

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *Scripto Sensu*  
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

PAOLLA LIEVORE

CARACTERIZAÇÃO DO SORO ÁCIDO E USO NA ELABORAÇÃO DE LEITE  
FERMENTADO

PONTA GROSSA  
2013

PAOLLA LIEVORE

CARACTERIZAÇÃO DO SORO ÁCIDO E USO NA ELABORAÇÃO DE LEITE  
FERMENTADO

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate

Co-orientador: Deise Rosana Silva Simões.

PONTA GROSSA  
2013

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

L722           Lievore, Paolla  
                  Caracterização do soro ácido e uso na  
                  elaboração de leite fermentado/ Paolla  
                  Lievore. Ponta Grossa, 2013.  
                  76f.

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

                  Orientador: Prof. Dr. Ivo Mottin  
                  Demiate.

                  Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Deise Rosana  
                  Silva Simões.

                  1.Soro ácido. 2.Leite fermentado.  
                  3.Aproveitamento de resíduo. I.Demiate,  
                  Ivo Mottin. II. Simões, Deise Rosana  
                  Silva. III. Universidade Estadual de Ponta  
                  Grossa. Mestrado em Ciência e Tecnologia  
                  de Alimentos. IV. T.

CDD: 637.1

## TERMO DE APROVAÇÃO

**Paolla Lievore**

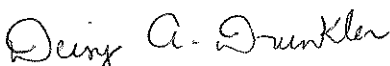
### CARACTERIZAÇÃO DO SORO ÁCIDO E USO NA ELABORAÇÃO DE LEITE FERMENTADO

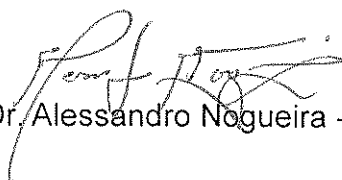
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientador

  
Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate - UEPG

  
Profa. Dra. Deise Rosana Silva Simões - UEPG

  
Profa. Dra. Deisy Alessandra Drunkler – UTFPR

  
Prof. Dr. Alessandro Nogueira - UFPR

Ponta Grossa, 27 de fevereiro de 2013.

**Às mulheres da minha vida, vocês são os meus alicerces.**

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu anjo protetor e amigo, que me guia e protege.

Ao espiritismo consolador, que nada me proíbe, mas tudo me orienta e esclarece.

Ao meu orientador, professor Ivo pela paciência, atenção e instrução.

À minha mãe e minhas irmãs, referências da minha vida.

Ao meu pai, amado.

Aos meus sobrinhos, alegrias que me contagiam.

Às minhas amigas, pela diversão e companheirismo.

À professora Deise, pela contribuição com o trabalho e boa vontade em ajudar.

À empresa em estudo, por possibilitar desenvolver o trabalho.

Ao Northon, sua equipe e a Denise pela imensa ajuda com as análises.

Ao Osmarino e Cliceu, amigos que ajudaram nas coletas de soro.

## RESUMO

O soro ácido é um subproduto da indústria de fabricação de queijos, gerado em grandes volumes. Apresenta potencial para ser utilizado na elaboração de bebidas em função do seu alto valor nutricional, sendo rico em minerais e fonte de proteínas biologicamente valiosas. Os leites fermentados são bem aceitos pelos consumidores em função de suas propriedades probióticas conferidas pelas bactérias ácido-láticas, proporcionando benefícios à saúde. Neste contexto, o aproveitamento do soro ácido líquido para a preparação de leites fermentados demonstra ser uma alternativa interessante de uso do subproduto. Além de enriquecer funcional e nutricionalmente a bebida, evita a necessidade de outros processos de conversão e possibilita a redução dos problemas ambientais relacionados ao seu descarte. Este trabalho tem por objetivo caracterizar físico-quimicamente o soro ácido proveniente da fabricação de queijo tipo *Petit Suisse* e utilizá-lo como ingrediente para elaboração de leite fermentado. O soro ácido foi coletado fresco em uma indústria de laticínios e submetido às análises de pH, acidez, teor de lactose, gordura, proteínas, umidade e extrato seco durante o período de novembro de 2011 a novembro de 2012. O leite fermentado foi elaborado utilizando-se o soro ácido em substituição à água da fórmula original e com redução do tempo de fermentação da base de 60 para 25 horas. Todos os ingredientes foram pasteurizados e misturados com auxílio de um *mixer*, sendo a bebida caracterizada em relação a pH, brix, acidez, proteínas, lactose e açúcares redutores. O produto foi submetido ao teste de comparação múltipla utilizando-se como padrão o produto comercial, seguido de um teste de aceitação e de intenção de compra. Os valores das avaliações físico-químicas do soro ácido foram tratados estatisticamente pelo Teste de Fisher, considerando-se a média e o desvio padrão. Os resultados do teste de comparação múltipla foram analisados por ANOVA. Os resultados das análises físico-químicas do soro ácido demonstram que as médias são similares às encontradas por diversos autores, sendo observados valores um pouco maiores para proteínas. Foram encontradas diferenças significativas no soro obtido no verão e no inverno para todos os parâmetros, exceto lactose. Os maiores teores de minerais, lactose e consequentemente de sólidos totais foram observados durante o outono. O teste de comparação múltipla evidenciou que o leite fermentado foi considerado por todos os provadores treinados como inferior ao padrão. O teste de aceitação resultou em 90 % de aceitação, com as médias de respostas entre os termos da escala hedônica “gostei muitíssimo” e “gostei moderadamente”. Na análise de intenção de compra constatou-se que 54 % dos consumidores que participaram da degustação certamente comprariam o produto e 38 % provavelmente comprariam. A utilização do soro ácido para elaboração de leite fermentado se mostrou tecnicamente viável, resultando em agregação de valor e redução do descarte desse subproduto bem como do consumo de água.

