

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
Pró-Reitoria de Pesquisa e de Pós-Graduação  
Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu*  
Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos

DÓRIS DE OLIVEIRA GREGIANIN

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA MISTA DE SORO DE LEITE COM TEOR DE  
LACTOSE REDUZIDO E EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA

PONTA GROSSA

2014

DÓRIS DE OLIVEIRA GREGIANIN

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA MISTA DE SORO DE LEITE COM TEOR DE  
LACTOSE REDUZIDO E EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE SOJA

Dissertação de mestrado apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Prof. Dra. Ana Cláudia Barana

Co-Orientador: Prof. Dr. Daniel Granato

PONTA GROSSA

2014

**Ficha Catalográfica**  
**Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG**

G818 Gregianin, Dóris de Oliveira  
Desenvolvimento de bebida mista de soro de leite com teor de lactose reduzido e extrato hidrossolúvel de soja/ Dóris de Oliveira Gregianin. Ponta Grossa, 2014. 105 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Área de Concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Cláudia Barana.

Coorientador: Prof. Dr. Daniel Granato.

1.Soro doce. 2.Extrato aquoso de soja. 3.Carragena. 4.Pectina. 5.Amido de mandioca. I.Barana, Ana Cláudia. II. Granato, Daniel. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. IV. T.

CDD: 663.64

**TERMO DE APROVAÇÃO**

**DÓRIS DE OLIVEIRA GREGIANIN**

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA MISTA DE SORO DE LEITE COM  
TEOR DE LACTOSE REDUZIDO E EXTRATO HIDROSSOLÚVEL DE  
SOJA.**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientadora

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Cláudia Barana – UEPG

  
Prof. Dr. Daniel Granato – UEPG

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sabrina de Ávila Rodrigues – UTFPR

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Renata Dinnies Santos Salem – UEPG

Ponta Grossa, 28 de agosto de 2014.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a minha avó Onilda Ribeiro de Faria, que por anos se sacrificou para que eu pudesse ter a oportunidade de concluir um curso superior, requisito imprescindível para inclusão no curso mestrado.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, pela graça de alcançar o objetivo final.

À minha família, que sacrificou seu tempo ao meu favor, dedicando paciência, compreensão e amor em todas as fases do curso.

À Prof.<sup>a</sup> Dra. Ana Cláudia Barana e ao Prof. Dr. Daniel Granato, meus orientadores, que compartilharam todo seu conhecimento, amizade e compreensão.

Aos demais professores do curso.

Às alunas do curso de Engenharia de Alimentos, Alana Martins, Lis cristiane Ferreira Fabro e Martha Moreno Ortiz, que auxiliaram nas atividades de laboratório.

Às empresas Olvebra Industrial S/A, Queijo Trançado, CP Kelko, Danisco, Pasquini e DSM do Brasil, por fornecerem a matéria prima necessária para a produção das bebidas.

E, por fim às colegas de curso que em todos os momentos me incentivaram.

## RESUMO

O aumento da incidência de doenças cardiovasculares e diversos tipos de câncer tem sido a causa da procura por mudanças de hábitos em grande parte da população, buscando-se a prática de atividades físicas em conjunto com o consumo de alimentos mais saudáveis, com maior valor nutricional. Considerando o alto valor biológico das proteínas do soro de leite doce e o reconhecido efeito na diminuição de risco de doenças cardiovasculares da proteína de soja, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um achocolatado misto de extrato hidrossolúvel de soja dissolvido em soro de leite doce. As diferentes proporções dos estabilizantes carragena, pectina e amido de mandioca foram definidas pelo planejamento experimental de misturas simplex centróide. Através da otimização da Superfície de Resposta foi definida a melhor formulação em relação aos parâmetros físico-químicos e sensoriais. A otimização simultânea das variáveis de resposta indicou que a formulação ideal deveria conter 46% de carragena e 54% de pectina e 0% de amido, com um índice de desejabilidade de 0,929. A formulação indicada pela função de desejabilidade foi elaborada com extrato hidrossolúvel de soja dissolvido em soro de leite doce e; em soro doce com teor de lactose reduzido. O soro foi hidrolisado pela ação da enzima lactase proveniente da levedura *Kluyveromyces lactis*, na concentração de 2.500 NLU/L numa reação de 4 horas à temperatura de 37°C. Os atributos sensoriais foram avaliados pela escala hedônica de nove pontos e escala de atitude na intenção de compra. Para impressão global as formulações apresentaram valor médio 7,11  $\pm$ 1,09, enquanto que para intenção de compra o valor médio foi de 3,99  $\pm$ 1,28, sendo que os modelos de regressão múltipla mostraram-se preditivos. As formulações mais aceitas foram aquelas que apresentaram menor viscosidade instrumental e que continham pectina em sua constituição. Os resultados obtidos indicam que a combinação do soro doce de leite e extrato aquoso de soja é uma opção viável para a elaboração de uma bebida achocolatada. Também foi possível observar que o uso do amido de mandioca como espessante não interfere negativamente nas características reológicas e sensoriais do produto e; que a carragena e pectinas combinadas, nas concentrações definidas pelo modelo preditivo, garantem maior aceitabilidade ao produto.

**Palavras chaves:** soro doce, extrato aquoso de soja, carragena, pectina, amido de mandioca, lactose e hidrólise, teor de lactose reduzido, planejamento simplex centróide e otimização.

## ABSTRACT

The increased incidence of cardiovascular disease and various cancers have been the cause of searching for changing habits in a large portion of the population, seeking the physical activity in conjunction with the consumption of healthier foods with higher nutritional content. Considering the high biological value of the proteins of sweet whey and the recognized effect in reducing risk of cardiovascular disease of soy protein, the aim of this study was to develop a mixed chocolate-soluble soybean extract dissolved in sweet whey. The different proportions of carrageenan stabilizers, pectin and tapioca starch were defined by the experimental design of mixtures simplex centroid. By optimizing the response surface was definitely the best formulation in relation to the physic-chemical and sensory parameters. The simultaneous optimization of response variables indicated that the optimal formulation should contain 46% carrageenan and 54% pectin and 0% starch, with a desirability index of 0.929. The formulation indicated for the desirability function was made with water soluble soy extract dissolved in sweet whey and; on sweet whey with reduced lactose content. Serum was hydrolyzed by the action of lactase from *Kluyveromyces lactis* yeast enzyme at a concentration of 2500 NLU / L in reaction 4 hr at 37 ° C. The sensory attributes were evaluated by nine points hedonic scale and attitude scale in purchase intent. For overall impression, the formulations presented average value of  $7.11 \pm 1.09$ , while purchase intent the average value was  $3.99 \pm 1.28$ , and the multiple regression models proved to be predictive. The most widely accepted formulations were those who had lower viscosity and instrumental containing pectin in its constitution. The results obtained indicate that the combination of sweet whey and soy aqueous extract is a viable option for the preparation of a chocolate beverage. It was also observed that the use of cassava starch as a thickener does not interfere negatively on the rheological and sensory characteristics and; that the combined carrageenan and pectin concentrations defined predictive model ensures greater acceptability of the product.

**Key words:** sweet whey, soy aqueous extract, carrageenan, pectin, tapioca starch, and lactose hydrolysis, reduced lactose content, planning and optimization simplex centroid.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	– Valor nutricional das proteínas do soro: (A) valor biológico, (B) aminoácidos essenciais e (C) aminoácidos sulfurados.....	19
FIGURA 2	– Diagrama de emulsões alimentares: (a) emulsão de óleo em água e (b) emulsão de água em óleo.....	27
FIGURA 3	– Processos físico-químicos envolvidos na formação de emulsões.....	29
FIGURA 4	– Comportamento reológico de fluídos não newtonianos independentes do tempo.....	33
FIGURA 5	– Viscosidade aparente de fluidos independentes do tempo..	34
FIGURA 6	– Etapas de elaboração das formulações.....	55
FIGURA 7	– Visualização dos pontos determinados pelo planejamento simplex centróide.....	56
FIGURA 8	–Superfície de Resposta obtida pelo modelo experimental para Impressão Global (8A) e intenção de compra (8B).....	67
FIGURA 9	–Perfil de Valores Previstos e Desejáveis para o modelo experimental.....	68
FIGURA 10	– Etapas de elaboração das formulações.....	81
FIGURA 11	– Reação de Hidrólise da Lactose: método enzimático .....	85
FIGURA 12	–Gráfico da reação de hidrólise da lactose: Variação da porcentagem de Hidrólise.....	86
FIGURA 13	– ACP (Análise de Componentes Principais): Reação de hidrólise da lactose.....	87

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1	– Escore de aminoácidos essenciais (EAE) calculados com base no padrão de referência da FAO/WHO.....	20
TABELA 2	– Condições de operação da lactase produzida por diferentes micro-organismos na hidrólise da lactose.....	24
TABELA 3	– Ingredientes utilizados nas formulações, em 100 mL de soro.....	54
TABELA 4	– Planejamento experimental usado no desenvolvimento da bebida mista de soro e soja.....	56
TABELA 5	– Caracterização físico-química das formulações.....	61
TABELA 6	– Caracterização reológica das formulações.....	62
TABELA 7	– Resultado da avaliação sensorial das formulações.....	64
TABELA 8	– Coeficiente de regressão, erro padrão, limite de confiança e significância dos modelos de regressão gerados.....	66
TABELA 9	– Ingredientes utilizados na formulação otimizada.....	80
TABELA 10	– Resultados da hidrólise do soro doce pelo método ezimático.....	84
TABELA 11	– Caracterização do soro doce com lactose (SL) e soro doce com teor de lactose reduzido (SLR).....	88
TABELA 12	– Caracterização físico-química das bebidas BL e BLR.....	89
TABELA 13	– Caracterização reológica das bebidas: BL (com soro com lactose) e BLR (com soro com teor de lactose reduzido).....	89
TABELA 14	– Resultado da avaliação sensorial das bebidas: BL (com soro com lactose) e BLR (com soro com teor de lactose reduzido).....	90

## ABREVIações E SIGLAS

ACP	Análise de Componentes Principais
A <sub>1</sub> -A <sub>6</sub>	Ensaio da concentração de 500 NLU/L da primeira à sexta hora
AR	Açúcar Redutor
ART	Açúcar Redutor Total
BL	Bebida produzida com soro com lactose
BLR	Bebida produzida com soro com teor de lactose reduzido
B <sub>1</sub> -B <sub>6</sub>	Ensaio da concentração de 1.000 NLU/L da primeira à sexta hora
C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Ensaio da concentração de 1.500 NLU/L da primeira à sexta hora
D	Coefficiente de desejabilidade
D <sub>1</sub> -D <sub>6</sub>	Ensaio da concentração de 2.000 NLU/L da primeira à sexta hora
E <sub>1</sub> -E <sub>6</sub>	Ensaio da concentração de 2.500 NLU/L da primeira à sexta hora
MSR	Metodologia de Superfície de Resposta
NLU/L	Unidades de Lactase Neutra por Litro
P-VALOR	Valor de probabilidade de significância
PC <sub>1</sub>	Componente Principal da abscissa
PC <sub>2</sub>	Componente Principal da ordenada
R <sup>2</sup>	Coefficientes de determinação do modelo
R <sup>2</sup> <sub>ajus</sub>	Coefficiente de determinação ajustado do modelo
SL	Soro doce com lactose
SLR	Soro doce com teor de lactose reduzido
SS	Sólidos Solúveis
X <sub>1</sub>	Carragena

$X_2$  Pectina

$X_3$  Amido

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>16</b>
<b>CAPITULO I: REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>17</b>
<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>18</b>
1.1 SORO: PROPRIEDADES E APLICAÇÕES.....	18
1.1.1 Lactose.....	22
1.2 SOJA: PROPRIEDADES E APLICAÇÕES.....	24
1.3 BEBIDA MISTA.....	26
1.4 FORMAÇÃO DE EMULSÕES EM ALIMENTOS.....	27
1.5 AGENTES ESTABILIZANTES.....	29
1.6 REOLOGIA NOS ALIMENTOS.....	31
1.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
1.8 ANÁLISE SENSORIAL.....	37
<b>2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>38</b>
<b>CAPÍTULO II: Desenvolvimento e otimização das características sensoriais, físico-químicas e reológicas de um achocolatado misto de soro de leite doce e extrato aquoso de soja.....</b>	<b>48</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>49</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>50</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>51</b>
<b>2 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>53</b>
2.1 Materiais.....	53

2.2 Métodos.....	53
2.2.1 Preparo da bebida.....	54
2.2.2 Planejamento Experimental.....	55
2.2.3 Análises Físico-Químicas e Reológicas.....	57
2.2.4 Análises Microbiológicas.....	57
2.2.5 Análise Sensorial.....	57
2.2.6 Análise Estatística .....	58
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>59</b>
3.1 Caracterização das formulações.....	59
3.2 Análise Sensorial.....	63
3.3 Análise de Regressão Múltipla.....	65
3.4 Otimização.....	68
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>69</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>69</b>
<b>CAPITULO III: Achocolatado misto de extrato aquoso de soja e soro de leite com teor de lactose reduzido.....</b>	<b>74</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>75</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>76</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>77</b>
<b>2 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>78</b>
2.1 Materiais.....	78
2.2 Métodos.....	78
2.2.1 Hidrólise do soro doce.....	78

2.2.2 Caracterização do soro doce com lactose e com teor de lactose reduzido.....	79
2.2.3 Produção da bebida .....	79
2.2.4 Análises Físico-Químicas e Reológicas.....	81
2.2.5 Análise Sensorial.....	82
2.2.6 Análise Estatística .....	82
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>83</b>
3.1 Hidrólise da lactose do soro doce.....	83
3.2 Caracterização do soro doce com lactose e com teor de lactose reduzido.....	87
3.3 Caracterização das bebidas prontas.....	88
3.4 Análise Sensorial .....	90
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>91</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>91</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>94</b>
<b>REFERÊNCIAS GERAIS.....</b>	<b>95</b>

## INTRODUÇÃO

O aumento da incidência de doenças cardíacas e cancerígenas tem refletido em mudanças de hábitos em grande parte da população mundial. Além da prática de atividades físicas, o consumo de alimentos mais saudáveis, com maiores teores de nutrientes essenciais e menor quantidade de gorduras saturadas têm sido preferido quando comparados aos que não apresentam nenhum tipo de apelo nutricional.

Além da preocupação com a alimentação, é preciso também cuidar da qualidade do ambiente em que se vive e garantir hábitos saudáveis, reduzindo as atividades geradoras de resíduos poluidores e minimizando seus efeitos. Na indústria, o soro de leite, derivado principalmente do processamento de queijos, é um efluente das indústrias de laticínios. Devido à sua alta carga orgânica proveniente dos carboidratos e proteínas que ficam retidos após a coagulação, podem causar sérios riscos ambientais, como depleção da concentração de oxigênio, se lançado, sem o tratamento adequado, em corpos d'água.

Em contraste com o poder poluidor, o soro também pode ser altamente nutritivo quando usado pela indústria de alimentos. Tem em sua constituição aproximadamente 5% de lactose, 0,85% de proteínas com alto valor biológico, 0,53% de sais minerais e 0,36% de gordura. Assim, agregar valor a este subproduto aproveitando seu potencial nutricional na elaboração de bebidas e alimentos é uma das opções mais favoráveis. Se for seco, o produto pode ser utilizado em diferentes preparações na indústria de panificação, gelados comestíveis, sobremesas.

Outro componente utilizado na produção de bebidas é o extrato hidrossolúvel de soja, rico em proteínas, isoflavonóides e fatores antinutricionais. Seu alto valor nutricional garante o uso até mesmo como substituto do leite em indivíduos intolerantes à lactose. Entre os efeitos mais significativos à saúde estão a redução do colesterol total e lipoproteína de baixa densidade (LDL) e diminuição do risco de alguns tipos de câncer.

Na tentativa de minimizar os efeitos poluidores gerados pelo soro de leite e de desenvolver uma bebida completa em termos nutricionais, com as propriedades funcionais das proteínas do soro e da soja, propõe-se o desenvolvimento de um achocolatado misto de extrato hidrossolúvel de soja dissolvido em soro de leite. Para



avaliar a influência do amido, carragena e pectina nas propriedades físico-químicas, reológicas e sensoriais utilizou-se o planejamento experimental de misturas. Num segundo momento, procurou-se atender às expectativas de um público diferenciado, com intolerância à lactose, ou aqueles que desejam consumir produto com baixo teor desse dissacarídeo, produzindo-se uma nova formulação com soro de leite com teor de lactose reduzido.

## OBJETIVOS

### Objetivo Geral

Desenvolver um achocolatado misto de extrato hidrossolúvel de soja e soro de leite adicionado de uma mistura de carragena, pectina e amido de mandioca.

### Objetivos específicos

- Produzir um achocolatado misto de extrato hidrossolúvel de soja e soro de leite com diferentes concentrações de estabilizantes carragena, pectina e amido de mandioca;
- Avaliar a aceitação sensorial das formulações;
- Avaliar o efeito de cada estabilizante e suas interações nos atributos físico-químicos, reológicos e sensoriais dos produtos;
- Otimizar a formulação do achocolatado misto no intuito de melhorar suas propriedades sensoriais, físico-químicas e reológicas;
- Desenvolver e caracterizar achocolatado misto de extrato hidrossolúvel de soja e soro de leite com teor de lactose reduzido a partir da formulação otimizada;
- Avaliar a aceitabilidade sensorial do achocolatado misto de extrato hidrossolúvel de soja e soro de leite com teor de lactose reduzido.

## **CAPITULO I: Revisão de Literatura**

## 1. REVISÃO DE LITERATURA

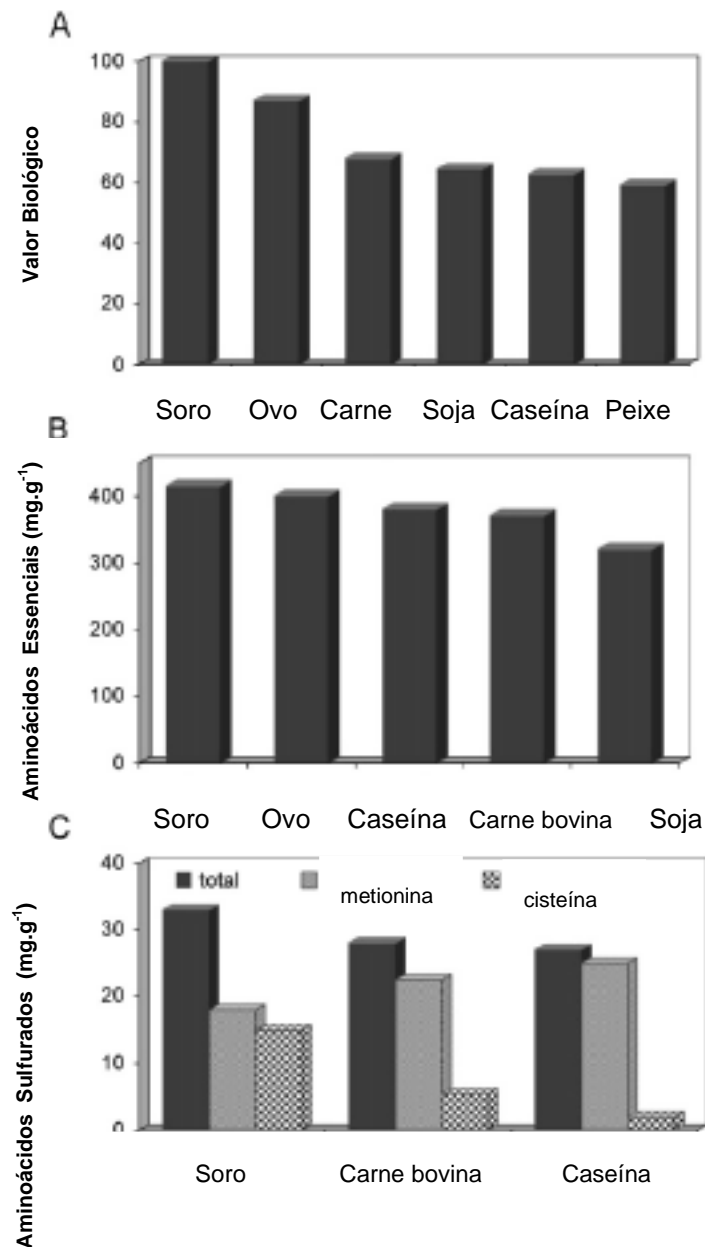
### 1.1 SORO: PROPRIEDADES E APLICAÇÕES

O soro de leite é um subproduto derivado do processamento de queijos, sorvetes, manteigas, iogurtes e outros produtos lácteos (PRAZERES et al., 2012; CARVALHO et al., 2013; PALAI; BHATTACHARYA, 2013). Há dois tipos de soro, o soro ácido, resultante da adição de ácido ou fermentação com pH abaixo de 5,0, e o soro doce, resultante da ação de enzimas, com pH que varia de 6,0 a 7,0 (GUIMARÃES, 2010; CARVALHO et al., 2013). A composição centesimal aproximada do soro líquido apresenta 5% de lactose, 93% de água, 0,85% de proteínas, 0,53% de sais minerais e 0,36% de gordura. Cerca de 50% dos constituintes sólidos do leite permanecem no soro após a coagulação e a lactose é responsável por 75% dos sólidos totais desse material (SMITHERS, 2008; PESCUA et al., 2010). Prazeres et al. (2012) citam que o teor de lactose no soro pode chegar a até 90% dos sólidos. A composição do soro varia com a origem do leite e o processo de fabricação pelo qual foi gerado, além de fatores relacionados com a dieta do animal e época do ano.

Cerca de 20% das proteínas do soro correspondem às proteínas totais do leite, dividindo-se em concentrações de  $\alpha$ -lactoalbumina,  $\beta$ -lactoglobulina, glicomacropéptídeos, imunoglobulinas e albumina do soro bovino (HARAGUCHI et al., 2006; KERASIOTI et al., 2013; ADJONU et al., 2014). O soro apresenta aminoácidos essenciais como isoleucina, leucina e valina, além de aminoácidos sulfurados como metionina e cisteína (SMITHERS, 2008; AGUILAR-NASCIMENTO et al., 2011; TAHAVORGAR et al., 2014). Adjonu et al. (2014) relatam que quando hidrolisadas em seus peptídeos, as proteínas do soro apresentam propriedades bioativas, pois os compostos mais facilmente absorvidos promovem benefícios à saúde humana. Madureira et al. (2010) relatam que estas podem atuar no sistema nervoso e cardiovascular diminuindo o risco de aparecimento de trombos, bem como no sistema imunológico e digestório.

Comparando-se o valor biológico das proteínas do soro de leite com aqueles encontrados em outras fontes alimentares, como carne bovina, ovos, soja, caseína e peixe, observou-se que o do soro excede as demais em torno de 15%. Sendo altamente eficientes na redução de incidência de tumores cancerígenos e doenças cardiovasculares, em tratamentos de infecções e atrofia muscular, no controle do peso (Figura 1) (SMITHERS, 2008).

**Figura 1-** Valor nutricional das proteínas do soro: (A) valor biológico, (B) aminoácidos essenciais e (C) aminoácidos sulfurados.



FONTE: adaptado de SMITHERS, 2008.

A proteína isolada de soro de leite apresenta excelente composição aminoácida, atendendo todas as recomendações para os aminoácidos essenciais com base no padrão da FAO/WHO (1990) para crianças na faixa etária de 2,5 a 5,0 anos (Tabela 1) (ZIEGLER, SGARBIERI; 2009).

**Tabela 1-** Escore de aminoácidos essenciais (EAE) calculados com base no padrão de referência da FAO/WHO.

Aminoácidos Essenciais (g/100g proteínas)	Padrão FAO/WHO	WPI*
Treonina	3,4	4,7
Metionina + Cisteína	2,5	5,6
Valina	3,5	4,8
Leucina	6,6	12,8
Isoleucina	2,8	5,0
Fenilalanina + Tirosina	6,3	6,8
Lisina	5,8	10,2
Histidina	1,9	2,0
Triptofano	1,1	2,8
EAE**	-	1,0

\*Whey protein concentrate: concentrado proteico de soro de leite bovino

\*\* EAE: escore de aminoácidos essenciais

**FONTE: adaptado de ZIEGLER; SGARBIERI, 2009.**

Devido à alta carga orgânica proveniente dos carboidratos (lactose) e proteínas que ficam retidos no soro após a coagulação, este produto quando descartado como efluente pode causar riscos ambientais, se despejado em corpos d'água sem o tratamento adequado (GUIMARÃES, 2010; RIVAS et al., 2011; CARVALHO et al.; 2013). Os principais problemas citados por Prazeres et al. (2012) são o alto consumo de oxigênio, eutrofização, toxicidade e impermeabilidade do solo, além do forte odor que libera durante sua decomposição. Outro fator a ser considerado é o

volume de soro gerado (GUIMARÃES et al., 2010; VERMA et al., 2012). A cada quilo de queijo fabricado geram-se nove litros de soro. O soro apresenta uma Demanda Biológica de Oxigênio (DBO) que varia de 35.000 a 46.000 mg O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> e Demanda Química de Oxigênio (DQO) de 60.000 mg O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>, em alguns casos esse valor pode chegar a 76.000 mg O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> (SMITHERS, 2008; SINGH; SINGH, 2012). A maioria dos processos utilizados em estações de tratamento de efluentes gerados em queijarias está baseada em processos biológicos, que podem ser afetados pela alta concentração de sódio adicionado durante a fabricação dos queijos, pela baixa proporção de carbono, nitrogênio e fósforo (C/N/P) de aproximadamente 200/3,5/1 e pela presença de lipídios, dificultando o processo (PRAZERES et al., 2012).

Partindo-se do princípio de se valorizar subprodutos, o soro apresenta elevado valor nutricional, sendo importante estimular seu uso como ingrediente em novas formulações. Existem diversos métodos de processamento do soro de leite que valorizam seu potencial nutricional, como, por exemplo, a recuperação das proteínas e lactose por ultrafiltração, hidrólise da lactose em seus monossacarídeos constituintes e dos peptídeos em aminoácidos (SMITHERS, 2008; PURWANTI et al., 2011; PRAZERES et al., 2012; SINGH; SINGH, 2012). A obtenção de concentrados de proteínas também pode ser feita por processos de fermentação, precipitação e cristalização (EVANS et al., 2010; PESCUA et al., 2010; CASTRO et al., 2013).

O suplemento de proteína do soro tem sido preferido pelos esportistas, principalmente pelos praticantes de treinamentos de força, dentre os suplementos alimentares disponíveis, uma vez que garantem aumento do balanço nitrogenado diário e ressíntese de ATP após atividade física, acréscimo da síntese de hemoglobina, mioglobina e enzimas oxidativas durante exercícios aeróbios (MORAIS et al., 2008; CEZAR et al., 2012). Haraguchi et al. (2006) citam que o isolado proteico contém 90% de proteínas, com estrutura globular estabilizada por pontes de dissulfetos e apresentam alto teor de aminoácidos essenciais, principalmente os de cadeia ramificada, além do alto teor de cálcio e de peptídeos bioativos. Terada et al. (2009) explicam que a rápida absorção intestinal de suplementos à base de isolado proteico do soro, eleva a concentração de aminoácidos no plasma, agindo sobre a liberação de hormônios anabólicos que favorecem à captação dos aminoácidos pelas células musculares.

