valores das médias de açúcares não redutores, como esperado, variando de 7,34 a 9,88 g sacarose/100 g, enquanto as bebidas sem adição de polpa de abacaxi nem de adoçantes – BL - apresentaram os valores mais baixos, entre 0,21 a 1,81 g sacarose/100 g, e as bebidas lácteas fermentadas com adição de polpa de abacaxi e aspartame – BLL - tiveram os valores intermediários entre 0,72 e 2,06 g de sacarose/100g, devido, provavelmente, à presença de açúcares não redutores, em sacarose, presentes naturalmente no polpa, como pode ser visto na Figura 16.

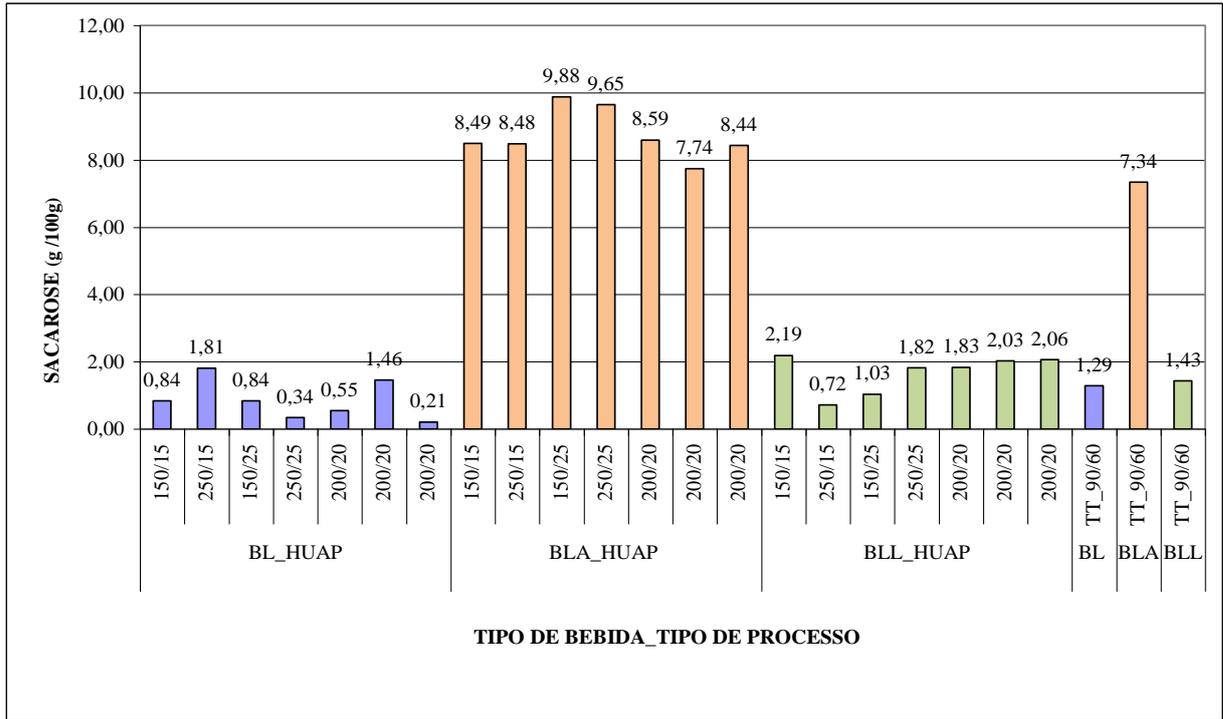


Figura 16. Valores médios de sacarose (g/100 g) das bebidas lácteas fermentadas (BL, BLA e BLL) obtidas após a base láctea (leite cru desnatado:soro de leite reconstituído) ser processada nos diferentes níveis de pressão e temperaturas de entrada da HUAP₁ (MPa/°C) e seus controles obtidos por processo térmico (TT_90°C/60 s).

Os diagramas de Pareto para as variáveis dependentes açúcares redutores, em lactose, e açúcares não redutores, em sacarose, apresentados na Figura 17 para a bebida BL mostram que não houve efeito significativo ($p < 0,05$) dos fatores nível de pressão e temperatura de entrada. As demais bebidas BLA e BLL, conseqüentemente, também apresentaram o mesmo comportamento que a bebida BL, considerada o padrão de comparação, pois são adicionadas de adoçantes (sacarose e aspartame) e de polpa de abacaxi, após a base láctea ser submetida ao processo de HUAP e de fermentação.

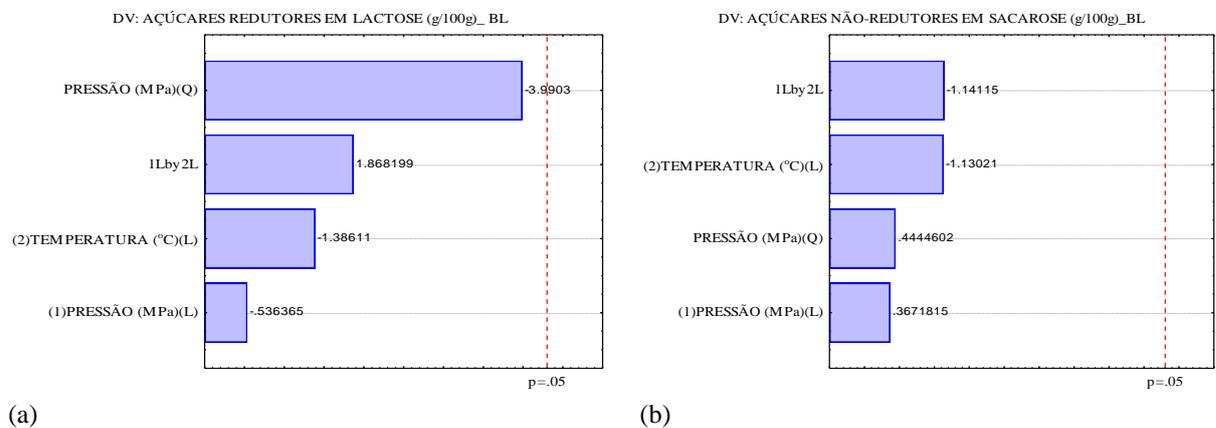


Figura 17. Diagramas de Pareto para as variáveis dependentes (a) açúcares redutores, em lactose, e (b) açúcares não redutores, em sacarose, para a bebida BL.

Assim, conclui-se que para as bebidas lácteas fermentadas probióticas (BL, BLA e BLL) os efeitos dos fatores nível de pressão e temperatura de entrada não foram importantes e não considerados sobre as variáveis dependentes lactose e sacarose. Esse fato é coerente, pois como relatado na literatura, nos níveis de pressão e de temperatura de entrada utilizados nesta pesquisa a HUAP não causa efeito significativo sobre as moléculas pequenas de açúcares.

5.4 CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS BEBIDAS LÁCTEAS

A Tabela 16 apresenta os resultados da contagem direta em placas de bactérias lácticas totais – CBLT - (UFC/mL), observadas nas bebidas lácteas fermentadas BL, BLA e BLL, produzidas a partir da base láctea (1) processada por HUAP₁, com os níveis de pressão e temperatura de entrada variando de acordo com o desenho experimental mostrado na Tabela 7 do item 4.1.3, e seus respectivos controles processados termicamente (90°C/60 s). A análise foi iniciada após 24h do preparo das bebidas e os valores da contagem de 10⁶ UFC/mL foram obtidos das médias dos valores da contagem direta de 10⁵ UFC/mL (placas em duplicata). Todas as amostras foram inoculadas com a cultura probiótica padronizada na concentração de 1 g/L e com contagem inicial de células lácticas totais igual a 10⁷ UFC/mL.

Tabela 16. Resultados das contagens de bactérias lácticas totais (UFC/mL) das bebidas lácticas fermentadas

Tipo de bebida	Tipo de processo	UFC/mL 4log10	UFC/mL 4log10	média 4log10	UFC/mL 5log10	UFC/mL 5log10	média 5log10	UFC/mL 6log10
BL	HUAP 150MPa/15°C	>300	>300	>300	54	58	56	6
	HUAP 250MPa/15°C	250	269	259,5	27	22	24,5	2
	HUAP 150MPa/25°C	>300	>300	>300	60	54	57	6
	HUAP 250MPa/25°C	>300	296	296	33	30	31,5	3
	HUAP 200MPa/20°C	>300	>300	>300	56	55	55,5	6
	HUAP 200MPa/20°C	>300	>300	>300	77	63	70	7
	HUAP 200MPa/20°C	>300	>300	>300	56	60	58	6
BLA	HUAP 150MPa/15°C	243	132	187,5	14	16	15	2
	HUAP 250MPa/15°C	54	62	58	9	11	10	1
	HUAP 150MPa/25°C	199	138	168,5	8	21	14,5	1
	HUAP 250MPa/25°C	86	107	96,5	11	7	9	1
	HUAP 200MPa/20°C	81	100	90,5	11	13	12	1
	HUAP 200MPa/20°C	123	120	121,5	14	16	15	2
	HUAP 200MPa/20°C	212	235	223,5	27	25	26	3
BLL	HUAP 150MPa/15°C	233	258	245,5	29	24	26,5	3
	HUAP 250MPa/15°C	238	155	196,5	8	5	6,5	1
	HUAP 150MPa/25°C	>300	>300	>300	50	69	59,5	6
	HUAP 250MPa/25°C	128	119	123,5	13	8	10,5	1
	HUAP 200MPa/20°C	230	228	229	14	10	12	1
	HUAP 200MPa/20°C	201	207	204	19	31	25	3
	HUAP 200MPa/20°C	71	75	73	10	6	8	1
BL	TT 90°C/60s	>300	>300	>300	55	54	54,5	5
BLA	TT 90°C/60s	>300	>300	>300	36	25	30,5	3
BLL	TT 90°C/60s	>300	>300	>300	44	40	42	4

Mediante os resultados mostrados na Tabela 16, pode-se verificar que não houve significância estatística ($p < 0,05$) dos efeitos do nível de pressão e da temperatura de entrada aplicados na HUAP sobre a variável dependente CBLT (10^6 UFC/mL) conforme observação dos Diagramas de Pareto das bebidas lácteas BL, BLA e BLL na Figura 18.

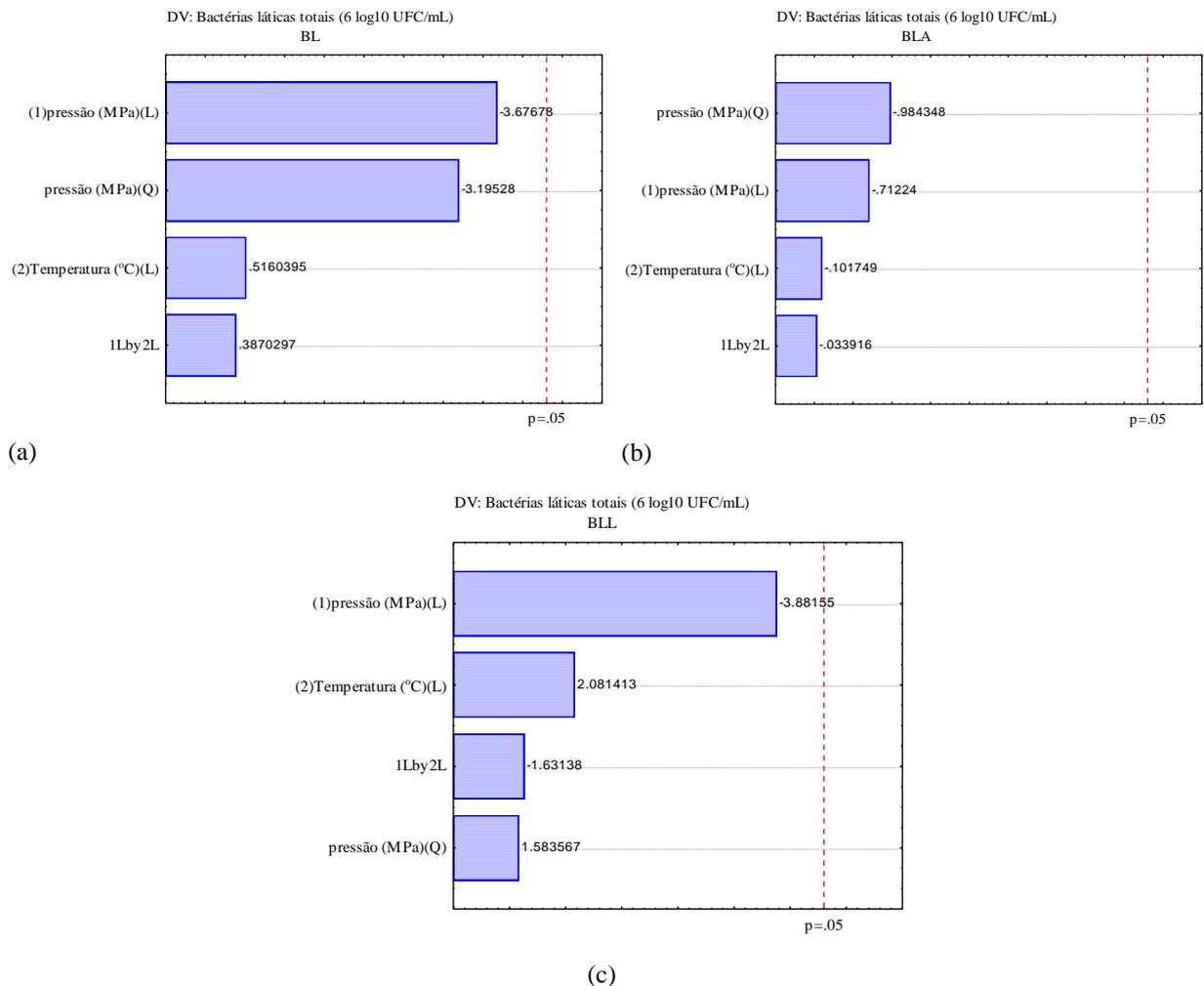


Figura 18. Diagramas de Pareto para a variável dependente contagem de bactérias lácticas totais (10^6 UFC/mL) dos diferentes tipos de bebidas lácteas fermentadas (a) BL, (b) BLA e (c) BLL obtidas a partir da base láctea (1) processada por HUAP₁.

A avaliação do efeito da pressão e da temperatura, bem como o efeito do processo térmico ($90^{\circ}\text{C}/60$ s), aplicados à base láctea para obtenção das bebidas BL, BLA e BLL, sobre a CBLT pode ser visto na Figura 19. Observou-se por ANOVA que há diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores das médias da CBLT para todos os tipos de bebidas em todos os tipos de processos aplicados. Entretanto, torna-se bastante evidente para a bebida BL (sem polpa de abacaxi e sem adoçante) a tendência a apresentar, praticamente, as maiores médias das contagens, 25 a 70×10^5 UFC/mL, quando comparada às demais bebidas. A bebida BLA comportou-se de modo inverso, 9 a 26×10^5 UFC/mL, como esperado, uma vez que as bactérias lácticas sofrem o efeito osmótico provocado pelo açúcar (7 g/100 mL polpa) e também são sensíveis a pH mais ácidos, além do efeito da diluição pelo acréscimo da polpa de abacaxi (30 mL/100 mL de BL). Neste estudo, a bebida BLL (com a mesma diluição de 30%

de polpa de abacaxi) apresentou os valores intermediários das médias de CBLT, variando entre 7 e 60 x10⁵ UFC/mL, quando comparada às bebidas BL e BLA, conforme esperado.

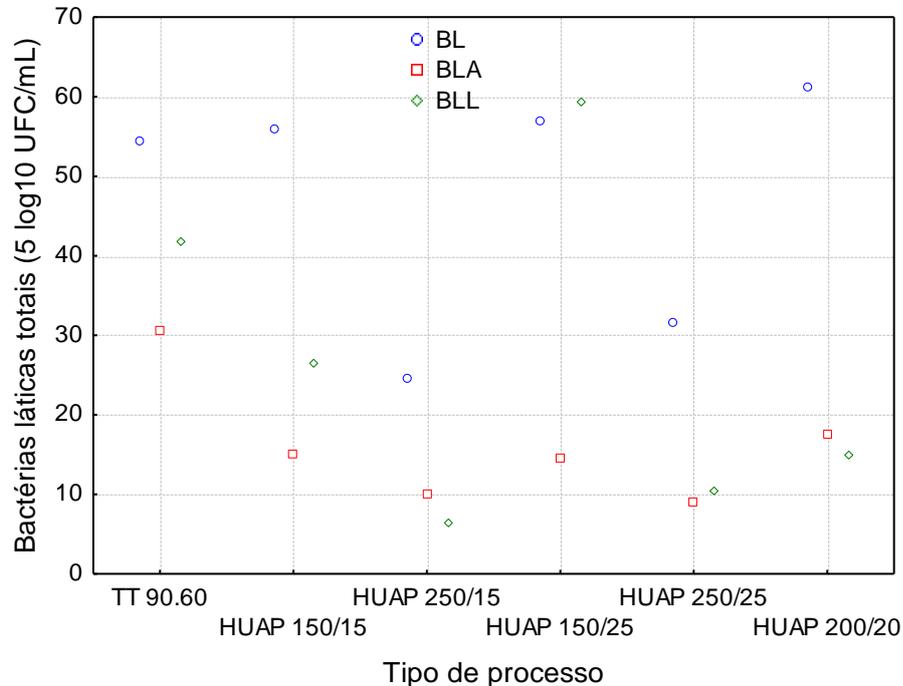


Figura 19. Valores das médias da contagem de bactérias lácticas totais (10⁵ UFC/mL) das bebidas lácteas: BL; BLA; e BLL versus tipos de processos: HUAP (MPa/°C) e térmico (90°C/60 s).

Para a avaliação estatística da CBLT presentes nas bebidas lácteas BL, BLA e BLL, utilizou-se a matriz do planejamento experimental e as respostas obtidas estão apresentadas na Tabela 17. As CBLT foram realizadas no tempo zero (primeiro dia) para todas as amostras obtidas a partir do: processo 1 (HUAP₁ da Tabela 7 do item 4.1.3 e base láctea (1) (leite cru desnatado: soro de leite desidratado reconstituído); processo 2 (HUAP₂ da Tabela 8 do item 4.1.3 e base láctea (1) (leite cru desnatado: soro de leite desidratado reconstituído) e processo 3 (HUAP₂ da Tabela 8 do item 4.1.3 e base láctea (2) (leite UHT desnatado: soro de leite desidratado reconstituído).

Tabela 17. Matriz do planejamento experimental e respostas das contagens de bactérias lácticas totais das amostras e controles BL, BLA e BLL dos processos 1, 2 e 3 no tempo zero (primeiro dia)

Tipo de bebida	Exp.	Pressão (MPa)	Temperatura de entrada (°C)	Bactérias lácticas totais (10^5 UFC/mL)		
				Processo 1	Processo 2	Processo 3
BL	1	-1	-1	56	40	144
	2	+1	-1	25	60	193
	3	-1	+1	57	204	124
	4	+1	+1	32	98	152
	5	0	0	56	211	212
	6	0	0	70	186	229
	7	0	0	58	130	254
BL controle	8	Temperatura (°C)	Tempo (s)	55	281	-
	9	90	60	-	-	148
BLA	1	-1	-1	15	22	75
	2	+1	-1	10	50	124
	3	-1	+1	15	89	137
	4	+1	+1	9	59	80
	5	0	0	12	281	145
	6	0	0	15	202	77
	7	0	0	26	184	114
BLA controle	8	Temperatura (°C)	Tempo (s)	31	251	-
	9	90	60	-	-	126
BLL	1	-1	-1	27	18	85
	2	+1	-1	7	80	149
	3	-1	+1	60	71	84
	4	+1	+1	11	75	52
	5	0	0	12	138	154
	6	0	0	25	230	74
	7	0	0	8	147	139
BLL controle	8	Temperatura (°C)	Tempo (s)	42	256	-
	9	90	60	-	-	100

A Figura 20 apresenta as comparações observadas entre as médias das CBLT (10^6 UFC/mL) no tempo zero (primeiro dia) para os processos 1, 2 e 3. Confirmou-se a menor contagem para as bebidas BLA e as maiores para as bebidas BL em todos os processos, provavelmente, pelas mesmas razões discutidas acima. O processo 1 apresentou, para todas as bebidas, os mais baixos valores de CBLT, quando comparado aos processos 2 e 3.