**Palavras-chaves:** soro ácido, leite fermentado, aproveitamento de resíduo.

## ABSTRACT

Acid whey is generated in large volumes as a by-product of the Quark cheese production. Quark cheese is the base for the *Petit Suisse* production. This acid whey has a potential use in the preparation of beverages due to its high nutritional value. It is rich in minerals with a high biological value and a source of protein. Fermented milk products are well accepted by consumers due to their probiotic properties, coming mainly from the specific lactic acid bacteria used in these products, providing health benefits. In this context, the use of liquid acid whey as a base for the preparation of fermented milk has shown to be an interesting alternative. Apart from the functional and nutritional enrichment of the fermented dairy beverage, coming from the acid whey, this use avoid the need of other conversion processes to get rid of it, reducing the environmental problems related to its disposal. This study aims to characterize the physicochemical properties of the acid whey resulting from the manufacture of Quark cheese, base of the *Petit Suisse*, and use it as an ingredient for the manufacture of fermented milk. The acid whey was collected fresh in the industry under study and subjected to analysis of pH, acidity, lactose content, fat, protein, moisture and solids during the period from November 2011 until November 2012. The fermented milk was prepared using the acid whey in the place of water in the original formula and reduction of fermentation time from 60 for 25 hours. All ingredients were blended with a mixer and pasteurized; the liquor was then characterized with respect to pH, Brix, acidity, protein, lactose, and reducing sugars. The product was subjected to multiple comparison tests using as standard the commercial product. Acceptance test and purchase intent were carried out. The values of the physicochemical evaluations of acid whey were treated statistically by Fisher Test, considering the mean and standard deviation. The results of the multiple comparison tests were analyzed by Variance Analysis. The results of physicochemical analyzes of acid whey show that the averages were similar to those found by several authors, but the protein contents were slightly higher. Significant differences were found between summer and winter for all parameters except lactose. The highest content of minerals, lactose and consequently total solids were observed during autumn. The multiple comparison tests showed that the fermented milk was considered by all trained judges as worse than the standard. Acceptance testing resulted in a 90 % acceptance, with averages of responses between the terms of the hedonic scale "liked very much" and "liked moderately". In the analysis of purchase intent it was found that 54 % of consumers who participated in the tasting would certainly buy the product and 38 % would like to buy. The use of acid whey for production of fermented milk proved feasible, besides adding value to the product under study allows the industry to reduce the discharge of acid whey as well as the water consumption.