Os constituintes do soro incentivam o desenvolvimento de novas bebidas funcionais, Maity et al. (2008) desenvolveram uma bebida à base de soro de leite fermentado usando cepas de *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *Shermani*. Pescuma et al. (2010) elaboraram uma bebida funcional a partir do concentrado proteico do soro de leite e cepas de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*. Além de reduzir o teor de lactose, os autores hidrolisaram as proteínas, principais causadores de reações alérgicas, para aumentar a concentração de aminoácidos essenciais livres. Em outro estudo, Singh e Singh (2012) desenvolveram uma bebida energética a base de soro de leite, acrescidos de polpa de manga e concluíram que a bebida produzida tem alto poder nutricional, indicada para repor água e minerais. Gad et al. (2013) também produziram uma bebida à base de soro de leite reconstituído utilizando polpa de manga em pó e semente de linhaça, obtendo um produto rico em minerais, vitaminas, compostos fenólicos e bem aceito sensorialmente.

### 1.1.1 Lactose

A lactose é um dissacarídeo, constituído de dois monossacarídeos, D-glicose e D-galactose, unidos covalentemente por ligações glicosídicas  $\beta$  1→4. Em relação a outros açúcares, apresenta baixa solubilidade e baixo poder edulcorante (MARIOTTI et al., 2008; GUIMARÃES et al., 2010; KWAK et al., 2012). Quando recuperada e concentrada, a lactose pode ser empregada como suplemento alimentar, em formulações lácteas infantis e outros produtos lácteos (PALAI; BHATTACHARYA, 2013). Após ser ingerida, a lactose é hidrolisada no intestino delgado em seus constituintes glicose e galactose pela enzima lactase  $\beta$ -galactosidase (MARIOTTI et al.; 2008). Na ausência dessa enzima, ou em baixa atividade enzimática, a hidrólise não ocorre e a lactose vai diretamente para o intestino grosso, onde sofre fermentação e causa diversos sintomas gastrointestinais como dores abdominais, diarreia e flatulências, típicos de intolerância a lactose (KWAK et. al., 2012; VENEMA, 2012). No cólon do intestino a lactose é primeiramente hidrolisada, fornecendo substrato para as bactérias presentes no meio realizarem a fermentação. Entre os produtos finais gerados pelo processo



estão os gases metano, hidrogênio e dióxido de carbono e os metabólitos lactato, succinato e etanol, responsáveis pelos sintomas de intolerância a lactose (VENEMA, 2012).

A deficiência da enzima lactase em vários estágios atinge 70% da população no mundo (ERICH et al., 2012; MATUTE et al., 2012). Como alternativa, a procura por produtos livres de lactose ou com teor reduzido de lactose tem crescido. Indústrias de laticínios têm investido na produção de alimentos alternativos para atender esse público específico (ERICHI et al., 2012). Diversas técnicas têm sido aplicadas para reduzir o teor de lactose do leite e seus derivados. Alguns estudos estão focados na produção e imobilização da enzima lactase (JURADO et al., 2002; VERMA et al., 2012; KLEIN et al., 2013). Outros citam métodos de redução da lactose por hidrólise, química ou enzimática, além da fermentação desse açúcar por bactérias lácticas (HAIDER; HUSAIN, 2009; GHAIISH et al., 2011; KWAK et al., 2012; PRAZERES et al., 2012). Mariotti et al. (2008) citam algumas vantagens desse processo, como a produção de leite com sabor adocicado e formação de galactooligosacarídeos, que favorecem o crescimento bacteriano na microflora intestinal.

A lactase, cientificamente conhecida como  $\beta$ -D galactosidase (E.C. 3.2.1.23), é a enzima comercial utilizada na hidrólise da lactose. É facilmente encontrada em fontes naturais, podendo ser isolada de plantas, fungos e bactérias para uso em indústrias alimentícias (JURADO et al., 2002). Harju et al. (2012) descrevem fatores importantes no controle da hidrólise enzimática, como concentração do substrato, pH, temperatura de trabalho, tempo de reação, inibidores e porcentagem de hidrólise. Outro ponto importante é a origem da enzima: quando provenientes de fungos são aplicados em substratos ácidos, já as procedentes de leveduras ou bactérias devem ser utilizadas em ambientes com valores de pH próximos à neutralidade (JURADO et al., 2002; HARJU et al., 2012). A temperatura e o pH da reação da hidrólise da lactose, variam em função do microorganismo utilizado (Tabela 2).

A hidrólise da lactose já é uma prática comum nas indústrias alimentícias. Matute et al. (2012) trabalharam com hidrólise da lactose em leites UHT, utilizando enzima produzida pelo fungo *Kluveromyces lactis*, em uma reação de trinta horas à temperatura de 30°C, e obtiveram a porcentagem de hidrólise de até 80%. Erich et

al. (2012), utilizando a mesma enzima e mesmo substrato, obtiveram 70% de hidrólise, em ensaios de 24 horas, mantidos à 8°C. Klein et al. (2013), utilizaram a mesma enzima em soro doce, seus estudos foram conduzidos em temperaturas que variaram entre 10°C e 70°C e o pH foi mantido em 7,0. Obtiveram 90% de hidrólise à 37°C e concluíram que à 55°C a enzima perde sua função.

**TABELA 2** - Condições de operação da lactase produzida por diferentes micro-organismos na hidrólise da lactose.

Fonte	pH ótimo	Temp. de Operação (°C)
<i>Aspergillus niger</i>	3,0-4,0	55-60
<i>Kluveromyces lactis</i>	6,5-7,3	35
<i>Kluveromyces fragillis</i>	6,6	37
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	6,2-6,5	55
<i>Streptococcus thermophilus</i>	7,1	55

**FONTE:** adaptado de HARJU et al., 2012

## 1.2 SOJA: PROPRIEDADES E APLICAÇÕES

A soja é uma planta originária da China e um dos principais ingredientes da dieta chinesa. Foi introduzida na América em 1765 e em 1850 os Estados Unidos iniciaram sua produção em escala industrial, onde, até 1999, 27% da colheita total de grãos era de soja (FRIEDMAN; BRANDON, 2001; HE; CHEN, 2013). Atualmente Estados Unidos, Brasil, Argentina e China são responsáveis por 86% da produção mundial, sendo que apenas os Estados Unidos respondem por 35% desse total (HE; CHEN, 2013; ORF, 2013). As sementes da soja contêm 48% de proteínas globulares e 22% de óleo, teor que justifica seu uso como matéria prima na produção de óleo para preparo de alimentos. Compostos bioativos como  $\alpha$ -amilase, citocromo c, lecitina, lipoxigenases, ureases, isoflavonóides, saponinas, ácido fítico, entre outros, também estão presentes. No entanto, o baixo teor do aminoácido L-

metionina, cisteína e lisina faz com que o valor nutritivo da soja seja reduzido quando comparado a outras fontes (FRIEDMAN; BRANDON; 2001).

O grão maduro e seco contém 8,5% de umidade, 36,5% de proteínas, 19,9% de lipídios e 9,3% de fibras, juntos, proteínas e lipídios representam 60% do peso molecular da soja. Em relação aos lipídios, 15,6% são ácidos graxos saturados, 22,8% monoinsaturados e 57,7% poli-insaturados, o que fornece grandes quantidades de ômega 3 essencial à nutrição humana (HE; CHEN, 2013).

O extrato de soja líquido ou em pó pode ser obtido a partir dos grãos descortçados de soja, submetido a tratamento térmico adequado para inativação de fatores antinutricionais. Por conter 30,81% de proteína, 19,85% de lipídios e 45,79% de carboidratos possui ampla aplicação na indústria alimentícia, podendo ser consumido na forma de bebida, como constituinte de produtos lácteos com baixo custo e alta qualidade proteica e energética (SILVA, 2007).

Entre os principais componentes da soja responsáveis pela promoção da saúde estão as isoflavonas, compostos heterocíclicos existentes em três tipos, daidzeína, genisteína e gliciteína, e quatro formas químicas, aglicona,  $\beta$ -glicosídeo, acetil-glicosídeo e malonil-glicosídeo (AHN-JARVIS et al., 2013). Estudos clínicos sugerem que uma dieta rica em isoflavonas está associada ao baixo risco de doenças cardíacas coronárias, osteoporose, sintomas da menopausa, obesidade, diabetes, inibição da inflamação (MORALES, 2010).

He e Chen (2013) estabeleceram uma relação entre o consumo da soja por mulheres chinesas e ocidentais e a incidência de câncer de mama. Eles concluíram que os índices de mortalidade por câncer de mama são menores em mulheres chinesas do que em ocidentais, atribuindo esse fato ao consumo das isoflavonas presentes na soja. Outro estudo realizado por Miraghajani et al. (2013), em pacientes com diabetes tipo 2 que apresentavam nefropatias, provou que os níveis de triacilgliceróis diminuíram e a pressão arterial teve significativa redução melhorando a função renal dos pacientes que consumiam soja. Jaramillo et al. (2011) e Kempka et al. (2008) também citam os benefícios do consumo de soja na redução do colesterol, redução de incidência de tumores cancerígenos, diabetes, obesidade, doenças intestinais e renais e sintomas da menopausa.

A procura por produtos à base de soja tem aumentado significativamente, já que pesquisas comprovam seus efeitos benéficos à saúde. Muitos produtos com soja foram desenvolvidos, alguns deles até mesmo com o objetivo de substituir o leite em indivíduos que apresentam intolerância à lactose. No mercado existem disponíveis concentrados proteicos que podem ser utilizados em fórmulas infantis, queijos, bebidas, molhos, carnes, entre outros que incluem soja de alguma forma (ALEZANDRO et al., 2011; HE; CHEN, 2013). A popularidade de bebidas à base de soja, incluindo leite de soja, está crescendo devido ao fato de conterem grandes quantidades de isoflavonas, aminoácidos essenciais e minerais. No entanto, uma desvantagem dos produtos derivados da soja, é seu sabor característico de feijão cru, que não é aceito por grande parte da população. Como alternativa, bebidas mistas de sucos de frutas ou outros sabores combinados com a soja, não só mascaram o sabor, como conferem propriedades sensoriais e nutricionais ao produto (FELBERG et al., 2009; RODRÍGUEZ-ROQUE et al., 2014).

### 1.3 BEBIDA MISTA

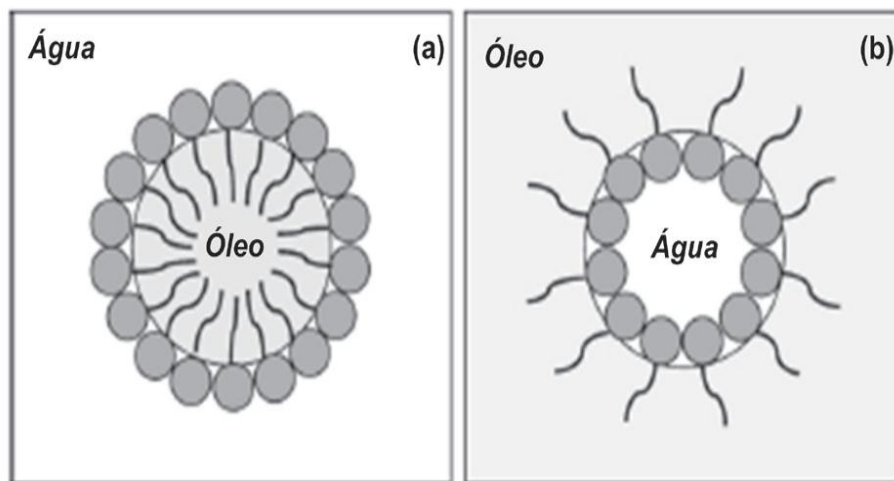
A Instrução Normativa 16/2005 define bebida láctea como produto lácteo que contenha base láctea de pelo menos 51% (m/m) do total de ingredientes do produto de origem láctea, para bebidas (BRASIL, 2005a). Bebidas contendo soja são regulamentadas pela RDC 91/2001 para produtos que contenham derivados de soja em concentrações superiores a 51%, estas devem ser caracterizadas como bebida com soja, portanto a identificação do produto deve ser compatível com suas proporções na mistura (BRASIL, 2001; BRASIL, 2005b)

Localizaram-se pesquisas voltadas ao desenvolvimento de bebidas, a base de soja (DELIZA et al., 2005; ULIANA et al, 2012) e bebidas produzidas pelo aproveitamento do soro de leite (GHAISH et al., 2011; PESCUA et al., 2010; PRAZERES et al., 2012 ; SINGH; SINGH 2012;). No entanto, trabalhos com misturas de ambos os substratos ainda são incipientes. Prudencio et al. (1999) apresentaram uma pesquisa sobre extração do extrato de soja utilizando soro de leite como substituto da água no processo. Neste estudo, proporções com 90 e 100% de soro (mistura de soro e água) mostraram-se mais favoráveis quanto ao aspecto sensorial.

## 1.4 FORMAÇÃO DE EMULSÕES EM ALIMENTOS

Emulsão é uma dispersão de gotículas de um líquido imiscível em outro na presença de agentes emulsificantes, formando uma estrutura hidrofílica/lipofílica (LAL et al.; 2006). Em produtos alimentares, algumas emulsões são de óleo em água ou água em óleo (Figura 2), (HUANG et al, 2011; GUO et al., 2014). Em seu trabalho sobre os efeitos de estabilizantes e emulsificantes nas propriedades reológicas de produtos lácteos, Lal et al. (2006) definem emulsificante como estabilizador de emulsões de óleo em água, devido a alta capacidade de ligação da água com os estabilizantes que promovem o espessamento e geleificação das emulsões. Piorkowski e McClements (2013) relatam que a grande vantagem de estabilizar emulsões, é que são necessárias quantidades mínimas de emulsionantes, além do fato de poder se valer de ingredientes naturais como proteínas (soro de leite e soja) e polissacarídeos (amido e gomas).

**FIGURA 2** - Diagrama de emulsões alimentares: (a) emulsão de óleo em água e (b) emulsão de água em óleo.



**FONTE:** adaptado de LAL et al., 2006.

Durante a fabricação de bebidas não alcoólicas, vários ingredientes são adicionados tais como essências oleosas, agentes turvantes, vitaminas insolúveis, antioxidantes, espessantes, entre outros, visando melhorar e manter atributos desejáveis ao produto (PIORKOWSKI; MCCLEMENTS, 2013). No entanto, o

acréscimo desses compostos torna a bebida em sistemas hidrofóbicos/hidrofílicos, que tendem à formação de fases, coalescência ou floculação devido à ação da força gravitacional.

Para evitar a separação de fases, o sistema deve ser convertido em uma dispersão coloidal na forma de emulsões, microemulsões ou até mesmo nanoemulsões (MCCLEMENTS; RAO, 2011). Piorkowski e McClements (2013) e Guo et al. (2014) explicam que o *stress* causado durante a produção, estocagem, transporte, exposição à luz, presença de oxigênio e micro-organismos são fatores que desestabilizam as emulsões. Citam ainda que, os efeitos desse desequilíbrio envolvem diversos processos físico-químicos como separação gravitacional, floculação e coalescência, uma vez que são sistemas termodinamicamente instáveis e tendem a desagregação.

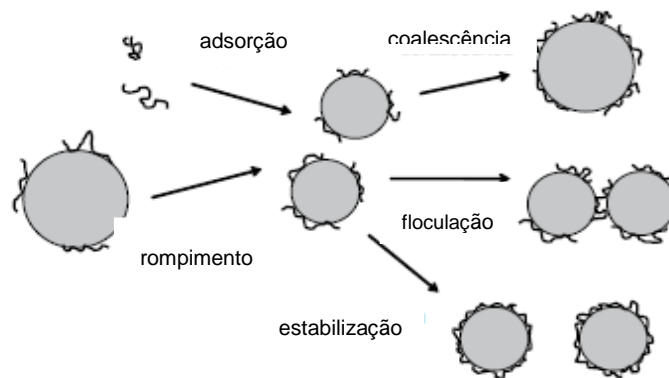
Em uma abrangente revisão sobre aplicação de estabilizantes em bebidas Piorkowski e McClements (2013) descrevem os fatores e mecanismos de ação que desestabilizam uma emulsão e apresentam os principais agentes emulsificantes empregados na indústria alimentícia. Um dos principais fenômenos que pode ocorrer após a fabricação de uma bebida é conhecido como coalescência, que pode ser compreendido como um processo em que duas ou mais gotículas hidrofóbicas se fundem para formar uma gota maior, levando à formação de uma camada oleosa na superfície do produto. Os principais fatores que favorecem esse fenômeno são a natureza das forças que atuam entre as gotículas, isto é, a força gravitacional, coloidal, hidrodinâmico, forças mecânicas, além da resistência da camada interfacial para ruptura.

A estabilidade das emulsões à coalescência pode ser melhorada impedindo-se que as gotas se aproximem por um longo período, isso pode ser obtido com o uso de agentes estabilizantes, mais conhecidos como emulsificantes. Os emulsionantes são moléculas de superfície usadas em emulsões para facilitar a separação das gotículas durante a homogeneização do produto, além de impedir o crescimento de gotículas depois de sua formação. Durante a homogeneização os emulsionantes adsorvem a interface óleo-água formando um revestimento de proteção em torno das gotículas de óleo. Para que este processo seja eficaz, o emulsionante deve estar presente numa concentração suficientemente para cobrir toda a superfície de

óleo-água formada, revestir a superfície das gotas antes que colidam umas com as outras, além de evitar a aproximação entre elas.

Dickinson (2009) explica que a estabilização de gotículas finas (pequenas) requer a ruptura mecânica de gotas grossas (maiores), acompanhada pela rápida adsorção eficaz de emulsificante na nova interface óleo-água. Relata também que da colisão de gotículas com cobertura insuficiente de emulsificante pode levar a coalescência e floculação. Isso pode ser melhor compreendido analisando-se a Figura 3.

**FIGURA 3** - Processos físico-químicos envolvidos na formação de emulsões.



**FONTE:** adaptado de DRICKINSON, 2009.

### 1.5. AGENTES ESTABILIZANTES

Ao selecionar um estabilizante é importante estabelecer um conjunto de condições de trabalho, principalmente o intervalo de pH, temperatura de execução e composição do solvente. McClements e Rao (2011) citam um exemplo típico, muitas proteínas globulares formam emulsões estáveis com valores de pH longe de seu ponto isoelétrico, mas tendem a flocular em valores de pH próximos ao seu ponto isoelétrico. As proteínas são amplamente utilizadas na indústria de alimentos para estabilizar vários alimentos e bebidas comerciais. Neste caso, os revestimentos interfaciais formados são finos e eletricamente carregados, de maneira que o principal mecanismo de prevenção da coalescência é a repulsão eletrostática.

O uso de polissacarídeos em emulsões é muito comum, como exemplos mais citados estão goma arábica, amido modificado, pectina, alginato e carragena (YANES et al.,2002, MARUYAMA et al., 2006; LEITE et al.,2012). Dickinson (2009) explica que a atividade de superfície, ou seja, de ligação na interface óleo/água, varia de acordo com a origem da molécula, o caráter apolar de seus grupos químicos, presença de proteínas ligadas covalentemente aos polissacarídeos. Segundo Ray e Rousseau (2013) a atuação de proteínas como estabilizantes pode muitas vezes ser melhorada por mistura com polissacarídeos iônicos devido à formação de um complexo interfacial com as moléculas de proteína adsorvidas, causando um aumento da repulsão eletrostática entre as gotículas. Piorkowski e McClements (2013) também citam que estes sistemas são sensíveis à floculação em valores de pH próximos ao seu ponto isoelétrico ou em altas concentrações de sal. Além disso, emulsões estabilizadas por proteínas globulares são particularmente sensíveis a tratamentos térmicos, isso porque estas proteínas se desdobram quando a temperatura excede a temperatura de desnaturação térmica expondo grupos não-polares que desestabilizam a emulsão. De acordo com Ray e Rousseau (2013) complexos de proteínas com polissacarídeos podem fornecer maior resistência contra as tensões ambientais tais como grandes mudanças no pH, processamento térmico ou congelamento.

O amido é um importante polissacarídeo formado por cadeias lineares de poliglucanos chamada de amilose (20-30%) e cadeias ramificadas de glucanos chamada de amilopectina (70-80%), que interagem entre si por ligações de hidrogênio formando grânulos (PEDROSO; DEMIATE, 2008; FUENTES-ZARAGOZA et al., 2010; MADRUGA et al., 2014). Pode ser extraído de diversas fontes como milho, trigo, mandioca e batata (PEDROSO; DEMIATE, 2008; LEITE et al.,2012), no entanto, cada amido é único. De acordo com Miller (2010), os amidos diferem entre si principalmente no comportamento do grânulo e nas disposições das cadeias de amilose e amilopectina, que por sua vez, depende do tipo de cultivar e da época de cultivo. Em indústrias alimentícias, o amido é muito utilizado como espessante, estabilizante, agente de textura, ligante de água ou de gordura e geleificante (LEITE et al., 2012). Em especial o amido de mandioca destaca-se em relação aos demais, devido à sua alta capacidade de retenção de água e baixa temperatura de gelatinização (PEDROSO; DEMIATE, 2008). Entre outras propriedades do amido de



mandioca, Drunkler (2012) também cita a baixa adesividade, baixo teor de amilose e baixa tendência para a sinérese, quando comparado com outros amidos comerciais.

Carragena é um hidrocolóide extraído de algas vermelhas da classe das *Rhodophyceas*, formado por polímeros sulfatados, que sozinha ou combinada é parte dos constituintes de uma série de produtos alimentícios (PEDROSO; DEMIATE, 2008). É um agente formador de gel e por sua propriedade estabilizante de emulsões (água e óleo), evita a separação das fases durante a armazenagem do produto. Nikaedo et al. (2004) relatam a carragena como um dos principais estabilizantes usados em produtos lácteos devido à necessidade de concentrações mínimas na formulação para se obter uma boa viscosidade, característica devida à sua alta reatividade com as proteínas do leite. Quando combinada com outros hidrocolóides tais como amido, pectina e goma locusta, atua de maneira mais eficiente na textura dos alimentos além de não mascarar os sabores (LEITE et al., 2012). Segundo Nikaedo et al. (2004), a viscosidade obtida com a carragena aumenta exponencialmente com a sua concentração.

A pectina é um polissacarídeo aniônico constituído por um esqueleto de ácido galacturônico parcialmente metilesterificado, que contém grupos de arabinose, galactose, glicose e xilose (NAKAMURA et al., 2006; LAM et al., 2008). Apresenta aspecto branco, amorfo e não tóxico. É um produto de baixo custo, que pode ser naturalmente extraído de cascas cítricas, além de frutos maduros como ameixa, maçã, pêssego (YAPO, 2009; HUANG et al, 2011). A principal aplicação da pectina envolve o uso como estabilizador de emulsões em bebidas à base de proteínas, além de ser formadora de gel e intensificadora de viscosidade. Por interagir em pH baixo, auxilia na estabilização de dispersões ácidas (LAM et al., 2008). Além de atuar como agente emulsificante, devido a sua propriedade de reduzir a tensão interfacial entre óleo e água (GUO et al., 2014) a pectina exibe atividade antioxidante (HUANG et al, 2011).

## 1.6 REOLOGIA NOS ALIMENTOS

O conhecimento das propriedades reológicas torna-se indispensável na determinação dos processos industriais dos alimentos. A viscosidade ( $\mu$ ),

propriedade de um líquido em resistir ao fluxo induzido pelo cisalhamento, é utilizada para definir diferentes categorias entre os fluídos (DRUNKLER, 2011). Ao estabelecer uma relação entre a taxa de deformação ( $\gamma$ ) e a tensão de cisalhamento ( $\sigma$ ), a Lei de Newton, Equação 1, descreve o comportamento ideal de um fluído (BIRD et al., 1996). Líquidos que apresentam uma relação linear entre a taxa de deformação ( $\gamma$ ) e a tensão de cisalhamento ( $\sigma$ ) são ditos Newtonianos. Após aplicação da taxa de cisalhamento nos fluídos newtonianos o arranjo molecular não retorna a posição original e a viscosidade varia com o aumento da temperatura. Em fluídos em que esta relação não é linear e o arranjo molecular após deformação permanece o mesmo são ditos fluídos não newtonianos (GABAS et al., 2012).

$$\sigma = \mu \cdot \gamma \quad (1)$$

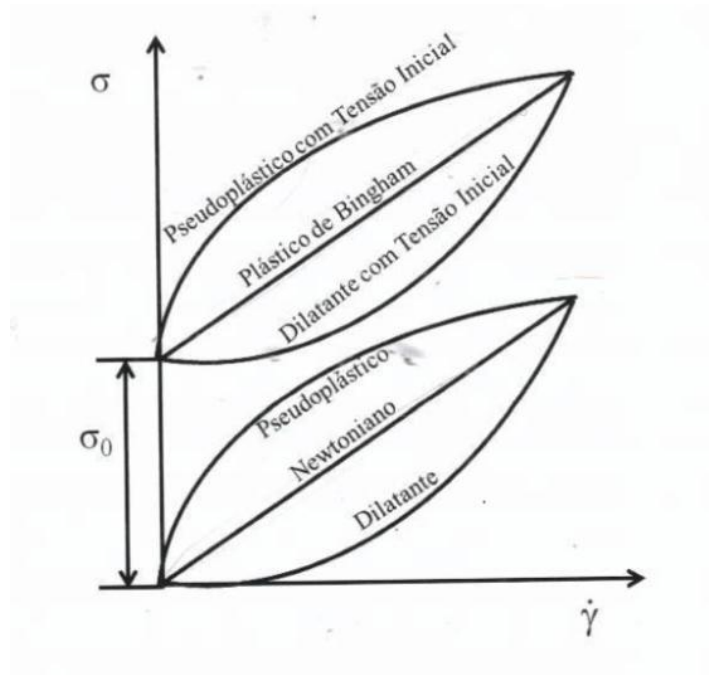
Os fluídos não Newtonianos podem ser caracterizados como fluídos dependentes do tempo, em que a viscosidade depende do tempo de aplicação da tensão de cisalhamento e; fluídos independentes do tempo em que a viscosidade aparente depende somente da taxa de deformação. Quando a tensão de cisalhamento diminui com o aumento da deformação, os fluídos são ditos independentes pseudoplásticos. Isso ocorre porque as cadeias de moléculas tendem-se à se alinharem paralelamente às linhas de corrente, diminuindo a resistência ao escoamento. Com o aumento da velocidade, o fluído tende à um comportamento Newtoniano. A Lei da Potência, Equação 2, descreve o comportamento de fluídos não newtonianos, onde  $K$  é o índice de consistência, dado em  $\text{Pa}\cdot\text{s}^n$  e,  $n$  é o índice fluidez. De acordo com o valor de  $n$  os fluídos apresentam diferentes classificações:  $n < 1$  são apresentados por fluídos pseudoplásticos, quanto menor seu valor mais intenso será seu comportamento pseudoplástico, fluídos com  $n > 1$  são ditos dilatantes, ou seja; o acréscimo da tensão de cisalhamento com o aumento da taxa de deformação (GABAS et al., 2012).

$$\sigma = K \cdot (\gamma)^n \quad (2)$$

Alguns fluídos necessitam de uma tensão inicial  $\sigma_0$  para iniciar o escoamento e são aplicados à extensões da Lei da Potência. Fluídos pseudoplásticos e dilatantes com tensão inicial seguem o Modelo de Herschel–Bulkley, Equação 3 (GABAS et al., 2012). Figura 4 apresenta o comportamento reológico dos fluídos independentes.

$$\sigma - \sigma_0 = K. (\dot{\gamma})^n \quad (3)$$

**FIGURA 4** – Comportamento reológico de fluídos não newtonianos independentes do tempo.

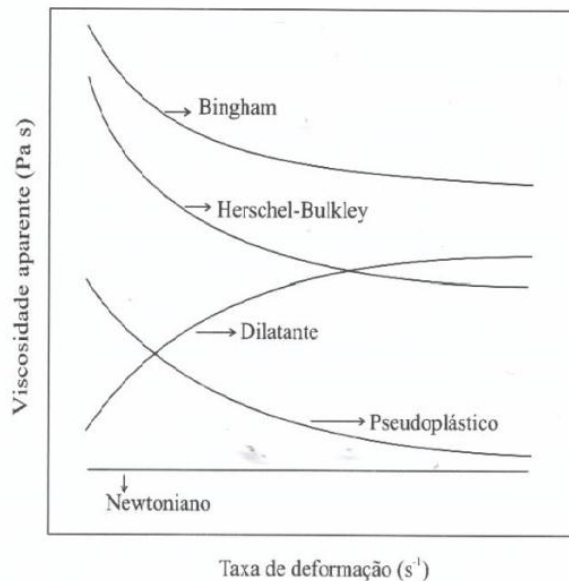


**FONTE:** GABAS et al., 2012.

Em fluídos não Newtonianos a viscosidade ideal é substituída pela viscosidade aparente ( $\mu_{ap}$ ), e varia de acordo com o tipo de fluído (Figura 5). Em fluídos pseudoplásticos, a viscosidade aparente diminui com o aumento da taxa de cisalhamento, em fluídos de Herschel–Bulkley a viscosidade aparente decresce com

altas taxas de deformação, em fluídos dilatantes aumenta com o aumento da deformação (STEFFE, 1996).