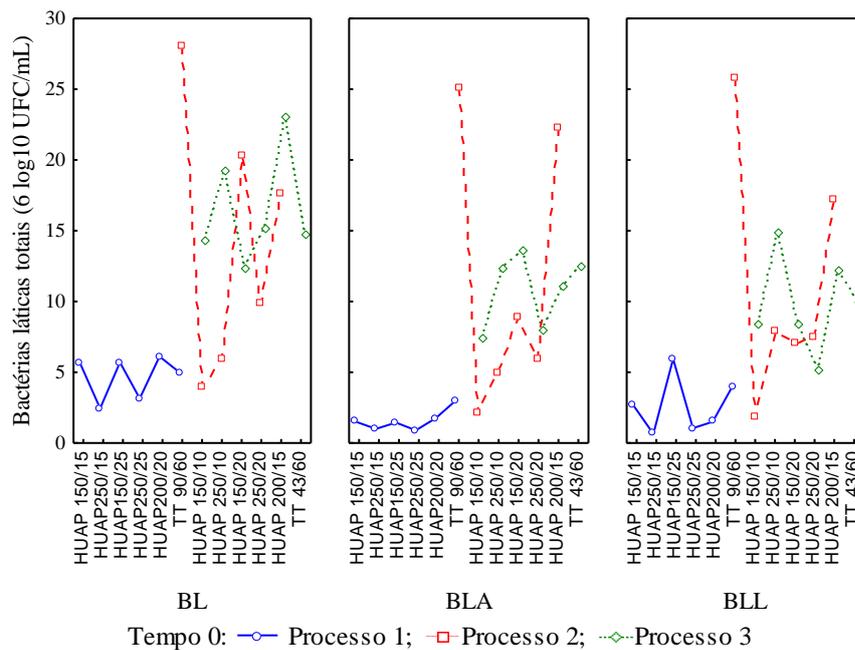


Figura 20. Comparação das médias da contagem de bactérias lácticas totais *versus* tipos de processos no tempo 0 processo 1 (HUAP₁ e base láctea (1)); processo 2 (HUAP₂ e base láctea (1)) e processo 3 (HUAP₂ e base láctea (2)); e controles TT 90°C/60s e TT 43°C/60s.

Houve a necessidade de repetição do processamento, pois foi observada a necessidade de intensificar a etapa de higienização do equipamento, de acordo com o procedimento operacional padronizado (POP) desenvolvido para o mesmo (ANEXO), uma vez que se verificou a presença em níveis inaceitáveis de coliformes a 35°C (totais) e a 45°C (termotolerantes), em todas as amostras submetidas ao processo 1 de HUAP₁. Quanto a esses parâmetros microbiológicos, é permitida a contagem de coliformes totais (máximo de 4 NMP.mL⁻¹) e contagem de coliformes termotolerantes (máximo de 2 NMP.mL⁻¹) para leite pasteurizado (BRASIL, 2002). Entretanto, nenhuma das amostras de leite cru e nem das bases lácteas antes e após serem submetidas à HUAP apresentaram-se em conformidade com tais exigências, como pode ser verificado na Tabela 18. Da mesma forma não foi observado o atendimento ao estabelecido para todas as bebidas lácteas fermentadas (BL, BLA e BLL) obtidas a partir da base láctea (1), em que os critérios de aceitação higiênico-sanitária, quanto aos coliformes totais e termotolerantes, são especificados na Instrução Normativa 16 (BRASIL, 2005).

Tabela 18. Amostras das matérias-primas leite cru desnatado, leite UHT desnatado, soro reconstituído, e das bases lácteas antes e após a HUAP analisadas de acordo com o Número Mais Provável de coliformes totais (a 35°C) e de coliformes termotolerantes (a 45°C).

Amostras	Contagem de coliformes totais (NMP/mL)	Contagem de coliformes termotolerantes (NMP/mL)
Leite cru desnatado	> 1100	> 1100
Leite UHT desnatado	0	0
Soro de leite reconstituído	< 0,3	< 0,3
Base láctea 1 (leite cru:soro)	> 1100	> 1100
Base láctea 2 (leite UHT:soro)	< 0,3	< 0,3
Base láctea 1 (leite cru:soro) após HUAP*	> 1100	> 1100
Base láctea 2 (leite UHT:soro) após HUAP*	< 0,3	< 0,3

*Em todos os níveis de pressão e temperatura aplicados às bases lácteas com leite cru desnatado no processo de HUAP não houve redução da contagem de coliformes totais nem termotolerantes.

Após rigoroso procedimento de higienização do equipamento de HUAP, e iniciando-se cada processamento aplicando-se em ordem decrescente os níveis de pressão e de temperatura de entrada, foram realizados os processos 2 e 3, em diferentes dias, e com as bases lácteas (1) e (2). Como confirmação dos resultados da higienização, todas as amostras das bebidas obtidas dos processos 2 e 3 foram analisadas e apenas as do processo 3 apresentaram-se em conformidade para contagem de coliformes totais e termotolerantes, segundo os valores padrões mencionados acima. Os controles das bebidas BL, BLA e BLL, processados termicamente a 90°C/60 s oriundos do processo 2 com a base láctea (1), tiveram os maiores valores médios de CBLT para os três tipos de bebidas. As CBLT de todas as bebidas lácteas obtidas pelo processo 3 apresentaram os mais elevados valores, o que demonstrou a qualidade microbiológica da base láctea na qual houve a inoculação da cultura probiótica, garantindo a sobrevivência das bactérias por todo o período de 28 dias.

Na Tabela 19, para as amostras obtidas pelo processo 3, são apresentados os resultados da CBLT para os tempos de 1, 14 e 28 dias após o preparo das bebidas e armazenamento à (4 ± 1)°C até o momento das análises, bem como para todos os controles. O fato de ser necessário o uso de leite UHT desnatado na base láctea (2) deveu-se da impossibilidade de obtenção de células para CBLT das amostras provenientes dos processos 1 e 2, nos respectivos tempos de 14 e 28 dias. Uma vez que ao submeter-se a base láctea (1) (leite cru desnatado: soro de leite desidratado reconstituído) ao processo de HUAP₁ ou HUAP₂ (em ambos com uma única passagem pelo homogeneizador), o mesmo não foi suficientemente capaz de garantir a qualidade microbiológica da base láctea (1), necessária às condições de desenvolvimento das bactérias lácticas durante os 28 dias. Portanto, nesta etapa, apenas são

apresentados os resultados do processo 3 (amostras elaboradas a partir da base láctea (2) (leite UHT desnatado: soro de leite desidratado reconstituído) e submetida ao processo HUAP₂ ou térmico (43°C/60 s).

Tabela 19. Matriz do planejamento experimental (tabela 8) e respostas das contagens de bactérias lácticas totais das amostras e controles BL, BLA e BLL do processo 3 nos tempos 1, 14 e 28 dias

Tipo de bebida	Exp.	Pressão(MPa)	Temperatura de entrada (°C)	Bactérias lácticas totais (10 ⁵ UFC/mL)		
				1 dia	14 dias	28 dias
BL	1	150	10	144	19	1
	2	250	10	193	13	1
	3	150	20	124	26	2
	4	250	20	152	6	1
	5	200	15	212	9	1
	6	200	15	229	9	2
	7	200	15	254	14	2
BL controle	8	Temperatura (°C)	Tempo (s)	148	143	24
		43	60			
BLA	1	150	10	75	7	1
	2	250	10	124	5	1
	3	150	20	137	14	5
	4	250	20	80	7	3
	5	200	15	145	27	7
	6	200	15	77	10	7
	7	200	15	114	22	5
BLA controle	8	Temperatura (°C)	Tempo (s)	126	25	2
		43	60			
BLL	1	150	10	85	8	2
	2	250	10	149	23	1
	3	150	20	84	26	6
	4	250	20	52	18	2
	5	200	15	154	31	3
	6	200	15	74	23	7
	7	200	15	139	44	10
BLL controle	8	Temperatura (°C)	Tempo (s)	100	66	15
		43	60			

A Figura 21 apresenta para o processo 3 a comparação da CBLT (10⁶ UFC/mL) das bebidas BL, BLA e BLL e seus controles (43°C/60 s), no período de 28 dias de armazenamento a temperatura de (4 ± 1) °C. Verificou-se para as amostras BL, seguidas das amostras BLL, os maiores valores médios de CBLT durante todo período de armazenamento, quando comparada às amostras e controles BLA. Para o controle BL no tempo de 14 dias, percebeu-se que não houve redução significativa na CBLT em relação ao tempo de 1 dia (de 15 para 14x10⁶ UFC/mL); entretanto, aos 28 dias de armazenamento, esse valor caiu para 2x10⁶ UFC/mL. Entretanto, observou-se que todas as amostras obtidas da HUAP não

apresentaram CBLT acima de 10^6 UFC/ mL. Portanto, apenas os controles de BL e BLL atenderam ao preconizado pela legislação vigente para garantir os efeitos benéficos à saúde dos alimentos probióticos (BRASIL, 2005).

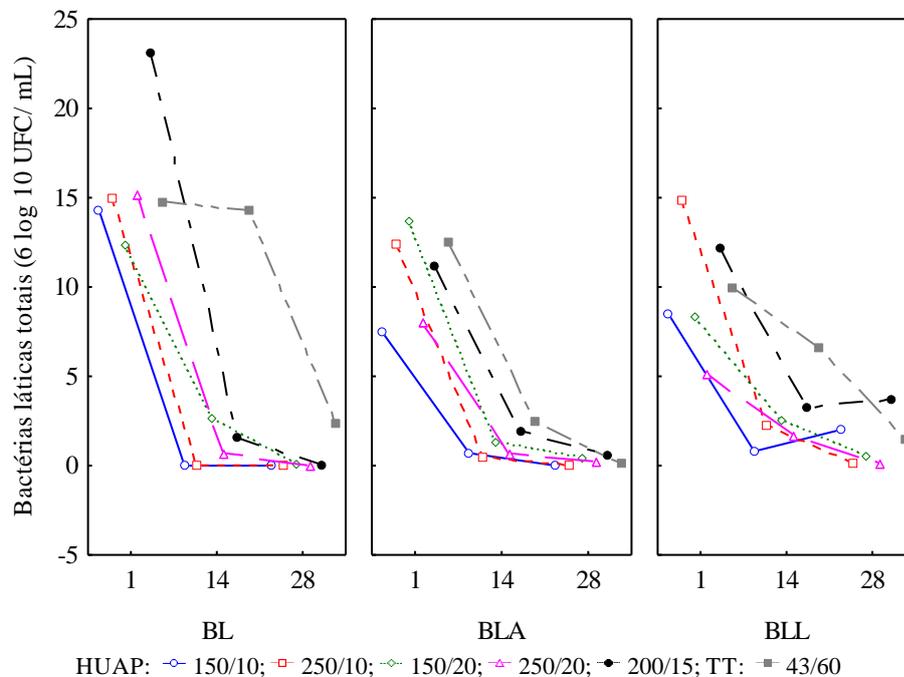


Figura 21. Comparação da contagem de bactérias lácticas totais *versus* tempo de armazenamento: 1, 14 e 28 dias do processo (3) para as bebidas lácteas BL, BLA e BLL obtidas a partir da base láctea (2) submetida ao processo de HUAP₂ (MPa/ °C) e controle TT 43°C/60 s.

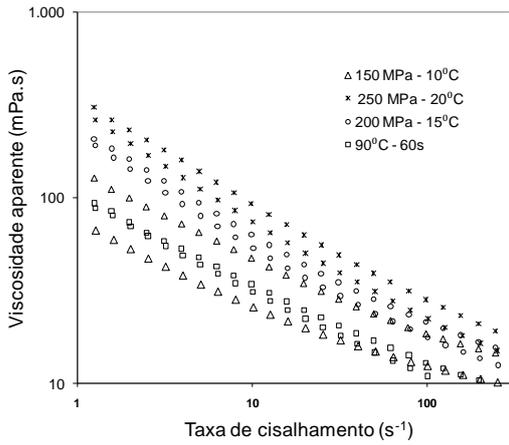
Nos 14 e 28 dias de armazenamento, as bebidas BL, BLA e BLL preparadas a partir da base láctea (2) submetidas ao processo HUAP₂, com nível de pressão e de temperatura de entrada de, respectivamente, 200 MPa e 15°C, apresentaram os valores das médias da CBLT mais próximos aos dos controles (43°C/ 60 s). Entretanto, pode-se observar a possibilidade de sobrevivência das bactérias lácticas da cultura probiótica utilizada nesses tipos de bebidas, durante os 28 dias de armazenamento no nível de contagem da ordem de 10^5 UFC/mL. Serra *et al.* (2009), produziram iogurtes a partir de leite processado por HUAP com níveis de 200 ou 300 MPa e temperaturas de entrada 30°C ou 40°C e compararam aos produzidos a partir de leite processado termicamente (90°C/ 90 s) e adicionado de 3% de leite em pó desnatado. Verificaram que as amostras obtidas do processo com 300 MPa e do processo térmico, analisadas nos dias 1, 14 e 28 de armazenamento, apresentaram um perfil similar de CBLT.

5.5 CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA

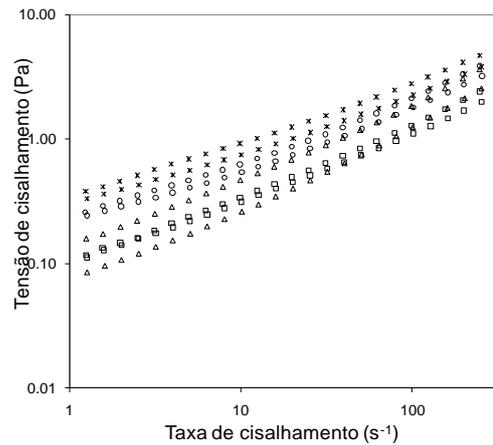
5.5.1 Efeito do processo HUAP nas características reológicas das bebidas lácteas testadas em condições de estado estacionário

5.5.1.1 Viscosidade aparente e tensão de cisalhamento dependentes do tempo e tixotropia

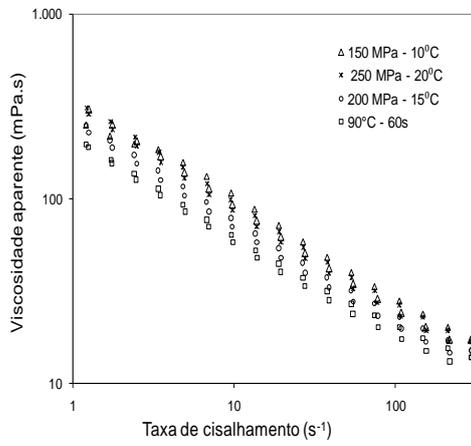
As amostras e controles das bebidas BL, BLA e BLL, produzidas a partir das bases lácteas (1) e (2) e processada por HUAP₂, foram armazenadas durante 14 dias sob refrigeração (4 ± 1)°C, sendo então submetidas às análises reológicas. As curvas de viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento e as curvas de tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento variando de 0 a 300 s⁻¹, em 300 s (curva ascendente), seguida de retorno a 0 s⁻¹ em 300 s (curva descendente) são encontradas na Figura 22. Pode-se observar o comportamento tixotrópico para todas as amostras e controles estudados, exceto para as bebidas lácteas BL desenvolvidas a partir da base láctea (2) (leite UHT desnatado e soro de leite desidratado reconstituído). Nesse caso, apresentado na Figura 22 (c), viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento, e (d), tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento, observou-se a sobreposição das curvas ascendentes e descendentes, e, portanto, um comportamento pseudoplástico (independente do tempo). O mesmo foi observado para os controles da bebida BL obtidas dos processos térmicos a 90°C/60 s e a 43°C/60 s, respectivamente, na Figura 22 (a) e (b), (c) e (d). A explicação para esse fato pode ser a maior desnaturação protéica promovida na bebida láctea BL pelos dois processos aplicados à base láctea; vale ressaltar que essa bebida contém o maior teor de proteínas e menor teor de sólidos totais. A viscosidade de um fluido pode aumentar de forma linear ou não linear, em função da taxa cisalhante, com uma transição de comportamento newtoniano para não-newtoniano quando a concentração de sólidos totais aumenta. Essa mudança ocorre devido ao aumento na fração volumétrica das partículas dispersas, favorecendo assim as interações entre as partículas devido as suas distâncias tornarem-se menores (WALSTRA & JENNESS, 1984, apud PATOCKA *et al.*, 2006).