**Key-words:** acid whey, fermented milk, utilization of waste.



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição físico-química do leite bovino.....	14
Tabela 2	Composição química do soro doce e do soro ácido.....	18
Tabela 3	Composição das proteínas do soro de leite bovino.....	21
Tabela 4	Combinação dos ingredientes para elaboração do leite fermentado etapa 1	38
Tabela 5	Combinações de ingredientes para elaboração do leite fermentado etapa 2	39
Tabela 6	Matriz de ensaios combinando-se as variáveis estudadas.....	40
Tabela 7	Combinações de tempo de fermentação e volume de base.....	41
Tabela 8	Análises físico-químicas do soro ácido coletado entre novembro de 2011 e novembro de 2012 em uma indústria de produtos lácteos.....	45
Tabela 9	Matriz de correlação entre os parâmetros físico-químicos do soro ácido.....	47
Tabela 10	Análises da composição centesimal e propriedades físico-químicas do soro ácido nas quatro estações de nov. 2011 até nov. 2012.....	48
Tabela 11	Análises físico-químicas das amostras de leite fermentado.....	51
Tabela 12	Análises físico-químicas das amostras de leite fermentado elaborado com base fermentada por 30 horas.....	52
Tabela 13	Matriz de experimentos e variáveis dependentes.....	53
Tabela 14	Análises da composição centesimal e propriedades físico-químicas dos leites fermentados.....	54
Tabela 15	Análises físico-químicas da base com 25 horas de fermentação.....	55
Tabela 16	Análises da composição centesimal e propriedades físico-químicas do leite fermentado por 25 horas.....	59

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação esquemática da produção do queijo Quark.....	23
Figura 2	Diagrama de blocos das diferentes alternativas de processamento de soro..	26
Figura 3	Fluxograma do processo de elaboração do leite fermentado desnatado.....	34
Figura 4	Ficha de avaliação sensorial – teste de comparação múltipla.....	42
Figura 5	Ficha de avaliação sensorial – teste de aceitação.....	43
Figura 6	Percentual de proteína no soro por estação do ano.....	49
Figura 7	Distribuição por idade dos consumidores.....	60
Tabela 8	Histograma de aceitação do leite fermentado pelos consumidores por sexo	61
Tabela 9	Histograma de aceitação do leite fermentado pelos consumidores por idade.....	63
Tabela 10	Histograma de intenção de compra por sexo.....	64

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	13
2.1. GERAL .....	13
2.2. ESPECÍFICOS .....	13
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	14
3.1. LEITE .....	14
3.2. SORO DE LEITE .....	17
3.3. PROTEÍNAS DO SORO .....	19
3.4. QUEIJO TIPO PETIT SUISSE E A GERAÇÃO DO SORO ÁCIDO .....	22
3.5. PRODUTOS DE SORO DISPONÍVEIS NO MERCADO .....	24
3.6. APLICAÇÕES TECNOLÓGICAS DO SORO NA INDÚSTRIA .....	26
3.7. LEITES FERMENTADOS .....	30
3.8. ANÁLISE SENSORIAL .....	31
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	33
4.1. MATERIAL .....	33
4.2. MÉTODOS .....	33
4.3. PASTEURIZAÇÃO DO SORO ÁCIDO .....	35
4.4. ANÁLISES DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE FERMENTADO .....	35
4.4.1. Determinação de acidez total expressa em ácido láctico .....	35
4.4.2. Determinação de sólidos solúveis totais (°brix) .....	35
4.4.3. Determinação de pH .....	35
4.4.4. Determinação de proteínas .....	36
4.4.5. Determinação de açúcares redutores totais .....	36
4.4.6. Determinação de glicose .....	36
4.4.7. Determinação de lactose .....	36
4.5. CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICA DO SORO ÁCIDO .....	36
4.5.1. Determinação proteínas totais .....	37
4.5.2. Determinação de umidade .....	37
4.5.3. Determinação de sólidos totais .....	37
4.5.4. Determinação de lipídeos .....	37
4.5.5. Teor de Cinzas .....	37
4.6. ELABORAÇÃO DO PRODUTO .....	37
4.6.1. Etapa 1 – Viabilidade do uso do soro em leite fermentado .....	38
4.6.2. Etapa 2- Base em menor concentração e reduzido tempo de fermentação .....	39
4.6.3. Etapa 3- Análise de regressão .....	40
4.7. ANÁLISE SENSORIAL - TESTE DE COMPARAÇÃO MÚLTIPLA .....	40