**FIGURA 5** – Viscosidade aparente de fluidos independentes do tempo.



**FONTE: STEFFE, 1996.**

## 1.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística é uma ferramenta matemática adequada para examinar resultados obtidos em pesquisas, permitindo a interpretação correta dos dados. Em sua revisão, Granato et al. (2014) traçam diretrizes para utilizar os testes estatísticos corretamente, bem como as vantagens e limitações de diversos testes. Inicialmente, duas características devem ser consideradas para dados quantitativos quando a intenção é comparar tratamentos: a normalidade dos dados e homogeneidade de variâncias, que podem ser checados por meios gráficos ou testes numéricos.

Entre as técnicas utilizadas para avaliar a normalidade dos dados os testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk são os mais empregados (SHAPIRO; WILK, 1965; YODEN; STEINER, 1975). Os testes de Levene, Cochran e Brown-Forsythe são aplicados para verificar a homogeneidade de variâncias (LEVENE, 1960;

BROWN, FORSYTHE, 1974). Para qualquer teste de hipótese, caso o valor de probabilidade ( $p$ -valor), seja menor que o valor de  $\alpha$  (nível de significância), geralmente 95% a hipótese de diferença é confirmada, seja entre as variâncias ou falta de normalidade. Quando os dados apresentam homogeneidade de variância e seguem uma distribuição normal, diz-se que testes estatísticos paramétricos devem ser usados para comparação entre os tratamentos, como por exemplo, a análise de variâncias (MONTGOMERY, 2009).

Na análise de variâncias, ANOVA, se a hipótese de nulidade for rejeitada,  $p$ -valor  $< \alpha$ , os dados apresentam diferença significativa entre os grupos, ou seja, em termos práticos, tem-se que valores de  $p < 0,05$  são considerados significativos. Juntamente com a ANOVA, os testes de comparação das médias especificam quais pares diferem entre si, os mais aplicados são Fisher, de diferença mínima significativa (LSD), Duncan ou Tukey. No entanto, tais testes não se aplicam em dados não normais. Dados não homoscedásticos, devem ser analisados pelos testes de Welch e pelo teste de Kruskal-Wallis (KRUSKAL; WALLIS, 1952; GABRIEL, 1964; HOLLANDER; WOLF, 1973).

Testes de correlação também são úteis para estabelecer associações entre os dados. Dados não paramétricos validam-se do teste de Spearman, ao contrário do teste de Pearson. Valores de  $r$  próximos de  $\pm 1$  tem forte correlação entre as variáveis de resposta, enquanto que em valores que tende a zero, a correlação é menos intensa. Para que haja uma correlação significativa, do ponto de vista estatístico, é necessário que a correlação apresente valor de probabilidade menor que o valor de significância estipulado (GRANATO et al., 2014).

Outra ferramenta matemática bastante útil no desenvolvimento de produtos é a técnica de planejamento de experimentos, com ela é possível determinar o número ideal de ensaios e suas condições de execução (BARROS, 2001). Os dados obtidos são em seguida tratados estatisticamente, normalmente com a Metodologia de Superfície de Resposta, a fim de se conhecer o efeito dos fatores estudados nas respostas analíticas, além de se obter as melhores condições pela otimização simultânea de respostas (DELGADO et al., 2012). Quando se trabalha com misturas, pode-se modelar a formulação mais favorável, minimizando-se assim o número de experimentos realizados (NANO et al., 2009). Dentre as principais vantagens do uso do planejamento estão a redução do tempo de experimentação e redução de custos relativos a ensaios preliminares, avaliação e minimização de erros experimentais.

Neste caso, estudam-se os constituintes de uma mistura e não as variáveis de processo como num planejamento fatorial, de maneira que o resultado do processo depende das proporções dos componentes (SCHEFFÉ, 1963). A quantidade de cada componente de mistura deve então ser tratada como uma variável que não é independente das demais, de maneira que a soma dos componentes seja igual a 1 ou 100 % (COSCIONE, 2010). As respostas são representadas graficamente de acordo com tipo de mistura (binária, terciária, quaternária), partindo-se sempre da construção de uma matriz experimental, com valores reais e codificados representados na forma de tabelas (BARROS, 2001).

Misturas ternárias são planejadas através do Planejamento de Mistura Simplex Centróide, onde um ponto central que corresponde à interação dos três constituintes da referida mistura é acrescentado (SCHEFFÉ, 1963). A representação do espaço experimental dos fatores independentes inclui todos os pontos dentro de um cubo, limitando-se aos pontos de um triângulo (BARROS, 2001). Os modelos linear, quadrático e cúbico que podem descrever a mistura ternária são representados pelas equações 4, 5 e 6 respectivamente, onde as respostas preditivas são representadas por  $\hat{Y}$ ;  $x_1$ ,  $x_2$  e  $x_3$  são os fatores codificados e,  $b_0$ ,  $b_1$ ,  $b_2$ ,  $b_3$ ,  $b_{11}$ ,  $b_{22}$ ,  $b_{33}$ ,  $b_{12}$ ,  $b_{13}$ ,  $b_{23}$  e  $b_{123}$  são os parâmetros. Quando o modelo linear não é satisfatório, deve-se eliminá-lo e seguir para os demais.

Para descrever a superfície de resposta a análise de regressão linear múltipla é utilizada. No entanto, alguns aspectos devem ser observados para evidenciar a eficiência do modelo (GRANATO et al., 2010a). Entre os principais estão a falta de ajuste do modelo, se o valor de  $p$  for significativo para falta de ajuste, o modelo não pode ser usado para fins preditivos, a significância da regressão e dos termos do modelo com valores acima de 0,05 devem ser descartados. Por fim, os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e coeficiente de determinação ajustado ( $R^2_{ajus}$ ) avaliam a qualidade do modelo ajustado. Após avaliar a qualidade do modelo empregado, ou seja, avaliar se o modelo está adequado ao uso para fins preditivos, apresentam significância ( $p < 0.05$ ), se explicada grande parte da variabilidade experimental (com  $R^2 > 60-70$ ), pode-se prosseguir para otimização do experimento realizado (GRANATO et al., 2010b).

$$\hat{Y} = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 \quad (4)$$

$$\hat{Y} = b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_{12} X_1 X_2 + b_{13} X_1 X_3 + b_{23} X_2 X_3 \quad (5)$$

$$\hat{Y} = b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_{12} X_1 X_2 + b_{13} X_1 X_3 + b_{23} X_2 X_3 + b_{123} X_1 X_2 X_3 \quad (6)$$

Um método muito utilizado na otimização de experimentos, é aplicar a função de desejabilidade proposta por Derringer e Suich (1980), em que para cada resposta Y, a função de desejabilidade varia de 0 a 1. Desta maneira, D=0 representa um valor indesejável enquanto que D=1 representa um valor ideal. Na representação gráfica, as linhas tracejadas verticais indicam as condições máximas de desejabilidade global.

A análise estatística multivariada também é bastante importante, tem sido aplicada em diversas áreas de pesquisa como análises de dados sensoriais, químicos, físico-químicos, comercial, termogravimétricos, reológicos (PANERO et al., 2009; SOUZA et al., 2011; SOUZA; POPI, 2012).

A Análise de Componentes Principais (ACP) é uma das formas de análise multivariada, envolve procedimentos matemáticos que identifica padrões e os une de acordo com suas semelhanças através de representações gráficas adequadas para análises de resultados (BRAGA, 2012). A ACP pode ser definida como um método exploratório, que auxilia na elaboração de hipóteses gerais a partir dos dados coletados, os dados n-dimensionais são representados em um espaço de baixa dimensão, através de combinações lineares das variáveis originais (PANERO et al.; 2009; SOUZA et al., 2011). A representação da ACP se dá através de um sistema de eixos, denominados componentes principais (PC), onde as amostras são pontos localizados em um espaço n-dimensional, em que n é igual ao número de variáveis (SOUZA et al., 2011). Souza e Poppi (2012) relatam que entre as principais aplicações para ACP, está a determinação de similaridades entre amostras, detecção de amostras anômalas e redução da dimensionalidade do conjunto de dados.

## 1.8 ANÁLISE SENSORIAL

A determinação da aceitação sensorial pelo consumidor é fator crucial no processo de desenvolvimento ou melhoramento de produtos alimentares. A avaliação sensorial é uma

disciplina científica utilizada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos, bem como sua percepção pelos órgãos dos sentidos (PFLANZER et al., 2010). O uso dos testes de preferência e aceitação são avaliados através de escalas que medem o grau de aceitação do produto com base em atitudes do avaliador com relação à frequência em que estariam dispostos a utilizar ou consumir o produto (WICHCHUKIT; MAHONY, 2011). Uma forma usual de se medir a opinião de um grande número de consumidores com respeito as suas preferências, gostos e opiniões. As escalas mais empregadas são a de intensidade, a hedônica, de atitude ou de intenção. Os avaliadores não precisam ser treinados bastando serem consumidores frequentes do produto em avaliação (IAL, 2008).

Com o teste da escala hedônica, o indivíduo expressa o grau de gostar ou de desgostar de um determinado produto, de forma globalizada ou em relação a um atributo específico (sabor, aroma, doçura, aparência, etc.). As escalas mais utilizadas são as de 7 e 9 pontos, que contêm os termos definidos situados, por exemplo, entre “gostei muitíssimo” e “desgostei muitíssimo” contendo um ponto intermediário com o termo “nem gostei; nem desgostei” (LAWLES; HEYMANN, 1999; WICHCHUKIT; MAHONY, 2011). Os dados coletados podem ser avaliados estatisticamente pela análise de variância, (ANOVA) e comparação das médias de pares de amostras.

Por meio das escalas de atitude ou de intenção, o indivíduo expressa sua vontade em consumir, adquirir ou comprar um produto que lhe é oferecido. As escalas mais utilizadas são as verbais de 5 a 7 pontos, nas quais os termos definidos podem se situar, entre “provavelmente compraria” a “provavelmente não compraria” e, no ponto intermediário “talvez compraria, talvez não compraria”. Nos testes de preferência e aceitação é importante que as escalas possuam número balanceado de categorias para gosto e desgosto. Nos testes de preferência as amostras devem ser codificadas com algarismos de três dígitos e distribuídas em ordem aleatória. Além disso, recomenda-se que o número de avaliadores seja entre 50 e 100 (LAWLES; HEYMANN, 1999).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR-NASCIMENTO, J.E.; PRADO SILVEIRA, B. R.; DOCK-NASCIMENTO, D.B. Early enteral nutrition with whey protein or casein in elderly patients with acute ischemic stroke: A double-blind randomized trial. **Nutrition**, v. 27, p. 440–444, 2011.

ADJONU, R.; DORAN, G.; TORLEY, P.; AGBOOLA, S. Whey protein peptides as components of nanoemulsions: A review of emulsifying and biological functionalities. **Journal of Food Engineering**, v. 122, p. 15-27, 2014.



ALEZANDRO, M.R.; GRANATO, D.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Nutritional Aspects of Second Generation Soy Foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 5490- 5497, 2011.

AHN-JARVIS, J.H., RIEDL, K.M.; SCHWARTZ, S.J.; VODOVOTZ, Y. Design and Selection of Soy Breads Used for Evaluating Isoflavone Bioavailability in Clinical Trials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 3111–3120, 2013.

BARROS NETO, B. Como Fazer Experimentos: pesquisa e desenvolvimento na indústria. Campinas SP: **Editora da UNICAMP**, p. 301-329. 2001.

BIRD, R.B. STEWART, W.E.; LIGHTFOOT, E.N. Transport phenomena. **New York: Wiley**, p. 780, 1996.

BRAGA, C.M. **Perfil aromático de sucos e fermentados de maçã em diferentes estágios de maturação**. Ponta Grossa, 2012, 52 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

BRASIL. Resolução ANVISA. - RDC de n.º12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa de n.º16, de 23 de agosto de 2005. Aprova Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Lactea (a).

BRASIL, Resolução ANVISA. - RDC de n.º 273, de 22 de setembro de 2005. Aprova Regulamento Técnico sobre Misturas para preparo de alimentos e Alimentos pronto para consumo (b).

BROWN, M.B.; FORSYTHE, A.B. Robust Tests for Equality of Variances. **Journal of the American Statistical Association**, v. 69, p. 364–367, 1974.

CARVALHO, F.; PRAZERES, A.R.; RIVAS, J. Cheese whey wastewater: Characterization and treatment. **Science of the Total Environment**, v. 445-446, p. 385-396, 2013.

CASTRO, W.F.; CRUZ, A.G.; RODRIGUES, D.; GHISELLI, G.; OLIVEIRA, C.A.F.; FARIA, J.A.F.; GODOY, H.T. Effects of different whey concentrations on physicochemical characteristics and viable counts of starter bacteria in dairy beverage supplemented with probiotics. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n.1, p. 96-100, 2013.

CEZAR, F.R.; FERREIRA, J.B.; LICNERSKI, M.; PEREIRA, T.; SANTOS, M.G. Whey Protein: proteína do soro do leite. **EFDeportes.com, Revista Digital**, v. 17, n.167, 2012.

COSCIONE, A.R.; ANDRADE, J.C; MAY, G.M. O modelamento estatístico de misturas: experimento tutorial usando voltametria de redissolução anódica. **Química Nova**, v. 28, n.6, p. 1116-1122, 2010.

DELGADO, D.A.; SANT'ANA-SOUZA, A.; GRANATO, D.; MASSAGUER, P.R. Inactivation of *Neosartorya fischeri* and *Paecilomyces variotii* on paperboard packaging material by hydrogen peroxide and heat. **Food Control**, v. 23, p. 165-170, 2012.

DELIZA, R; CASE, F.; ROSENTHAL, A. Produção de 'leite' de soja enriquecido com cálcio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, N.1, p. 86-91, 2005.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, p. 214-219, 1980.

DICKINSON, E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. **Food Hydrocolloids**, v.23, p. 1473-1482, 2009.

DRUNKLER, L.N. **Utilização de amido de mandioca como espessante em bebida de soja**. Ponta Grossa, 2011, 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

ERICH, S.; ANZMANN, T.; FISCHER, L. Quantification of lactose using ion-pair RP-HPLC during enzymatic lactose hydrolysis of skim milk. **Food Chemistry**, v. 135, p. 2393–2396, 2012.

EVANS, J.; ZULEWSKA, J.; NEWBOLD, M.; DRAKE, M.A.; BARBANO, D.M. Comparison of composition and sensory properties of 80% whey protein and milk serum protein concentrates. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n.5, p.1824- 1843, 2010.

FAO/WHO. Food and Agriculture Organization of the United Nation / World Health Organization. **Report on a joint FAO/WHO Expert Consultation on Protein Quality Evaluation**, Bethesda, 1990.

FELBERG, I; ANTONIASSI, R; DELIZA, R; FREITAS, S.C.; MODESTA, R.C.D. Soy and Brazil nut beverage: processing, composition, sensory, and color evaluation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos de Campinas**, v. 29, p. 609-617, 2009.

FRIEDMAN M.; BRANDON D.L. Review: Nutritional and health benefits of soy proteins. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 49 n. 3, p. 1069-86, 2001.

FUENTES-ZARAGOZA, E.; RIQUELME-NAVARRETE, M.J.; SÁNCHEZ-ZAPATA, E.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A. Resistant starch as functional ingredient: A review. **Food Research International**, v.43, p.931–942, 2010.

GABAS, A.L.; MENEZES, R.S.; ROMERO, J.T. Reologia na indústria de biocombustíveis. **Lavras: INDI**, p. 20-36, 2012.

GABRIEL, K.R. A procedure for treating the homogeneity of all set of means in analysis of variance. **Biometrics**, v. 20, p. 459- 477, 1964.

GAD, S.A.; ERMAM, H.W.; MOHAMED, F.G.; SAYD, F.A. Utilization Whey in Production of Functional Healthy Beverage “Whey-mango Beverages”. **American Journal of Food Technology**, v.8, n.3, p. 133-148, 2013.

GHAISH, S.; AHMADOVA A.; HADJI-SFAXI I.; MECHERFI K.E.; CHOISSET Y.; RABESONA H.; SITOHY M.; POVOP Y.; KULIEV A.A.; MOZZI F.; CHOBERT J.M.; HAERTLÉ. Potential use of lactic acid bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods, **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, p. 509-516, 2011.

GRANATO, D.; CASTRO, I.A.; MASSON, M.L.; NEVES, L.S. Physical stability assessment and sensory optimization of a dairy-free emulsion using response surface methodology. **Journal Food Science**, v.75, p. 149-155, 2010a.

GRANATO, D.; RIBEIRO, B.C.J.; CASTRO, A.I.; MASSON, L.M. Sensory evaluation and physicochemical optimisation of soy-based desserts using response surface methodology. **Food Chemistry**, v.121, p. 899-906, 2010b.

GRANATO, D.; CALADO, V.M.A.; JARVIS, B. Observations on the use of statistical methods in food science and technology. **Food Research International**, v.55, p. 137-149, 2014.

GUIMARÃES, M.R.P.; TEIXEIRA, A.J.; DOMINGUES, L. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorization of cheese whey. **Biotechnology Advances**, v.28, p. 375-384, 2010.

GUO, X.; ZHAO, W.; PANG, X.; LIAO, X.; HU, X.; WU, J. Emulsion stabilizing properties of pectins extracted by high hydrostatic pressure, high-speed shearing homogenization and traditional thermal methods: A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v.35, p.217-225, 2014.

HAIDER, T.; HUSAIN, Q. Hydrolysis of milk/whey lactose by  $\beta$ - galactosidase: A comparative study of stirred batch process and packed bed reactor prepared with calcium alginate entrapped enzyme. **Chemical Engineering and Processing**, v. 48, p. 576–580, 2009.

HARJU, M., KALLIOINEN, H., TOSSAVAINEN, O. Lactose hydrolysis and other conversions in dairy products: Technological aspects. **International Dairy Journal**, v. 22, p. 104-109, 2012.

HE, F.; CHEN, Q.J. Consumption of soybean, soy foods, soy isoflavones and breast cancer incidence: Differences between Chinese women and women in Western countries and possible mechanisms. **Food Science and Human Wellness**, v.2, n. 3–4, p. 146-161, 2013.

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

HUANG, P.H.; LU, H.T; WANG, Y.T.; WU, M.C. Antioxidant Activity and Emulsion-Stabilizing Effect of Pectic Enzyme Treated Pectin in Soy Protein Isolate-Stabilized Oil/Water Emulsion, **Journal Agricultural and Food Chemistry** v. 59, p.9623-9628, 2011.

HOLLANDER, M.; Wolfe, D. A. Nonparametric Statistical Methods. **New York: John Wiley & Sons, Inc.** 1973.

IAL. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. **Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, 2008.

JARAMILLO, P.D., ROBERTS R.F., COUPLAND J.N. Effect of pH on the properties of soy protein–pectin complexes, **Food Research International**, v.44, p. 911-916, 2011.

JURADO,E.; CAMACHO, F.; LUZÓN, G.; VICARIA, J.M. A new kinetic model proposed for enzymatic hydrolysis of lactose by a  $\beta$ -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, p. 300–309, 2002.

KEMPKA, A.P.; KRÜGER R.L.; VALDUGA E.; LUCCIO DI M.; TREICHEL H.; CANSIAN R.; OLIVEIRA D. Formulação de bebida láctea fermentada sabor pêssego utilizando substratos alternativos e cultura probiótica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, p. 170-177, 2008.

KERASIOTI, E; STAGOS, D.; JAMURTAS, A.; KISKINI, A.; KOUTEDAKIS, Y.; GOUTZOURELAS, N.; POURNARAS, S.; TSATSAKIS, A.; KOURETAS, D. Anti-inflammatory effects of a special carbohydrate-whey protein cake after exhaustive cycling in humans. **Food Chemical Toxicology**, v. 61, p.42-46, 2013.

KLEIN, M.P.; LUCAS, B.; FALLAVENAB, P.; SCHÖFFERB, J.N.; AYUBB, M.A.Z.; RODRIGUESB, R.C.; NINOWA, J.L.; HERTZB, P.F. High stability of immobilized  $\beta$ -

d-galactosidase for lactose hydrolysis and galactooligosaccharides synthesis. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, p. 465– 470, 2013.

KRUSKAL, W.H.; WALLIS, W.A. Use of ranks in one-criterion variance analysis. **Journal of the American Statistical Society**, v. 47, p. 583 – 621, 1952.

KWAK, H.S; LEE, W.J; LEE, M.R. Revisiting lactose as an enhancer of calcium absorption, **International Dairy Journal**, v. 22, p. 147-151, 2012.

LAL, N.D.S; CONNOR, C.J.O.; EYRES, L. Application of emulsifiers/stabilizers in dairy products of high rheology. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 123–126, p. 433–437, 2006.

LAM, M.; PAULSEN, P.; CORREDIG, M. Interactions of Soy Protein Fractions with High-Methoxyl Pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n. 12,2008.

LAWLESS HT, HEYMANN H. 1999. Sensory evaluation of food: principles and practices. **Gaithersburg: Aspen Publishers**, p. 827.

LEITE, T.D; NICOLETI, J.F.; PENNA, A.L.B.; FRANCO, C.M.L. Effect of addition of different hydrocolloids on pasting, thermal, and rheological properties of cassava starch. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.32, n.3, p.579-587, 2012.

LEVENE, H. Robust tests for equality of variances. In: Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling, I. Olkin et al. eds., **Stanford University Press**, p. 278-292, 1960.

MADUREIRA, A.R; TAVARES, T; GOMES,A.M.P.; PINTADO, M.E., MALCATA, F.X. Invited review: physiological properties of bioactive peptides obtained from whey proteins. **Journal of Dairy Science**, v.93, n. 2, p.437-.455, 2010.

MAITY, T.K.; KUMAR R; MISRA A.K. Development of healthy whey drink with *Lactobacillus rhanmosus*, *Bifidubacterium bifidum* and *Propionibacterium freudenreichii*, **Advance Journal of Food Science & Technology**, v. 58, n. 4, p. 3015-325, 2008.

MARIOTTI, M.; YAMANAKA, H.; ARAUJO, R.A.; TREVISAM, C.H. Hydrolysis of Whey Lactose by Immobilized  $\beta$ -Galactosidase. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.51, n. 6, p.1233-1240, 2008.

MARUYAMA, L.Y.; CARDARELLI, H.R.; BURITI, F.C.A.; ISAY SAAD, S.M.I. Textura instrumental de queijo petit-suisse potencialmente probiótico: influência de diferentes

combinações de gomas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p.386-393, 2006.

MATUTE, R.I.A.; MARTÍNEZ, C.M.; MONTILLA, A.; OLANO, A.; COPOVI, P.; CORZO, N. Presence of mono-di- and galactooligosaccharides in Commercial lactose-free UHT dairy products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.28, p. 164-169, 2012.

MCCLEMENTS, J.; RAO, J. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n.4, p. 285-330, 2011.

MILLER, M.J.; ALLGEYER, L.C.; LEE, S.Y. Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 10, p. 4471-4479, 2010.

MIRAGHAJANI, M.S.; NAJAFABADI, M.M.; SURKAN, J.P.; ESMAILZADEH, A.; MIRLOHI, M.; AZADBAKHT, L. Soy Milk Consumption and Blood Pressure Among Type 2 Diabetic Patients With Nephropathy. **Journal of Renal Nutrition**, v.23, n.4, 2013.

MONTGOMERY, D.C. Design and analysis of experiments. **New York: Wiley**, 5th Edn, 2009.

MORAIS R.; MEDEIROS R.R.; LIBERALI R. Eficácia da suplementação de proteínas no treinamento de força. **Revista Brasileira de Nutrição e Esportes**, v. 2, n. 10, p. 265-276, 2008.

NAKAMURA, A.; YOSHIDAB R.; MAEDAB, H.; CORREDIGA M. The stabilizing behaviour of soybean soluble polysaccharide and pectin in acidified milk beverages. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 361-369, 2006.

NANO, R.M.W.; BRUINSA R.E.; FERREIRA S.L.C; BACAN N.; CADORE S. Statistical mixture design development of digestion methods for Oyster tissue using inductively coupled plasma optical emission spectrometry for the determination of metallic ions, **Talanta**, v. 80, p. 559-564. 2009.

NIKAEDO, P.H.L.; AMARAL, F.F; PENNA, A.L.B. Caracterização tecnológica de sobremesas lácteas achocolatadas cremosas elaboradas com concentrado proteico de soro e misturas de gomas carragena e guar. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.40, n. 3, 2004.

ORF, J.H. Selecting Soybean varieties for composition, **Department of Agronomy and Plants Genetics**, University of Minnesota, 2013.

PALAI, T; BHATTACHARYA, P.K. Kinetics of lactose conversion to galacto-oligosaccharides by b-galactosidase immobilized on PVDF membrane. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.115, n. 6, p. 668-673, 2013.

PANERO, F.C.; VIEIRA, M.F.P.; CRUZ, A.M.F; MOURA, M.F.V. Aplicação da análise exploratória de dados na discriminação geográfica do quiabo do Rio Grande do Norte e Pernambuco. **Orbital the electronic journal of chemistry**, v.1, n.3, p. 228-237, 2009.

PEDROSO, R.A.; DEMIATE, I.M. Avaliação da influência de amido e carragena nas características físico-químicas e sensoriais de presunto cozido de peru. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n.1, p.24-31, 2008.

PESCUMA M.; HÉBERT E.M.; MOZZI F.; VALDEZ G.F. Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria, **International Journal of Food Microbiology**, v. 141, p. 73-81, 2010.