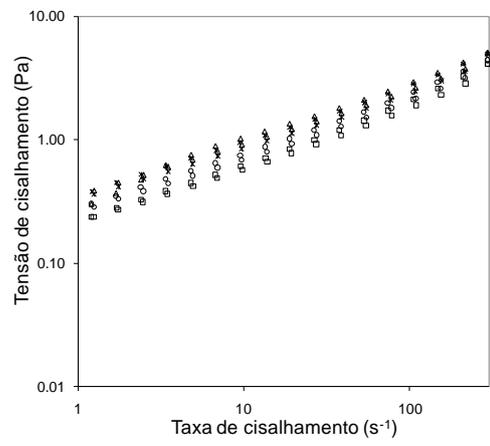
(a) BL (base láctea 1 + HUAP₂)



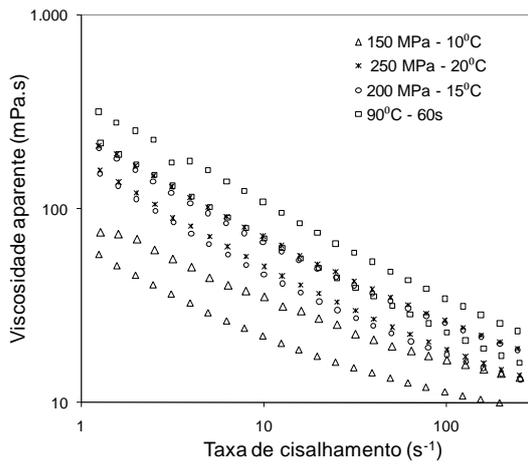
(b) BL (base láctea 1 + HUAP₂)



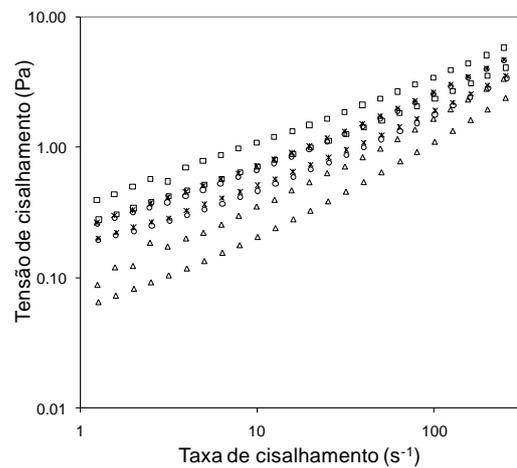
(c) BL (base láctea 2+HUAP₂)



(d) BL (base láctea 2+HUAP₂)



(e) BLA (base láctea 1 + HUAP₂)



(f) BLA (base láctea 1 + HUAP₂)

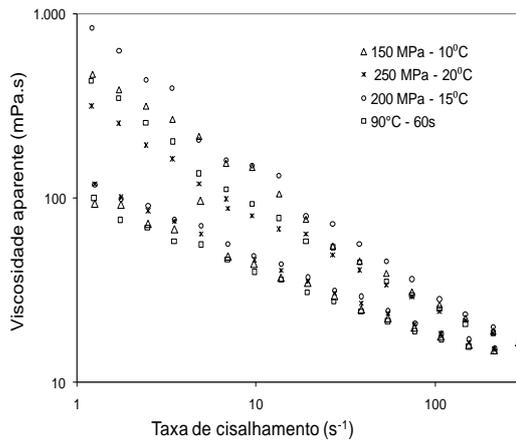
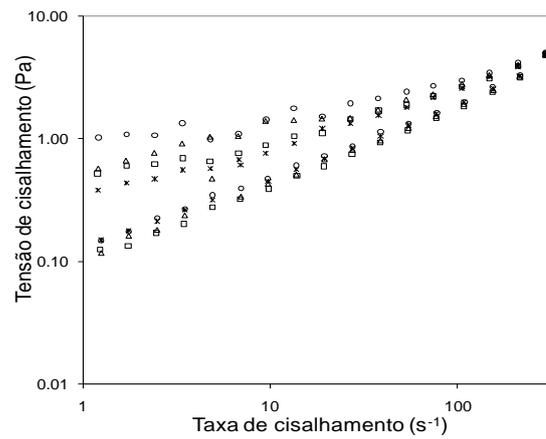
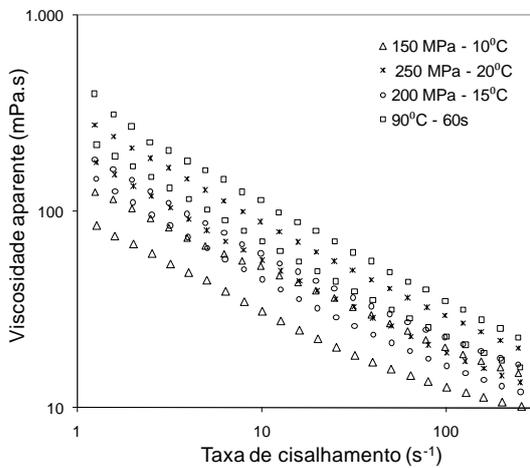
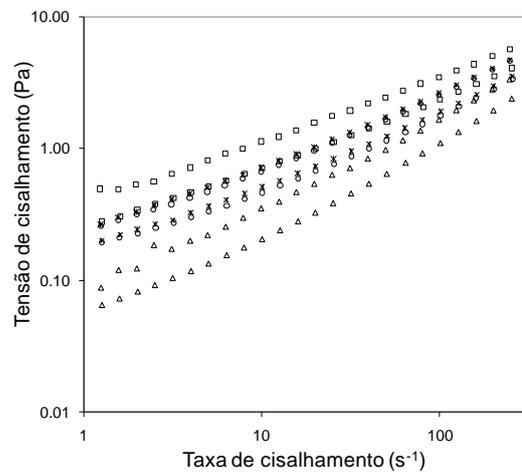
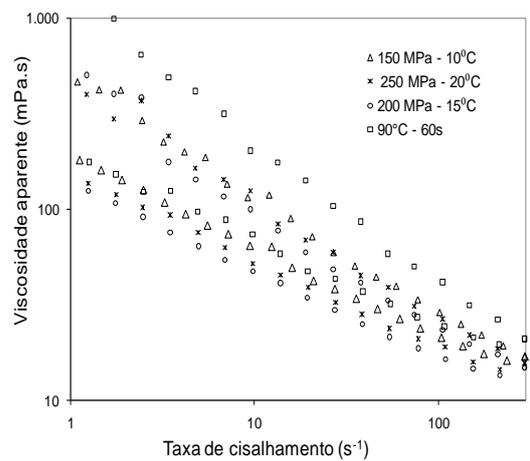
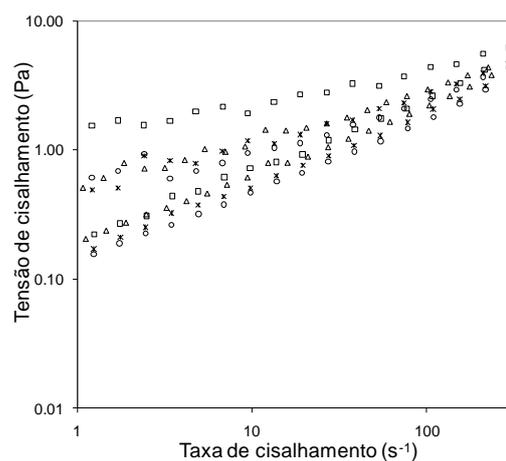
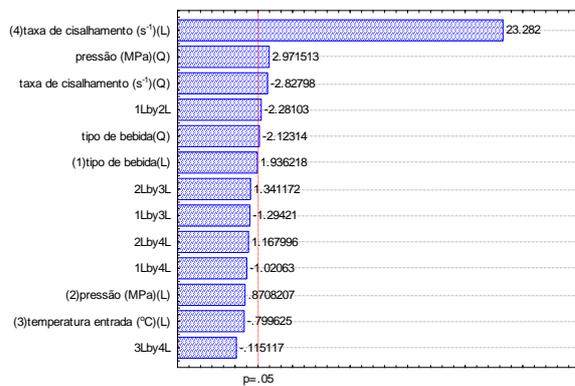
(g) BLA (base láctea 2+HUAP₂)(h) BLA (base láctea 2+HUAP₂)(i) BLL (base láctea 1 + HUAP₂)(j) BLL (base láctea 1 + HUAP₂)(k) BLL (base láctea 2+HUAP₂)(l) BLL (base láctea 2+HUAP₂)

Figura 22 (a), (c), (e), (g), (i), (k), (m), (o), (q) curvas de viscosidade aparente (mPa.s) e (b), (d), (f), (h), (j), (l), (n), (p), (r) curvas de tensão de cisalhamento (Pa) *versus* taxa de cisalhamento variando de 0 a 300 s⁻¹, em 300 s (curva ascendente), seguida de retorno a 0 s⁻¹ em 300 s (curva descendente) para as bebidas lácteas fermentadas BL, BLA e BLL, processadas por HUAP₂ (MPa/°C) e seus controles processados termicamente (base láctea (1) com leite cru: TT. 90°C/ 60s ou base láctea (2) com leite UHT: TT. 43°C/ 60s).

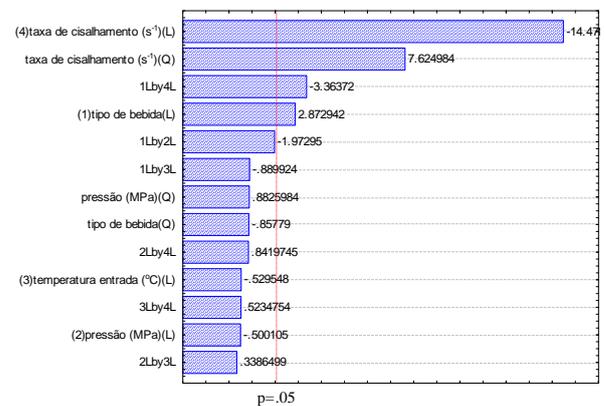
5.5.1.2 Avaliação estatística dos efeitos dos fatores pressão, temperatura de entrada e taxa de cisalhamento sobre as variáveis dependentes viscosidade aparente e tensão de cisalhamento nos diferentes tipos de bebidas

Usando-se a abordagem de ANOVA, analisou-se o efeito dos fatores taxa de cisalhamento, temperatura, pressão e tipo de bebida sobre a tensão de cisalhamento e viscosidade das bebidas lácteas elaboradas a partir da base láctea (1) submetidas ao processo de HUAP₂. Os níveis escolhidos para os fatores foram, taxa de cisalhamento: 10, 150 e 300s⁻¹, pressão: 150, 200 e 250 MPa, temperatura de entrada: 10, 15 e 20°C e tipos de bebidas: BL, BLA e BLL.

A Figura 23 (a) e (b) apresenta os diagramas de Pareto para a tensão cisalhante e viscosidade aparente, respectivamente. Observa-se que os termos quadrático e linear da taxa de cisalhamento são significativos para as duas variáveis dependentes. Para a tensão cisalhante, tem-se que o termo quadrático da pressão e do tipo de bebida e o termo de interação entre o tipo de bebida e a pressão foram também significativos. No caso da viscosidade aparente, observa-se que o tipo de bebida e o termo de interação entre o tipo de bebida e a taxa de cisalhamento são significativos estatisticamente.



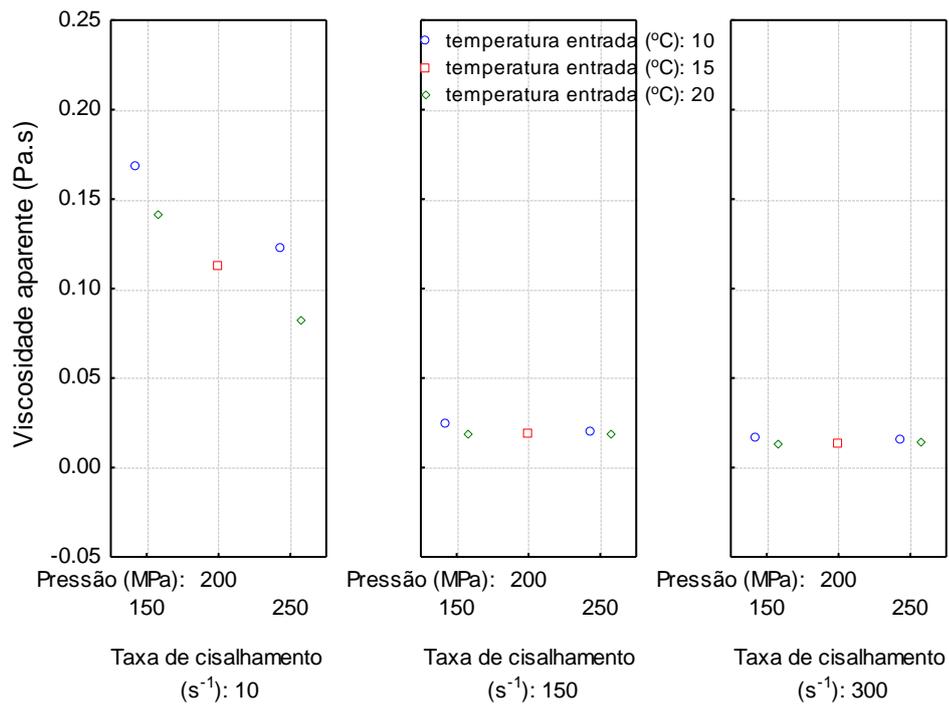
(a)



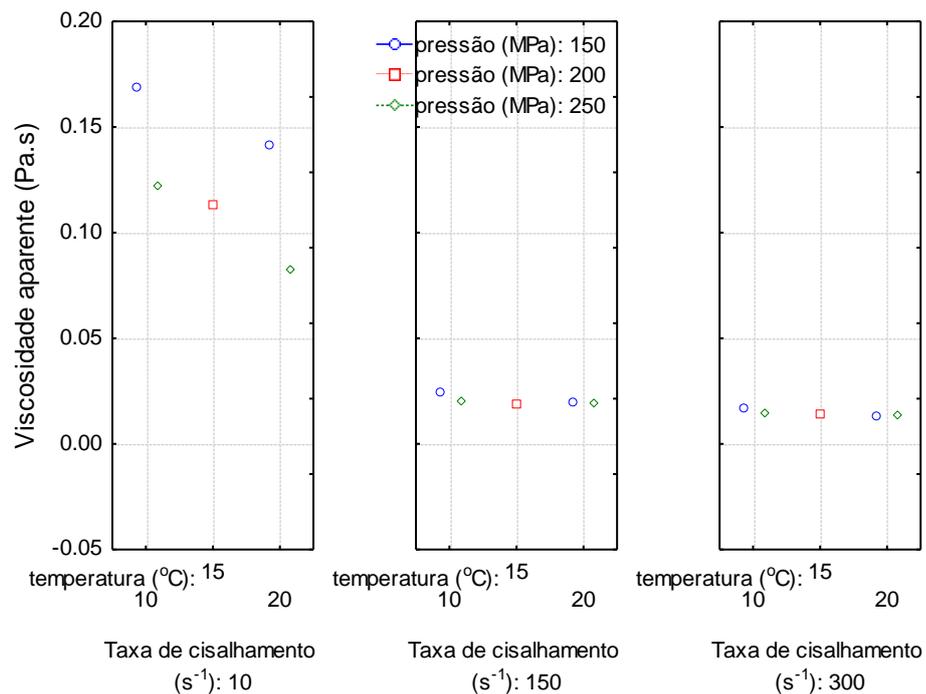
(b)

Figura 23. Diagramas de Pareto com o efeito estimado padronizado ($p < 0,05$) para as variáveis dependentes (a) tensão de cisalhamento e (b) viscosidade aparente.

A avaliação dos efeitos simultâneos dos fatores pesquisados sobre a variável dependente de interesse para a bebida láctea fermentada BLL (resultados de BL e BLA não foram apresentados), obtida a partir da base láctea (1) (leite cru desnatado: soro de leite reconstituído) submetido ao processo de HUAP₂, pode ser vista na Figura 24.



(a)



(b)

Figura 24. Médias da viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento com variação da (a) pressão (MPa): \circ 150, \square 200 e \diamond 250 e (b) temperatura de entrada (°C): \circ 10, \square 15 e \diamond 20 para a bebida láctea fermentada com adição de polpa de abacaxi e aspartame – BLL. ANOVA: R-sqr= 0.8741; R-adj= 0.8407; 63 Runs; MS Pure Error= 0.0003697. (P < 0.05).

Nessa figura, são apresentados os valores médios da viscosidade aparente (Pa.s) *versus* as taxas de cisalhamento (10, 150 e 300 s⁻¹), níveis de pressão (150, 200 e 250 MPa) e

temperaturas de entrada (10, 15 e 20°C). Embora a viscosidade aparente dos tipos de bebidas pesquisados (BL, BLA e BLL) seja estatisticamente diferente ($p < 0,05$), o comportamento de cada uma dessas bebidas frente aos fatores pesquisados mostrou-se idêntico. Assim, a análise da Figura 24 (a) e (b) permite concluir que tanto o aumento da pressão, de 150 a 250 MPa, da temperatura de entrada, de 10 a 20°C, quanto o aumento da taxa de cisalhamento, de 10 a 300 s^{-1} , provocam redução significativa da viscosidade aparente ($p < 0,05$). Os valores mais elevados de viscosidade aparente são verificados para a taxa de cisalhamento igual a 10 s^{-1} , nível de pressão de 150 MPa e temperatura de entrada de 10°C para todas as bebidas fermentadas estudadas. Para as mais elevadas taxas de cisalhamento (150 e 300 s^{-1}), não foram observadas diferenças significativas dos valores médios da viscosidade aparente, verificando-se uma redução de cerca de 90% dos seus valores iniciais para todas as bebidas e condições pesquisadas.

O estudo mostrou que, provavelmente, as diferenças verificadas nos valores de viscosidade aparente devem-se aos efeitos dos fatores (pressão e temperatura) sobre a base láctea processada por HUAP na produção das bebidas, com conseqüente aumento da desnaturação protéica ocorrendo em condições de mais alta intensidade das condições de pressão e temperatura, repercutindo sobre as características de viscosidade final das amostras. Diversos autores chegaram a conclusões similares em seus estudos feitos com leite e iogurtes (HAYES & KELLY, 2003; PAQUIN *et al.*, 2003, SANDRA & DALGLEISH, 2005; SERRA *et al.*, 2007; SERRA *et al.*, 2009). Embora não tenha sido realizado nenhum experimento para medir o tamanho das partículas, os resultados sugerem que a viscosidade aparente tenha sido influenciada pelo tamanho dessas partículas, agregados de caseína e proteínas do soro a partir da desnaturação provocada pela pressão. O processo de HUAP parece contribuir com a desnaturação das proteínas lácteas, principalmente, quando são utilizadas pressões de 200 a 300 MPa, afetando diretamente a viscosidade (FLOURY *et al.*, 2000; WALSTRA & JENNESS, 1984, CLARE *et al.*, 2005, PEREDA *et al.*, 2007). Pela Figura 25, percebe-se claramente que a viscosidade aparente é praticamente a mesma para as taxas de cisalhamento 150 e 300 s^{-1} e que para essas taxas, a pressão e a temperatura não exercem influência sobre a viscosidade.

A Figura 25 apresenta análise similar a da Figura 24. Inversamente à viscosidade aparente, observou-se que com o aumento da taxa de cisalhamento de 10 para 300 s^{-1} , houve uma tendência, estatisticamente significativa ($p < 0,05$), de aumento da tensão de

cisalhamento para todas as bebidas lácteas fermentadas estudadas (BL e BLA não foram mostradas, mas apresentam comportamento semelhante).