4.8.	ANÁLISE SENSORIAL E ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO PRODUTO FINAL	42
4.9.	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	43
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>45</b>
5.1.	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO SORO ÁCIDO.....	45
5.2.	ELABORAÇÃO DO PRODUTO .....	51
5.2.1.	Etapa 1 – Viabilidade do uso do soro em leite fermentado .....	51
5.2.2.	Etapa 02 – Base em menor concentração e reduzido tempo de fermentação.....	52
5.2.3.	Etapa 03 – Análise de regressão .....	52
5.3.	ANÁLISE SENSORIAL - TESTE DE COMPARAÇÃO MÚLTIPLA.....	54
5.3.1.	Análises físico-químicas do leite fermentado por 25 e por 40 horas.....	54
5.3.2.	Teste de comparação múltipla .....	55
5.4.	PRODUTO FINAL – ANÁLISE SENSORIAL.....	58
5.4.1.	Análises físico-químicas do leite fermentado e base fermentada .....	58
5.4.2.	Teste de aceitação .....	60
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>66</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>67</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O soro ácido de leite é um líquido amarelado translúcido obtido a partir do leite após a precipitação de caseína durante a fabricação de queijo tipo *Petit Suisse* ou de alguns outros queijos frescos. É um subproduto da indústria de fabricação de queijos e apresenta grande potencial para o desenvolvimento de produtos lácteos devido ao seu elevado valor nutricional e funcional, uma vez que não é apenas uma fonte de proteínas biologicamente valiosas, mas também é rico em minerais e vitaminas. No entanto, o soro é visto como um problema de descarte para as indústrias de laticínios quando as mesmas não têm os equipamentos necessários para transformá-lo em outros produtos, como concentrados e isolados proteicos. Além de ser gerado em grande volume, é composto por alto teor de lactose e 20% das proteínas presentes originalmente no leite, o que resulta em alta demanda biológica de oxigênio. Se descartado, o soro perturba os processos biológicos das unidades de tratamento de efluentes, e em longo prazo, sua disposição no solo causas sérios problemas de poluição.

Segundo os dados da *Food Agriculture Organization* (FAO), o Brasil produziu em 2009 cerca de 43 mil toneladas de queijo, sendo um volume 4,6 % e 11 % maior que o produzido em 2006 e 2001, respectivamente (FAO, 2010). Como regra geral, estima-se que aproximadamente 9 -10 litros de soro de leite são obtidos para cada quilograma de queijo produzido. Neste sentido, aproximadamente 430 milhões de litros de soro foram produzidos no país em 2009. Com base nestas informações, observa-se uma tendência de crescimento na produção de soro a cada ano. Esse aumento da produção anual de soro no Brasil tem levado as indústrias a analisar alternativas para seu processamento, considerando que a maior parte do soro nacional ainda é destinada à alimentação animal ou descartada como efluente.

Sabe-se que os leites fermentados são produtos altamente consumidos no mundo inteiro, em função de algumas propriedades probióticas e benefícios à saúde. Neste contexto, o uso do soro de leite líquido na preparação de leites fermentados pode ser uma alternativa viável para o seu aproveitamento, minimizando a quantidade a ser descartada pela indústria de laticínios e a necessidade de outros processos de conversão, tais como ultrafiltração e secagem por atomização (*spray drying*), que são processos considerados de alto custo.

Considerando o alto volume de soro ácido gerado na indústria em estudo, que atualmente é destinado para consumo animal, assim como o alto volume de leite fermentado produzido e comercializado pela mesma o trabalho propõe a utilização do soro ácido como ingrediente na elaboração de leite fermentado. Uma vez aproveitado industrialmente, além da

proteção ao meio ambiente outras vantagens do seu uso são a completa utilização alimentícia dos sólidos lácteos, aumento do valor agregado e o desenvolvimento de um produto de maior valor funcional e nutritivo, considerando suas propriedades benéficas à saúde.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. GERAL

Caracterizar o soro ácido proveniente da fabricação de queijo tipo *Petit Suisse* e avaliar sua utilização como ingrediente para elaboração de leite fermentado.

### 2.2. ESPECÍFICOS

- ✓ Caracterizar a composição centesimal e as propriedades físico-químicas do soro ácido obtido na produção do queijo tipo *Petit Suisse* no decorrer das estações do ano;
- ✓ Propor a utilização do soro ácido como ingrediente no processo de fabricação do leite fermentado adoçado desnatado com adição de soro ácido em substituição à água;
- ✓ Caracterizar a composição centesimal e as propriedades físico-químicas do leite fermentado;
- ✓ Propor a redução do tempo de fermentação da base utilizada para fabricação do leite fermentado;
- ✓ Avaliar a aceitabilidade sensorial do leite fermentado produzido com soro ácido.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. LEITE

Define-se o leite como uma secreção fluida das fêmeas de todas as espécies de mamíferos. Segundo a Instrução Normativa nº 62, o leite é definido como (BRASIL, 2011):

*O produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas.*

Sua principal função é fornecer os nutrientes para recém-nascidos, mas também, o leite exerce funções fisiológicas por meio das suas imunoglobulinas, enzimas, fatores de crescimento e agentes microbianos (ANTUNES, 2003). São diversas as espécies que fornecem leite para o consumo humano, entretanto, a que tem maior importância para a indústria de laticínios é a bovina, sendo que as principais raças no ocidente são Holstein, Guernsey, Jersey, Ayrshire e Suíça (ANTUNES, 2003). A produção e a composição do leite dependem muito da genética das vacas; as características inerentes ao genótipo interagem com os nutrientes da dieta do animal resultando em diferentes respostas para a composição e produção de leite (BRUN-LAFLEUR et al., 2010).