PFLANZER, S.B.; CRUZ, A.G.; HATANAKA, C.L.; MAMEDE, P.L.; CADENA, R.; J.F. FARIA; SILVA, M.A.P. Perfil sensorial e aceitação de bebida láctea achocolatada **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p.391-398, 2010.

PIORKOWSKI, D.T.; MCCLEMENTS, D.J. Beverage emulsions: Recent developments in formulation, production, and applications. **Food Hydrocolloids**, In Press, Corrected Proof, Available online 26 July 2013.

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

PRUDENCIO, E.S.; BENEDET, H.D. Aproveitamento do soro de queijo na obtenção do extrato hidrossolúvel de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n.1, p. 97-101, 1999.

PURWANTI, N.; SMIDDY, M.; GOOT, J.V.D.A.; VRIES, D.R.; ALTING, A.; BOOMB, R. Modulation of rheological properties by heat-induced aggregation of whey protein solution. **Food Hydrocolloids**, v.25, p. 1482-1489, 2011.

RAY, M.; ROUSSEAU, D. Stabilization of oil-in-water emulsions using mixtures of denatured soy whey proteins and soluble soybean polysaccharides. **Food Research International**, v. 52, p. 298-307, 2013.

RIVAS, J.; PRAZERES, A.R.; CARVALHO, F. Aerobic biodegradation of pre-coagulated cheese whey wastewater. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 6, p. 2511- 2517, 2011.

RODRIGUEZ-ROQUE, M.J; ROJAS-GRAU, M.A; ELEZ-MARTINEZ, P; MARTÍ'N-BELLOSO, O. *In vitro* bioaccessibility of health-related compounds from a blended fruit juice–soymilk beverage: Influence of the food matrix. **Journal of Functional Foods** v. 7 , p. 161–169, 2014.

SCHEFFE, H. The Simplex-Centroid Design for Experiments with Mixtures. **Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)**,v. 25, n. 2, p. 235-263, 1963.

SHAPIRO, S.S.; WILK, M. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, p. 591–611, 1965.

SILVA, J.B.; PRUDÊNCIO, S.H.; FELBERG, DELIZA, R; CARRÃO-PANIZZI, M.C. Aceitabilidade de bebidas preparadas a partir de diferentes extratos hidrossolúveis de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.12, p.1779-1784, 2007.

SINGH, A.K.; SINGH K. Utilization of whey for the production of instant energy beverage by using response surface methodology. **Advance Journal of Food Science & Technology**, v. 4, n. 2, p. 103-11, 2012.

SMITHERS, G.W. Whey and whey proteins - From 'gutter-to-gold', **International Dairy Journal**, v. 18, p. 695-704, 2008.

SOUZA, A.M.; POPPI, R.J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I **Química Nova**, v. 35, n.. 1, p. 223-229, 2012.

SOUZA, S.S.; CRUZ, A.G.; WALTER, E.H.M.; FARIA, J.A.F.; CELEGHINI, R.M.S.; FERREIRA, M.M.C.; GRANATO, D.; SANT'ANA, A.S. Monitoring the authenticity of Brazilian UHT milk: A chemometric approach. **Food Chemistry**, v. 124, p. 692–695, 2011.

STEFFE, J.F. Rheological methods in food process engineering. **East Lansing: Freeman**, p.418, 1996.

TAHAVORGAR, A.; VAFA, M.; SHIDFAR, F.; GOHARI M.; HEYDARI I. Whey protein preloads are more beneficial than soy protein preloads in regulating appetite, calorie intake, anthropometry, and body composition of overweight and obese men, **Nutrition Research** (2014), doi:10.1016/j.nutres.2014.08.015

TERADA L.C, GODOI M.R, SILVA T.C.V.; MONTEIRO T.L. Efeitos metabólicos da suplementação do Whey Protein em praticantes de exercícios com pesos. **Revista Brasileira de Nutrição e Esportes**, v. 3, n.16, p. 295-304, 2009.



ULIANA, M.R.; VENTURI-FILHO, W.G.; ULIANA, L.R. Teste de aceitação de bebida mista de soja e amora. **Brazilian Journal Food Technology**, v.15, n.2, p. 174-181, 2012.

VENEMA, k. Intestinal fermentation of lactose and prebiotic lactose derivatives, including human milk oligosaccharides, **International Dairy Journal**, v. 22, p. 123-140, 2012.

VERMA, M.L.; BARROWA, C.J.; KENNEDYB, J.F.; PURIA, M. Immobilization of  $\beta$ -d-galactosidase from *Kluyveromyces lactis* on functionalized silicon dioxide nanoparticles: Characterization and lactose hydrolysis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 50, p. 432– 437, 2012.

WICHCHUKIT, S.; O'MAHONY, M. Liking, Buying, Choosing and Take Away preference test for varying degrees of hedonic disparity. **Food Quality and preference**, v.22, p. 60-65, 2011.

YANES, M.; DURÁN, L.; COSTELL, E. Effect of hydrocolloids type and concentration on flow behavior and sensory properties of milk model systems. **Food Hydrocolloids**, v. 16, p. 605-611, 2002.

YAPO, B. Biochemical Characteristics and Gelling Capacity of Pectin from Yellow Passion Fruit Rind as Affected by Acid Extractant Nature. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p.1572-1578, 2009.

YOUTEN, W.J.; STEINER, E.H. **Statistical Manual of the AOAC**. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA. 1975.

ZIEGLER, F.L.F; SGARBIERI, V.C. Caracterização químico-nutricional de um isolado proteico de soro de leite, um hidrolisado de colágeno bovino e misturas dos dois produtos. **Revista de Nutrição**, v. 22, n.1, p.61-70, 2009.

**CAPÍTULO II:** Desenvolvimento e otimização das características sensoriais, físico-químicas e reológicas de um achocolatado misto de soro de leite doce e extrato aquoso de soja

## **Desenvolvimento e otimização das características sensoriais, físico-químicas e reológicas de um achocolatado misto de soro de leite doce e extrato aquoso de soja**

### **Resumo**

Considerando o alto valor biológico das proteínas do soro de leite doce e o efeito dos componentes da soja na redução de incidência de doenças cardiovasculares e tumores cancerígenos, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um achocolatado misto de extrato hidrossolúvel de soja dissolvido em soro de leite doce. Para a elaboração da bebida utilizou-se um delineamento de misturas tipo simplex centróide contendo sete formulações, no qual diferentes concentrações de carragena, pectina e amido foram testadas. Foram feitas análises físico-químicas (pH, acidez, teor de umidade, cinzas, açúcar redutor e redutor total, lipídios, proteínas e sólidos solúveis) sensoriais e reológicas e os resultados foram submetidos à análise pela metodologia de superfície de resposta, seguida de otimização das formulações. Os valores médios de aceitação sensorial das bebidas variaram de 7,13 a 7,54, baseada em uma escala de 9 pontos, sendo que as formulações mais aceitas apresentavam em comum menor viscosidade instrumental e presença de pectina. Foi possível observar que o uso do amido de mandioca como espessante não interfere negativamente nas características reológicas e sensoriais do produto e que a mistura binária de carragena e pectina combinadas possui um efeito positivo na aceitabilidade sensorial da bebida. Utilizando a função de desejabilidade, a formulação contendo 46% de carragena e 54% de pectina foi definida a melhor formulação em relação aos parâmetros físico-químicos e aceitabilidade sensorial.

**Palavras chaves:** soro doce, extrato aquoso de soja, carragena, pectina e amido de mandioca, planejamento simplex centróide e otimização.

## ABSTRACT

### **Development and optimization of a mixed chocolaty sweet whey and soy aqueous extract**

Given the high biological value of protein from sweet whey and the great effect components of soybeans on the reduction of incidence the cardiovascular diseases and cancerous tumors, the aim of this study was to develop a mixed chocolate-soluble soybean extract dissolved in sweet whey. For the preparation of mixed chocolate, was applied a mixture design simplex type centroid containing seven preparations was used, in which different concentrations of carrageenan, pectin and starch were tested. Physico-chemical analysis, sensory and rheological properties were conducted and the results were subjected to response surface methodology, followed by optimization of the formulations. Average scores of sensory acceptability of the beverages ranged from 7.13 to 7.54, based on a 9-point scale, with the most accepted formulations containing lower instrumental viscosity and contain pectin. It was observed that the use of cassava starch as a thickener does not interfere negatively on the rheological and sensory characteristics of the product and that the binary mixture of carrageenan and pectin combined, has a positive effect on the sensory acceptability of drink. Using the multi-function response desirability, the formulation containing 46% carrageenan and 54% pectin was definitely the best formulation in relation to the physico-chemical parameters and sensory acceptability.

**Key words:** sweet whey, soy aqueous extract, carrageenan, pectin and tapioca starch, simplex centroid planning and optimization.

## 1. INTRODUÇÃO

Devido a diversas aplicações tecnológicas do leite e do seu elevado poder nutricional, produtos lácteos e seus derivados tiveram um compreensivo destaque no ramo de indústrias alimentícias nos últimos anos (BANASZEWSKA et al., 2013). O soro de leite é um subproduto obtido do processamento do queijo e retém cerca de 55% dos nutrientes do leite (PESCUMA et al., 2010). A composição centesimal aproximada do soro líquido é constituída por 5-6% de lactose, 93% de água, 0,85% de proteínas, 0,53% de sais minerais e 0,36% de gordura (PESCUMA et al., 2010).

As proteínas do soro excedem as das demais fontes alimentares em torno de 15% em relação valor biológico devido às altas concentrações de isoleucina, leucina, valina, metionina e cisteína (SMITHERS, 2008). Dentre os benefícios das proteínas do soro à saúde estão sua ação na diminuição do risco de doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer, diabetes e osteoporose, aumento dos níveis de glutatona, funções antimicrobianas, além da sensação de saciedade (AGUILAR-NASCIMENTO et al., 2011; TAHAVORGAR et al., 2014).

Se antes era considerado um efluente de difícil tratamento e altamente poluente, hoje o soro é aproveitado de diversas maneiras, entre elas se destacam a recuperação das proteínas, fermentação e hidrólise da lactose em seus monossacarídeos constituintes (SMITHERS, 2008; PESCUMA et al., 2010; RIVAS et al., 2011; PRAZERES et al., 2012). O soro tem sido bastante utilizado na produção de bebidas, como por exemplo, aquelas à base de soro de leite fermentado usando cepas de *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermani* (MAITY et al., 2008), energéticas à base de soro de leite hidrolisado (SINGH; SINGH, 2012) e bebida funcional à base de soro com polpa de manga em pó e semente de linhaça (GAD et al., 2013).

Outra matéria com ampla aplicação industrial, devido ao fato de ser uma fonte rica em proteínas, fibras, gordura insaturada e isoflavonóides é a soja (KWON et al., 2011; HE; CHEN, 2013). Tem sido reportada pelos seus efeitos na saúde humana como redução do colesterol total e LDL e diminuição de risco frente alguns tipos de câncer, controle de diabetes, obesidade, doenças intestinais e renais (MARSH et al., 2011; YIMIT et al., 2012; LEE et al., 2014). Devido ao seu alto valor nutritivo, muitos produtos com soja já foram desenvolvidos como alternativa para substituir produtos e derivados do leite para consumo por indivíduos intolerantes à lactose. Dentre as

principais aplicações da soja, a produção de bebidas como substituto ao leite bovino é uma das mais viáveis. Além da baixa concentração de cálcio, um dos fatores que limitam o consumo do leite de soja é o sabor característico e desagradável de feijão cru, causado pela auto-oxidação dos lipídios por lipoxigenases (RODRÍGUEZ-ROQUE et al., 2014) Para mascarar esse sabor, a utilização de aromas e edulcorantes, polpas de frutas e outros extratos, como achocolatados, é uma opção tecnologicamente viável do ponto de vista industrial (ULIANA et al, 2012).

Devido à interação de constituintes hidrofóbicos e hidrofílicos, diversos alimentos são considerados emulsões de óleo em água ou água em óleo (HUANG et al, 2011; GUO et al., 2014). Por causa da sua capacidade de manter a emulsão estável, sem a separação de fases, garantindo o espessamento e geleificação, o uso de estabilizantes na fabricação de bebidas lácteas é recomendado para garantir as propriedades reológicas do produto, tais como textura, viscosidade e consistência (LAL et al., 2006; LEE; LUCEY, 2010).

Dentre os principais estabilizantes com ação emulsificante que podem ser utilizados estão o amido, carragena e a pectina. O amido é um polissacarídeo formado de amilose (20-30%) e amilopectina (70-80%), que interagem entre si por ligações de hidrogênio formando grânulos (MADRUGA et al., 2014). É muito utilizado como espessante, estabilizante, agente de textura, ligante de água ou de gordura e geleificante (LEITE et al., 2012). O amido de mandioca se destaca em relação aos demais, devido à sua alta capacidade de retenção de água e baixa temperatura de gelatinização (PEDROSO; DEMIATE, 2008).

A carragena é um hidrocolóide extraído de algas vermelhas da classe das *Rhodophyceas*, formado por polímeros sulfatados (PEDROSO; DEMIATE, 2008). É um agente formador de gel e, por sua propriedade estabilizante de emulsões (óleo em água), evita a separação das fases durante a armazenagem do produto. Também é um dos principais estabilizantes usados em produtos lácteos, sendo necessárias concentrações mínimas na formulação para obter uma boa viscosidade (NIKAEDO et al., 2004).

A pectina é um polissacarídeo aniônico constituído por um esqueleto de ácido galacturônico parcialmente metilesterificado, contém grupos de arabinose, galactose glicose e xilose (LAM et al., 2008). Apresenta aspecto branco, amorfo e não tóxico, podendo ser extraído de cascas de frutas cítricas, de frutos maduros

como ameixa, maçã, pêssego e outros tipos de vegetais (HUANG et al.,2011). É muito utilizada como um estabilizador de emulsões em bebidas à base de proteínas, devido à sua propriedade de reduzir a tensão interfacial entre óleo e água (GUO et al., 2014).

Levando em consideração os efeitos benéficos e aporte nutricional do soro bovino além das propriedades funcionais da proteína de soja, o desenvolvimento de um produto que combine esses dois ingredientes parece promissor do ponto de vista nutricional, tecnológico e ambiental. Assim, este trabalho objetivou otimizar as características sensoriais, físico-químicas e reológicas de uma bebida à base de soro doce de leite e extrato aquoso de soja adicionada de carragena, pectina e amido como estabilizantes.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Materiais

Para elaboração da bebida mista utilizou-se extrato aquoso de soja da marca PROVESOL FB®, fornecido pela OLVEBRA INDUSTRIAL S/A. Um extrato proteico obtido a partir dos grãos descortçados de soja, submetido a tratamento térmico adequado para inativação dos fatores antinutricionais, em que a fração solúvel é concentrada e seca por processo de *spray-drying*. O soro doce foi proveniente do processamento de queijo tipo minas frescal da empresa Queijo Trançado, localizada em Carambeí-PR. Os estabilizantes carragena LRA-50 da marca GENULACTA® e pectina LA-210 GRINDSTED®, foram fornecidos pelas empresas CP Kelco e Danisco, respectivamente. O amido de mandioca foi fornecido pela empresa Amidos Pasquini, de Nova Esperança, PR, e os demais ingredientes, sacarose, chocolate em pó e essência de baunilha, foram adquiridos no comércio local.

### 2.2. Métodos

### 2.2.1. Preparo da bebida

O soro foi coletado imediatamente após sua geração, em galão de polietileno com capacidade de 50 litros, e transportado ao laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa, para filtração e pasteurização à 90°C durante 10 minutos. Em seguida foi adicionado 0,02% de citrato de sódio e monofosfato de sódio para manter o pH estável. Após a pasteurização, o soro foi armazenado em galões de polietileno de alta densidade com capacidade para cinco litros e mantido congelado a -18°C até o momento de seu uso. Todos os ingredientes utilizados na elaboração das formulações foram determinados a partir de testes prévios. Na Tabela 3 estão descritas as quantidades dos ingredientes para 100 mL de soro, usadas no preparo das bebidas, sendo que foram elaborados 2L de cada formulação. As proporções de estabilizantes foram definidas pelo planejamento de mistura simplex centroide descrito no item 2.2.2.

**Tabela 3** – Ingredientes utilizados nas formulações, em 100mL de soro.

Ingredientes	Quantidade (g)
Extrato de soja	5,5
Sacarose	4,5
Chocolate em pó	6,0
Essência de baunilha	0,1
Carragena*	—
Pectina*	—
Amido*	—

\* Quantidades expressas de acordo com o planejamento experimental de misturas.

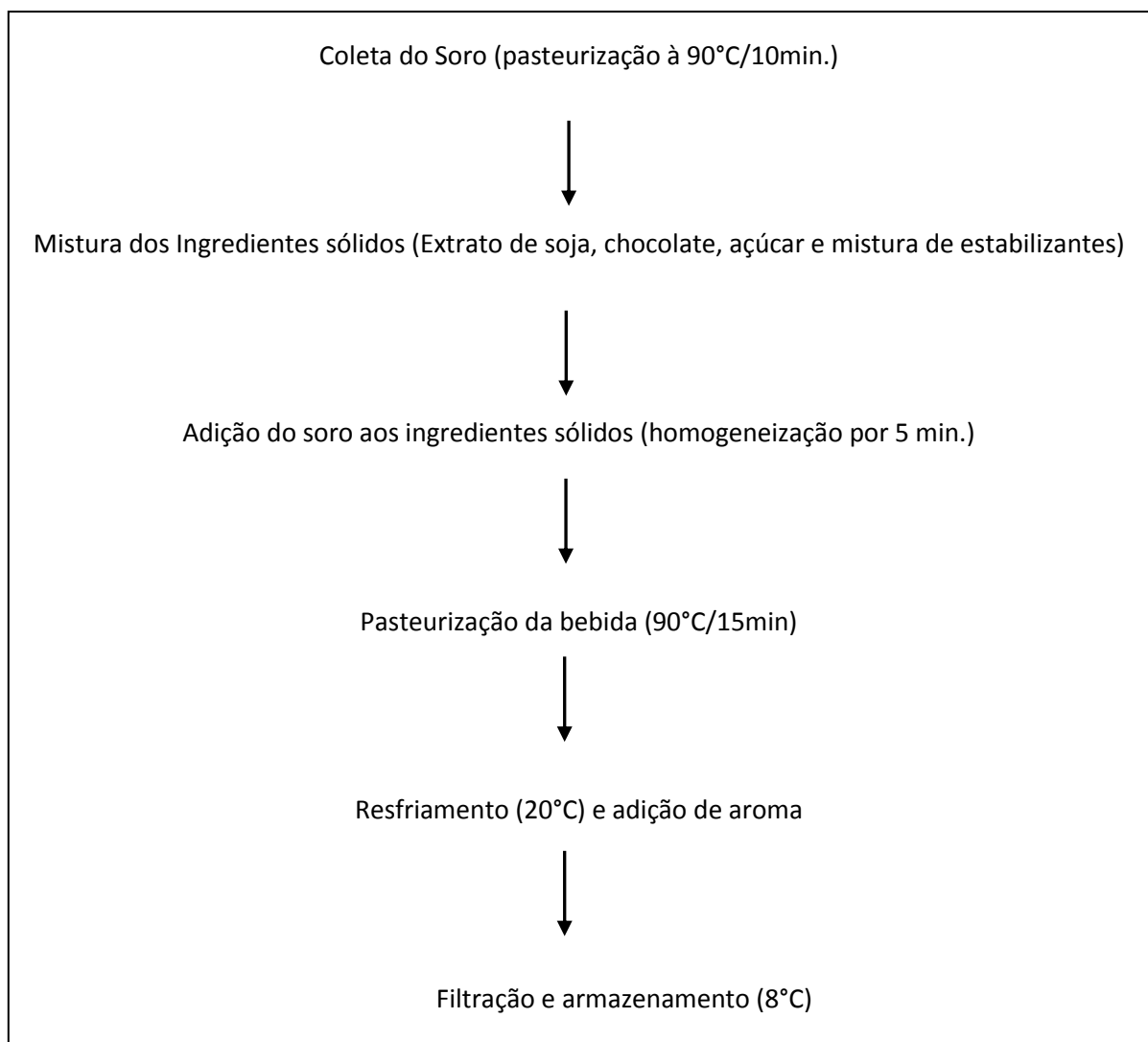
Os ingredientes em pó (extrato de soja, açúcar, chocolate em pó, mistura de estabilizantes) foram pesados, misturados e depois acrescentados lentamente ao soro. Esta base foi transferida para um agitador industrial POLI® modelo LS-08, homogeneizada durante 5 minutos, pasteurizada, em batelada, por 15 minutos a



uma temperatura de 90°C e imediatamente resfriada a 20°C. Após resfriada foi acrescentado o aroma de baunilha. A bebida foi, então, filtrada em filtro de pano estéril e envasadas em garrafas de vidro previamente autoclavadas, e armazenadas sob refrigeração a 8°C.

A partir da Figura 6 é possível observar com maior clareza o preparo da bebida.

**Figura 6** – Etapas de elaboração das formulações.



### 2.2.2. Planejamento experimental

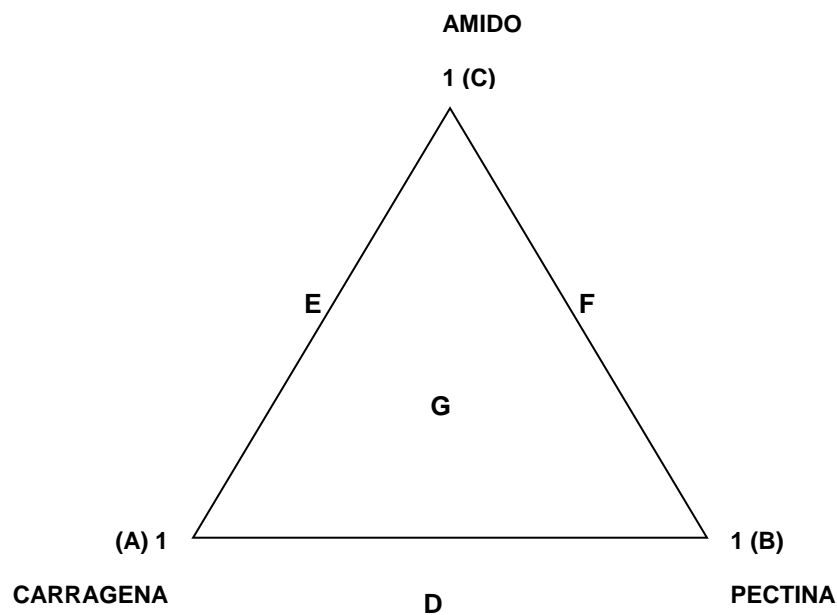
O preparo das diferentes formulações foi feito a partir de um planejamento experimental de mistura simplex centroide, no qual as variáveis independentes

foram as diferentes proporções dos estabilizantes carragena, pectina e amido de mandioca (Tabela 4). No total, sete amostras diferentes foram testadas quanto aos efeitos isolados, binários e ternário dos estabilizantes (Figura 7). Os valores máximos e mínimos de cada estabilizante foram determinados a partir de testes prévios.

**Tabela 4** – Planejamento experimental usado no desenvolvimento da bebida mista de soro e soja.

Ensaio	Variáveis independentes					
	Valores Codificados			Valores reais (g.100 mL <sup>-1</sup> )		
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Carragena (X <sub>1</sub> )	Pectina (X <sub>2</sub> )	Amido (X <sub>3</sub> )
A	1	0	0	0,025	0,000	0,000
B	0	1	0	0,000	0,150	0,000
C	0	0	1	0,000	0,000	0,500
D	1/2	1/2	0	0,013	0,075	0,000
E	1/2	0	1/2	0,013	0,000	0,250
F	0	1/2	1/2	0,000	0,075	0,250
G	1/3	1/3	1/3	0,008	0,050	0,167

**Figura 7** – Visualização dos pontos determinados pelo planejamento simplex centróide.



### 2.2.3. Análises físico-químicas e reológicas

Na caracterização físico-química da bebida, realizaram-se análises de pH, pelo método potenciométrico em aparelho LABMETER modelo PH 2, acidez titulável pelo método titulométrico e sólidos solúveis pelo refratômetro digital ATAGO que expressa os resultados em graus Brix. O teor proteínas foi determinado pelo método de Kjeldahl, o teor de açúcares totais e totais redutores através do método de Lane-Eynon empregando soluções de Feling. A quantidade de lipídios foi determinada pelo método de Gerber. O teor de umidade e cinzas foi determinado por gravimetria. Todas as análises foram realizadas em triplicata seguindo a metodologia descrita em AOAC (2002).

Os parâmetros reológicos foram determinados utilizando-se o Viscosímetro de Brookfield modelo LDVII+PRO, com *spindle* de número 18, porcentagem de torque máxima de 100 e temperatura de 8°C. Os dados de índice de consistência e fluidez foram calculados pelo software Wingther® for Windows® 2.2 (Brookfield Engineering Laboratories) baseando-se na Lei da Potência (DRUNKLER et al.; 2012). Todas as análises reológicas foram realizadas em triplicata.

### 2.2.4. Análises microbiológicas

Contagem de coliformes a 45°C, pelo método do número mais provável, contagem de *Bacillus cereus* e pesquisa de *Salmonella* sp foram efetuadas em triplicata, conforme o Regulamento Técnico sobre padrões de qualidade microbiológico para alimentos (BRASIL, 2001).

### 2.2.5. Análise sensorial

A avaliação sensorial das bebidas foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos (Laboratório 07) no bloco CIPP da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Um total de 100 avaliadores não treinados (67 mulheres e 33 homens) avaliaram individualmente cada amostra, fornecendo um total de 700 respostas. Os atributos sabor, doçura, viscosidade, impressão foram avaliados através da escala hedônica de nove pontos, onde 1 corresponde a “Desgostei muitíssimo” e 9 a “Gostei muitíssimo” na escala hedônica. A intenção de compra foi verificada através da Escala de Atitude, onde 1 corresponde a “certamente não

compraria” e 5 a “ certamente compraria” na escala de atitude na escala de atitude (LAWLES; HEYMANN, 1999). Antes de cada avaliação os indivíduos foram informados sobre a dinâmica do teste e convidados a assinar o termo de consentimento aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e Seres Humanos da Universidade Estadual de Ponta Grossa (CAAE de nº. 091.80913.1.0000.0105). As amostras foram apresentadas aos avaliadores de forma monádica e em três sessões (LAWLESS e HEYMANN, 1999). Cada avaliador recebeu 30 mL de cada bebida a 7°C, servidos em copos plásticos codificados com 3 dígitos. Os testes foram realizados sob condições de luz normal e temperatura de 20°C.

### 2.2.6. Análise estatística

Inicialmente os dados obtidos foram avaliados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e quanto à homogeneidade de variâncias pelo teste de Levene. Em seguida, de acordo com a interpretação das análises aplicou-se análise de variância (ANOVA) unifatorial seguida do teste de Fisher para comparações múltiplas em dados paramétricos. O teste de Welch prosseguido de Kruskal-Wallis ANOVA foi utilizado para dados que não eram homoscedásticos e não seguiram uma distribuição normal, respectivamente. Valores de p abaixo de 0,05 foram utilizados para rejeitar a hipótese de nulidade (GRANATO et al., 2014). O teste de correlação de Spearman foi aplicado para verificar as associações entre os dados.