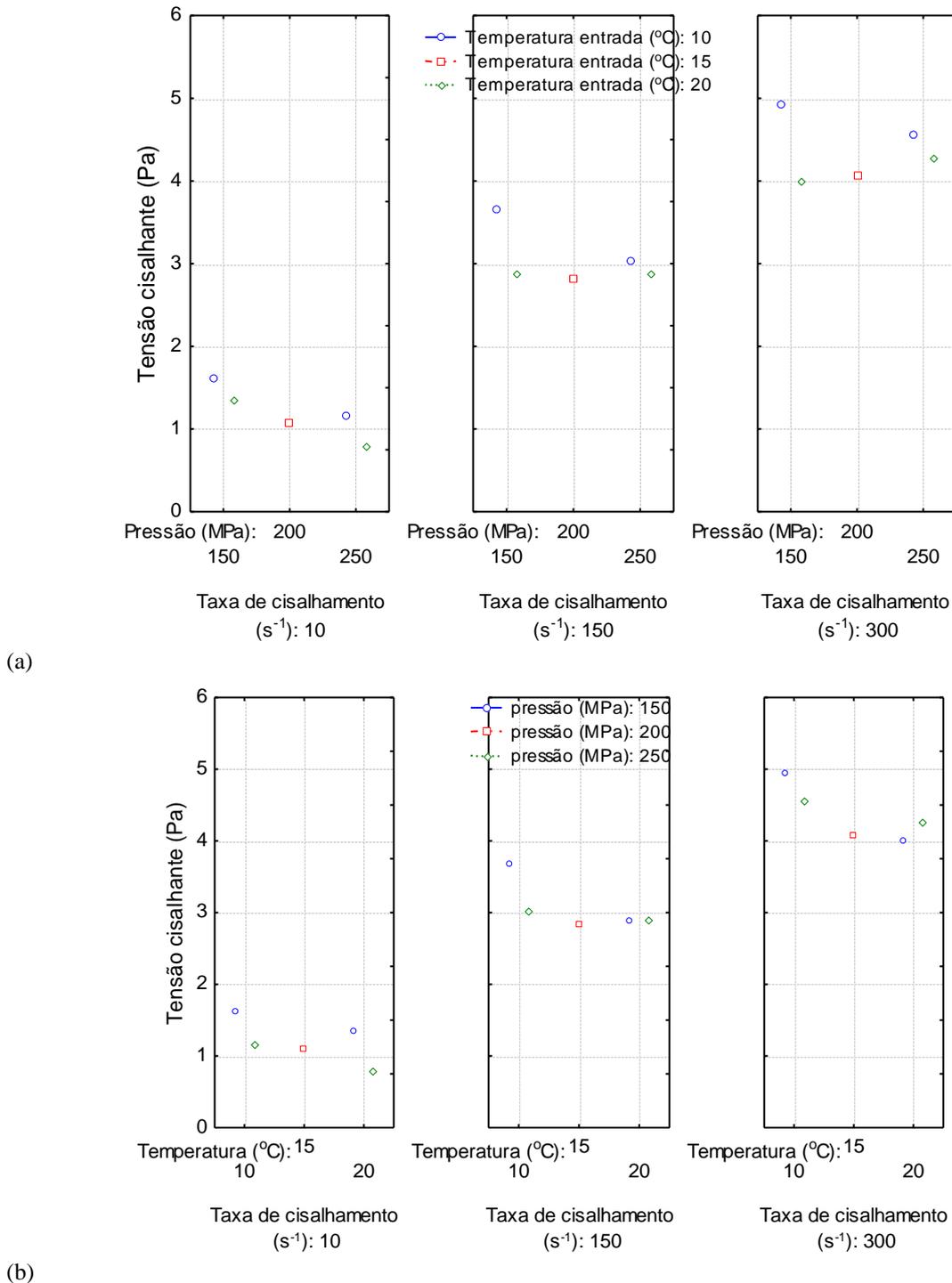
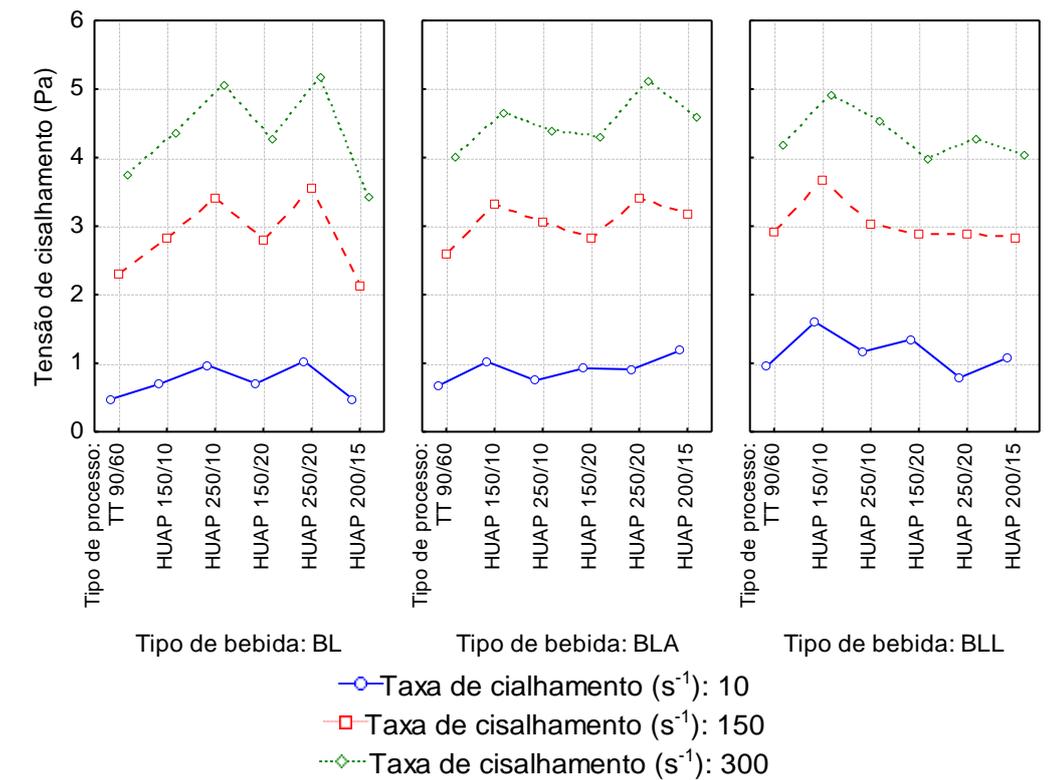


Figura 25. Médias da tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento com variação da (a) pressão (MPa): \circ 150, \square 200 e \diamond 250 e (b) temperatura de entrada (°C): \circ 10, \square 15 e \diamond 20 para a bebida láctea fermentada com adição de polpa de abacaxi e aspartame – BLL. ANOVA: R-sqr= 0.9394; R-adj= 0.9234; 63 Runs; MS Pure Error= 0.2231. ($P < 0.05$).

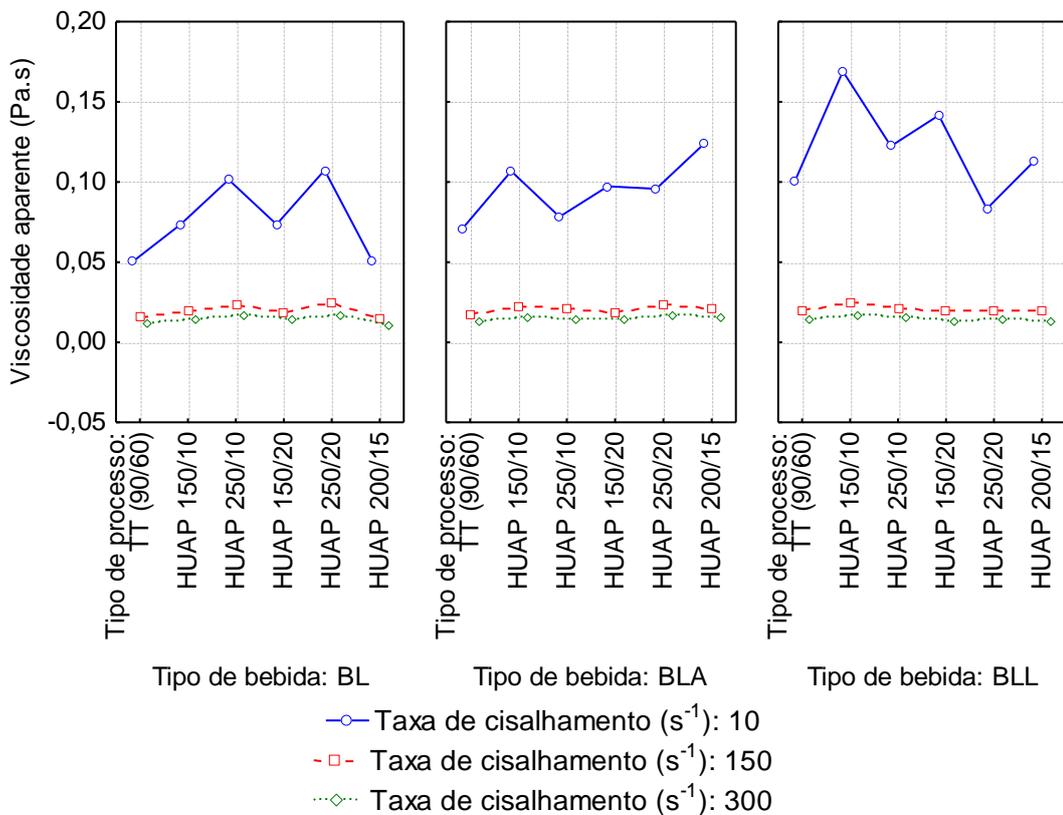
Para a taxa de cisalhamento de 10 s^{-1} , não houve diferença significativa no decaimento da tensão cisalhante, para todos os tipos de bebidas, quando a pressão e temperatura variaram de 150 a 250 MPa e de 10 a 20°C , respectivamente. Para as taxas de 150 e 300 s^{-1} o mesmo comportamento foi observado, assim como podem ser aplicados os mesmos comentários feitos para viscosidade aparente sobre a desnaturação protéica e suas consequências sobre a tensão de cisalhamento.

5.5.1.3 Comparação dos efeitos dos processos térmicos e de HUAP nas características reológicas de viscosidade aparente e tensão de cisalhamento das bebidas lácteas testadas nas condições de estado estacionário

Com o objetivo de verificar os efeitos dos tipos de processos aplicados - térmico (90°C , 60s) para os controles e de HUAP₂ (150 MPa/ 10°C , 250 MPa/ 10°C , 150 MPa/ 20°C , 250 MPa/ 20°C , 200 MPa/ 15°C) para as amostras BL, BLA e BLL - foram comparadas as médias da viscosidade aparente (Pa.s) e da tensão de cisalhamento (Pa) de todos os produtos obtidos a partir da base láctea (1) (leite cru desnatado: soro de leite reconstituído) ter sido processada termicamente ou por alta pressão. Nesse estudo, foram consideradas apenas as taxas de cisalhamento de 10, 150 e 300 s^{-1} (ciclo ascendente). Foi verificado que os valores das médias de viscosidade aparente e tensão de cisalhamento das amostras das bebidas BL e BLL, originadas do processo HUAP₂ a 200 MPa e 15°C , foram similares às dos seus respectivos controles (TT $90^\circ\text{C}/60 \text{ s}$), como apresentado na Figura 26 (a) tensão de cisalhamento (Pa) e (b) viscosidade aparente (Pa.s). Para todas as amostras estudadas, a viscosidade aparente diminuiu e a tensão de cisalhamento aumentou à medida que a taxa de cisalhamento passou de 10 a 300 s^{-1} . A pesquisa dos parâmetros reológicos viscosidade aparente e tensão de cisalhamento possibilitou comparar os processos aplicados à base láctea, ainda pouco explorada (PAQUIN *et al.*, 2003; SANDRA & DALGLEISH, 2005; LOPEZ-FANDIÑO, 2006; HARTE *et al.*, 2007; GRÁCIA-JULIÁ *et al.*, 2008; SERRA *et al.*, 2009).



(a)



(b) Viscosidade aparente versus tipos de processo e de bebida

Figura 26. Médias da (a) tensão de cisalhamento (Pa) e da (b) viscosidade aparente (Pa.s) versus tipo de bebida e tipo de processo para as taxas de cisalhamento (s^{-1}): —○— 10, - -□- - 150 e - -◇- - 300 aplicadas às bebidas lácteas fermentadas BL, BLA e BLL.

5.5.1.4 Modelo matemático para ajuste dos resultados reológicos experimentais

A literatura apresenta alguns modelos reológicos clássicos de viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento, como Carreau-Yassuda, Sisko, Cross, e a Lei da Potência, dada por:

$$\eta = K \dot{\gamma}^{(n-1)} \quad (1)$$

em que n é o índice de escoamento e K é o índice de textura ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$).

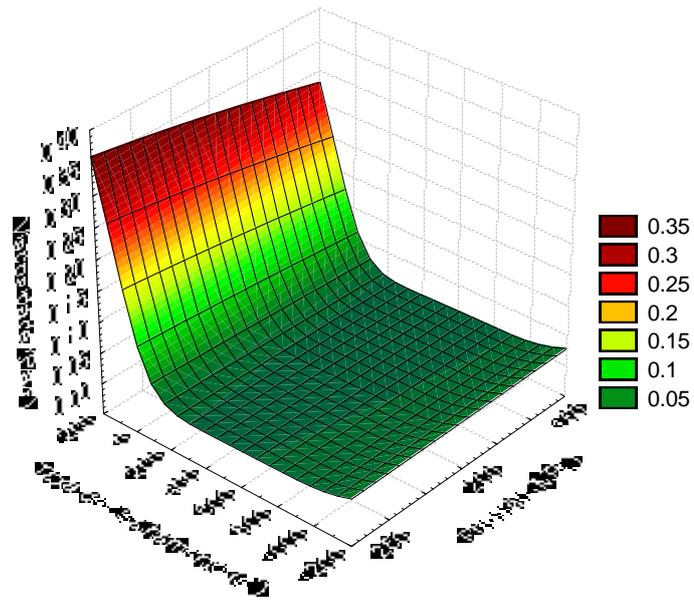
Esse modelo matemático tem sido muito utilizado no ajuste de resultados experimentais de diversos materiais, sendo considerado um modelo bastante versátil, inclusive para diversos alimentos, dentre os quais iogurtes. Pode ser aplicado extensivamente para descrever as propriedades de escoamento de líquidos não newtonianos, tanto em sua análise teórica quanto em suas aplicações práticas de engenharia (BARNES *et al.*, 2001). Entretanto, esse modelo pode falhar se usado fora da faixa de dados que o definem, bem como para altas taxas de cisalhamento, onde a viscosidade precisa ser considerada um valor constante, ou seja, quando o valor de n se aproxima da unidade.

Para considerar a influência da temperatura, é comum se usar um fator de correção tipo Arrhenius apresentada na equação (2).

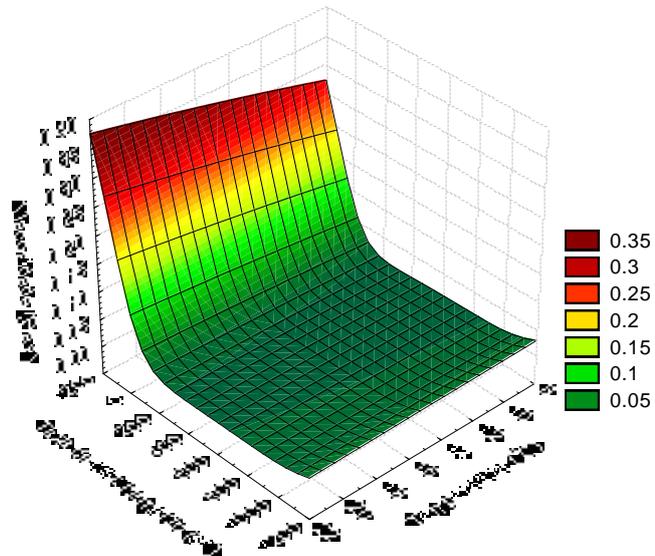
$$\eta' = \eta \exp(-E_a/RT) \quad (2)$$

em que, η é a viscosidade dada pela equação (1); E_a é a energia de ativação ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$); R é a constante dos gases ideais ($8,314 \times 10^{-3} \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$) e T é a temperatura absoluta (K).

Para considerar a influência da pressão, utilizou-se um fator de correção similar àquele usado para a temperatura, justificado pelo aspecto similar das superfícies de respostas mostradas na Figura 28.



(a)



(b)

Figura 27. Superfícies de respostas de (a) tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento (s^{-1}) *versus* pressão (MPa) e (b) viscosidade aparente *versus* taxa de cisalhamento *versus* temperatura de entrada ($^{\circ}C$) para todos os tipos de bebidas lácteas fermentadas.

Na realidade pode-se pensar na influência da pressão como sendo temperatura, visto que existe uma relação direta entre a pressão imposta no homogeneizador e a temperatura atingida em seu interior. Embora, a HUAP seja descrita na literatura como uma tecnologia não térmica, durante os processos com HUAP observa-se um aumento da temperatura do leite (cerca de 19°C por 100MPa), como consequência do aquecimento adiabático gerado no interior do equipamento, em adição à turbulência, forças de cisalhamento e cavitação que o fluido sofre na válvula de homogeneização (THIEBAUD *et al.*, 2003). Uma vez processado, o fluido é resfriado, rapidamente, ao passar pelo trocador de calor, assim o tempo de retenção em alta temperatura é muito pequeno (0,2 a 0,7 s) (PEREDA *et al.*, 2007; PICART *et al.*, 2006), dependendo das características do equipamento e do trocador de calor (PEREDA *et al.*, 2009). Desse modo, utilizou-se aqui um fator de correção tipo Arrhenius para a pressão, ficando-se com o seguinte modelo matemático, a ser utilizado para toda a faixa de taxa de cisalhamento, de temperatura e de pressão, expresso pela equação (3):

$$\eta = K \dot{\gamma}^{(n-1)} \exp[(-E_a/R)_T 1/T] \exp[(-E_a/R)_P 1/P] \quad (3)$$

Os parâmetros do modelo reológico proposto foram estimados pelo programa Statística 7.0. Os parâmetros do ajuste obtido, considerando-se todos os tipos de bebidas lácteas fermentadas analisadas (BL, BLA e BLL), para o modelo proposto estão descritos na Tabela 19.

Os respectivos controles das bebidas lácteas fermentadas foram obtidos a partir da base láctea (1) (leite cru desnatado: soro de leite reconstituído) submetida ao processo térmico de pasteurização a 90°C/60 s e da base láctea (2) (leite UHT desnatado: soro de leite reconstituído) aquecida e mantida a 43°C/60s. Portanto, uma vez que os controles não foram submetidos ao processo de HUAP, o modelo matemático proposto nesse caso seguiu a Lei da Potência. Dessa forma, os parâmetros do ajuste para o modelo proposto também estão na Tabela 19.

Pelos resultados apresentados na Tabela 20, pode-se afirmar que os erros-padrão foram baixos e os coeficientes de determinação foram altos. Além disso, foi verificada a significância estatística dos parâmetros. Pela análise dos resíduos, verificou-se que os mesmos tiveram uma distribuição normal e variância constante, validando assim os modelos matemáticos propostos.

Tabela 20. Parâmetros dos modelos matemáticos propostos para as amostras e controles das bebidas lácteas BL, BLA e BLL, elaboradas a partir das bases lácteas (1) e (2) submetidas ao processo de HUAP₂, na faixa de taxa de cisalhamento de 0-300 s⁻¹

Tipo de Bebida/Tipo de Processo	Eq. (3): $\eta = K \dot{\gamma}^{(n-1)} \exp[(-E_a/R)_T 1/T] \exp[(-E_a/R)_P 1/P]$				
	K ± Erro-padrão	(E _a /R) _T ± Erro-padrão	(E _a /R) _P ± Erro-padrão	n ± Erro-padrão	R ² _{ajustado} (%)
BL, BLA e BLL: base láctea (1) (leite cru desnatado: soro reconstituído)/HUAP ₂	6,41±0,53	2222,42±152,06	92,56±6,79	0,581±0,004	95,97
BL, BLA e BLL: base láctea (2) (leite UHT desnatado: soro reconstituído)/HUAP ₂	5,97±1,70	2084,85±490,90	-110,71± 21,88	0,344±0,008	92,30
Controles	Eq. (1): $\eta = K \dot{\gamma}^{(n-1)}$				
	K ± Erro-padrão	n ± Erro-padrão		R ² _{ajustado} (%)	
BL, BLA e BLL: base láctea (1) (leite cru desnatado: soro reconstituído)/ TT90°C/60s	-1,53±0,11	0,55±0,03		98,97	
BL, BLA e BLL: base láctea (2) (leite UHT desnatado: soro reconstituído)/ TT43°C/60s	-0,49±0,11	0,31±0,04		94,91	

Portanto, os modelos propostos permitiram obter as equações (4), (5), (6), (7) ajustadas para cada caso:

a) a partir da Eq. (3): $\eta = K \dot{\gamma}^{(n-1)} \exp[(-E_a/R)_T 1/T] \exp[(-E_a/R)_P 1/P]$

a.1) para as amostras com a base láctea (1) submetida a HUAP (2), resultou em:

$$\eta = 607,89 \dot{\gamma}^{-0,419} \exp [(-2222,42)/ T] \exp [(92,56)/P] \quad (4)$$

a.2) para as amostras com a base láctea (2) submetida a HUAP (2), resultou em:

$$\eta = 391,51 \dot{\gamma}^{-0,656} \exp [(-2084,85)/ T] \exp [(110,71)/ P] \quad (5)$$

b) a partir da Eq. (1): $\eta = K \dot{\gamma}^{(n-1)}$,

b.1) para os controles com a base láctea (1) submetida ao TT 90°C/60 s resultou em:

$$\eta = 0,217 \dot{\gamma}^{-0,453} \quad (6)$$

b.2) para os controles com a base láctea (2) submetida ao TT 43°C/60 s resultou em:

$$\eta = 0,615 \dot{\gamma}^{-0,691} \quad (7)$$

5.5.2 Efeito do processo HUAP no comportamento reológico das bebidas lácteas fermentadas testadas em condições de estado oscilatório

5.5.2.1 Testes para definição da região de viscoelasticidade linear e da varredura da frequência (*frequency sweep*)

Neste estudo, o reômetro operou com sinal de entrada constante no modo varredura de deformação (*strain sweep*), com deformação (*strain*) variando de 0,01 a 10%, enquanto a frequência foi aumentada de 0,1 a 10Hz. Todas as amostras exibiram resposta típica de uma região de viscoelasticidade linear (STEFFE, 1996), como pode ser observado na Figura 29 para a amostra de bebida láctea fermentada com a base láctea (1) submetida ao processo de HUAP₂. Pela Figura 28, escolheu-se então o valor de 0,5 % para a deformação, esse valor foi usado em todas as análises seguintes para a faixa de 0,1 a 10 Hz.

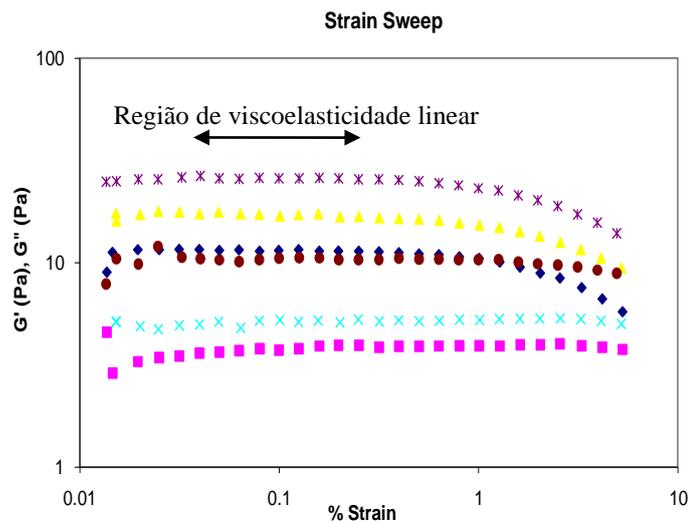


Figura 28 Região de viscoelasticidade linear típica em resposta ao modo *strain sweep* para bebida láctea fermentada. 0,1 Hz: ◆G' e ■G''; 1,0 Hz: ▲G' e ×G''; 10 Hz: *G' e ●G''.

5.5.2.2 Propriedades viscoelásticas

O teste de varredura da frequência (*frequency sweep*) foi realizado para caracterização do comportamento reológico. Pode ser observado que todas as amostras apresentaram

comportamento de gel, uma vez que o módulo elástico (G') foi significativamente superior ao módulo viscoso (G''), como pode ser visto na Figura 29, para uma deformação de 0,5%.

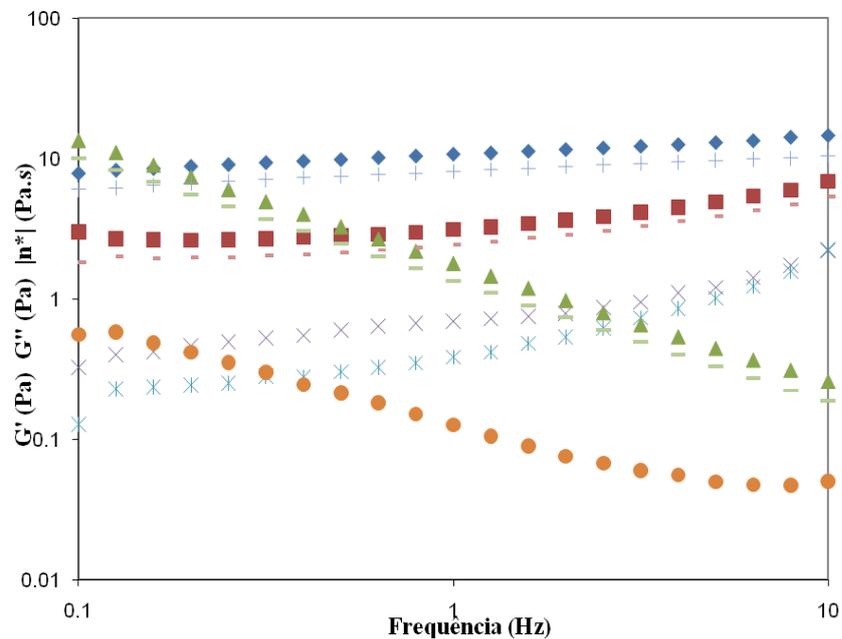


Figura 29. Espectro mecânico do gel observado nas bebidas lácteas fermentadas (BL): \times G' , $*$ G'' e \bullet η^* ; com adição de polpa de abacaxi e açúcar (BLA): \diamond G' , \blacksquare G'' e \blacktriangle η^* ; e com adição de polpa de abacaxi e aspartame (BLL): $+$ G' , \blacksquare G'' e \blacktriangle η^* .

A Figura 30 apresenta os espectros mecânicos de dois dos processos realizados: o primeiro no qual as amostras e os controles das bebidas foram elaborados a partir da base láctea (1) (leite cru desnatado: soro de leite reconstituído) submetida aos processos de HUAP₂ e térmico (90°C/60 s), e o segundo, em que as amostras e os controles das bebidas foram desenvolvidos a partir da base láctea (2) (leite UHT desnatado: soro de leite reconstituído) submetida aos processos de HUAP₂ e térmico (43°C/60 s), respectivamente. Ao serem comparados, são percebidos os efeitos dos fatores tipo de processo e tipo de bebida sobre os módulos elástico e viscoso e também sobre a viscosidade complexa. O processo de HUAP₂ no ponto central (200 MPa – 15°C), para as amostras e controles das bebidas BL apresentaram os menores valores das variáveis dependentes viscoelásticas G' , G'' e $|\eta^*|$. Dessa forma, verificou-se que os processos térmicos aplicados individualmente nas bases lácteas dos controles ou seguidos do processo de HUAP, nas bases lácteas das amostras das bebidas promovem uma modulação favorável nas características viscoelásticas pesquisadas.

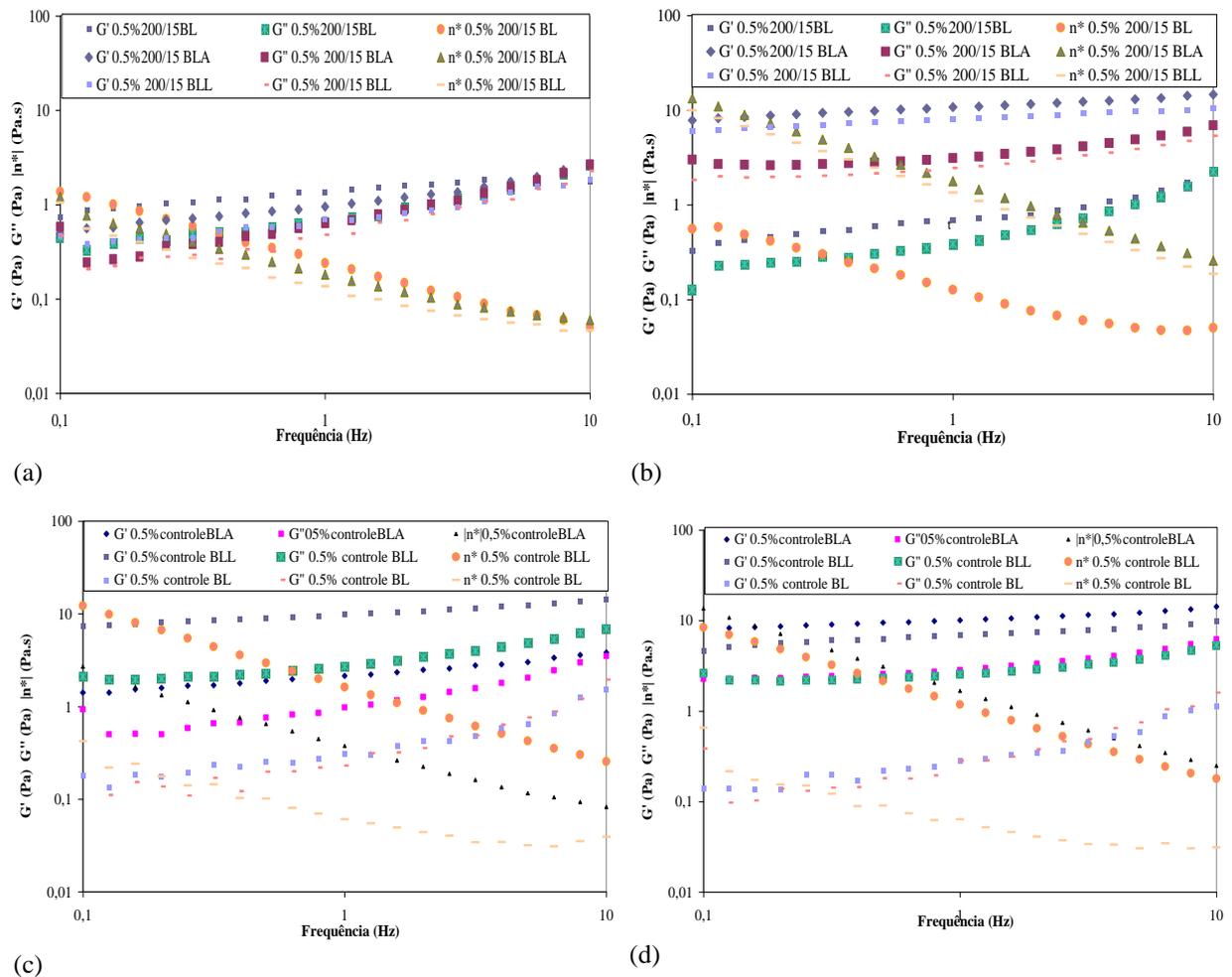


Figura 30. Espectro mecânico do gel observado nas amostras e controles das bebidas obtidas a partir de (a) base láctea (1) + HUAP (200 MPa, 15°C); (b) base láctea (2) + HUAP (200 MPa, 15°C); (c) base láctea (1) + TT (90°C/60 s); (d) base láctea (2) + TT (43°C/60 s) com 0,5% *strain*.

Verificou-se que as amostras das bebidas lácteas BLA e BLL apresentaram os mais altos valores para os módulos elástico (G') e viscoso (G''), bem como para a viscosidade complexa ($|\eta^*|$). As amostras BL mostraram os menores valores para todos os parâmetros analisados, diferindo estatisticamente das outras bebidas ($p \leq 0,05\%$).

A Figura 32 apresenta os módulos G' e G'' das amostras BLL e controles, quando submetidos à varredura da frequência (*frequency sweep*) na faixa de 0,1 a 10 Hz e deformação (*strain*) de 0,5%.

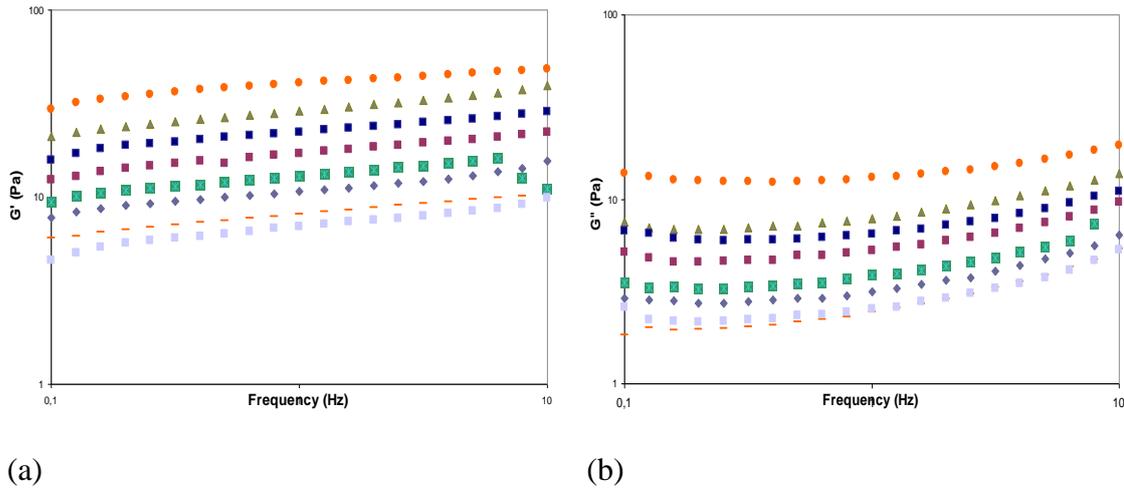


Figura 31. Módulos dinâmicos das amostras e controles BLL obtidas a partir da base láctea 2 (leite UHT desnatado: soro de leite reconstituído) processada por HUAP₂ ou por processo térmico. (a) G' (b) G'' :
 ◆ 150MPa-10°C, ▲ 250MPa-10°C, ■ 150MPa-20°C, ● 250MPa-20°C, ◻ 200MPa-15°C, ◻ 200MPa-15°C, ◻ 200MPa-15°C, ◻ controle (43°C/60s).

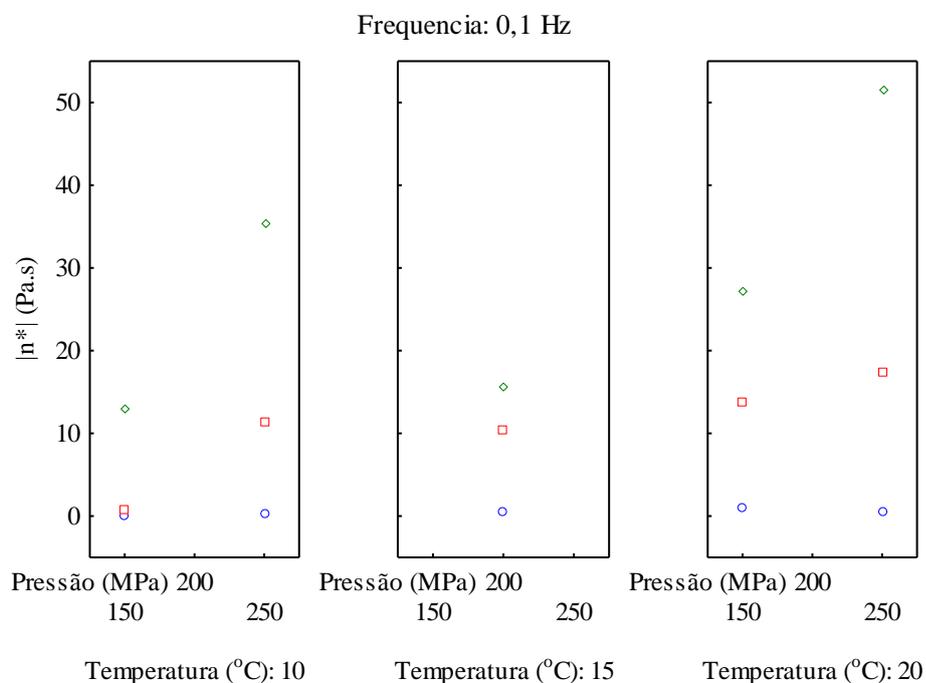
Da mesma forma, são mostradas no Apêndice 3 as curvas dos parâmetros reológicos (G' , G'' , $|\eta^*|$) analisados para todos os tipos de bebida (BL, BLA e BLL: amostras e controles) obtidos a partir da base láctea (2) (leite UHT desnatado: soro de leite reconstituído) submetida aos processos HUAP₂ e térmico (43 °C/ 60 s).

O processo de HUAP, no nível de pressão de 150 MPa e $T_1=10^\circ\text{C}$, foi o mais similar ao controle obtido pelo processo térmico (43°C/60s), considerando-se as condições estudadas, apresentando os mais baixos valores de G' , G'' e $|\eta^*|$ para todas as amostras. Os mais elevados valores desses parâmetros viscoelásticos foram observados nas condições de processo HUAP a 250 MPa e $T_1= 20^\circ\text{C}$ e 250 MPa e $T_1= 10^\circ\text{C}$.