Para avaliar os efeitos das variáveis independentes nas respostas, foi aplicada a Metodologia de Superfície de Resposta, seguindo o modelo quadrático ajustado da Equação 7 (GRANATO et al., 2010). As respostas são representadas por  $\hat{Y}$ ;  $b_1$ ,  $b_2$ ,  $b_3$ ,  $b_{11}$ ,  $b_{22}$ ,  $b_{33}$ ,  $b_{12}$ ,  $b_{13}$  e  $b_{23}$  os coeficientes de regressão e  $x_1$ ,  $x_2$  e  $x_3$  os fatores codificados.

$$\hat{Y} = b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 \quad (7)$$

Através da análise de variâncias ANOVA avaliaram-se as variáveis de resposta, os termos não significativos ( $p > 0,10$ ) foram excluídos do modelo inicial e os resultados foram reajustados utilizando a equação 7. Os modelos de regressão gerados foram avaliados quanto à sua qualidade estatística pelo coeficiente de determinação  $R^2$  e o coeficiente de determinação ajustado ( $R^2_{adj}$ ), que mostram a

porcentagem da variabilidade explicada pelo modelo matemático, e também pelo valor de probabilidade (p-valor) do modelo de regressão múltiplo.

Para otimizar os parâmetros sensoriais e físico-químicos da bebida adicionada de soro e soja, empregou-se a função de desejabilidade (D-valor) proposto por Derringer e Suich (1980). Todos os dados foram analisados pelo *software* Statistica 7.0 (Statsoft Inc. South America, Tulsa, OK, USA) e Acion 2.6 (Statcamp, São Paulo, Brasil).

A otimização da formulação da bebida gerou uma formulação final que foi desenvolvida e avaliada segundo os mesmos procedimentos experimentais descritos acima. Os valores dos dados experimentais foram comparados com os valores propostos pelo modelo de regressão através do teste *t*-Student para amostras independentes (Granato et al., 2010).

### **3. Resultados e discussão**

#### **3.1. Caracterização das formulações**

Em relação aos resultados das análises microbiológicas, todas as formulações apresentaram-se dentro dos padrões exigidos pelo Regulamento Técnico sobre padrões e qualidade microbiológico para alimentos (BRASIL, 2001), sendo  $< 3\text{NMP/mL}$  a contagem de coliformes a  $45^{\circ}$ ,  $< 10^2$  UFC/mL para *B. cereus* e ausência de *Salmonella sp.*

Os resultados obtidos na caracterização físico-química estão descritos na Tabela 5 e observou-se que todas as respostas tiveram diferença significativa entre as formulações, exceto para cinzas ( $p=0,35$ ). Em relação ao pH, verifica-se pouca variação entre as formulações, mesmo havendo diferença estatística ( $p<0,001$ ), já que a matéria prima e o processamento foram os mesmos, diferenciando-se apenas a concentrações dos estabilizantes. As formulações que contêm amido apresentaram os menores valores de proteínas. A amostra B (100% pectina) mostrou maior valor quanto ao teor de proteína ( $p<0,001$ ), semelhante à amostra D (50% carragena e 50% pectina). Em relação à amostra (D), é interessante observar que foi a que apresentou os maiores teores de acidez, gordura, sólidos solúveis,

açúcares redutores totais. Em sua bebida energética à base de soro de leite bovino utilizando carboximetilcelulose e pectina como espessantes, Singh e Singh (2012), encontraram dados próximos para sólidos solúveis (20,36% v/v) e açúcares redutores totais (19,20% v/v).

Quanto ao teor de açúcar redutor a amostra A (100% carragena) apresentou maior valor. Os teores de proteínas, gordura e cinzas, estão muito acima dos encontrados por Singh e Singh (2012), o que se deve ao fato de estar unindo proteínas do soro de leite e do extrato de soja. Trajan et al. (2009) produziram bebidas à base de soro de leite de cabra sabores morango e pêssego. Os valores encontrados para sólidos solúveis também são bem próximos aos encontrados neste estudo, 19,34% no sabor pêssego e 19,52% no sabor morango. Em relação ao teor de lipídeos, os resultados foram de 0,45% (pêssego) e de 0,40% (morango). O teor médio de proteínas para ambos os sabores foi de 0,92%. Em relação à este último parâmetro, pode-se verificar que a concentração proteica encontrada é bem maior do que a encontrada no referido trabalho, teores estes que fornecem grandes quantidades dos aminoácidos essenciais necessários à dieta diária humana.

O comportamento reológico das formulações está relatado na Tabela 6. É possível verificar que as amostras D (50% carragena e 50% pectina) e B (50% pectina), apresentam maior viscosidade. Indicando que no sistema de bebida mista, a carragena e pectina, influenciam na viscosidade, sendo os valores maiores do que quando comparada ao seu uso isolado (amostra A). De acordo com Leite et al. (2012), quando combinada com outros hidrocolóides tais como amido ou pectina, a carragena atua de maneira mais eficiente nas propriedades reológicas dos alimentos. Outro fator que também interfere na viscosidade é a quantidade de sólidos solúveis, sendo que, a viscosidade diminui na mesma proporção de redução do teor de sólidos solúveis, causada pelo aumento da concentração de soro (GAUCHE et al., 2009; CASTRO et al., 2013).

**Tabela 5:** Caracterização físico-química das formulações

Misturas	Valores Codificados			Variáveis Dependentes								
	*X <sub>1</sub>	*X <sub>2</sub>	*X <sub>3</sub>	Umidade (g.100 ml <sup>-1</sup> )	Cinzas (g.100 ml <sup>-1</sup> )	Prot. (g.100 ml <sup>-1</sup> )	pH	Acidez (°D)	Lipídeos (g.100 ml <sup>-1</sup> )	S. Solúveis (°Brix)	<sup>1</sup> A.R (g.100 ml <sup>-1</sup> )	<sup>2</sup> ART (g.100 ml <sup>-1</sup> )
A	1	0	0	80,65 <sup>a</sup> ± 0,23	4,55 ± 0,17	3,41 <sup>b</sup> ± 0,04	6,55 <sup>a</sup> ± 0,01	13,20 <sup>c</sup> ± 0,06	1,72 <sup>bcd</sup> ± 0,03	20,00 <sup>e</sup> ± 0,17	3,70 <sup>a</sup> ± 0,50	12,11 <sup>bc</sup> ± 0,43
B	0	1	0	79,48 <sup>bc</sup> ± 0,34	4,54 ± 0,07	3,68 <sup>a</sup> ± 0,13	6,51 <sup>c</sup> ± 0,01	14,65 <sup>b</sup> ± 0,10	1,77 <sup>ab</sup> ± 0,03	20,63 <sup>cd</sup> ± 0,06	3,49 <sup>a</sup> ± 0,06	11,81 <sup>bc</sup> ± 0,54
C	0	0	1	79,99 <sup>ab</sup> ± 0,07	4,44 ± 0,06	3,11 <sup>c</sup> ± 0,05	6,54 <sup>ab</sup> ± 0,01	13,50 <sup>c</sup> ± 0,15	1,75 <sup>bc</sup> ± 0,05	20,90 <sup>c</sup> ± 0,10	3,58 <sup>a</sup> ± 0,27	12,68 <sup>b</sup> ± 0,53
D	1/2	1/2	0	79,23 <sup>c</sup> ± 0,83	4,54 ± 0,22	3,64 <sup>a</sup> ± 0,13	6,50 <sup>c</sup> ± 0,01	15,35 <sup>a</sup> ± 0,10	1,82 <sup>a</sup> ± 0,03	21,87 <sup>a</sup> ± 0,06	3,41 <sup>a</sup> ± 0,31	13,81 <sup>a</sup> ± 0,53
E	1/2	0	1/2	79,48 <sup>bc</sup> ± 0,49	4,67 ± 0,12	3,23 <sup>bc</sup> ± 0,19	6,54 <sup>b</sup> ± 0,02	14,26 <sup>b</sup> ± 0,17	1,63 <sup>e</sup> ± 0,03	21,63 <sup>a</sup> ± 0,25	3,31 <sup>a</sup> ± 0,25	11,60 <sup>c</sup> ± 0,37
F	0	1/2	1/2	79,79 <sup>bc</sup> ± 0,44	4,61 ± 0,11	3,25 <sup>bc</sup> ± 0,08	6,53 <sup>b</sup> ± 0,01	11,98 <sup>d</sup> ± 0,61	1,70 <sup>cd</sup> ± 0,05	21,20 <sup>b</sup> ± 0,20	3,46 <sup>a</sup> ± 0,28	12,32 <sup>bc</sup> ± 0,25
G	1/3	1/3	1/3	80,08 <sup>ab</sup> ± 0,15	4,52 ± 0,05	3,30 <sup>b</sup> ± 0,02	6,55 <sup>ab</sup> ± 0,02	11,98 <sup>d</sup> ± 0,61	1,68 <sup>de</sup> ± 0,03	20,43 <sup>d</sup> ± 0,12	2,65 <sup>b</sup> ± 0,16	13,80 <sup>a</sup> ± 0,24
P-VALOR**				0,61	0,55	0,78	0,72	0,79	0,96	0,73	0,76	0,94
P-VALOR***				0,02	0,35	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

\*X<sub>1</sub> (carragena), X<sub>2</sub> (pectina) e X<sub>3</sub> (amido). \*\*Valores de probabilidade obtidos pelo teste de Levene. \*\*\*Valores de probabilidades obtidos por ANOVA unifatorial ou ANOVA Kruskal-Wallis. Diferentes letras na mesma coluna representam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Fisher LSD ou Kruskal –Wallis (p<0,05). 1 Açúcar Redutor, 2 Açúcar Redutor Total.

É possível verificar que a pectina influencia negativamente em relação aos demais estabilizantes no índice de consistência. As amostras que contêm pectina em alguma concentração B (100%), F (50%) e G (33%) foram as que apresentaram menor valor em relação às amostras que contêm amido ou carragena em sua formulação, com valores de  $\rho=0,4896$  e  $p=0,265$  na análise de correlação dos dados.

**Tabela 6** –Caracterização reológica das formulações.

Misturas	Valores Codificados			Viscosidade (mPa.s)	Índice de Fluidez	Índice de Consist.
	*X <sub>1</sub>	*X <sub>2</sub>	*X <sub>3</sub>			
A	1	0	0	10,76 <sup>d</sup> ± 0,50	0,75 <sup>e</sup> ± 0,01	42,93 <sup>bc</sup> ± 0,80
B	0	1	0	13,54 <sup>b</sup> ± 0,72	0,83 <sup>a</sup> ± 0,01	34,40 <sup>d</sup> ± 0,23
C	0	0	1	13,18 <sup>b</sup> ± 0,06	0,80 <sup>cd</sup> ± 0,01	40,63 <sup>c</sup> ± 0,72
D	1/2	1/2	0	15,44 <sup>a</sup> ± 0,38	0,78 <sup>d</sup> ± 0,01	50,87 <sup>a</sup> ± 0,60
E	1/2	0	1/2	13,30 <sup>b</sup> ± 0,51	0,78 <sup>d</sup> ± 0,01	45,63 <sup>b</sup> ± 0,67
F	0	1/2	1/2	12,12 <sup>c</sup> ± 0,28	0,82 <sup>ab</sup> ± 0,01	33,30 <sup>d</sup> ± 0,87
G	1/3	1/3	1/3	11,18 <sup>d</sup> ± 0,30	0,81 <sup>bc</sup> ± 0,02	32,13 <sup>d</sup> ± 0,60
P-valor**				0,12	0,35	0,59
P-valor***				<0,001	<0,001	<0,001

\*X<sub>1</sub> (carragena), X<sub>2</sub> (pectina) e X<sub>3</sub> (amido).

\*\*Valores de probabilidade obtidos pelo teste de Levene.

\*\*\* Valores de probabilidades obtidos por ANOVA unifatorial ou ANOVA Kruskal-Wallis.

Diferentes letras na mesma coluna representam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Fisher LSD ou Kruskal –Wallis ( $p<0,05$ ).

Segundo Marafon (2011) o aumento do teor de sólidos melhora a consistência do produto, isso pode ser confirmado através dos dados obtidos nas amostras D e E que apresentam maiores valores nesse parâmetro e contém os maiores teores de sólidos solúveis. Gad et al. (2013) desenvolveram uma bebida à base de soro de leite reconstituído, polpa de manga em pó e semente de linhaça e o produto apresentou viscosidade aparente igual a 20,7 cP e sólidos solúveis de 21%, maiores



que os apresentados neste trabalho. No entanto em relação ao teor de proteínas o valor foi menor, 1,2%.

Para índice de fluidez ( $n$ ) os cálculos seguiram a Lei da Potência e de acordo os dados obtidos (valores de  $n < 1$ ), é possível classificar as formulações como fluidos *não-Newtonianos* ligeiramente pseudoplásticos (DRUNKLER et al.; 2012). Drunkler et al. (2012) desenvolveram uma bebida à base de extrato aquoso de soja avaliando os efeitos do amido de mandioca nas propriedades reológicas, observou que as amostras que continham carragena em sua formulação tiveram os maiores valores para viscosidade.

### 3.2. Análise Sensorial

Os resultados obtidos na análise sensorial em relação à escala hedônica e intenção de compra estão descritos na Tabela 7. De acordo com a ANOVA, foi possível observar que não houve diferença significativa nos atributos sabor ( $p=0,44$ ), doçura ( $p=0,49$ ) e viscosidade ( $p=0,96$ ). Talvez pelo fato das diferenças entre as amostras serem muito sutis ao ponto dos avaliadores não terem condições de detectá-las.

Em relação à impressão global, os dados apresentam diferença significativa ( $p=0,02$ ). Os valores médios observados para amostras B (100% pectina), D (50% carragena e 50% pectina) e G (carragena, pectina e amido), foram 7,54; 7,44; 7,45 respectivamente, sugerindo-se que a pectina apresenta maior efeito estabilizante do que os demais agentes. De acordo com Leite et al. (2012) quando combinada com outros hidrocolóides tais como amido e pectina, a carragena atua de maneira mais eficiente nas propriedades de textura, viscosidade e consistência de bebidas lácteas. Foi possível notar forte correlação entre os atributos impressão global e sabor, com  $\rho=0,96$  e  $p=0,01$ , corroborando os resultados obtidos pela análise de variâncias. A bebida com menor nota para impressão global foi a mesma que obteve pior avaliação para sabor, levando à conclusão de que o item sabor é fator impactante na avaliação da impressão global. Pode-se afirmar que todas as formulações foram bem aceitas, obtendo-se escore médio igual ou acima de 7 para todos os atributos,

indicando que notas entre 7 (gostei moderadamente) e 8 (gostei muito) correspondem a gostar moderadamente ou gostar muito.

**Tabela 7 – Resultado da avaliação sensorial das formulações**

Misturas	Valores Codificados			<sup>1</sup> Sabor	<sup>1</sup> Doçura	<sup>1</sup> Viscos.	<sup>1</sup> Imp. Global	<sup>2</sup> Int. de compra
	*X <sub>1</sub>	*X <sub>2</sub>	*X <sub>3</sub>					
A	1	0	0	7,17 ± 1,08	7,40 ± 0,96	7,49 ± 0,92	7,15 <sup>b</sup> ± 0,98	3,74 <sup>abc</sup> ± 0,70
B	0	1	0	7,39 ± 0,96	7,44 ± 0,96	7,38 ± 1,05	7,54 <sup>a</sup> ± 0,93	4,00 <sup>a</sup> ± 0,86
C	0	0	1	7,09 ± 0,90	7,29 ± 1,03	7,35 ± 0,96	7,13 <sup>b</sup> ± 1,00	3,49 <sup>c</sup> ± 0,68
D	1/2	1/2	0	7,30 ± 0,96	7,37 ± 0,92	7,31 ± 0,96	7,44 <sup>a</sup> ± 0,85	3,71 <sup>bc</sup> ± 0,83
E	1/2	0	1/2	7,25 ± 0,85	7,32 ± 0,96	7,35 ± 0,98	7,38 <sup>ab</sup> ± 0,86	3,66 <sup>bc</sup> ± 0,83
F	0	1/2	1/2	7,14 ± 0,97	7,18 ± 0,99	7,35 ± 0,93	7,26 <sup>ab</sup> ± 0,96	3,65 <sup>bc</sup> ± 0,83
G	1/3	1/3	1/3	7,33 ± 0,96	7,49 ± 0,98	7,37 ± 0,99	7,45 <sup>a</sup> ± 0,88	3,85 <sup>ab</sup> ± 0,90
P-valor**				0,13	0,97	0,70	0,85	<0,01
P-valor***				0,44	0,49	0,96	0,02	0,01

\*X<sub>1</sub> (carragena), X<sub>2</sub> (pectina) e X<sub>3</sub> (amido).

\*\*Valores de probabilidade obtidos pelo teste de Levene para homogeneidade de variâncias.

\*\*\* Valores de probabilidades obtidos por ANOVA unifatorial ou ANOVA Kruskal-Wallis. Diferentes letras na mesma coluna representam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Fisher LSD ou Kruskal –Wallis (p<0,05).

1 Dados avaliados pela escala hedônica de nove pontos.

2 Dados avaliados pela escala de atitude de cinco pontos.

Na bebida à base de soro de leite e sabor manga, Gad et al. (2013) avaliaram os atributos aparência, cor e sabor. Todas as formulações obtiveram médias superiores a 7 na escala hedônica, sugerindo que investimentos em desenvolvimento de bebida à base de soro de leite são bem aceitos pela população. Similarmente, Trajan et al. (2009), avaliaram sensorialmente a bebida preparada com soro de leite de cabra. Foram avaliados os atributos cor, aroma, consistência e sabor. Os autores obtiveram notas pouco menores que as deste experimento,

principalmente para sabor. As notas para bebida de pêssego foram de 5,35 e para as de morango 6,19.

### 3.3. Análise de Regressão Múltipla

Levando em consideração a necessidade de haver diferença significativa dos fatores concentração de espessantes, para  $p < 0,05$ , nas respostas, as seguintes variáveis foram submetidas à análise de regressão múltipla: viscosidade instrumental, impressão global e intenção de compra. A representação dos coeficientes de regressão, erro padrão, intervalo de 95% de confiança e significância dos modelos (p-valores) estão apresentados na Tabela 8.

Em relação à viscosidade instrumental o modelo matemático proposto não foi significativo ( $p=0,8760$ ) e uma pequena parcela de variabilidade dos dados foi explicada ( $R^2 = 0,0760$  e  $R^2_{ajus} < 0,001$ ), indicando que este parâmetro não pode ser devidamente explicado (modelado) com os resultados experimentais obtidos.

Para impressão global os coeficientes de regressão  $R^2=0,8910$ ,  $R^2_{ajus}= 0,7820$  e  $p=0,0590$  (ANOVA) obtidos pelo modelo ajustado, indicam que o modelo é robusto e que explica 89% da variabilidade dos dados experimentais. Em relação aos efeitos dos estabilizantes, observa-se que a pectina (B) contribui consideravelmente ( $p < 0,0001$ ) no aumento do valor médio da impressão global, apresentando um coeficiente de 7,56.

A interação entre carragena e amido não foi estatisticamente significativa na resposta sensorial ( $p= 0,0769$ ). Para intenção de compra, os valores gerados pelo modelo matemático ajustado explicam, aproximadamente, 97% da variabilidade dos dados experimentais, com  $R^2=0,9659$ ,  $R^2_{ajus}=0,9317$  e  $p=0,010$ . Ao analisar o efeito da interação binária entre os estabilizantes, verificou-se que a interação entre carragena e pectina contribui significativamente para o aumento da média na intenção de compra ( $p=0,0036$ ).

A contradição entre gostar de uma formulação e comprar outra se deve ao fato de se trabalhar com avaliadores não treinados, mas que representam a população em geral. Além disso, gostar de um produto não implica

necessariamente em comprá-lo, uma vez que o consumo envolve hábitos particulares, além de aspectos não sensoriais, como disponibilidade no varejo, promoção, propaganda, entre outros.

**Tabela 8** – Coeficiente de regressão, erro padrão, limite de confiança e significância dos modelos de regressão gerados.

Fator	Coef. de Regressão	Erro padrão	+95%	-95%	p-valor
<b>Impressão Global</b>					
A (carragena)	7,1904	0,0666	7,1905	6,9783	<0,0001
B (pectina)	7,5604	0,0605	7,,5604	7,3679	<0,0001
C (amido)	7,0999	0,0666	7,0999	6,8879	<0,0001
AC (carragena e amido)	0,8878	0,3348	0,8878	-0,1778	0,0769
R <sup>2</sup>	0,8910				
R <sup>2</sup> ajus	0,7820				
p-valor (ANOVA)	0,0590				
<b>Intenção de Compra</b>					
A (carragena)	3,7158	0,0379	3,8364	3,5950	<0,0001
B (pectina)	3,5059	0,0379	3,6267	3,3852	<0,0001
C (amido)	3,7642	0,0344	3,8737	3,6546	<0,0001
AB(carragena e pectina)	1,5843	0,1906	2,1909	0,9776	0,0036
R <sup>2</sup>	0,9659				
R <sup>2</sup> ajus	0,9317				
p-valor (ANOVA)	0,0105				

Em seu trabalho Hein (2010), sugere a inserção de um contexto durante o momento da análise sensorial, e defende que quando se faz uso de informações contextuais que evocam o produto como, por exemplo, aspectos físicos (fotografias), emoções (cenários escritos) a escala hedônica pode ser melhor avaliada. Em outro momento, Kinnear e Kock (2011) acreditam que não é possível avaliar corretamente um produto com apenas uma prova, eles concluíram que os diferentes acidulantes adicionados à bebida esportiva que estavam trabalhando, foram melhor detectados após repetidas exposições do produto, assim como os melhores sabores.

Considerando um futuro desenvolvimento da bebida mista de soro de leite doce e extrato aquoso de soja, pode-se prever possíveis valores médios e intervalos de confiança para impressão global e intenção de compra, através das equações 8 e 9 respectivamente.

$$\text{Imp. global} = +7,19^*(\text{carragena}) + 7,56^*(\text{pectina}) + 7,10^*(\text{amido}) + 0,88^*(\text{carragena} * \text{amido}) + 0,53$$

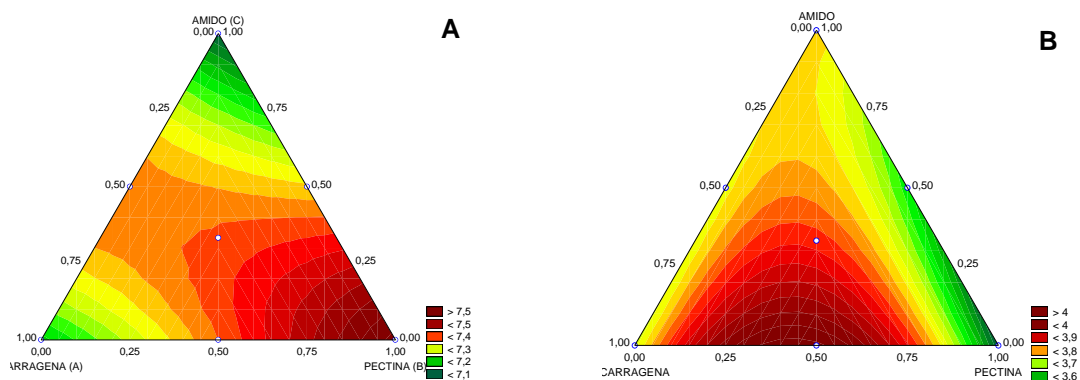
(8)

$$\text{Int. de compra} = +3,72^*(\text{carragena}) + 3,51^*(\text{pectina}) + 3,76^*(\text{amido}) + 1,58^*(\text{carragena} * \text{pectina})$$

(9)

Os dados discutidos para análise de regressão múltipla podem ser confirmados pela análise da Figura 8, onde se encontram os gráficos de contornos para impressão global (8A) e intenção de compra (8B).

**FIGURA 8** – Superfície de Resposta obtida pelo modelo experimental para Impressão Global 8A e intenção de compra 8B.



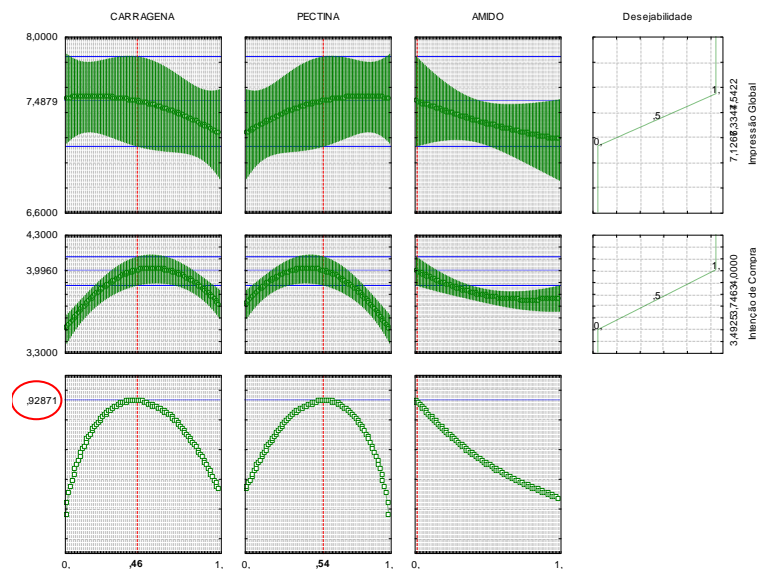
### 3.4. Otimização

Através da otimização pode-se prever qual o ponto ótimo das concentrações de carragena, pectina e amido em relação às respostas. Pela função de desejabilidade calculam-se os valores médios das concentrações propostas pelo modelo. A Figura 9 mostra o perfil dos valores previstos e desejáveis dos estabilizantes, quando se utiliza as concentrações sugeridas pelo modelo otimizado bem como o coeficiente de desejabilidade.

A otimização simultânea das variáveis de resposta indicou que a formulação ideal deveria conter 46% de carragena e 54% de pectina (linhas tracejadas em vermelho) e 0% de amido, com um índice de desejabilidade de 0,929 (valor destacado com círculo vermelho), próximo de 1, indicando consenso nas respostas.

Através da análise da figura 9, baseando-se no intervalo de 95% de confiança, quando testada, essa formulação deveria apresentar nota mínima de 7,13, nota média de 7,48 e nota máxima de 7,84 para impressão global (primeira linha). Para intenção de compra, a formulação deveria apresentar nota mínima de 3,87, média de 3,99 e máxima de 4,11 (segunda linha). A coluna à direita indica os valores mínimos, médios e máximos dentro da função de desejabilidade.

**FIGURA 9** – Perfil de Valores Previstos e Desejáveis para o modelo experimental.



Para examinar a qualidade do modelo, a formulação otimizada foi submetida à análise sensorial, com 92 avaliadores e os dados experimentais foram comparados aos valores mínimos propostos pelo modelo através do teste t para amostra única. O teste apresentou valor médio  $7,11 \pm 1,09$ , t-valor=-0,19 e  $p=0,85$  para impressão global, enquanto que para intenção de compra o valor médio foi de  $3,99 \pm 1,28$ , com t-valor=0,88 e  $p=0,37$ , indicando que o modelo proposto é preditivo.