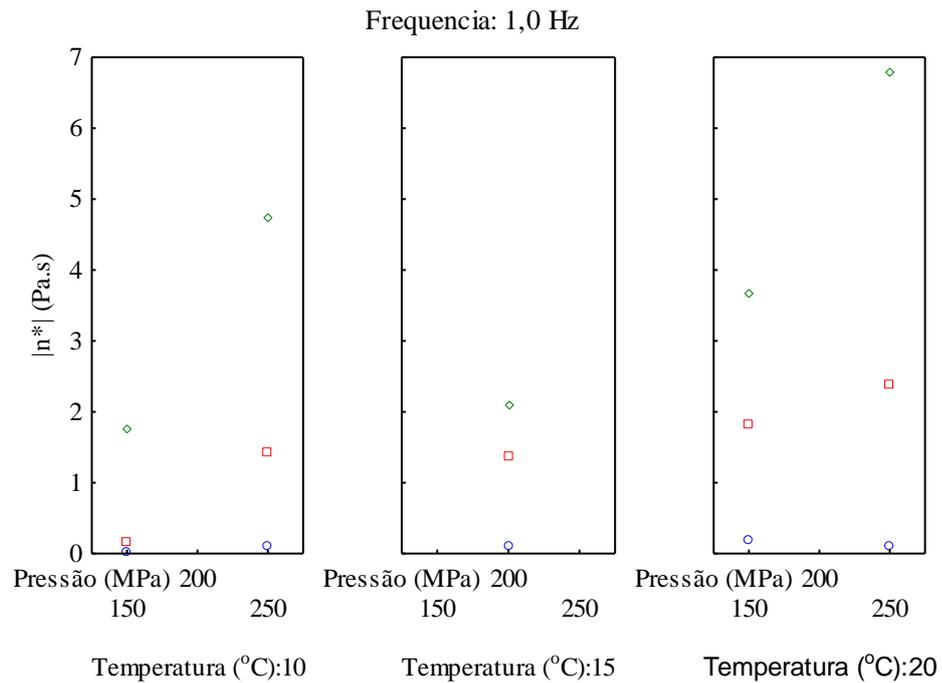
5.5.2.3 Avaliação estatística dos efeitos dos fatores pressão, temperatura e frequências sobre as variáveis dependentes módulos elástico e viscoso, e viscosidade complexa

Os efeitos dos fatores nível de pressão e temperatura de entrada, para o processo de HUAP₂ utilizado no preparo das bebidas lácteas fermentadas (BL, BLA e BLL), e frequências específicas (0,1, 1,0 e 10Hz) aplicadas durante os testes reológicos sobre a viscosidade complexa (Pa.s), foram avaliados por ANOVA. O resultado dessa análise permite afirmar que houve diferença significativa entre todas as amostras ($p < 0.05$) no que se refere à viscosidade

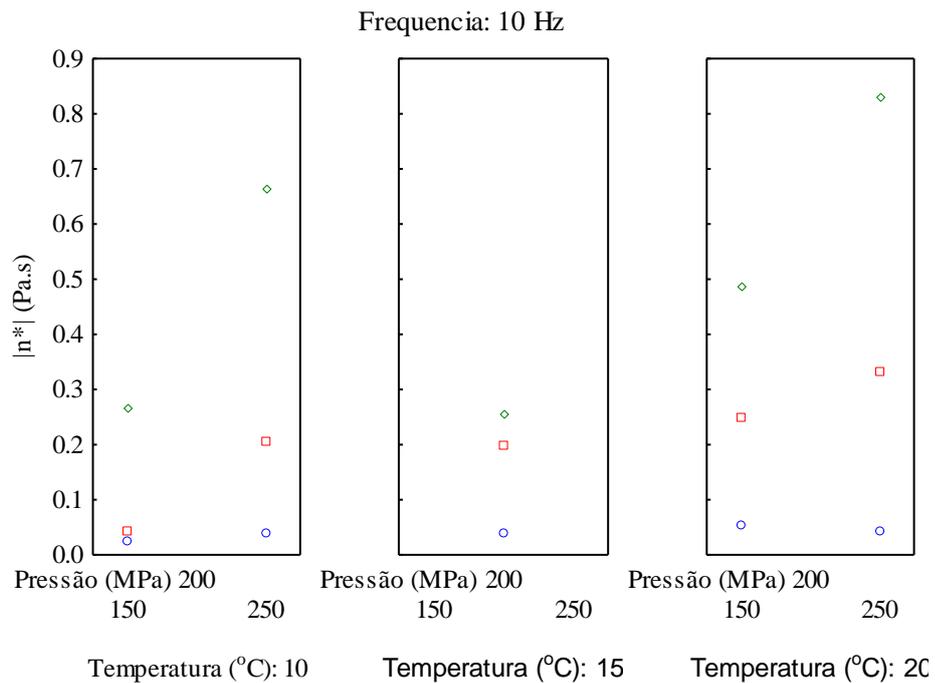
complexa ($|\eta^*|$) em relação aos diferentes níveis de pressão e de temperatura de entrada e em todas as frequências, conforme mostrado na Figura 33. Além disso, observou-se que os valores das médias só não foram estatisticamente diferentes entre as amostras BL e BLA na condição de 150 MPa e 10°C. A viscosidade complexa aumentou mais de 50% quando a pressão e a temperatura variaram de 150 para 250 MPa e de 10 para 20°C. Os fatos observados devem-se, provavelmente, às diferenças na composição das formulações das bebidas; as amostras BL têm os maiores conteúdos de proteínas e não contêm nem polpa de abacaxi nem adoçantes. Conseqüentemente, a desnaturação protéica ocorre em maior proporção nas condições mais intensas dos processos de HUAP (250 MPa/ 25°C), comparando-se às bebidas BLA e BLL. Diversos autores chegaram a conclusões semelhantes em suas pesquisas. (HAYES & KELLY, 2003; PAQUIN, *et al.*, 2003, SANDRA & DALGLEISH, 2005; SERRA, *et al.*, 2007; SERRA *et al.*, 2009). A presença de polpa de abacaxi e de adoçantes (sacarose ou aspartame) nas amostras das bebidas lácteas BLA e BLL aumenta o teor de sólidos totais e são, provavelmente, os responsáveis pela recuperação da estrutura quando o nível de pressão é igual a 250 MPa. Quando a frequência variou de 0,1 Hz a 1,0 Hz e de 0,1 a 10 Hz, a viscosidade complexa decresceu 10 e 100 vezes, respectivamente, como o esperado.



(a)



(b)



(c)

Figura 33. Viscosidade complexa *versus* nível de pressão e temperatura de entrada para as amostras: \circ -BL= bebida láctea (leite UHT desnatado+ soro de elite reconstituído); \square -BLA= BL com polpa de abacaxi (30 mL/100 mL) e açúcar (7 g/100 mL); \diamond -BLL= BL com polpa de abacaxi (30 mL/100 mL) e aspartame (0.0388 g/100 mL) nas frequências: (a) 0,1Hz, (b) 1,0 Hz e (c) 10 Hz.

Análise semelhante à anterior foi feita para avaliar os módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') para as frequências 0,1 Hz, 1,0 Hz e 10Hz. Avaliando-se as médias apresentadas no Apêndice 4, observou-se que com o aumento da frequência, de modo inverso

ao observado para a $|\eta^*|$, houve uma tendência ao decaimento dos valores das médias de G' e G'' para todas as amostras. Pôde-se verificar, além disso, que os valores das médias de G' e G'' dobraram, quando se aumentou a intensidade das frequências e dos níveis de pressão e temperatura aplicadas no processo de HUAP₂.

6 CONCLUSÃO

As bebidas lácteas fermentadas com culturas probióticas desenvolvidas nesta pesquisa apresentaram grande diversidade de atributos sensoriais, os quais foram influenciados pela formulação e, conseqüentemente, pelos ingredientes utilizados. As formulações das bases lácteas foram termoprocessadas para garantir a segurança microbiológica dos produtos para os testes sensoriais. Foram selecionadas as formulações com maiores teores de soro e de polpa adoçados com açúcar ou aspartame (F_{50:50/30} e L_{50:50/30}) para os estudos físico-químicos, microbiológicos e reológicos dos produtos obtidos por HUAP. Essas formulações foram avaliadas como sendo as mais adequadas, em relação aos atributos sensoriais esperados para bebida láctea fermentada adicionada de polpa de fruta. Concluiu-se que as formulações com açúcar e as com aspartame apresentaram características sensoriais diferentes, como esperado.

As bebidas lácteas fermentadas estudadas apresentaram composição centesimal variável, de acordo com os ingredientes usados em suas formulações, e atenderam aos requisitos legais, principalmente, quanto ao teor mínimo de proteína exigido. A composição centesimal não sofreu alteração relevante provocada pelos processos de HUAP e térmico, mas principalmente, pelas diferenças de suas formulações.

Para o pH e para a acidez titulável observou-se não haver significância estatística de nenhum dos fatores analisados. Os resultados mostram-se coerentes, uma vez que a acidez titulável deve-se ao processo de fermentação, no qual a lactose presente na base láctea, após inoculação com a cultura láctea e incubação, é transformada em ácido láctico. A concentração inicial desse açúcar é constante nas formulações das bases lácteas e, praticamente, não se observa a ação dos fatores temperatura de entrada e nível de pressão do processo HUAP₁. Entretanto, a adição de polpa de abacaxi adoçada (sacarose ou aspartame) nas bebidas BLA e BLL provocou a variação do pH para valores menores, provavelmente, devido ao efeito de diluição provocado pelo acréscimo da polpa de abacaxi nessas bebidas, além da acidez provocada pela fermentação da lactose.

Nem toda a lactose originalmente presente na base láctea foi consumida pela cultura láctea probiótica durante a etapa de fermentação, restando teores de lactose da ordem de 3,3 a 5,3% de lactose, em média, nas bebidas lácteas. Concluiu-se, mediante avaliação estatística, que os fatores nível de pressão e temperatura de entrada não tiveram efeitos estatisticamente significativos sobre as variáveis lactose e sacarose. Esse fato é coerente, pois além do açúcar sacarose ter sido adicionado apenas às bebidas BLA, após a base láctea ser submetida aos

processos de HUAP₁ ou térmico (90°C/60 s), assim como a lactose, trata-se de molécula de baixo peso molecular, menos sujeita à ação do processo de HUAP.

Observou-se o comportamento tixotrópico para todas as amostras e controles, exceto para as bebidas lácteas BL desenvolvidas a partir da base láctea (2). Nesse caso, as curvas ascendentes e descendentes de viscosidade aparente e de tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento não foram sobreponíveis. Portanto, estas bebidas apresentaram um comportamento pseudoplástico, provavelmente, pela maior desnaturação protéica promovida, devido ao maior teor de proteínas e menor conteúdo de sólidos totais verificados nesta bebida quando comparada às demais.

O estudo dos efeitos dos fatores taxa de cisalhamento, temperatura, pressão e tipo de bebida sobre a tensão de cisalhamento e viscosidade das bebidas lácteas, elaboradas a partir da base láctea (1) submetidas ao processo de HUAP₂, mostrou que a taxa de cisalhamento é significativa para a viscosidade e tensão de cisalhamento. No caso da tensão de cisalhamento, a pressão e o tipo de bebida também foram significativos. Para a viscosidade, observou-se também que o tipo de bebida é significativo estatisticamente. Assim, conclui-se que a viscosidade aparente dos tipos de bebidas sofre redução com o aumento da pressão, da temperatura de entrada e com aumento da taxa de cisalhamento. Os valores mais elevados de viscosidade aparente foram verificados para a taxa de cisalhamento igual a 10 s⁻¹, pressão de 150 MPa e temperatura de entrada de 10°C para todas as bebidas estudadas. Para as mais elevadas taxas de cisalhamento (150 e 300 s⁻¹), não foram observadas diferenças significativas dos valores médios da viscosidade aparente, verificando-se uma redução de cerca de 90% dos seus valores iniciais para todas as bebidas e condições pesquisadas. Foi verificado, ainda, que os valores das médias de viscosidade aparente e tensão de cisalhamento das amostras das bebidas BL e BLL, originadas do processo HUAP₂ a 200 MPa e 15°C, foram similares às dos seus respectivos controles (TT 90°C/60 s).

As propriedades reológicas observadas também foram fortemente influenciadas pelos ingredientes constituintes das diferentes bebidas desenvolvidas. Exibiram uma resposta típica de viscoelasticidade linear à varredura da deformação (*strain sweep*), bem como apresentaram características de gel fraco. O processo de HUAP₂, no nível de pressão de 150 MPa e T₁ = 10°C, foi o mais similar ao controle obtido pelo processo térmico (43°C/60s), considerando-se as condições estudadas, apresentando os mais baixos valores de G' , G'' e $|\eta^*|$ para todas as amostras. Os mais elevados valores dessas variáveis viscoelásticas foram observados nas condições de processo HUAP₂ a 250 MPa e T₁ = 20°C e 250 MPa e T₁ = 10°C. As variações

no comportamento reológico dos produtos analisados induzidas pelo processo de HUAP podem ser úteis no desenvolvimento de novos produtos lácteos. Esses resultados sugerem que o processo HUAP seja uma alternativa interessante quando associado aos processos térmicos na produção de produtos lácteos, em substituição ou redução da necessidade de uso de aditivos estabilizantes.

A contagem de bactérias lácticas totais superior a 10^6 UFC/mL, durante o período de 28 dias, observado apenas para as bebidas desenvolvidas com a base láctea (2) submetida ao processo de HUAP (200 MPa/15°C ou térmicos (90°C/60 s ou 43°C/60 s), mostrou ser possível atender ao requisito exigido pela legislação para um alimento probiótico, ou seja, proporcionar os benefícios à saúde esperados para esse tipo de alimento. Entretanto, para que esse importante aspecto seja observado é necessário garantir a qualidade microbiológica da base láctea e de todos os ingredientes utilizados. Assim, sugere-se como prosseguimento desse estudo, um aprofundamento das melhores condições de nível de pressão, temperatura de entrada e número de vezes de recirculação no homogeneizador que a base láctea necessita ser submetida, a fim de que se consiga desenvolver um produto microbiologicamente seguro, porém mantendo as características sensoriais, físico-químicas e reológicas requeridas.

A partir da Lei da Potência, foi possível propor um modelo matemático reológico para o processo de HUAP, considerando-se a influência simultânea da taxa cisalhante, da temperatura de entrada e da pressão na câmara. Pelo fato de haver uma relação direta entre a pressão imposta no homogeneizador e a temperatura atingida em seu interior, utilizou-se um fator de correção tipo Arrhenius para a pressão e para a temperatura, obtendo-se um modelo matemático com alta capacidade de previsão da viscosidade para a faixa operacional proposta neste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, J., RAMASWAMY, H. S. Effect of High-Hydrostatic Pressure and Temperature on Rheological characteristics of Glycomacropeptide. *Journal of Dairy Science*, 86: 1535–1540. 2003.
- ALMEIDA, K.E.; BONASSI, I.A.; ROÇA, R.O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 21(2): 187-192. 2001.
- BARNES, H.A., HUTTON, J.F., WALTERS, K. An introduction to Rheology (pp.199). First edition. Seventh impression. Elsevier Science B.V. 2001.
- BORGOGNONE MG, BUSSI J, HOUGH G Principal component analysis in sensory analysis: covariance or correlation matrix? *Food Quality and Preference*, 12(5-7): 323-326. 2001.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Câmara Setorial da Cadeia Produtiva de Leite e Derivados. O Setor Produtivo de Leite e Derivados. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso: 12/6/2008.
- _____. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Diário Oficial da União de 14/12/2006, Seção 1, Página 8. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. 2006.
- _____. Instrução Normativa nº. 16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea. Diário Oficial da União, Seção 1. Brasília nº 163, p.7-10, 24 de agosto de 2005.
- _____. Instrução Normativa no. 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União, Seção 1. Brasília, p. 14, 18 de setembro de 2003.

_____, MINISTÉRIO DO PLANEJAMENTO, ORÇAMENTO E GESTÃO. IBGE. SÉRIES ESTATÍSTICAS E SÉRIES HISTÓRICAS – IBGE. (2010). Disponível: http://www.ibge.gov.br/series_estatisticas/exibedados.php?idnivel=BR&idserie=AGRO73. Acesso: 18 de maio de 2010.

_____, MINISTÉRIO DA SAÚDE, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). RESOLUÇÃO RDC 360 de 23/12/03. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. D.O.U de 26/12/2003.

_____, MINISTÉRIO DA SAÚDE, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). RESOLUÇÃO RDC 02 de 07/01/02. Regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedade funcional e/ou de saúde. Ministério da Saúde, D.O.U. de 09/01/2002.

_____. RESOLUÇÃO RDC 12 de 02/01/01. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Ministério da Saúde, D.O.U. de 10/ 01/2001, Seção1.

BRUIN, S., JONGEN, Th.R.G. Food Process Engineering: The Last 25 Years and Challenges Ahead. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. v. 2, 2003.

CALADO, V.M.A., MONTGOMERY, D. Planejamento de Experimentos usando o Statistica. 260 p. Rio de Janeiro. e-papers Serviços Editoriais Ltda. 2003.

CAMPOS, F.P.; DOSUALDO, G.L.; CRISTIANINI, M. Utilização da Tecnologia de Alta Pressão no Processamento de Alimentos. *Brazilian Journal of Food Technology*, v.6, n.2, p.351-357, jul/dez. 2003.

CHEFTEL J.C., DUMAY E. Effects of high pressure on dairy proteins: a review, in: Hayashi R., Balny C., (Eds.), *High Pressure Bioscience and Biotechnology*, Elsevier Science B.V., Amsterdam, Netherlands, 1996, pp. 299–308.

CLARE, D. A., BANG, W. S., CARTWRIGHT, G., DRAKE, M. A., CORONEL, P. & J. SIMUNOVIC. Comparison of sensory, microbiological, and biochemical parameters of microwave versus indirect UHT fluid milk during storage. *Journal of Dairy Science*, 88, 4172–4182. 2005.

- DAVE, R. I., & SHAH, N. P. Evaluation of Media for Selective Enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, and bifidobacteria. *Journal of Dairy Science*, 79, 1529-1536. 1996.
- DESRUMAUX, P., MARCAND, J. Formation of sunflower oil emulsions stabilized by whey proteins with high-pressure homogenization (up to 350 MPa): effect of pressure on emulsion characteristics. *International Journal of Food Science and Technology* 37, pp. 263–269. 2002.
- EMBRAPA GADO DE LEITE. 2007. Agência de Informação. Árvore Hiperbólica. Tendência do Mercado de Leite. Zocc, R., Gomes, A.T. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01.html>. Acesso: 14/06/2008.
- FISCHER, P.; POLLARD, M.; ERNI, P.; MARTI, I; PADAR, S. Complex and biofluids/Fluides complexes et biologiques. Rheological approaches to food systems. C. R. Physique, v. 10. p. 740–750 743. 2009.
- FIZZ. Sensory Analysis and Consumer Tests Management Software. Couternon: Biosystemes. 2005.
- FLOURY, J., LEGRAND, J. & DESRUMAUX, A. Analysis of a new type of high pressure homogenizer. Part B. study of droplet break-up and re-coalescence phenomena. *Chemical Engineering Science*, 59, 1285–1294. 2004.
- FLOURY, J., DESRUMAUX, A. & LARDIERES, J. Effect of high-pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1, 127–134. 2000.
- FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. Microbiologia de Alimentos. (p182). Ed. Atheneu. São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte, Brasil. 2001.
- GARCIA-RISCO M.R., A. OLANO, M. RAMOS AND R. LOPEZ-FANDINO. Micellar changes induced by high pressure. influence in the proteolytic activity and organoleptic properties of milk. *Journal of Dairy Science*, Vol 83, Issue 10 2184-2189, 2000.
- GRÁCIA-JULIÁ, A., RENÉ, M., CORTÉS-MUÑOZ, M., PICART, L., LÓPEZ-PEDEMONTE, T., CHEVALIER, D. & DUMAY, E. Effect of dynamic high pressure

on whey protein aggregation: A comparison with the effect of continuous short-time thermal treatments. *Food Hydrocolloids*, 22, 1014–1032. 2008.

GRANATO, D.; BRANCO, G.F.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F.; SHAH, N.P. Probiotic Dairy Products as Functional Foods Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, v. 9, 2010. Institute of Food Technologists doi: 10.1111/j.1541-4337.2010.00120.x.

GRATÃO, A.C.A.; BERTO, M.I., SILVEIRA JUNIOR, V. Reologia do Açúcar Líquido Invertido: influência da temperatura na viscosidade. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 24(4): 652-656, out.-dez. 2004.

HARTE, F.L., CLARK, S. & BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Yield stress for initial firmness determination on yogurt. *Journal of Food Engineering*, 80, 990–995. 2007.

HARTE F, L., SWANSON, B., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Low-fat set yogurt made from milk subjected to combinations of high hydrostatic pressure and thermal processing. *Journal of Dairy Science*, 86:1074-1082. 2003.

HAYES, M.G. & KELLY, A.L. High pressure homogenization of raw whole milk (a) effects on fat globule size and other properties. *Journal of Dairy Research*, 70, 297–305. 2003.

HOUGH, G. Workshop summary: Sensory shelf-life testing. Introduction Abstracts. *Food Quality and Preference*. 17. 640–645, 2006.

HUPPERTZ, T., SMIDDY, M.A., UPADHYAY, V.K., KELLY, A.L. 2006. High-pressure induced changes in bovine milk: a review. *International Journal of Dairy Technology*, v.59. n. 2. maio. 2006.

IDF/ISO/AOAC GROUP E-104. Detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus*. Bulletin of the International Dairy Federation 306:23-33, 1995.

JOHNSTON D.E., AUSTIN, B.A., MURPHY, R.J. Effects of High Hydrostatic Pressure On Milk. *Milchwissenschaft*, 47(12):760-763. 1992.

KEENAN, T.W., MOON, T.W., DYLEWSKI, D.P. Lipid globules retain globule membrane material after homogenization. *Journal of Dairy Science*, 66, pp. 196–203. 1983.

- KNORR, D., HEINZ, V., BUCKOW, R. High pressure application for food biopolymers. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1764. 619–631. 2006.
- KNUDSEN, J.C.; KARLSSON, A.O.; IPSEN, R.; SKIBSTED, L.H. Rheology of stirred acidified skim milk gels with different particle interactions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical Eng. Aspects*, 274, 56–61. 2006.
- KRISTO, E., BILIADERISB, C.G., TZANETAKIS, N. Modelling of the acidification process and rheological properties of milk fermented with a yogurt starter culture using response surface methodology. *Food Chemistry*, 83. 437–446. 2003.
- LABOISSIÈRE, L.H.E.S., DELIZA, R., BARROS-MARCELLINI, A.M., ROSENTHAL, A., CAMARGO, L.M.A.Q., JUNQUEIRA, R.G. Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on sensory characteristics of yellow passion fruit juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8. 469-477. 2007.
- LANCIOTTI, R., VANNINI, L., PITTI, P., GUERZONI, M.E. Suitability of high-dynamic-pressure-treated milk for the production of yoghurt. *Food Microbiology*, 21. 753–760. 2004.
- LANCIOTTI, R.; SINIGAGLIA, M.; ANGELINI, P. & GUERZONI, M.E. Effects of homogenization pressure on the survival and growth of some food spoilage and pathogenic microorganisms. *Letters Appl. Microbiology*, v. 32. p. 318-322. 1994.
- LILLY DM, STILLWELL RH. Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. *Science*.147:747-8. 1965.
- LOPEZ-FANDIÑO, R. High pressure-induced changes in milk proteins and possible applications in dairy technology. *International Dairy Journal*, 16, 1119–1130. 2006.
- LOPEZ-FANDIÑO, R. DE LA FUENTE, M.G., RAMOS, M. E OLANO. A. Distribution of minerales and proteins between the soluble and colloidal phases of pressurized milks from different species. *Journal of Dairy Research*, 65, p.69-78. 1996.
- LUCEY, J.A. Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. *International Journal of Dairy Technology*, v. 57, (2-3), p. 77–84. 2004.

- LUCEY J.A., TAMEHANA M., SINGH H., MUNRO, P.A. Effect of interactions between denatured whey proteins and casein micelles on the formation and rheological properties of acid skim milk gels, *Journal of Dairy Research*, 65, 555–567. 1998.
- LUCEY J.A., TEO C.T., MUNRO P.A., SINGH H. Rheological properties of small (dynamic) and large (yield) deformations of acid gels made from heated milks, *Journal of Dairy Research*, 64, 591–600. 1997.
- MARCELLINI, P.S.; DELIZA, R.; BOLINI, H.M.A. Caracterização sensorial através do perfil livre de suco de abacaxi concentrado, reconstituído e adoçado com diferentes edulcorantes e sacarose. *Alimentos e Nutrição* (UNESP), v. 17, p. 143-150, 2006.
- McCRAE, H., HIRST, D. LAW, A.J.R., MUIR, D.D. Heat stability of homogenized milk: role of interfacial protein, *Journal of Dairy Research*, 61, pp. 507–516. 1994.
- MEILGAARD, M., CIVILLE, G.V. & CARR, B.T. Sensory Evaluation Techniques (pp. 354). 3rd edition. New York: Boca Raton, USA. 1999.
- MONTGOMERY, D.C., RUNGER, G.C., HUBELE, N.F. Estatística Aplicada à Engenharia (pp. 335). Segunda edição. LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S.A. 2004.
- NEEDS, E. C., CAPELLAS, M. BLAND, P., MANOJ, P., MACDOUGAL, D. B., GOPAL, P. Comparison of heat and pressure treatments of skimmed milk, fortified with whey protein concentrate, for ser yogurt preparation: effects on milk proteins and gel structure. *Journal of Dairy Research*, 67:329-348. 2000a.
- NEEDS, E.C., STENNING, R.A., GILL, A.L., FERRAGUT, V., RICH, G.T. High-pressure treatment of milk: effects on casein micelle structure and on enzymatic coagulation, *Journal of Dairy Research* 67 (2000), pp. 31–42. 2000b.
- NORONHA, R.L.F., DELIZA, R., SILVA, M.A.A.P. A Expectativa do Consumidor e seus Efeitos na Avaliação Sensorial e Aceitação de Produtos Alimentícios. *Alimentação & Nutrição*, Araraquara v.16, n.3, p. 299-308, jul./set. 2005.
- O’KENNEDY B.T., KELLY P.M. Evaluation of milk protein interactions during acid gelation using simulated yoghurt model, *Milchwissenschaft* 55 187–190. 2000.

- ORDÓÑEZ PEREDA, J.A. (organizado por). *Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origen Animal*. (pp. 279) v 2. Artmed Editora. Traduzido por Fátima Murad. Porto Alegre. 2005.
- PAQUIN, P., LACASSE, J., SUBIRADE, M. & TURGEON, S. Continuous process of dynamic high-pressure homogenization for the denaturing of proteins. US Patent 6, 511–695. 2003.
- PAQUIN, P. Technological properties of high pressure homogenizers: the effect of fat globules, milk proteins, and polysaccharides, *International Dairy Journal* 9, pp. 319–335, 1999.
- PATOCKA, G.; CERVENKOVA, R.; NARINE, S. JELEN, P. Rheological behaviour of dairy products as affected by soluble whey protein isolate. *International Dairy Journal*, 16, 399–405. 2006.
- PENNA, A.L.B., SUBBARAO-GURRAM, BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. High hydrostatic pressure processing on microstructure of probiotic low-fat yogurt. *Food Research International*, 40, 510–519. 2007.
- PEREDA, J., FERRAGUT, V., QUEVEDO, J.M., GUAMIS, B. & TRUJILLO, A. Heat damage evaluation in ultra-high pressure homogenized milk. *Food Hydrocolloids* 23 1974–1979. 2009.
- PEREDA, J., FERRAGUT, V., QUEVEDO, J.M., GUAMIS, B. & TRUJILLO, A. Effects of ultra-high pressure homogenization on microbial and physicochemical shelf life of milk. *Journal of Dairy Science*, 90, 1081–1093. 2007.
- PERI, C. The universe of food quality. *Food Quality and Preference*. 17. 3–8. 2006.
- PINHO, C.R.G. Processamento de leite através da tecnologia de homogeneização a ultra-alta pressão (HUAP). Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 2006.
- POPPER, L. & KNORR, D. Application of high-pressure homogenization for food preservation. *Food Technology*, july. p. 84-89. 1990.

- RAO, M.A. Rheology of fluid and semisolid foods: principles and applications (pp. 471). Second edition. Food Engineering Series. Springer. New York, USA. 2007.
- ROACH, A., HARTE, F. Disruption and sedimentation of casein micelles and casein micelle isolates under high-pressure homogenization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 9, 1–8. 2008.
- RODRIGUES, M.I., IEMMA, A.F. Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos. Uma estratégia sequencial de planejamentos (pp. 326). Casa do Pão Editora. 1ª edição. Campinas, SP, Brasil. 2005.
- RUAS-MADIEDO, P., HUGENHOLTZ, J., ZOON, P.. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acidbacteria. *International Dairy Journal* 12. 164–171, 2002.
- SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 42, n. 1, jan/mar. 2006.
- SAINT-EVE, A., KORA, E.P., MARTIN, N. Impact of the olfactory quality and chemical complexity of the flavouring agent on the texture of low fat stirred yogurts assessed by three different sensory methodologies. *Food Quality and Preference*, 15, 655–668. 2004.
- SANDRA, S., DALGLEISH, D.G. Effects of ultra-high-pressure homogenization and heating on structural properties of casein micelles in reconstituted skim milk powder. *International Dairy Journal*, 15, 1095–1104. 2005.
- SERRA, M., TRUJILLO, A.J., GUAMIS, B., FERRAGUT, V. Evaluation of physical properties during storage of set and stirred yogurts made from ultra-high pressure homogenization-treated milk. *Food Hydrocolloids*, 23, 82–91. 2009.
- SERRA, M., TRUJILLO, A.J., QUEVEDO, J.M., GUAMIS, B. & FERRAGUT, V. Acid coagulation properties and suitability for yogurt production of cows' milk treated by high-pressure homogenization. *International Dairy Journal*, 17, 782–790. 2007.
- SHARMA, S.K., DALGLEISH, D.G. Effect of heat treatments on the incorporation of milk serum proteins into the fat globule membrane of homogenized milk, *Journal of Dairy Research*, 61, pp. 375–384, 1994.

- SINDHU SC, KHETARPAUL N. Effect of feeding probiotic fermented indigenous food mixture on serum cholesterol levels in mice. *Nutrition Research*, 23:1071–1080. 2003.
- SLOAN, A. E. Top 10 global food trends. *Food Technology*, 59(4), 20–32. 2005.
- STEFFE, J.F. Rheological Methods in Food Process Engineering (pp. 428). Second Edition. Freeman Press. USA. 1996.
- STONE, H.; SIDEL, J. Sensory evaluation practices. (pp. 365). 3rd edition. Food Science and Technology, International series. Academic Press: New York. 2004.
- SUZUKI, A. High pressure processed foods in Japan and the world. In: Progress in Biotechnology 19 - Trends in High Pressure Bioscience and Biotechnology. R. Hayashi Ed. Elsevier Science B. V. Amsterdam. The Netherlands. 2002.
- TABILO-MUNIZAGA, G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Rheology for the food industry. *Journal of Food Engineering*, 67, 147–156. 2005.
- TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS – TACO Versão 2 (pp. 105). Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação - Universidade Estadual de Campinas – NEPA - UNICAMP, 2006.
- TADINI, C.C.; COLLET, L.S.F.C.A. Avaliação da tixotropia de iogurte batido adicionado de caseinato de sódio. In: XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2002, Porto Alegre, RS. Anais do XVIII CBCTA. Porto Alegre: SBCTA, p. 2925-2928. 2002.
- TAMIME, A.Y., ROBINSON, R.K. Yoghurt: science and technology, 2nd edition. CRC Press LLC, Boca Raton, FL. 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, 26(3), 589–595. 2006.
- THIEBAUD, M., DUMAY, E., PICART, L., GUIRAUD, J.P., CHEFTEL, J.C. High-pressure homogenization of raw bovine milk. Effects on fat globule size distribution and microbial inactivation. *International Dairy Journal*, 13, pp. 427–439. 2003.

- TORRE, L LA; TAMIME, A Y; MUIR, D D. Rheology and sensory profiling of set-type fermented milks made with different commercial probiotic and yoghurt starter cultures. *International Journal of Dairy Technology*, v. 56, n 3, p. 163-170. 2003.
- TRUJILLO, A.J., CAPELLAS, M., SALDO, J., GERVILLA, R., GUAMIS, B. Applications of high hydrostaatic pressure on milk and dairy products: a review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3:295-307. 2002.
- TUNICK, M.H. Symposium: Dairy Products Rheology. Rheology of Dairy Foods Gel, Stretch and Fracture. *Journal of Dairy Science*, 83, 1892–1898. 2000.
- VACHON, J.F.; KHEADR, E.E.; GIASSON, J.; PAQUIN, P. & FLISS, I. Inactivation of foodborne pathogens in milk using dynamic high pressure. *Journal of Food Protection*, v.65, n.2, p. 345-352. 2002.
- van den BERG, L., van VLIETA, T., van der LINDEN, EVAN BOEKEL, M.A.J.S., van den VELDE, F. Serum release: The hidden quality in fracturing composites. *Food Hydrocolloids*, 21, 420–432. 2007.
- van MARLE, M.E. Steady-shear viscosity of stirred yogurts with varying ropiness. *Journal of Rheology*, 43-6, nov/dec. 1999.
- van VLIET, T.; WALSTRA, P. Relationship between viscosity and fat content of milk and cream. *Journal of Texture Studies*, 11, 65-68. 1980.
- VIDAL, J.R.M.B., PELEGRINE, D.H., GASPARETTO, C.A. Efeito da temperatura no comportamento reológico da polpa de manga (mangífera indica l-keitt). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 23(Supl): 166-171. 2003.
- VINDEROLA, C.G., COSTA, G.A., REGENHARDT, S., REINHEIMER, J.A. Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 12, 579–589, 2002.
- WALSH-O'GRADY, C.D., O'KENNEDY, B.T., FITZGERALDB, R.J., LANE, C.N. A rheological study of acid-set “simulated yogurt milk” gels prepared from heat- or pressure-treatedmilk proteins. *Lait*. 81. 637 – 650. 2001.

WALSTRA, P. & JENNESS, R. Rheological properties. Pages 290–300 in *Dairy Chemistry and Physics*. John Wiley and Sons, New York, NY. 1984.

WALSTRA, P. The effect of homogenization on milk plasma, *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 34 pp. 181–190. 1980.

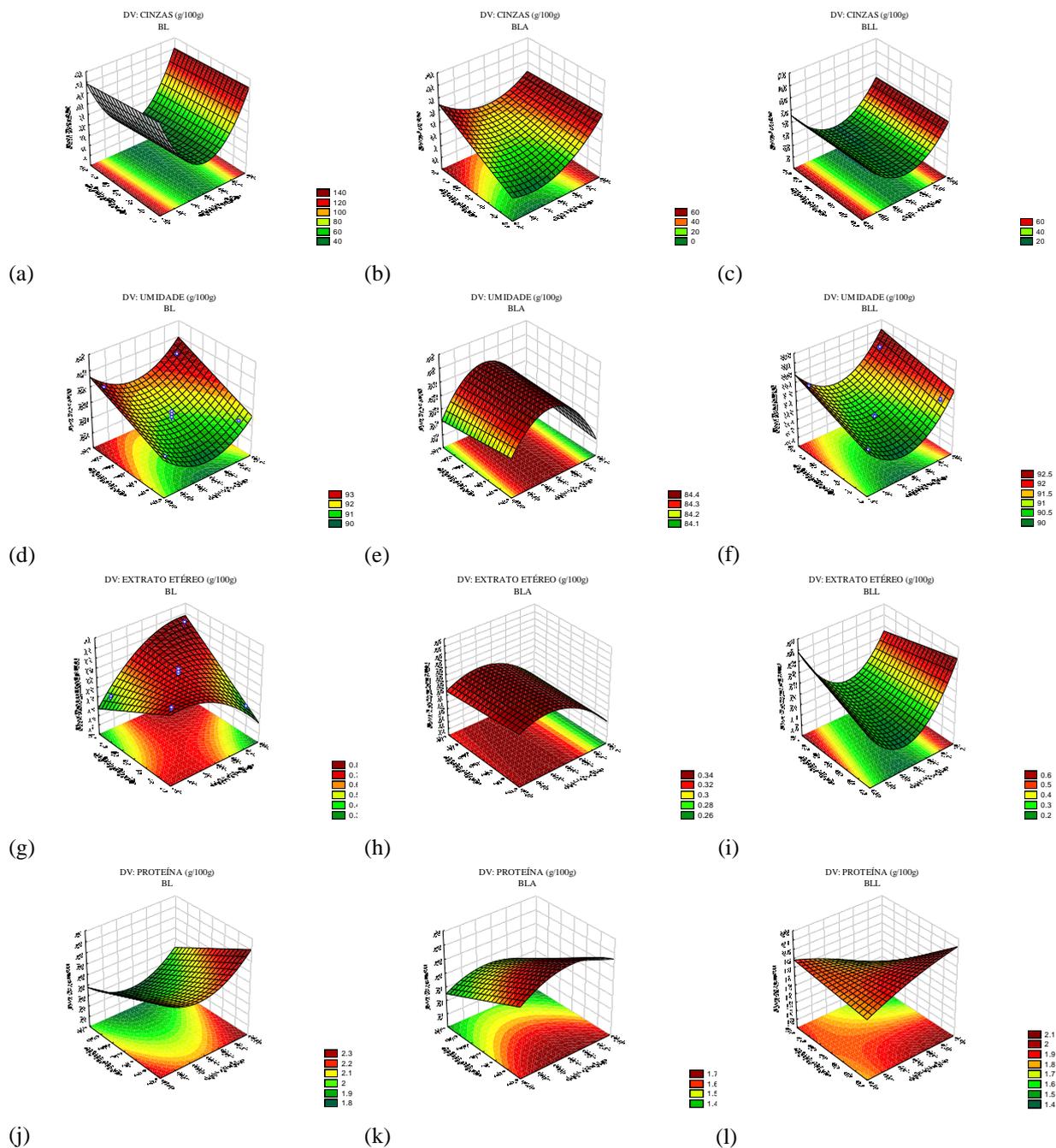
WOLFSCHOON-POMBO, A.F.; GRANZINOLLI, G.G.M.; FERNANDES, R.M. Sólidos totais do leite, acidez, pH e viscosidade do iogurte. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v. 227, n. 37, p.19-24. 1983.

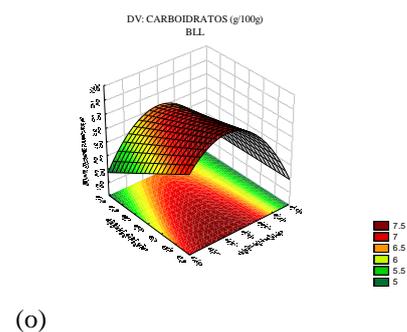
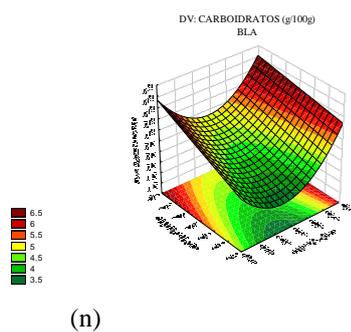
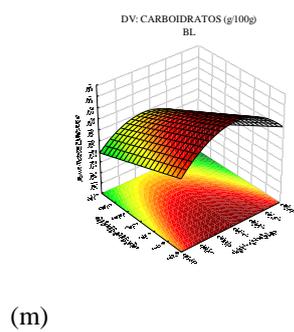
WUYTACK, E.Y.; DIELS, A.M.J. & MICHELS, C.W. Bacterial inactivation by high-pressure homogenization and high hydrostatic pressure. *International Journal of Food Microbiology*, v.77, p. 205-212. 2002.

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, 24(4). 2004.

APÊNDICE 1

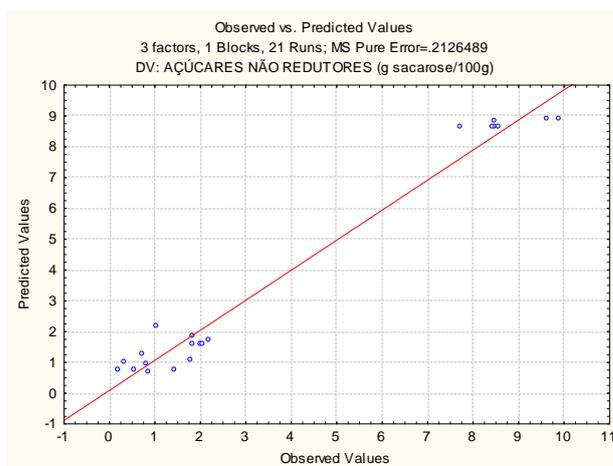
Superfícies de respostas para as variáveis dependentes constituintes da composição centesimal: cinzas, umidade, extrato etéreo, proteínas e carboidratos em função dos fatores nível de pressão e temperatura de entrada das bebidas lácteas fermentadas BL, BLA e BLL.