#### 4.0 Conclusões

Todas as formulações produzidas foram aceitas pelos avaliadores, com médias acima de 7 na escala hedônica, e acima de 3,5 na escala de atitude, indicando que a união do soro de leite com extrato aquoso de soja acrescidos de sabor chocolate é uma excelente alternativa para o desenvolvimento de novos produtos.

A carragena contribuiu para o aumento da viscosidade, no entanto, as formulações mais aceitas foram aquelas que apresentaram menor viscosidade instrumental e que continham pectina em sua formulação. Podendo-se concluir que os consumidores apreciam achocolatados menos viscosos.

Usando a MSR, uma bebida mista de soro de leite bovino e soja adicionada de diferentes espessantes foi otimizada, indicando que a melhor formulação deveria conter 46% de carragena e 54% de pectina. Ainda foi possível perceber que o amido não interfere significativamente nas características reológicas e sensoriais do produto.

#### REFERENCIAS

AGUILAR-NASCIMENTO, J.E.; PRADO SILVEIRA, B. R.; DOCK-NASCIMENTO, D.B. Early enteral nutrition with whey protein or casein in elderly patients with acute ischemic stroke: A double-blind randomized trial. **Nutrition**, v. 27, p. 440–444, 2011

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 17th ed., Gaithersburg, MD: AOAC International, 2002.

BANASZEWSKA, A.; CRUIJSSEN, B.; VAN DER VORST, J.G.A.J.; CLAASSEN, G.D.H.; KAMPMAN, J.L. A comprehensive dairy valorization model. **Journal of Dairy Science**. V. 96, p. 761–779, 2013.

BRASIL, Resolução-RDC, n.12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília – DF, 10 de janeiro de 2001.

CASTRO, W.F.; CRUZ, A.G.; RODRIGUES, D.; GHISELLI, G.; OLIVEIRA, C.A.F.; FARIA, J.A.F.; GODOY, H.T. Effects of different whey concentrations on physicochemical characteristics and viable counts of starter bacteria in dairy beverage supplemented with probiotics. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n.1, p. 96-100, 2013.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, p. 214-219, 1980.

DRUNKLER, L.N.; SANTOS, R; LEITE J.M., MANDARINO, G; IDA, I.E; DEMIATE, M. I. Cassava starch as a stabilizer of soy-based beverages. **Food Science and Technology International**, v. 18, p. 489-499, 2012.

GAD, S.A.; ERMAM,H.W.; MOHAMED, F.G.; SAYD, F.A. Utilization Whey in Production of Functional Healthy Beverage “Whey-mango Beverages”. **Americam Journal of Food Technology**, v.8, n.3, p. 133-148,2013.

GAUCHE, C.; TOMAZI, T.; BARRETO, P.L.M.; OGLIARI, P.J.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n.1, p.239-243, 2009,

GRANATO, D.; CASTRO, I.A.; MASSON, M.L.; NEVES, L.S. Physical stability assessment and sensory optimization of a dairy-free emulsion using response surface methodology . **Journal Food Science**, v.75, p. 149-155, 2010.

GRANATO, D.; CALADO, V. M.A.; JARVIS, B. Observations on the use of statistical methods in food science and technology. **Food Research International**, v.55, p. 137-149, 2014.

GUO, X.; ZHAO, W.; PANG, X.; LIAO, X.; HU, X.; WU, J. Emulsion stabilizing properties of pectins extracted by high hydrostatic pressure, high-speed shearing homogenization and traditional thermal methods: A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v.35,p.217-225, 2014.

HE, F.; CHEN, Q.J. Consumption of soybean, soy foods, soy isoflavones and breast cancer incidence: Differences between Chinese women and women in Western



countries and possible mechanisms. **Food Science and Human Wellness**, v.2, n. 3–4, p. 146-161, 2013.

HEIN, K.A.; HAMID, N.; JAEGER, S.R.; DELAHUNTY, C.M. Application of a written scenario to evoke a consumption context in a laboratory setting: Effects on hedonic ratings. **Food Quality and Preference**, v.21, p. 410–416, 2010.

HUANG, P.H.; LU, H.T; WANG, Y.T.; WU, M.C. Antioxidant Activity and Emulsion-Stabilizing Effect of Pectin Enzyme Treated Pectin in Soy Protein Isolate-Stabilized Oil/Water Emulsion. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p.9623-9628, 2011.

KINNEAR, M.; KOCK, H.L. Would repeated consumption of sports drinks with different acidulants lead to hedonic adjustment? **Food Quality and Preference**, v. 22, p. 340–345, 2011.

KWON, D.Y.; HONG, S. M.; AHN, S.; KIM, M. J.; YANG, H.J.; PARK, S. Isoflavonoids and peptides from meju , long-term fermented soybeans, increase insulin sensitivity and exert insulinotropic effects in vitro. **Nutrition**, v. 27, p. 244–252, 2011.

LAL, N.D.S; CONNOR ,C.J.O.; EYRES, L. Application of emulsifiers/stabilizers in dairy products of high rheology. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 123–126, p. 433–437, 2006.

LAM, M.; PAULSEN, P.; CORREDIG, M. Interactions of Soy Protein Fractions with High-Methoxyl Pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n. 12,2008.

LAWLESS HT, HEYMAN H. 1999. **Sensory evaluation of food: principles and practices**. Gaithersburg: Aspen Publishers, 827p.

LEE, A. H.; SU, D; PASALICH,M; TANG, L.; BINNS, C. W.; QIU, L. Soy and isoflavone intake associated with reduced risk of ovarian cancer in southern Chinese women. **Nutrition Research**, v. 34, p. 302 –307, 2014.

LEE, W.J.; LUCEY, J.A. Formation and physical properties of yogurt. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 9, p. 1127-1136, 2010.

LEITE, T.D; NICOLETI, J.F.; PENNA, A.L.B.; FRANCO, C.M.L. Effect of addition of different hydrocolloids on pasting, thermal, and rheological properties of cassava starch. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.32, n.3, p.579-587, 2012.

MADRUGA, M.S.; ALBUQUERQUE, F.S.M.; SILVA, I.R.A.; AMARAL, D.S.; MAGNANI, M.; NETO, V.Q. Chemical, morphological and functional properties of Brazilian jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) seeds starch. **Food Chemistry**, v. 143, p. 440–445, 2014.

MAITY, T. K.; KUMAR R; MISRA A.K.. Development of healthy whey drink with *Lactobacillus rhanmosus*, *Bifidubacterium bifidum* and *Propionibacterium freudenreichii*, **Advance Journal of Food Science & Technology**. v. 58, N. 4, p. 3015-325, 2008.

MARSH, T.G.; STRAUB, R. K.; Villalobos , F .; YOUNG HONG, M. Soy protein supports cardiovascular health by downregulating hydroxymethylglutaryl – coenzyme A reductase and sterol regulatory element-binding protein – 2 and increasing antioxidant enzyme activity in rats with dextran sodium sulfate – induced mild systemic inflammation. **Nutrition Research**, v. 31, p. 922–928, 2011.

MARAFON, A.P.; SUMI, A.; ALCÂNTARA, M.R.; TAMIME, A.Y.; OLIVEIRA, M.N. Optimization of the rheological properties of probiotic yoghurts supplemented with milk proteins. **Food Science and Technology**, v. 44, p. 511-519, 2011.

NIKAEDO, P.H.L.; AMARAL, F.F; PENNA, A.L.B. Caracterização tecnológica de sobremesas lácteas achocolatadas cremosas elaboradas com concentrado proteico de soro e misturas de gomas carragena e guar. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.40, n. 3, 2004.

PALAI, T; BHATTACHARYA, P.K. Kinetics of lactose conversion to galacto-oligosaccharides by b-galactosidase immobilized on PVDF membrane. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.115, n. 6, p. 668-673, 2013.

PEDROSO, R.A.; DEMIATE, I.M. Avaliação da influência de amido e carragena nas características físico-químicas e sensoriais de presunto cozido de peru. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n.1, p.24-31, 2008.

PESCUMA M.; HÉBERT E. M.; MOZZI F.; VALDEZ G.F. Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria, **International Journal of Food Microbiology**, v. 141, p. 73-81, 2010.

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

RIVAS, J; PRAZERES, A.R.; CARVALHO, F. Aerobic biodegradation of precoagulated cheese whey wastewater. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 6, p. 2511 e 2517, 2011.

SINGH, A.K.; SINGH K. Utilization of whey for the production of instant energy beverage by using response surface methodology. **Advance Journal of Food Science & Technology**.. v. 4,n. 2, p. 103-11, 2012.

SMITHERS, G.W. Whey and whey proteins - From 'gutter-to-gold', **International Dairy Journal**, v. 18, p. 695-704, 2008.

TAHAVORGAR, A.; VAFA, M.; SHIDFAR, F.; GOHARI M.; HEYDARI I. Whey protein preloads are more beneficial than soy protein preloads in regulating appetite, calorie intake, anthropometry, and body composition of overweight and obese men. **Nutrition Research** (2014), doi:10.1016/j.nutres.2014.08.015

TRANJAN, B.C.; CRUZ, A.G.; WALTER, E.H.M.; FARIA, J.A.F.; BOLINI, H.M.A.; MOURA, M.R.; CARVALHO, L.M.J. Development of goat cheese whey-flavoured beverages. **International Journal of Dairy Technology** , v. 62, n. 3, p. 438-443, 2009.

YIMIT, D; HOXUR, P.; AMAT, N.; UCHIKAWA,, U; YAMAGUCHI, N. Effects of soybean peptide on immune function, brain function, and neurochemistry in healthy volunteers. **Nutrition**, v. 28, p. 154–159, 2012.

**CAPITULO III:** Desenvolvimento de achocolatado misto de extrato aquoso de Soja e Soro de leite doce com teor de lactose reduzido

## Desenvolvimento de achocolatado misto de extrato aquoso de soja e soro de leite doce com teor de lactose reduzido

### Resumo

Com a finalidade de atender ao público de indivíduos intolerantes à lactose, fornecendo um produto rico em proteínas, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um achocolatado misto de extrato aquoso de soja dissolvido em soro doce com teor de lactose reduzido. Para comparação sensorial das bebidas foram preparadas duas formulações, uma com soro com lactose e outra com soro com teor de lactose reduzido. O soro foi hidrolisado pela ação da enzima lactase proveniente da levedura *Kluyveromyces lactis*, a concentração 2.500 NLU/L, em uma reação de 4 horas à temperatura de 37°C. A aceitação sensorial das bebidas foi avaliada utilizando a escala hedônica de nove pontos e a escala de atitude. As duas formulações receberam escores médios acima de 8 na escala hedônica, e acima de 3,9 na escala de atitude. A partir da caracterização físico-química, verificou-se que as amostras diferenciaram-se em relação ao pH, teor de acidez, sólidos solúveis, lactose e glicose. O resultado da análise de intenção de compra indicou que 79% dos avaliadores comprariam as bebidas se elas estivessem no mercado. Os avaliadores detectaram diferença entre as formulações apenas no quesito impressão global.

**Palavras chaves:** soro doce, extrato aquoso de soja, carragena, pectina, teor de lactose reduzido e hidrólise.

## ABSTRACT

### **Development of mixed chocolate aqueous extract of soy and sweet whey with reduced lactose content**

In order to satisfy the public of lactose intolerant individuals, providing a product rich in protein, the aim of this study was to develop a mixed chocolate aqueous soy extract dissolved in sweet whey and reduced lactose content. For sensory comparison of the beverages two formulations were prepared, one serum with lactose and another with reduced serum content of lactose. Serum was hydrolyzed by the action of the enzyme lactase from *Kluyveromyces lactis* yeast, concentration 2.500 NLU / l, in a reaction for 4 hours at 37 ° C. The overall acceptance of the drinks was assessed using the nine-point hedonic scale and the scale of attitude. The two formulations received average scores above 8 on the hedonic scale, and above 3.9 on the scale of attitude. From the physic-chemical characterization, it was found that the samples differed with respect to pH, acidity, soluble solids, lactose and glucose. The result of the analysis indicated that intention to purchase 79% of the tasters would buy the drinks if they were on the market. The tasters detected difference between the formulations only in the category overall impression.

**Key words:** sweet whey, soy aqueous extract, carrageenan, pectin content and reduced lactose hydrolysis.

## 1.0 INTRODUÇÃO

A procura por alimentos mais saudáveis, com maiores concentrações de componentes naturais e com maior apelo nutricional tem crescido. Pesquisas sobre o desenvolvimento de produtos com esses quesitos têm se destacado na área de produção de bebidas. O soro de leite pode ser altamente nutritivo quando bem explorado, pois é composto por 5% de lactose, 0,85% de proteínas, 0,53% de sais minerais e 0,36% de gordura (PESCUMA et al., 2010; PRAZERES et al., 2012). Em uma análise comparativa da composição percentual dos constituintes do leite e do soro após a separação do coalho, Smithers (2008) verificou que cerca de 50% dos constituintes sólidos do leite aparecem no soro após a coagulação e que grande parte da lactose é transferida para o soro. O mesmo autor observou que o valor biológico do soro excede as demais fontes (carne, ovos e soja) em torno de 15% devido às altas concentrações dos aminoácidos essenciais isoleucina, leucina e valina.

A lactose é um dissacarídeo constituído por D-glicose e D-galactose, unidos covalentemente por ligações glicosídicas  $\beta$  1  $\rightarrow$  4 (MARIOTTI et al., 2008; GUIMARÃES, 2010; KWAK et al., 2012). Depois de ingerida, a lactose é hidrolisada no intestino delgado em seus constituintes glicose e galactose pela ação da enzima lactase  $\beta$ -galactosidase (MARIOTTI et al., 2008). Na ausência dessa enzima, ou em baixa atividade enzimática, a hidrólise não ocorre e a lactose segue diretamente para o intestino grosso onde sofre fermentação. No cólon do intestino a lactose é hidrolisada, fornecendo substrato para as bactérias realizarem a fermentação. Os produtos dessa reação são gases como metano, hidrogênio e dióxido de carbono e metabólitos como lactato, succinato e etanol, responsáveis pelos sintomas de desconforto gastrointestinais, como cólica e diarreia (PEREIRA, 2014).

A intolerância à lactose, além de causar diversos sintomas desagradáveis como dores abdominais, diarreia e flatulências; atinge aproximadamente 70% da população no mundo (PEREIRA, 2014). Como alternativa, a procura por produtos livres de lactose ou com teor reduzido desse composto tem crescido. Diversas técnicas têm sido utilizadas para reduzir o teor de lactose no leite e seus derivados. Alguns estudos voltam-se para a produção e imobilização da enzima lactase (JURADO et al., 2002; VERMA et al., 2012; KLEIN et al., 2013), já outros citam

métodos de hidrólise química ou enzimática (HAIDER; HUSAIN, 2009; GHAIISH et al., 2011; KWAK et al., 2012 e PRAZERES et al., 2012).

A lactase (E.C. 3.2.1.23) é facilmente encontrada em fontes naturais, podendo ser isolada de plantas, e produzida industrialmente por fungos e bactérias (JURADO et al., 2002). Para controle de hidrólise enzimática, vários são os fatores que devem ser controlados como concentração do substrato, pH, temperatura de trabalho, tempo de reação e presença de inibidores (HARJU et al., 2012).

Na tentativa de atender à demanda da população intolerante à lactose e desenvolver uma bebida com as propriedades potencialmente funcionais das proteínas do soro e da soja, este trabalho tem por objetivo elaborar um achocolatado misto composto de extrato aquoso de soja dissolvido em soro de leite com teor de lactose reduzido.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Materiais**

O soro de leite doce foi proveniente do processo de fabricação do queijo tipo minas frescal produzido pela empresa Queijo Trançado, localizada no município de Carambeí, PR. A enzima lactase da marca MAXILACT® LGX 5000, derivada da levedura *Kluyveromyces lactis*, foi cedida pela empresa DSM Food Specialties. O extrato aquoso de Soja PROVESOL FB® foi fornecido pela Olvebra. Os estabilizantes carragena LRA-50 da marca GENULACTA® e pectina LA-210 GRINDSTED® foram cedidos pelas empresas CP Kelco e Danisco respectivamente. Os demais ingredientes foram adquiridos no comércio local.

### **2.2. Métodos**

#### **2.2.1. Hidrólise do soro doce**

Através da realização de testes prévios (dados não mostrados) orientados pelo fabricante, foram determinadas cinco concentrações diferentes da enzima lactase para hidrolisar o soro doce. A concentração da lactase é expressa em unidades de lactase neutra por litro (NLU/L). Foram analisadas as concentrações de



500NLU/L, 1.000NLU/L, 1.500NLU/L, 2.000NLU/L e 2.500NLU/L. O pH do soro foi corrigido para 6,8 com solução de hidróxido de potássio 4N e a enzima foi dissolvida em tampão fosfato de potássio 1 M com  $MgCl_2$  1 mM. A reação deu-se à temperatura de 35°C, sob agitação constante. Durante seis horas, amostras foram coletadas de hora em hora para análises até o término da reação. A enzima foi inativada com aquecimento a 90°C por 5 minutos.

A porcentagem de hidrólise foi determinada pela estequiometria da reação a partir da determinação da concentração de lactose inicial e glicose formada. A melhor condição de reação foi definida através da Análise de Componentes Principais (ACP), descrita no item 2.2.6. Nos ensaios de hidrólise do soro, o pH, teor de acidez, concentração de glicose e porcentagem de hidrólise foram as variáveis dependentes e, as independentes, foram concentrações de enzima e tempo de reação.

### **2.2.2 Caracterização do soro doce com lactose e com teor de lactose reduzido**

Ambos os soros utilizados, o hidrolisado e não hidrolisado, foram submetidos à caracterização físico-química. Foram feitas análises de pH pelo método potenciométrico, acidez titulável pelo método titulométrico, medidas de teor de proteína através do método de Kjeldahl. Lactose e glicose foram quantificadas pela técnica do DNS (3-amino 5-nitro salicilato) e kit glicose oxidase, respectivamente. A quantidade de lipídios foi determinada pelo método de Gerber. Teor de cinzas e umidade foram determinadas por gravimetria. Todos os métodos utilizados estão descritos em AOAC (2002).

### **2.2.3 Produção da bebida**

Foram produzidos dois tipos de bebidas, uma à base de soro com teor de lactose reduzido e a outra à base de soro com lactose (controle). A formulação elaborada foi determinada pela otimização do planejamento experimental de misturas (Capítulo II), e possibilitou avaliar as características físico-químicas e sensoriais dos estabilizantes carragena e pectina. A primeira formulação, fabricada

com soro com lactose, foi identificada por BL, enquanto que a segunda formulação, fabricada com soro com teor de lactose reduzido, foi identificada por BLR. Os ingredientes utilizados e suas quantidades estão especificados na Tabela 9.

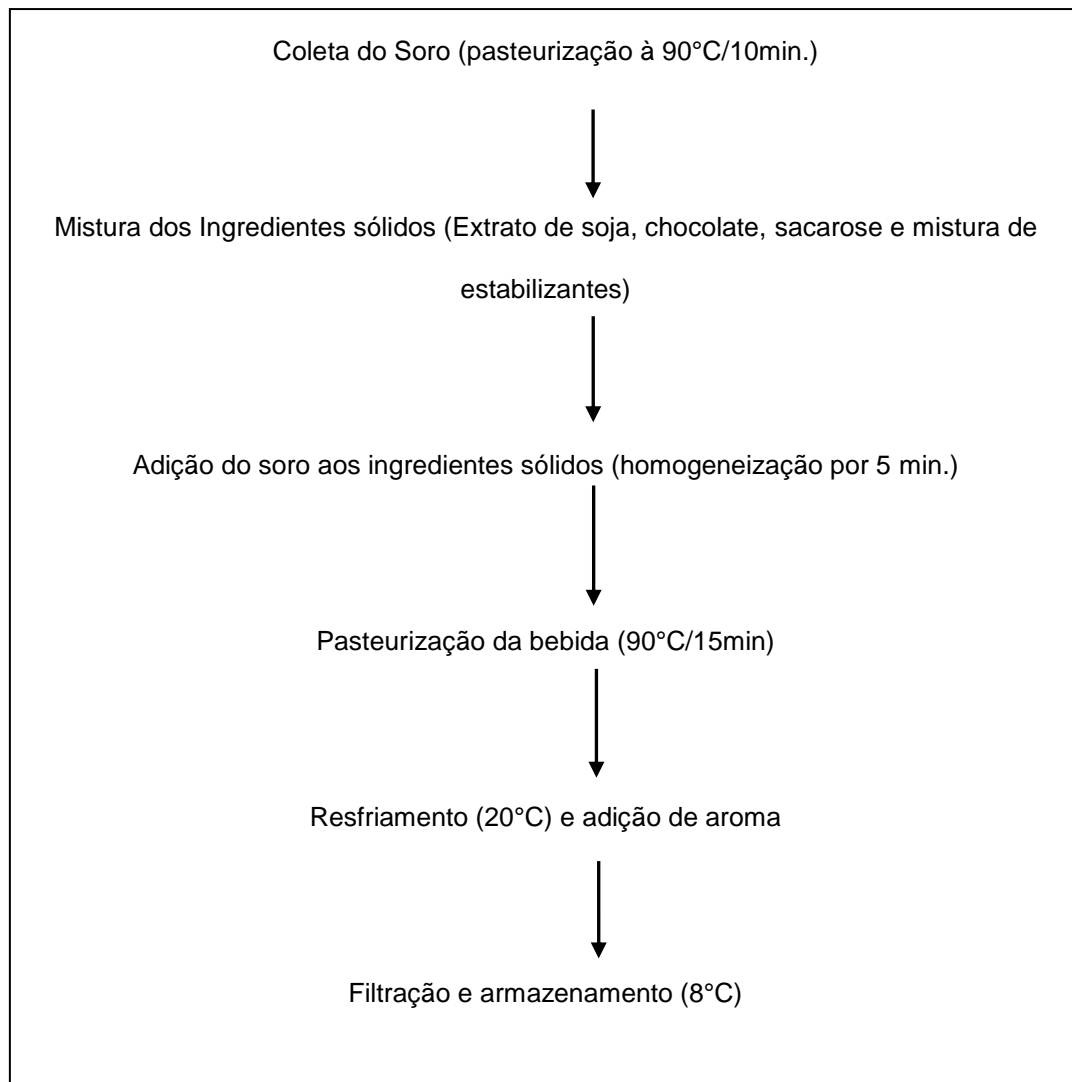
**Tabela 9** – Ingredientes utilizados na formulação otimizada.

Ingredientes	Quantidade (%)
Soro	83,8075
Extrato de soja	5,5000
Sacarose	4,5000
Chocolate em pó	6,0000
Essência de baunilha	0,1000
Carragena	0,0115
Pectina	0,0810

Foram preparados 2 L de cada formulação, os ingredientes sólidos em pó (extrato de soja, sacarose, chocolate em pó, mistura de estabilizantes) foram pesados, misturados e depois acrescentados ao soro. Esta base foi transferida para um agitador industrial POLI® modelo LS-08, homogeneizada durante cinco minutos, pasteurizada em batelada por 15 minutos a 90°C e resfriada a 20°C. Após resfriada foi acrescentado o aroma de baunilha. A bebida foi, então, filtrada em filtro de pano estéril, envazada em garrafas de vidro previamente autoclavadas e armazenadas sob refrigeração à 8°C.

A partir da Figura 10 é possível observar com maior clareza o preparo da bebida.

**Figura 10** – Etapas de elaboração das formulações.



**FONTE: AUTORA.**

#### **2.2.4. Análises físico-químicas e reológicas**

Para a caracterização físico-química das bebidas, foram feitas análises de pH, acidez total titulável, sólidos solúveis, teor proteínas, açúcares redutores totais e redutores, teor de lipídios, umidade e cinzas. Todas as análises foram feitas segundo metodologias oficiais da AOAC (2002).

Os parâmetros reológicos foram determinados utilizando-se o Viscosímetro de Brookfield modelo LDVII+PRO, com *spindle* de número 18, porcentagem de torque máxima de 100 e temperatura de 8°C. Os dados de índice de consistência e fluidez

foram calculados pelo software Wingther® for Windows® 2.2 (Brookfield Engineering Laboratories) baseando-se na Lei da Potência (DRUNKLER et al.; 2012) Todas as análises físico-químicas e reológicas foram realizadas em triplicata.

### **2.2.5. Análise sensorial**

A avaliação sensorial das bebidas foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos (Laboratório 07) no bloco CIPP da Universidade Estadual de Ponta Grossa, por 92 avaliadores não treinados (58 mulheres e 34 homens). Os atributos sabor, doçura, viscosidade, impressão foram avaliados através da escala hedônica de nove pontos, onde 1 corresponde a “Desgostei muitíssimo” e 9 a “Gostei muitíssimo”. A intenção de compra foi verificada através da Escala de Atitude, onde 1 corresponde a “certamente não compraria” e 5 a “certamente compraria” (LAWLES; HEYMANN, 1999). Antes de cada avaliação os indivíduos foram informados sobre a dinâmica do teste e convidados a assinar o termo de consentimento aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e Seres Humanos da Universidade Estadual de Ponta Grossa (CAAE de nº. 091.80913.1.0000.0105). As amostras foram apresentadas aos avaliadores de forma monádica em uma única sessão (LAWLESS; HEYMANN, 1999). Cada avaliador recebeu 30 mL de cada bebida a 7°C, servidos em copos de plástico codificados com 3 dígitos. Os testes foram realizados no laboratório sensorial sob condições de luz normal e temperatura de 20°C.

### **2.2.5. Análise estatística**

Os dados obtidos durante hidrólise da lactose, pH, acidez, concentração de glicose e porcentagem de hidrólise, foram avaliados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e quanto à homogeneidade de variâncias pelo teste de Levene (GRANATO et al., 2014). Em seguida, de acordo com a interpretação das análises, aplicou-se análise de variâncias (ANOVA) unifatorial seguido do teste de Fisher para comparações múltiplas em dados paramétricos. O teste de Welch seguido de Kruskal-Wallis ANOVA foi utilizado para dados que não seguiram uma distribuição normal. Valores de p abaixo de 0,05 foram utilizados para rejeitar a hipótese de

nulidade (GRANATO et al., 2014). Ao final, a Análise de Componentes Principais (ACP) foi utilizada para destacar a melhor condição da reação de hidrólise da lactose (GRANATO; GASTRON, 2014). Os demais dados obtidos foram avaliados quanto à normalidade e homogeneidade de duas variâncias pelo teste F seguido do teste *t*-Student para amostras independentes. Valores de *p* abaixo de 0,05 foram utilizados para atestar diferenças entre as amostras.

Todos os dados foram analisados pelo software Statsoft Inc. South America, Tulsa, OK, USA e Acion 2.6 (Statcamp, São Paulo, Brasil).

### **3. Resultados e discussão**

#### **3.1 Hidrólise da lactose do soro doce**

Os dados seguiram uma distribuição normal e apresentaram homogeneidade de variâncias (Tabela 10). Com o uso da ANOVA verificou-se que os resultados apresentam diferenças significativas entre si. Pelos testes de comparação de médias (Fisher) foi possível verificar as diferenças entre os ensaios.

Considerando-se que o valor de pH no início da reação era de 6,8 em todas as concentrações e que é uma variável importante no desenvolvimento posterior da bebida, observa-se que houve diminuição nesse parâmetro em todas as formulações. No entanto, a menor variação encontrada foi na concentração 2.500 NLU/L, em que o pH final foi de 6,62. Analisando-se cada concentração, verifica-se que na concentração de 500 NLU/L houve maior variação entres as duas primeiras horas de reação. Nos momentos seguintes, o pH tende a se estabilizar havendo variação de 0,1 unidade até o término da reação. Já na concentração de 1.000 NLU/L, a variação de pH apresentou maior queda após a quarta hora de reação. Na concentração de 1.500 NLU/L, nota-se uma grande queda de pH já no início da reação de 6,8 para 6,0, valor que permaneceu constante até a quarta hora de reação, e aumenta após a quinta hora para 6,55. Para a concentração de 2.000 NLU/L o pH caiu rapidamente para 6,62 já na primeira hora, mas seguiu com pequena variação durante a reação, chegando ao valor de 6,56 ao final da reação.

Tabela 10 – Resultados da hidrólise do soro doce.

[Enzima] NLU/L	*Ensaio	Tempo de reação (h)	pH	Acidez °D	[Glicose] g.100 ml <sup>-1</sup>	%Hidrólise g.100 ml <sup>-1</sup>
500	A1	1	6,71 <sup>a</sup> ± 0,01	12,80 <sup>e</sup> ± 0,03	0,53 <sup>e</sup> ± 0,02	15,54 <sup>e</sup> ± 0,49
	A2	2	6,62 <sup>b</sup> ± 0,01	13,70 <sup>d</sup> ± 0,06	1,21 <sup>d</sup> ± 0,04	37,05 <sup>d</sup> ± 1,33
	A3	3	6,60 <sup>c</sup> ± 0,01	14,90 <sup>c</sup> ± 0,03	1,54 <sup>c</sup> ± 0,04	47,81 <sup>c</sup> ± 1,21
	A4	4	6,59 <sup>d</sup> ± 0,01	16,00 <sup>b</sup> ± 0,03	2,10 <sup>b</sup> ± 0,02	65,70 <sup>b</sup> ± 0,49
	A5	5	6,58 <sup>e</sup> ± 0,01	16,50 <sup>ab</sup> ± 0,03	2,14 <sup>b</sup> ± 0,03	66,87 <sup>b</sup> ± 0,98
	A6	6	6,56 <sup>f</sup> ± 0,01	17,10 <sup>a</sup> ± 0,03	2,23 <sup>a</sup> ± 0,03	69,85 <sup>a</sup> ± 0,80
P(ANOVA) <sup>*</sup>			<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
1000	B1	1	6,69 <sup>a</sup> ± 0,01	12,80 <sup>c</sup> ± 0,03	1,26 <sup>e</sup> ± 0,09	38,86 <sup>e</sup> ± 2,75
	B2	2	6,68 <sup>a</sup> ± 0,01	13,80 <sup>b</sup> ± 0,03	1,64 <sup>d</sup> ± 0,02	50,79 <sup>d</sup> ± 0,67
	B3	3	6,66 <sup>b</sup> ± 0,01	14,40 <sup>b</sup> ± 0,03	1,92 <sup>c</sup> ± 0,03	59,95 <sup>c</sup> ± 0,80
	B4	4	6,64 <sup>c</sup> ± 0,01	15,80 <sup>a</sup> ± 0,03	2,02 <sup>b</sup> ± 0,03	63,04 <sup>b</sup> ± 0,85
	B5	5	6,62 <sup>d</sup> ± 0,01	15,80 <sup>a</sup> ± 0,03	2,08 <sup>ab</sup> ± 0,01	64,95 <sup>ab</sup> ± 0,32
	B6	6	6,60 <sup>e</sup> ± 0,01	16,00 <sup>a</sup> ± 0,04	2,11 <sup>a</sup> ± 0,02	65,91 <sup>a</sup> ± 0,49
P(ANOVA) <sup>*</sup>			<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
1500	C1	1	6,60 <sup>a</sup> ± 0,01	12,20 <sup>d</sup> ± 0,03	1,39 <sup>f</sup> ± 0,03	42,80 <sup>f</sup> ± 0,98
	C2	2	6,59 <sup>b</sup> ± 0,01	12,60 <sup>cd</sup> ± 0,03	1,68 <sup>e</sup> ± 0,02	52,07 <sup>e</sup> ± 0,49
	C3	3	6,57 <sup>bc</sup> ± 0,01	13,10 <sup>c</sup> ± 0,03	1,91 <sup>d</sup> ± 0,02	59,52 <sup>d</sup> ± 0,55
	C4	4	6,56 <sup>c</sup> ± 0,01	13,80 <sup>b</sup> ± 0,03	2,28 <sup>c</sup> ± 0,03	71,24 <sup>c</sup> ± 0,80
	C5	5	6,56 <sup>c</sup> ± 0,01	14,20 <sup>b</sup> ± 0,03	2,36 <sup>b</sup> ± 0,03	73,79 <sup>b</sup> ± 0,98
	C6	6	6,54 <sup>d</sup> ± 0,01	14,90 <sup>a</sup> ± 0,03	2,41 <sup>a</sup> ± 0,02	75,49 <sup>a</sup> ± 0,64
P(ANOVA) <sup>*</sup>			<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
00	D1	1	6,62 <sup>a</sup> ± 0,01	12,60 <sup>c</sup> ± 0,03	1,58 <sup>d</sup> ± 0,04	49,08 <sup>d</sup> ± 1,12
	D2	2	6,62 <sup>a</sup> ± 0,01	12,80 <sup>c</sup> ± 0,03	2,01 <sup>c</sup> ± 0,03	62,61 <sup>c</sup> ± 0,80
	D3	3	6,61 <sup>ab</sup> ± 0,01	13,70 <sup>b</sup> ± 0,03	2,12 <sup>b</sup> ± 0,04	66,23 <sup>b</sup> ± 1,28
	D4	4	6,60 <sup>b</sup> ± 0,01	13,80 <sup>b</sup> ± 0,03	2,42 <sup>a</sup> ± 0,02	75,81 <sup>a</sup> ± 0,55
	D5	5	6,58 <sup>c</sup> ± 0,01	14,70 <sup>a</sup> ± 0,03	2,44 <sup>a</sup> ± 0,02	76,35 <sup>a</sup> ± 0,49
	D6	6	6,56 <sup>d</sup> ± 0,01	14,90 <sup>a</sup> ± 0,03	2,44 <sup>a</sup> ± 0,01	76,45 <sup>a</sup> ± 0,32
P(ANOVA) <sup>*</sup>			<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
2500	E1	1	6,72 <sup>a</sup> ± 0,01	12,50 <sup>c</sup> ± 0,09	1,42 <sup>e</sup> ± 0,02	43,76 <sup>e</sup> ± 0,49
	E2	2	6,68 <sup>b</sup> ± 0,01	14,60 <sup>b</sup> ± 0,05	1,93 <sup>d</sup> ± 0,03	60,05 <sup>d</sup> ± 0,98
	E3	3	6,65 <sup>c</sup> ± 0,01	14,70 <sup>b</sup> ± 0,06	2,12 <sup>c</sup> ± 0,01	66,23 <sup>c</sup> ± 0,32
	E4	4	6,64 <sup>d</sup> ± 0,01	15,50 <sup>ab</sup> ± 0,08	2,44 <sup>b</sup> ± 0,01	76,35 <sup>b</sup> ± 0,32
	E5	5	6,63 <sup>de</sup> ± 0,01	15,90 <sup>ab</sup> ± 0,06	2,44 <sup>ab</sup> ± 0,01	76,77 <sup>ab</sup> ± 0,32
	E6	6	6,62 <sup>f</sup> ± 0,01	16,20 <sup>a</sup> ± 0,03	2,47 <sup>a</sup> ± 0,01	77,41 <sup>a</sup> ± 0,18
P(ANOVA) <sup>a*</sup>			<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

\*A1-A6: ensaio da concentração de 500 NLU/L da primeira à sexta hora; B1-B6: ensaio da concentração de 1.000 NLU/L da primeira à sexta hora; C1-C6: ensaio da concentração de 1.500 NLU/L da primeira à sexta hora; D1-D6: ensaio da concentração de 2.000 NLU/L da primeira à sexta hora; E1-E6: ensaio da concentração de 2.500 NLU/L da primeira à sexta hora.

\*\*Valores de probabilidades obtidos por ANOVA unifatorial. Diferentes letras na mesma coluna representam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Fisher LSD ou Kruskal –Wallis ( $p < 0,05$ ).

Comportamentos próximos foram observados quanto à acidez. A concentração de 500 NLU/L apresentou um aumento considerável, em relação às demais concentrações, variando de 12,80 °D no início a 17,10 °D no final da reação. Essa variação diminui quando comparada a concentração de 1.000 NLU/L, em que a acidez é de 16,00 °D no fim da reação. A partir de 1.500 NLU/L, a variação decresce ainda mais, chegando à 14,90 °D na concentração de 2.000 NLU/L. No ensaio de 2.500 NLU/L, os resultados observados são diferenciados, a acidez inicial é de 12,50 °D chegando a 15,80 °D ao final.

De acordo com a estequiometria da reação (Figura 11), a partir da concentração inicial de lactose e da determinação de glicose formada pela ação da lactase, determinou-se a porcentagem final de hidrólise para cada ensaio enzimático.

**Figura 11** – Reação de hidrólise da lactose: método enzimático

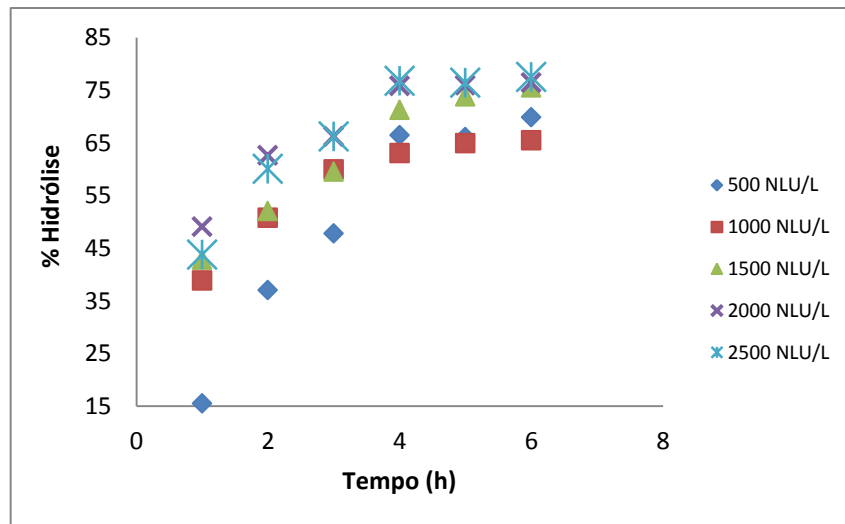


O teor inicial de lactose encontrado no soro foi de 5,95 g.100 mL<sup>-1</sup>, pela estequiometria da reação, uma hidrólise de 100% deveria produzir 3,22 g.100 mL<sup>-1</sup> de glicose. A cada aumento da concentração da enzima verifica-se uma produção inicial de glicose maior e, para todas as concentrações, verifica-se atividade enzimática máxima a partir da quarta hora de reação.

Ao se analisar os dados de hidrólise (Figura 12), verifica-se que nos tempos 1, 2 e 3 horas, a hidrólise com enzima de 500 NLU/L foi nitidamente menor que as demais, apresentando diferença na taxa de até 50%. Para todas as concentrações

de enzima utilizada, nota-se que a hidrólise acontece a taxas constantes a partir de 4 horas de reação.

**Figura 12** – Gráfico da reação de hidrólise da lactose: Variação da porcentagem de Hidrólise.



Uma vez que a porcentagem de hidrólise, acidez e o pH são fatores importantes na produção da bebida com teor reduzido de lactose, a escolha da condição ideal para a hidrólise da lactose do soro doce foi definida através da Análise de Componentes Principais (Figura 13).

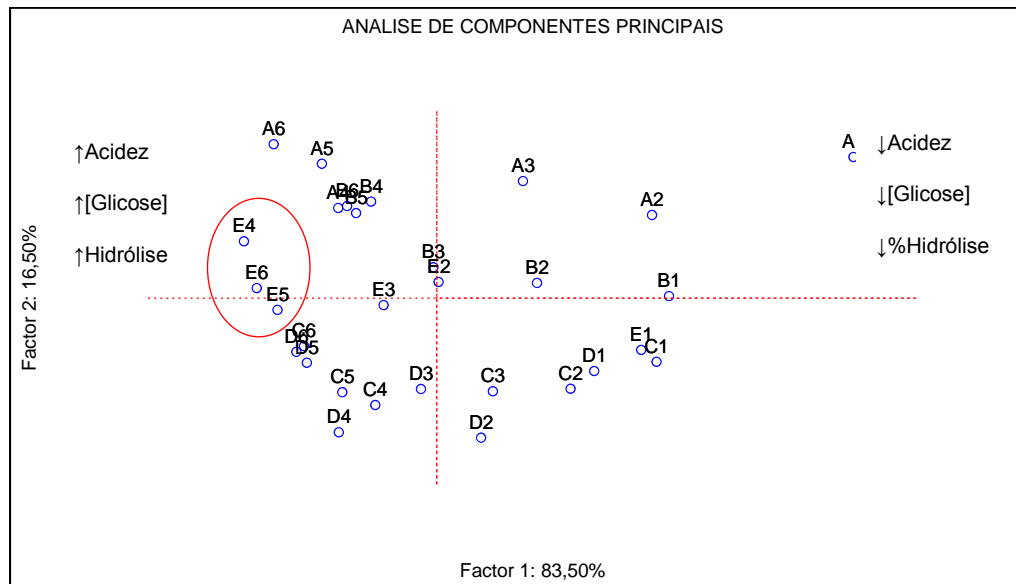
Interpretando-se o gráfico de PCA, através da  $PC_1=83,50\%$  e  $PC_2=16,50\%$ , verifica-se que 100% da variabilidade dos dados são explicados. Os fatores apresentados no lado direito superior do gráfico apresentam menor acidez, menor concentração de glicose e menor porcentagem de hidrólise da lactose. Aqueles representados no lado esquerdo superior são fatores que obtiveram maiores porcentagens de hidrólise, maiores teores de glicose e de acidez. Desta maneira conclui-se que o melhor ensaio enzimático se dá com a concentração de 2.500 NLU/L, para quatro, cinco e seis horas de reação (dados destacados no gráfico), sendo  $E_4$  o ensaio ideal, por ser o de menor tempo.

Selecionada a melhor condição de reação, seguiu-se para a hidrólise do soro doce, que posteriormente foi utilizado na fabricação da bebida mista. A porcentagem de hidrólise obtida utilizando a enzima a 2.500 NLU/L em reação de 4 horas foi de



aproximadamente 87%. Esse aumento no grau de hidrólise pode ser explicado pela utilização de um lote de soro doce diferente daquele utilizado nos ensaios anteriores.

**Figura 13** – ACP (Análise de Componentes Principais): Reação de hidrólise da lactose.



### 3.2 Caracterização do soro doce com lactose e com teor de lactose reduzido

Os dados obtidos na caracterização físico-química (Tabela 11) do soro doce com lactose (SL) e soro doce com teor de lactose reduzido (SLR), foram verificados quanto à normalidade, análise de variância e comparação já descritas no item 2.2.5. Para cinzas, pH, gordura, lactose e glicose os dados não seguem uma distribuição normal ( $p\text{-valor} < 0,05$ ). Com exceção da concentração de glicose, todos os demais dados apresentam homogeneidade de variâncias ( $p > 0,05$ ). Em relação ao teor de gordura e proteínas não houve diferença entre as amostras, nos demais itens analisados as amostras apresentaram valores diferentes.

Comparando-se os resultados, observa-se que SL exibe menor umidade, acidez e teor de glicose. Singh e Singh (2012), trabalhando com soro de leite, também obtiveram valores de caracterização próximos. Entre os resultados obtidos

encontraram um valor de 94% para umidade, 0,20% de gordura, 0,60% de proteínas, 0,65% de cinzas e 4,5% de lactose. Em SLR, verificam-se algumas mudanças oriundas da reação de hidrólise da lactose. O grau de acidez passa para 15,83°D e o teor de glicose aumenta em 87%.

**Tabela 11** – Caracterização do soro doce com lactose (SL) e soro doce com teor de lactose reduzido (SLR).

Amostras	Umid. g/100 mL	Cinzas g/100 mL	Prot. g/100 mL	pH	Acidez (°D)	Lipídeos g.100 mL <sup>-1</sup>	Lactose g/100 mL	Glicose g/100 mL
SL	93,53 ± 0,17	2,03 ± 0,06	0,93 ± 0,09	6,73 ± 0,01	12,86 ± 0,31	0,12 ± 0,03	5,9 ± 0,05	0,04 ± 0,01
SLR	94,04 ± 0,04	1,68 ± 0,01	0,93 ± 0,13	6,64 ± 0,01	15,83 ± 0,31	0,13 ± 0,03	0,77 ± 0,03	2,75 ± 0,02
p-valor*	0,153	0,055	0,607	1,000	0,979	1,000	0,500	0,014
p-valor**	0,008	<0,001	0,964	<0,001	<0,001	0,518	<0,001	<0,001

\* Valores de probabilidade obtidos pelo teste F para homogeneidade de 2 variâncias ( $p > 0,05$ ).

\*\*Teste *t*-Student de comparação para amostras independentes.

### 3.3. Caracterização das bebidas prontas

Os resultados obtidos na caracterização físico-química (Tabela 11) e reológica (Tabela 12) da bebida produzida com soro doce com lactose (BL) e da bebida produzida com soro doce com teor de lactose reduzido (BLR), foram verificados quanto à normalidade, análise de variância e comparação já descritas no item 2.2.5.

De acordo com o teste *t*-Student, não houve diferença entre as amostras quanto ao teor de umidade, cinzas, proteínas e gordura; nos demais itens analisados as amostras apresentam diferença significativa ( $p < 0,05$ ). As diferenças entre pH, acidez, sólidos solúveis, açúcares redutores e açúcares redutores totais se devem ao processo de hidrólise da lactose do soro doce utilizado na produção das bebidas (Tabela 12).

**Tabela 12** – Caracterização físico-química das bebidas BL e BLR.

Amostras	Umid. g/100 mL	Cinzas g/100 mL	Prot. g/100 mL	pH	Acidez (° D)	Gord. g/100 mL	S.S (°Brix)	<sup>1</sup> AR g/100 mL	<sup>2</sup> ART g/100 mL
BL	81,07 ±0,14	2,28 ±0,32	3,47 ±0,24	6,94 ±0,01	13,43 ±0,12	1,62 ±0,03	17,83 ±0,29	3,07 ±0,16	5,97 ±0,07
BLR	80,91 ±0,26	2,21 ±0,13	3,45 ±0,13	6,91 ±0,01	14,33 ±0,29	1,62 ±0,03	18,50 ±0,01	3,91 ±0,20	11,66 ±0,44
P-valor*	0,442	0,288	0,463	0,400	0,275	0,819	1	0,810	0,059
P-valor**	0,413	0,774	0,930	0,008	0,007	0,904	0,02	0,005	<0,001

\* Valores de probabilidade obtidos pelo teste F para homogeneidade de 2 variâncias ( $p > 0,05$ ).

\*\*Teste t-Student de comparação para amostras independentes. 1 Açúcar Redutor, 2 Açúcar Redutor Total.

**Tabela 13**— Caracterização reológica das bebidas: BL (com soro com lactose) e BLR (com soro com teor de lactose reduzido).

Amostras	Viscosidade (mPa.s)	Índice de Fluidez	Índice de Consist.
BL	6,53 ±0,07	0,85 ±0,05	14,93 ±0,25
BLR	6,52 ±0,17	0,87 ±0,01	13,77 ±0,41
p- valor*	0,280	<0,001	0,535
p- valor**	0,976	0,007	0,014

\*Valores de probabilidade obtidos pelo teste de Hartley para homogeneidade de variâncias ( $p > 0,05$ ).

\*\*Teste T de comparação para amostras independentes ( $p < 0,05$ ).

Em relação à caracterização reológica, é importante ressaltar que, no trabalho anterior, a otimização sugeriu que a melhor bebida seria menos viscosa, com menor concentração de carragena (46%) e maior concentração de pectina (54%), de acordo com a função de desejabilidade obtida. Para índice de fluidez ( $n$ ) os cálculos seguiram a Lei da Potência e, de acordo com os dados obtidos (valores de  $n < 1$ ), é possível classificar as formulações como fluidos *não-Newtonianos* ligeiramente pseudoplásticos (DRUNKLER et al., 2012). De acordo com o teste t-Student de comparação, ambas as formulações não diferem quanto à viscosidade, mas sim em

relação ao índice de fluidez e consistência. Verifica-se que BL apresenta índice de consistência maior (14,93) do que BLR (13,77); no entanto ao comparar com os dados do trabalho anterior (Capítulo II), ambos os valores são menores (Tabela 13).

### 3.4. Análise Sensorial

Todos os resultados, com exceção da impressão global, apresentaram homogeneidade de variâncias. De acordo com o teste *t*-Student, de comparação, as formulações não apresentaram diferença estatística, exceto para impressão global. Ambas as formulações tiveram boa aceitação nos atributos sabor, doçura e impressão global, com notas superiores a 7,0. Em relação a viscosidade, BLR foi melhor avaliada, com nota mais próxima ao 7,0 (Tabela 14). Quando comparadas com as bebidas produzidas anteriormente, apresentadas no artigo Capítulo II, verifica-se que em todos os atributos estudados, as novas formulações foram bem aceitas, principalmente em relação à intenção de compra. Em relação ao atributo sabor, BLR recebeu a menor nota, talvez pelo fato de apresentar maior teor de glicose oriunda da hidrólise da lactose. No entanto, a semelhança entre as formulações torna-se muito vantajosa em termos de mercado consumidor, já que um indivíduo intolerante à lactose poderia consumir a bebida com teor de lactose reduzido com as mesmas características sensoriais de um produto comum.

**Tabela 14** – Resultado da avaliação sensorial das bebidas: BL (com soro com lactose) e BLR (com soro com teor de lactose reduzido)

Amostras	Sabor	Doçura	Viscos.	Imp. Global	Intenção de compra
BL	6,74 ±1,49	6,84 ±1,38	6,53 ±1,70	7,11 ±1,09	3,99 ±1,28
BLR	6,54 ±1,68	7,03 ±1,37	6,87 ±1,60	6,67 ±1,56	3,93 ±1,40
P-valor*	0,222	0,946	0,559	<0,001	0,400
P-valor**	0,382	0,382	0,146	0,026	0,802

\* Valores de probabilidade obtidos pelo teste F para duas variâncias para homogeneidade de variâncias ( $p > 0,05$ ). \*\*Teste *t*-Student de comparação para amostras independentes ( $p < 0,05$ ). **1** Dados avaliados pela escala hedônica de nove pontos. **2** Dados avaliados pela escala de atitude de cinco pontos.

#### 4.0 Conclusões

Pode-se concluir que as formulações produzidas com soro doce com lactose (BL) e com soro doce com teor de lactose reduzido (BLR), unem características físico-químicas, reológicas e sensoriais desejáveis ao consumidor. Em relação à análise sensorial, ambas as formulações obtiveram médias acima de 6,5 na escala hedônica e de 3,9 na escala de atitude.

Os resultados indicam que a união do soro de leite com extrato aquoso de soja acrescido de sabor chocolate é uma excelente alternativa para o desenvolvimento de novos produtos. Além disso, estatisticamente não houve diferença entre as formulações, característica vantajosa em termos de mercado consumidor. Assim, um indivíduo intolerante à lactose poderia consumir uma bebida com teor de lactose reduzido com as mesmas características de um achocolatado comum.

A carragena e pectina combinadas nas concentrações definidas pela MSR, garantem maior aceitabilidade do produto, devido à ação estabilizante no mesmo.

#### REFERENCIAS

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 17th ed., Gaithersburg, MD: AOAC International, 2002.

DRUNKLER, L.N.; SANTOS, R.; LEITE J.M., MANDARINO, G; IDA, I.E; DEMIATE, M.I. Cassava starch as a stabilizer of soy-based beverages. **Food Science and Technology International**, v. 18, p. 489-499, 2012.

GHAISH, S.; AHMADOVA A.; HADJI-SFAXI I.; MECHERFI K.E.; CHOISET Y.; RABESONA H.; SITOHY M.; POVOP Y.; KULIEV A.A.; MOZZI F.; CHOBERT J.M.; HAERTLÉ. Potential use of lactic acid bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods, **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, p. 509-516, 2011.

GRANATO, D.; CALADO, V.M.A.; JARVIS, B. Observations on the use of statistical methods in food science and technology. **Food Research International**, v.55, p. 137-149, 2014.

GRANATO, D; GASTON, A. *Mathematical and Statistical Methods in Food Science and Technology*. **Wiley-Blackwell**, 536 pages, 2014.

GUIMARÃES, M.R.P.; TEIXEIRA, A.J.; DOMINGUES, L. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorization of cheese whey. **Biotechnology Advances**, v.28, p. 375-384, 2010.

HAIDER, T.; HUSAIN, Q. Hydrolysis of milk/whey lactose by  $\beta$ - galactosidase: A comparative study of stirred batch process and packed bed reactor prepared with calcium alginate entrapped enzyme. **Chemical Engineering and Processing**, v. 48, p. 576–580, 2009.

HARJU, M., KALLIOINEN, H., TOSSAVAINEN, O. Lactose hydrolysis and other conversions in dairy products: Technological aspects. **International Dairy Journal**, v. 22, p. 104-109, 2012.

JURADO,E.; CAMACHO, F.; LUZÓN, G.; VICARIA, J.M. A new kinetic model proposed for enzymatic hydrolysis of lactose by a  $\beta$ -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, p. 300–309, 2002.

KLEIN, M.P.; LUCAS, B.; FALLAVENAB, P.; SCHÖFFERB, J.N.; AYUBB, M.A.Z.; RODRIGUESB, R.C.; NINOWA, J.L.; HERTZB,P.F. High stability of immobilized  $\beta$ -d-galactosidase for lactose hydrolysis and galactooligosaccharides synthesis. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, p. 465– 470, 2013.

KWAK, H.S; LEE, W.J; LEE, M.R. Revisiting lactose as an enhancer of calcium absorption, **International Dairy Journal**, v. 22, p. 147-151, 2012.

LAWLESS HT, HEYMANN H. 1999. *Sensory evaluation of food: principles and practices*. **Gaithersburg: Aspen Publishers**, p. 827.

MARIOTTI, M.; YAMANAKA, H.; ARAUJO,R.A.; TREVISAM, C.H. Hydrolysis of Whey Lactose by Immobilized  $\beta$ -Galactosidase. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.51, n. 6, p.1233-1240, 2008.

PEREIRA, P. C. Milk nutritional composition and its role in human health. **Nutrition**, v. 30, p. 619–627, 2014.

PESCUMA M.; HÉBERT E.M.; MOZZI F.; VALDEZ G.F. Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria, **International Journal of Food Microbiology**, v. 141, p. 73-81, 2010.

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

SINGH, A.K.; SINGH K. Study on hydrolysis of Lactose in Whey by use of Immobilized Enzyme Technology for Production of Instant Energy Drink. **Advance Journal of Food Science & Technology**.. v. 4,n. 2, p. 84-90, 2012.