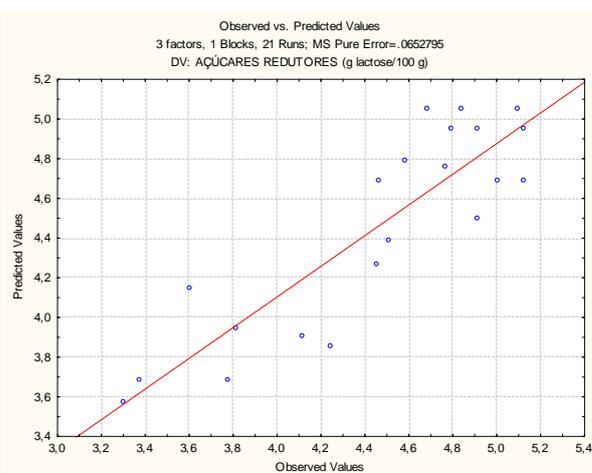


APÊNDICE 2

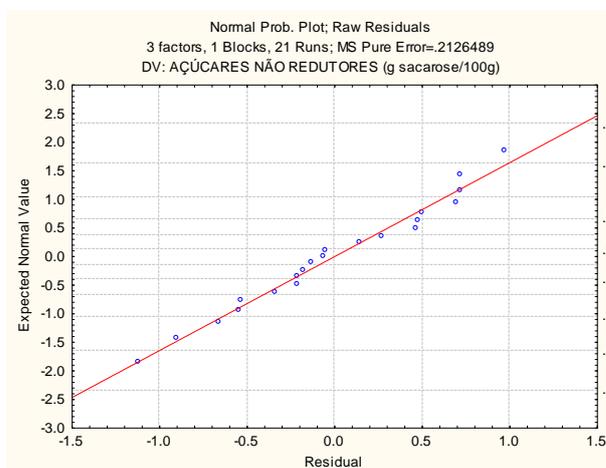
Os gráficos abaixo mostram a boa concordância entre os valores experimentais *versus* os previstos pelo modelo expressos em (a) e (b), enquanto, pode-se observar que os erros de ajustamento estão independentes e normalmente distribuídos em torno da reta, conforme apresentado em (c) e (d) para as variáveis dependentes açúcares não redutores, em sacarose, e açúcares redutores, em lactose, dos diferentes tipos de bebidas lácteas fermentadas obtidas a partir da base láctea (1) processada por HUAP₁.



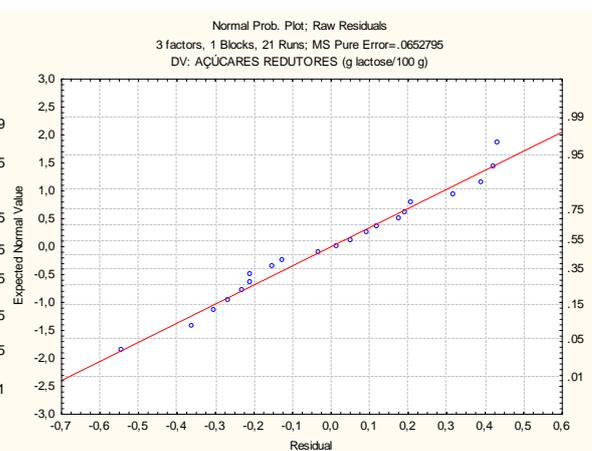
(a)



(b)



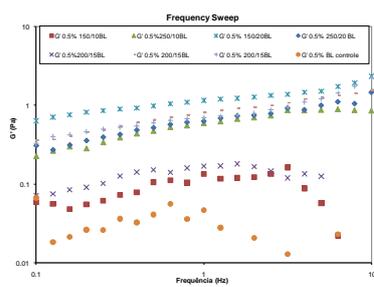
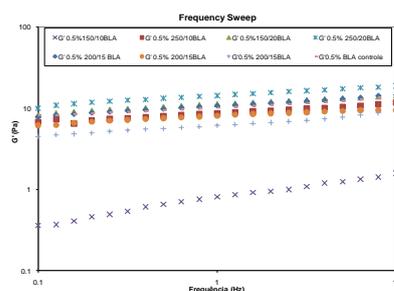
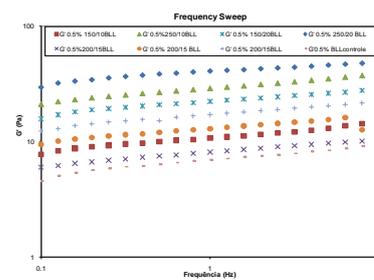
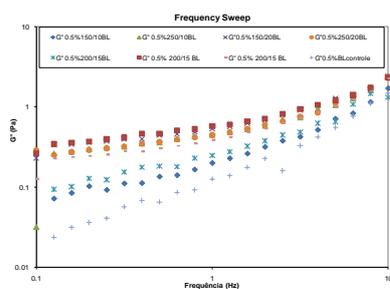
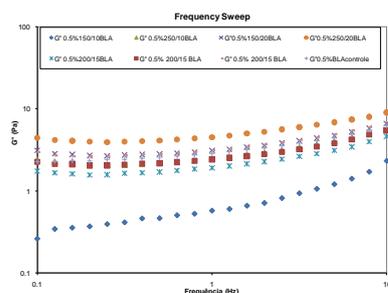
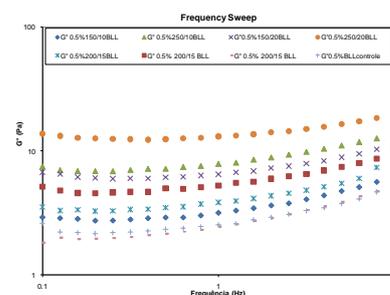
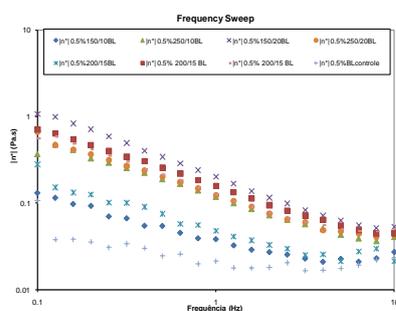
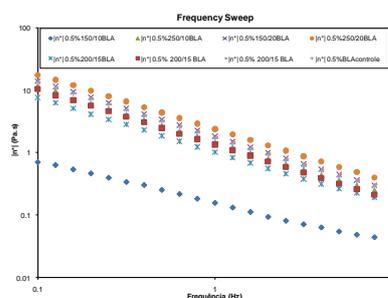
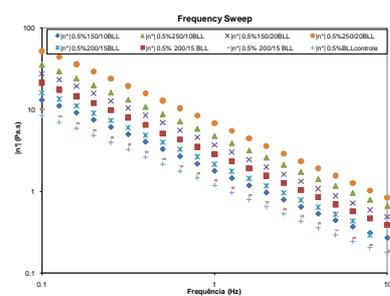
(c)



(d)

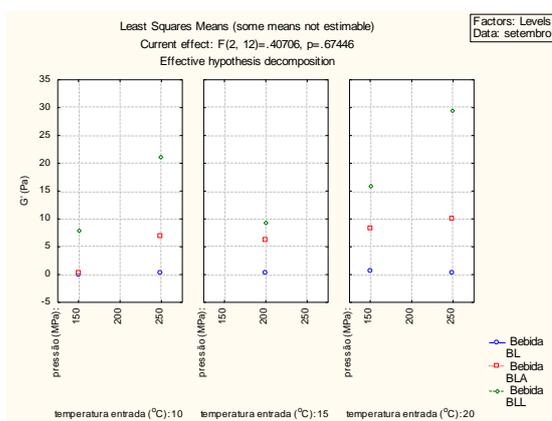
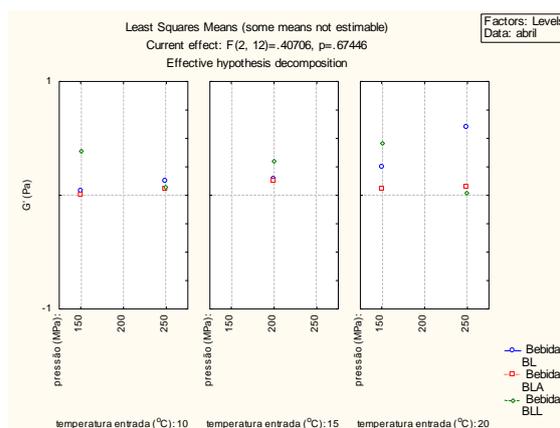
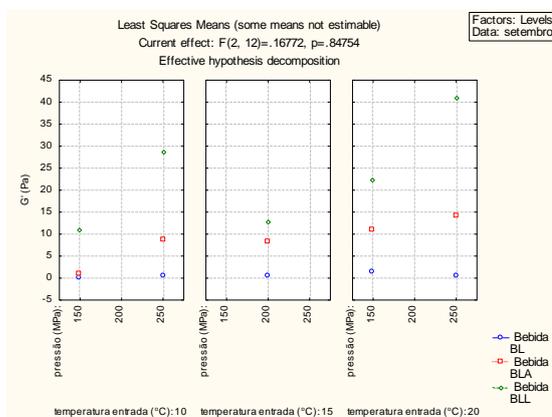
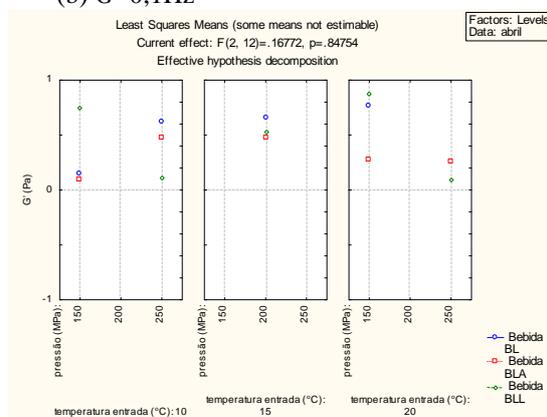
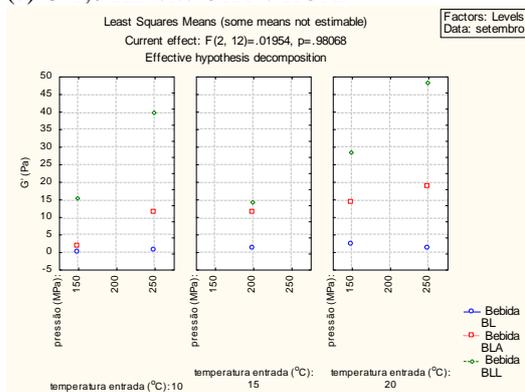
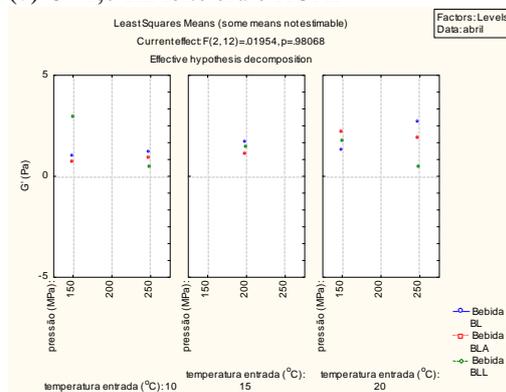
APÊNDICE 3

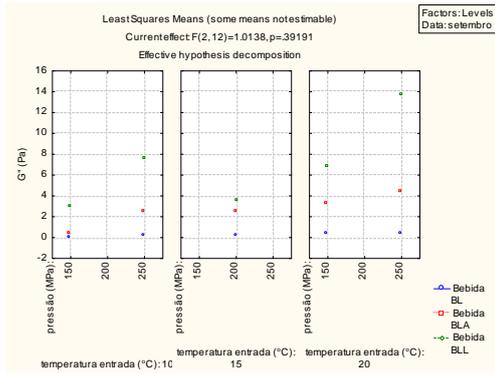
Curvas dos parâmetros reológicos (G' , G'' , $|\eta^*|$) analisados para todos os tipos de bebida (BL, BLA e BLL: amostras e controles) obtidos a partir da base láctea (2) (leite UHT desnatado: soro de leite reconstituído) submetida aos processos HUAP₂ e térmico (43 °C/ 60 s).

(a) G' (b) G' (c) G' (d) G'' (e) G'' (f) G'' (g) $|\eta^*|$ (h) $|\eta^*|$ (i) $|\eta^*|$

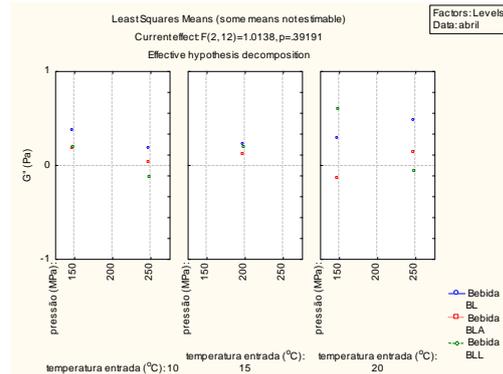
APÊNDICE 4

Módulo elástico (G') e viscoso (G'') *versus* nível de pressão e temperatura de entrada para as amostras: \square -BL= bebida láctea (leite UHT desnatado+ soro de elite reconstituído); \square -BLA= BL com polpa de abacaxi (30 mL/100 mL) e açúcar (7 g/100 mL); \square -BLL= BL com polpa de abacaxi (30 mL/100 mL) e aspartame (0,0388 g/100 mL) nas frequências 0,1 Hz: (a), (b), (g), (h); 1,0 Hz: (c), (d), (i), (j); 10 Hz: (e), (f), (l), (k).

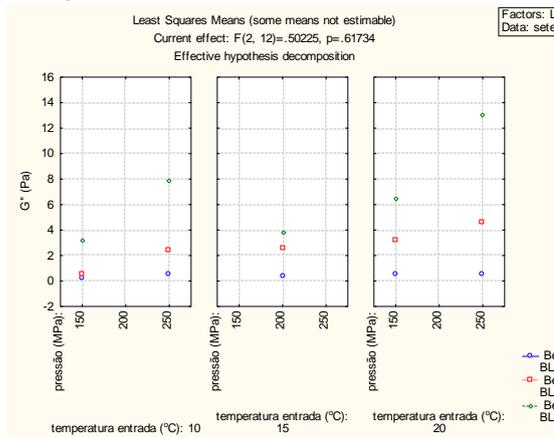
(a) G' 0,1 Hz(b) G' 0,1 Hz(c) G' 1,0 Hz leite UHT e HUAP(d) G'' 1,0 Hz leite cru e HUAP(e) G' e 10Hz(f) G' e 10Hz



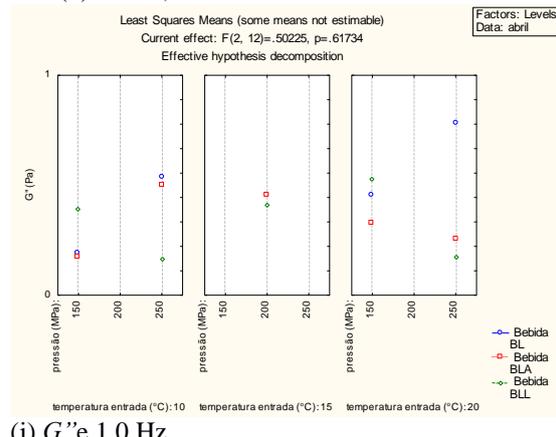
(g) G' e 0,1Hz



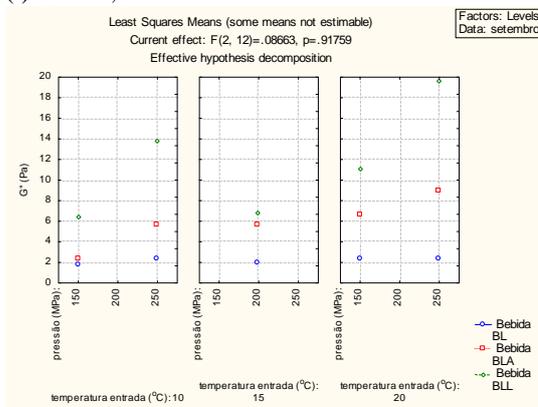
(h) G'' e 0,1Hz



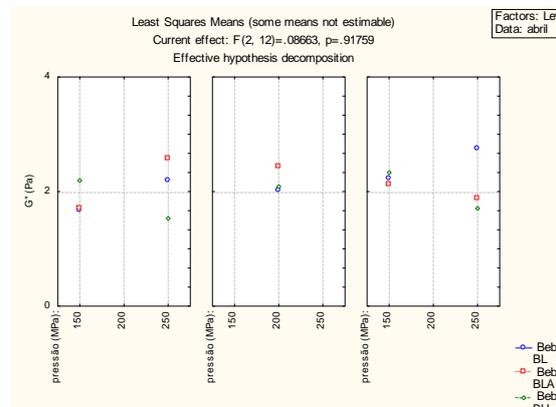
(i) G'' e 1,0 Hz



(j) G'' e 1,0 Hz



(k) G'' e 10 Hz



(l) G'' e 10 Hz

ANEXO

PROCESSO CIP DO SISTEMA DE ALTA PRESSÃO

Utilizar o seguinte procedimento para a montagem do equipamento para uso em sensorial ou processos sanitários.

1. B. Ao término do processo, abrir toda a válvula de pressão, aliviando-a e na seqüência, desligar a chave “CYCLE”.
2. B. Proceder a limpeza como segue:
 - Fechar a válvula de alimentação da amostra e conectar um bequer contendo 4 litros de água destilada às duas tubulações de entrada.
 - Abrir a válvula de purga do equipamento.
 - Conectar a mangueira de silicone do final do sistema no “Y” de descarte.
 - Ligar a chave “CYCLE” e abrir as válvulas de entrada.
 - Deixar drenar 4 litros de água destilada pela purga.
 - Fechar a válvula de purga.
 - Repetir o procedimento eluindo o sistema pela válvula de homogeneização. Passar 4 L ou até que a água na saída esteja completamente límpida.
 - Enquanto a água destilada percorre o sistema, trocar o bequer de amostra por uma Garrafa de 2 Litros contendo solução de hidróxido de sódio a 2%.
 - Circular direcionando a saída para o garrafão de soda por cinco minutos.
 - Abrir os pontos mortos (termopares e válvulas) até que a soda saia pela abertura
 - Desligar o motor e deixar repousar por 20 minutos, ou conforme necessidade para o tipo de produto usado.
 - Religar o sistema e descartar a soda da máquina.
 - Substituir o garrafão por um bequer contendo água destilada.
 - Eluir a soda até pH neutro.
 - Abrir os pontos mortos até que a soda seja totalmente eluida.
 - Após essa lavagem (com água em abundância), abrir a válvula de purga e, simultaneamente, abrir a válvula de alimentação do álcool e fechar a da água destilada.
 - Deixar o álcool percorrer o sistema de purga.

- Fechar a válvula de purga e deixar o álcool percorrer todo o sistema.
- Após metade da garrafa de álcool ser consumida, desligar a chave “CYCLE” e o botão vermelho do painel lateral, para que o equipamento desligue por completo e todo o sistema permaneça preenchido por álcool.
- Manter o sistema com álcool até o processamento.
- Caso o período de espera seja superior a cinco dias proceder o desmonte dos pistões e armazenamento a seco.
- Imediatamente antes do processamento proceder a sanitização do equipamento como segue:
 - Montar os pistões em caso de armazenamento a seco.
 - Preparar 2 litros de uma solução de ácido peracético a 0,05% e engatar na entrada de amostra, que deve estar posicionada no fluxo laminar em caso de trabalho em regime asséptico.
 - Iniciar o motor da máquina e posicionar a chave em cycle.
 - Esperar 1 minuto ou até a detecção da solução do peracético na saída do sistema.
 - Retornar a saída para o bequer de peracético.
 - Desligar o sistema e manter por um período de 20 minutos de contato.
 - Eluir o sistema com 1 litro de água destilada ou até pH neutro.