SMITHERS, G.W. Whey and whey proteins - From 'gutter-to-gold', **International Dairy Journal**, v. 18, p. 695-704, 2008.

VERMA, M.L.; BARROWA, C.J.; KENNEDYB, J.F.; PURIA, M. Immobilization of  $\beta$ -d-galactosidase from *Kluyveromyces lactis* on functionalized silicon dioxide nanoparticles: Characterization and lactose hydrolysis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 50, p. 432– 437, 2012.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todas as formulações produzidas (Capítulo II e III) foram aceitas pelos avaliadores, com médias acima de 6,5 na escala hedônica, e acima de 3,5 na escala de atitude. A carragena contribui para o aumento da viscosidade, no entanto, as formulações mais aceitas foram aquelas que apresentaram menor viscosidade instrumental e que continham pectina em sua formulação, indicando que os consumidores apreciam achocolatados menos viscosos. A otimização por meio da MRS, previu que a melhor formulação deveria conter 46% de carragena (redução na concentração) e 54% (aumento da concentração). Concluindo-se que carragena e pectina, quando combinadas nas concentrações definidas pelo otimização simultânea, garantem maior aceitabilidade do produto, devido à ação estabilizante, indicando que o amido não interfere significativamente nas características reológicas e sensoriais do produto.

As formulações produzidas com soro doce com lactose (BL) e com soro doce com teor de lactose reduzido (BLR), unem características físico-químicas, reológicas e sensoriais desejáveis ao consumidor. A análise estatística demonstrou que não houve diferença entre as formulações e relação aos parâmetros físico-químicos e sensoriais, tornando-se uma característica vantajosa em termos de mercado consumidor. Já que um indivíduo intolerante à lactose poderia consumir uma bebida com teor de lactose reduzido com as mesmas características de um achocolatado comum.

Os resultados demonstram que ambas as formulações são fontes de proteínas com baixo teor de lipídeos. A união do soro de leite com extrato aquoso de soja acrescido de sabor chocolate é uma alternativa para o desenvolvimento de novos produtos.



## REFERENCIAS GERAIS

AGUILAR-NASCIMENTO, J.E.; PRADO SILVEIRA, B. R.; DOCK-NASCIMENTO, D.B. Early enteral nutrition with whey protein or casein in elderly patients with acute ischemic stroke: A double-blind randomized trial. **Nutrition**, v. 27, p. 440–444, 2011

ADJONU, R.; DORAN, G.; TORLEY, P.; AGBOOLA, S. Whey protein peptides as components of nanoemulsions: A review of emulsifying and biological functionalities. **Journal of Food Engineering**, v. 122, p. 15-27, 2014.

ALEZANDRO, M.R.; GRANATO, D.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Nutritional Aspects of Second Generation Soy Foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 5490- 5497, 2011.

ALLGEYER, L.C.; MILLER, M.J.; LEE, S.Y. Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 10, p. 4471-4479, 2010.

AHN-JARVIS, J. H., RIEDL, K.M.; SCHWARTZ, S.J.; VODOVOTZ , Y. Design and Selection of Soy Breads Used for Evaluating Isoflavone Bioavailability in Clinical Trials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 3111–3120, 2013.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 17th ed., Gaithersburg, MD: AOAC International, 2002.

ANVISA. Resolução - RDC de n.º12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos.

ANVISA. Resolução - RDC de n.º 273, de 22 de setembro de 2005. Aprova Regulamento Técnico sobre Misturas para preparo de alimentos e Alimentos pronto para consumo.

BANASZEWSKA, A.; CRUIJSSEN, B.; VAN DER VORST, J.G.A.J.; CLAASSEN, G.D.H.; KAMPMAN, J.L. A comprehensive dairy valorization model. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 761–779, 2013.

BARROS NETO, B. Como Fazer Experimentos: pesquisa e desenvolvimento na indústria. Campinas SP: **Editora da UNICAMP**, p. 301-329. 2001.

BIRD, R.B. STEWART, W.E.; LIGHTFOOT, E.N. Transport phenomena. **New York: Wiley**, p. 780, 1996.

BRAGA, C.M. **Perfil aromático de sucos e fermentados de maçã em diferentes estágios de maturação**. Ponta Grossa, 2012, 52 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

BRASIL, Resolução-RDC, n.12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília – DF, 10 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa de n.º16, de 23 de agosto de 2005. Aprova Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Lactea.

BROWN, M.B.; FORSYTHE, A.B. Robust Tests for Equality of Variances. **Journal of the American Statistical Association**, v. 69, p. 364–367, 1974.

CARVALHO, F.; PRAZERES, A.R.; RIVAS, J. Cheese whey wastewater: Characterization and treatment. **Science of The Total Environment**, v. 445-446, p. 385-396, 2013.

CASTRO, W.F.; CRUZ, A.G.; RODRIGUES, D.; GHISELLI, G.; OLIVEIRA, C.A. F.; FARIA, J.A.F.; GODOY, H.T. Effects of different whey concentrations on physicochemical characteristics and viable counts of starter bacteria in dairy beverage supplemented with probiotics. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n.1, p. 96-100, 2013.

CEZAR, F.R.; FERREIRA, J.B.; LICNERSKI, M.; PEREIRA, T.; SANTOS, M.G. Whey Protein: proteína do soro do leite. **EFDeportes.com, Revista Digital**, v. 17, n.167, 2012.

CHEN, H.B.; CHIOU, B.S.; WANG, Y.Z.; SCHIRALDI, A.S. Biodegradable Pectin/Clay Aerogels. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 5, p.1715–1721, 2013.

COSCIONE, A.R.; ANDRADE, J.C; MAY, G.M. O modelamento estatístico de misturas: experimento tutorial usando voltametria de redissolução anódica. **Química Nova**, v. 28, n.6, p. 1116-1122, 2005.

DASHPER, S.G.; SAION, B.N.; STACEY, M.A.; MANTON, D.J.; COCHRANE, N.J.; STANTON, D.P.; YUAN, Y.; REYNOLDS, E.C. Acidogenic potential of soy and bovine milk beverages. **Journal of Dentistry**, v. 40, p. 736-741, 2012.

DELGADO, D.A.; SANT'ANA-SOUZA, A.; GRANATO, D.; MASSAGUER, P.R. Inactivation of *Neosartorya fischeri* and *Paecilomyces variotii* on paperboard packaging material by hydrogen peroxide and heat. **Food Control**, v. 23, p. 165-170, 2012.

DELIZA, R.; CASE, F.; ROSENTHAL, A. Produção de 'leite' de soja enriquecido com cálcio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, N.1, p. 86-91, 2005.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, p. 214-219, 1980.

DICKINSON, E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. **Food Hydrocolloids**, v.23, p. 1473-1482, 2009.

DRUNKLER, L.N. **Utilização de amido de mandioca como espessante em bebida de soja**. Ponta Grossa, 2011, 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

DRUNKLER, L.N.; SANTOS, R.; LEITE J.M., MANDARINO, G; IDA, I.E; DEMIATE, M.I. Cassava starch as a stabilizer of soy-based beverages. **Food Science and Technology International**, v. 18, p. 489-499, 2012.

ERICH, S.; ANZMANN, T.; FISCHER, L. Quantification of lactose using ion-pair RP-HPLC during enzymatic lactose hydrolysis of skim milk. **Food Chemistry**, v. 135, p. 2393–2396, 2012.

EVANS, J.; ZULEWSKA, J.; NEWBOLD, M.; DRAKE, M.A.; BARBANO, D.M. Comparison of composition and sensory properties of 80% whey protein and milk serum protein concentrates. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n.5, p.1824- 1843, 2010.

FAO/WHO. Food and Agriculture Organization of the United Nation / World Health Organization. **Report on a joint FAO/WHO Expert Consultation on Protein Quality Evaluation**, Bethesda, 1990.

FELBERG, I; ANTONIASSI, R; DELIZA, R; FREITAS, S.C.; MODESTA, R.C.D. Soy and Brazil nut beverage: processing, composition, sensory, and color evaluation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos de Campinas**, v. 29, p. 609-617, 2009.

FRIEDMAN M.; BRANDON D.L. Review: Nutritional and health benefits of soy proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49 n. 3, p. 1069-86, 2001.

FUENTES-ZARAGOZA, E.; RIQUELME-NAVARRETE, M.J.; SÁNCHEZ-ZAPATA,E.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A. Resistant starch as functional ingredient: A review. **Food Research International**, v.43, p.931–942, 2010.

GABAS, A.L; MENEZES, R.S; ROMERO, J.T. Reologia na indústria de biocombustíveis. **Lavras: INDI**, p. 20-36, 2012.

GABRIEL, K.R.A. Procedure for treating the homogeneity of all set of means in analysis of variance. **Biometrics**, v. 20, p. 459- 477, 1964.

GAD, S.A.; ERMAM, H.W.; MOHAMED, F.G.; SAYD, F.A. Utilization Whey in Production of Functional Healthy Beverage "Whey-mango Beverages". **American Journal of Food Technology**, v.8, n.3, p. 133-148,2013.

GAUCHE, C.; TOMAZI, T.; BARRETO, P.L.M.; OGLIARI, P.J.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n.1, p.239-243, 2009,

GHAISH, S.; AHMADOVA A.; HADJI-SFAXI I.; MECHERFI K.E.; CHOISSET Y.; RABESONA H.; SITOHY M.; POVOP Y.; KULIEV A.A.; MOZZI F.; CHOBERT J.M.; HAERTLÉ. Potential use of lactic acid bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, p. 509-516, 2011.

GRANATO, D.; CASTRO, I.A.; MASSON, M.L.; NEVES, L.S. Physical stability assessment and sensory optimization of a dairy-free emulsion using response surface methodology . **Journal Food Science**, v.75, p. 149-155, 2010a.

GRANATO, D; GASTON, A. Mathematical and Statistical Methods in Food Science and Technology. **Wiley-Blackwell**, 536 pages, 2014.

GRANATO, D.; RIBEIRO, B.C.J.; CASTRO, A.I.; MASSON, L.M. Sensory evaluation and physicochemical optimisation of soy-based desserts using response surface methodology. **Food Chemistry**, v.121,p. 899-906, 2010b.

GRANATO, D.; CALADO, V.M.A.; JARVIS, B. Observations on the use of statistical methods in food science and technology. **Food Research International**, v.55, p. 137-149, 2014.

GUIMARÃES, M.R.P.; TEIXEIRA, A.J.; DOMINGUES, L. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorization of cheese whey. **Biotechnology Advances**, v.28, p. 375-384, 2010.

GUO, X.; ZHAO, W.; PANG, X.; LIAO, X.; HU, X.; WU, J. Emulsion stabilizing properties of pectins extracted by high hydrostatic pressure, high-speed shearing homogenization and traditional thermal methods: A comparative study. **Food Hydrocolloids**, v.35,p.217-225, 2014.

HAIDER, T.; HUSAIN, Q. Hydrolysis of milk/whey lactose by  $\beta$ -galactosidase: A comparative study of stirred batch process and packed bed reactor prepared with calcium alginate entrapped enzyme. **Chemical Engineering and Processing**, v. 48, p. 576–580, 2009.

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

HARJU, M., KALLIOINEN, H., TOSSAVAINEN, O. Lactose hydrolysis and other conversions in dairy products: Technological aspects. **International Dairy Journal**, v. 22, p. 104-109, 2012.

HE, F.; CHEN, Q.J. Consumption of soybean, soy foods, soy isoflavones and breast cancer incidence: Differences between Chinese women and women in Western countries and possible mechanisms. **Food Science and Human Wellness**, v.2, n. 3–4, p. 146-161, 2013.

HEIN, K.A.; HAMID, N.; JAEGER, S.R.; DELAHUNTY, C.M. Application of a written scenario to evoke a consumption context in a laboratory setting: Effects on hedonic ratings. **Food Quality and Preference**, v.21, p. 410–416, 2010.

HUANG, P.H.; LU, H.T; WANG, Y.T.; WU, M.C. Antioxidant Activity and Emulsion-Stabilizing Effect of Pectin Enzyme Treated Pectin in Soy Protein Isolate-Stabilized Oil/Water Emulsion, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p.9623-9628, 2011.

HOLLANDER, M.; Wolfe, D. A. Nonparametric Statistical Methods. **New York: John Wiley & Sons, Inc.** 1973.

IAL. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. **Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, 2008.

JARAMILLO, P.D., ROBERTS R.F., COUPLAND J.N. Effect of pH on the properties of soy protein–pectin complexes, **Food Research International**, v.44, p. 911-916, 2011.

JURADO, E.; CAMACHO, F.; LUZÓN, G.; VICARIA, J.M. A new kinetic model proposed for enzymatic hydrolysis of lactose by a  $\beta$ -galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, p. 300–309, 2002.

KEMPKA, A.P.; KRÜGER R.L.; VALDUGA E.; LUCCIO DI M.; TREICHEL H.; CANSIAN R.; OLIVEIRA D. Formulação de bebida láctea fermentada sabor pêssego

utilizando substratos alternativos e cultura probiótica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, p. 170-177, 2008.

KERASIOTI, E; STAGOS, D.; JAMURTAS, A.; KISKINI, A.; KOUTEDAKIS, Y.; GOUTZOURELAS, N.; POURNARAS, S.; TSATSAKIS, A.; KOURETAS, D. Anti-inflammatory effects of a special carbohydrate-whey protein cake after exhaustive cycling in humans. **Food Chemical Toxicology**, v. 61, p.42-46, 2013.

KINNEAR, M.; KOCK, H.L. Would repeated consumption of sports drinks with different acidulants lead to hedonic adjustment? **Food Quality and Preference**, v. 22, p. 340–345, 2011.

KLEIN, M.P.; LUCAS, B.; FALLAVENAB, P.; SCHÖFFERB, J.N.; AYUBB, M.A.Z.; RODRIGUESB, R.C.; NINOWA, J.L.; HERTZB, P.F. High stability of immobilized  $\beta$ -d-galactosidase for lactose hydrolysis and galactooligosaccharides synthesis. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, p. 465– 470, 2013.

KRUSKAL, W.H.; WALLIS, W.A. Use of ranks in one-criterion variance analysis. **Journal of the American Statistical Society**, v. 47, p. 583 – 621, 1952.

KWAK, H.S; LEE, W.J; LEE, M.R. Revisiting lactose as an enhancer of calcium absorption, **International Dairy Journal**, v. 22, p. 147-151, 2012.

KWON, D.Y.; HONG, S. M.; AHN, S.; KIM, M. J.; YANG, H.J.; PARK, S. Isoflavonoids and peptides from meju , long-term fermented soybeans, increase insulin sensitivity and exert insulinotropic effects in vitro. **Nutrition**, v. 27, p. 244–252, 2011.

LAL, N.D.S; CONNOR, C.J.O.; EYRES, L. Application of emulsifiers/stabilizers in dairy products of high rheology. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 123–126, p. 433–437, 2006.

LAM, M.; PAULSEN, P.; CORREDIG, M. Interactions of Soy Protein Fractions with High-Methoxyl Pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n. 12,2008.

LAWLESS HT, HEYMANN H. 1999. Sensory evaluation of food: principles and practices. **Gaithersburg: Aspen Publishers**, p. 827.

LEE, A. H.; SU, D; PASALICH,M; TANG, L.; BINNS, C. W.; QIU, L. Soy and isoflavone intake associated with reduced risk of ovarian cancer in southern Chinese women. **Nutrition Research**, v. 34, p. 302 –307, 2014.

LEE, W.J.; LUCEY, J.A. Formation and physical properties of yogurt. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 23, n. 9, p. 1127-1136, 2010.

LEITE, T.D; NICOLETI, J.F.; PENNA, A.L.B.; FRANCO, C.M.L. Effect of addition of different hydrocolloids on pasting, thermal, and rheological properties of cassava starch. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.32, n.3, p.579-587, 2012.

LEVENE, H. Robust tests for equality of variances. In: Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling, I. Olkin et al. eds., **Stanford University Press**, p. 278-292, 1960.

MADUREIRA, A.R; TAVARES, T; GOMES, A.M.P.; PINTADO, M.E., MALCATA, F.X. Invited review: physiological properties of bioactive peptides obtained from whey proteins. **Journal of Dairy Science**, v.93, n. 2, p.437-455, 2010.

MADRUGA, M.S.; ALBUQUERQUE, F.S.M.; SILVA, I.R.A.; AMARAL, D.S.; MAGNANI, M.; NETO, V.Q. Chemical, morphological and functional properties of Brazilian jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) seeds starch. **Food Chemistry**, v. 143, p. 440–445, 2014.

MAITY, T. K.; KUMAR R; MISRA A.K. Development of healthy whey drink with *Lactobacillus rhanmosus*, *Bifidubacterium bifidum* and *Propionibacterium freudenreichii*, **Advance Journal of Food Science & Technology**, v. 58, n. 4, p. 3015-325, 2008.

MARAFON, A.P.; SUMI, A.; ALCÂNTARA, M.R.; TAMIME, A.Y.; OLIVEIRA, M.N. Optimization of the rheological properties of probiotic yoghurts supplemented with milk proteins. **Food Science and Technology**, v. 44, p. 511-519, 2011.

MARIOTTI, M.; YAMANAKA, H.; ARAUJO,R.A.; TREVISAM, C.H. Hydrolysis of Whey Lactose by Immobilized  $\beta$ -Galactosidase. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.51, n. 6, p.1233-1240, 2008.

MARSH, T.G.; STRAUB, R. K.; Villalobos , F .; YOUNG HONG, M. Soy protein supports cardiovascular health by downregulating hydroxymethylglutaryl – coenzyme A reductase and sterol regulatory element-binding protein – 2 and increasing antioxidant enzyme activity in rats with dextran sodium sulfate – induced mild systemic inflammation. **Nutrition Research**, v. 31, p. 922–928, 2011.

MARUYAMA, L.Y.; CARDARELLI, H.R.; BURITI, F.C.A.; ISAY SAAD, S.M.I. Textura instrumental de queijo petit-suisse potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p.386-393, 2006.

MATUTE, R.I.A.; MARTÍNEZ, C.M.; MONTILLA, A.; OLANO, A.; COPOVI, P.; CORZO, N. Presence of mono-di- and galactooligosaccharides in Commercial lactose-free UHT dairy products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.28, p. 164-169, 2012.

MCCLEMENTS, J; RAO, J. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n.4, p. 285-330.

MIRAGHAJANI, M.S.; NAJAFABADI, M.M.; SURKAN,J.P.; ESMAILLZADEH, A.; MIRLOHI, M.; AZADBAKHT, L. Soy Milk Consumption and Blood Pressure Among Type 2 Diabetic Patients With Nephropathy. **Journal of Renal Nutrition**, v.23, n.4, 2013.

MONTGOMERY, D. C. Design and analysis of experiments. **New York: Wiley**, 5th Edn, 2009.

MORAIS R, MEDEIROS R.R. LIBERALI R. Eficácia da suplementação de proteínas no treinamento de força. **Revista Brasileira de Nutrição e Esportes**, v. 2, n. 10, p. 265-276, 2008.

MORALES-DE LA PEÑA, M.; TRUJILLO, L. S.; ROJAS-GRAÜ, M.A.; BELLOSO, O. M. Isoflavone profile of a high intensity pulsed electric field or thermally treated fruit juice-soymilk beverage stored under refrigeration. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 4,p. 604-610, 2010.

NAKAMURA, A.; YOSHIDAB R.; MAEDAB, H.; CORREDIGA M. The stabilizing behaviour of soybean soluble polysaccharide and pectin in acidified milk beverages. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 361-369, 2006.

NANO, R.M.W.; BRUINSA R.E.; FERREIRA S.L.C; BACAN N.; CADORE S. Statistical mixture design development of digestion methods for Oyster tissue using inductively coupled plasma optical emission spectrometry for the determination of metallic ions, **Talanta**, v. 80, p. 559-564. 2009.

NIKAEDO, P.H.L.; AMARAL, F.F; PENNA, A.L.B. Caracterização tecnológica de sobremesas lácteas achocolatadas cremosas elaboradas com concentrado proteico de soro e misturas de gomas carragena e guar. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.40, n. 3, 2004.

ORF, J.H. Selecting Soybean varieties for composition, **Department of Agronomy and Plants Genetics**, University of Minnesota, 2013.

PALAI, T; BHATTACHARYA, P.K. Kinetics of lactose conversion to galacto-oligosaccharides by b-galactosidase immobilized on PVDF membrane. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.115, n. 6, p. 668-673, 2013.

PANERO, F.C.; VIEIRA, M.F.P.; CRUZ, A.M.F; MOURA, M.F.V. Aplicação da análise exploratória de dados na discriminação geográfica do quiabo do Rio Grande do Norte e Pernambuco. **Orbital the electronic jornal of chemistry**, v.1, n.3, p. 228-237, 2009.



PEDROSO, R.A.; DEMIATE, I.M. Avaliação da influência de amido e carragena nas características físico-químicas e sensoriais de presunto cozido de peru. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n.1, p.24-31, 2008.

PEREIRA, P. C. Milk nutritional composition and its role in human health. **Nutrition**, v. 30, p. 619–627, 2014.

PESCUMA M.; HÉBERT E.M.; MOZZI F.; VALDEZ G.F. Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria, **International Journal of Food Microbiology**, v. 141, p. 73-81, 2010.

PFLANZER, S.B.; CRUZ, A.G.; HATANAKA, C.L.; MAMEDE, P.L.; CADENA, R.; J.F. FARIA; SILVA, M.A.P. Perfil sensorial e aceitação de bebida láctea achocolatada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p.391-398, 2010.

PIORKOWSKI, D.T.; MCCLEMENTS, D.J. Beverage emulsions: Recent developments in formulation, production, and applications. **Food Hydrocolloids**, In Press, Corrected Proof, Available online 26 July 2013.

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

PRUDENCIO, E.S.; BENEDET, H.D. Aproveitamento do soro de queijo na obtenção do extrato hidrossolúvel de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n.1, p. 97-101, 1999.

PURWANTI, N.; SMIDDY, M.; GOOT, J.V.D.A.; VRIES, D.R.; ALTING, A.; BOOMB, R. Modulation of rheological properties by heat-induced aggregation of whey protein solution. **Food Hydrocolloids**, v.25, p. 1482-1489, 2011.

RAY, M.; ROUSSEAU, D. Stabilization of oil-in-water emulsions using mixtures of denatured soy whey proteins and soluble soybean polysaccharides. **Food Research International**, v. 52, p. 298-307, 2013.

RIVAS, J.; PRAZERES, A.R.; CARVALHO, F. Aerobic biodegradation of pre-coagulated cheese whey wastewater. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 6, p. 2511- 2517, 2011.

RODRIGUEZ-ROQUE, M.J; ROJAS-GRAU, M.A; ELEZ-MARTINEZ, P; MARTÍ'N-BELLOSO, O. *In vitro* bioaccessibility of health-related compounds from a blended fruit juice–soymilk beverage: Influence of the food matrix. **Journal of Functional Foods** v. 7 , p. 161–169, 2014.

SCHEFFE, H. The Simplex-Centroid Design for Experiments with Mixtures. **Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)**, v. 25, n. 2, p. 235-263, 1963.

SHAPIRO, S.S.; WILK, M. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, p. 591–611, 1965.

SINGH, A.K.; SINGH K. Utilization of whey for the production of instant energy beverage by using response surface methodology. **Advance Journal of Food Science & Technology**.. v. 4,n. 2, p. 103-11, 2012.

SILVA, J.B.; PRUDÊNCIO, S.H.; FELBERG, DELIZA, R; CARRÃO-PANIZZI, M.C. Aceitabilidade de bebidas preparadas a partir de diferentes extratos hidrossolúveis de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.12, p.1779-1784, 2007.

SMITHERS, G.W. Whey and whey proteins - From 'gutter-to-gold', **International Dairy Journal**, v. 18, p. 695-704, 2008.

SOUZA, A.M.; POPPI, R.J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I **Química Nova**, v. 35, n.. 1, p. 223-229, 2012.

SOUZA, S.S.; CRUZ, A.G.; WALTER, E.H.M.; FARIA, J.A.F.; CELEGHINI, R.M.S.; FERREIRA, M.M.C.; GRANATO, D.; SANT'ANA, A.S. Monitoring the authenticity of Brazilian UHT milk: A chemometric approach. **Food Chemistry**, v. 124, p. 692–695, 2011.

STEFFE, J. F. Rheological methods in food process engineering. **East Lansing: Freeman**, p.418, 1996.

TAHAVORGAR, A.; VAFA, M.; SHIDFAR, F.; GOHARI M.; HEYDARI I. Whey protein preloads are more beneficial than soy protein preloads in regulating appetite, calorie intake, anthropometry, and body composition of overweight and obese men. **Nutrition Research** (2014), doi:10.1016/j.nutres.2014.08.015

TERADA L.C, GODOI M.R, SILVA T.C.V, MONTEIRO T.L. Efeitos metabólicos da suplementação do Whey Protein em praticantes de exercícios com pesos. **Revista Brasileira de Nutrição e Esportes**, v. 3, n.16, p. 295-304, 2009.

TRANJAN, B.C.; CRUZ, A.G.; WALTER, E.H.M.; FARIA, J.A.F.; BOLINI, H.M.A.; MOURA, M.R.; CARVALHO, L.M.J. Development of goat cheese whey-flavoured beverages. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, n. 3, p. 438-443, 2009.

ULIANA, M.R.; VENTURI-FILHO, W.G.; ULIANA, L.R. Teste de aceitação de bebida mista de soja e amora. **Brazilian Journal Food Technology**, v.15, n.2, p. 174-181, 2012.

VENEMA, k. Intestinal fermentation of lactose and prebiotic lactose derivatives, including human milk oligosaccharides, **International Dairy Journal**, v. 22, p. 123-140, 2012.

VERMA, M.L.; BARROWA, C.J.; KENNEDYB, J.F.; PURIA, M. Immobilization of  $\beta$ -d-galactosidase from *Kluyveromyces lactis* on functionalized silicon dioxide nanoparticles: Characterization and lactose hydrolysis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 50, p. 432– 437, 2012.

WICHCHUKIT, S.; O'MAHONY, M: Liking, Buying, Choosing and Take Away preference test for varying degrees of hedonic disparity. **Food Quality and preference**, v.22, p. 60-65, 2011.

YANES, M.; DURÁN, L.; COSTELL, E. Effect of hydrocolloids type and concentration on flow behavior and sensory properties of milk model systems. **Food Hydrocolloids**, v. 16, p. 605-611, 2002.

YAPO, B. Biochemical Characteristics and Gelling Capacity of Pectin from Yellow Passion Fruit Rind as Affected by Acid Extractant Nature. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p.1572-1578, 2009.

YIMIT, D; HOXUR, P.; AMAT, N.; UCHIKAWA,, U; YAMAGUCHI, N. Effects of soybean peptide on immune function, brain function, and neurochemistry in healthy volunteers. **Nutrition**, v. 28, p. 154–159, 2012.

YOU DEN, W. J.; STEINER, E. H. Statistical Manual of the AOAC. Association of Official Analytical Chemists, **Washington DC, USA**. 1975.

ZIEGLER, F.L.F; SGARBIERI, V.C. Caracterização químico-nutricional de um isolado proteico de soro de leite, um hidrolisado de colágeno bovino e misturas dos dois produtos. **Revista de Nutrição**, v. 22, n.1, p.61-70, 2009.