A composição exata do leite varia em função de uma série de fatores, incluindo a nutrição animal e o estágio de lactação (MILLS et al., 2011). Na Tabela 1 é representada a composição do leite bovino incluindo a variação que pode existir para cada componente.

Tabela 1. Composição físico-química do leite bovino

Principal Constituinte	Limite de variação (%)	Valor médio (%)
Água	85,5 – 89,5	87,5
Sólidos Totais	10,5- 14,5	~13,0
Gordura	2,5- 6,0	3,9
Proteína	2,9 – 5,0	3,4
Lactose	3,6 – 5,5	4,8
Mínerais	0,6- 0,9	0,8

Fonte: Tetra Pak, 2003.

As principais proteínas do leite bovino consistem nas caseínas e proteínas do soro, incluindo imunoglobulinas, lactoalbumina, beta-lactoglobulina, albumina bovina sérica, lactoferrina e transferrina. Quantidades menores de outras proteínas e



peptídeos pequenos também existem e têm, por exemplo, atividade hormonal ou outras atividades fisiológicas, como o fator liberador de hormônio e o sistema endógeno antibacteriano (MILLS et al., 2011).

A caseína é a proteína dominante no leite ( $26 \text{ g L}^{-1}$ ), forma polímeros contendo vários tipos idênticos ou diferentes de moléculas devido à sua abundância de grupos ionizáveis e sítios hidrofóbicos e hidrofílicos. Os polímeros são formados por centenas de milhares de moléculas individuais e formam uma solução coloidal, que é o que proporciona ao leite desnatado sua coloração branco-azul. Estes complexos moleculares são conhecidos como micelas de caseína (TETRA PAK, 2003). Essa estrutura das caseínas é essencial no processamento do leite em produtos geleificados, como queijo e iogurte e sua estabilidade durante o congelamento, aquecimento, e secagem a torna muito valiosa para diferentes aplicações tecnológicas. Vários modelos sobre a sua estrutura têm sido propostos e a conclusão geral é que as micelas são polidispersas, sendo partículas esféricas que variam de 50 a 600 nm de diâmetro, com um diâmetro médio de cerca de 200 nm. As micelas ainda são caracterizadas por possuírem moléculas de  $\kappa$ -caseína localizadas na superfície, o que confere às micelas uma carga líquida negativa e estabiliza as mesmas contra floculação. O tamanho das micelas pode variar muito dependendo da alimentação das vacas, da estação do ano e da composição geral do leite, principalmente o conteúdo de  $\kappa$ -caseína. (GLANTZ et al., 2010).

O leite é uma emulsão de gordura em água, sendo que a gordura está presente na forma de pequenos glóbulos dispersos no soro de leite. Esses glóbulos possuem diâmetro que variam de 0,1 a 20 micrômetros (1 micrômetro = 0,001 mm). O tamanho médio é de 3-4  $\mu\text{m}$  e há cerca de 15 bilhões de glóbulos por mililitro. A emulsão é estabilizada por uma membrana muito fina de apenas 5-10 nm de espessura ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ), que envolve os glóbulos. A gordura do leite é composta de triglicerídeos, que são os componentes dominantes, di- e monoglicerídeos, ácidos graxos, esteróis, carotenóides (responsáveis pela cor amarela da gordura) e vitaminas (A, D, E e K). Oligoelementos, são os menores componentes. A membrana consiste de fosfolipídeos, lipoproteínas, cerebrosídeos, proteínas, ácidos nucléicos, enzimas, oligoelementos (metais) e água ligada (TETRA PAK, 2003). O leite bovino possui níveis muito baixos de oligossacarídeos, em torno de  $1 \text{ g L}^{-1}$ . Os monômeros de oligossacarídeos incluem D-glucose, D-galactose, N-acetilglicosamina, L-fucose e ácido siálico (ácido N-acetilneuramínico) (MILLS et al., 2011).

Com relação às enzimas do leite, podem ser provenientes do úbere da vaca ou de bactérias. As primeiras são constituintes normais do leite e são chamadas de enzimas originais e as enzimas bacterianas são variáveis dependendo da natureza e tamanho da população bacteriana. As enzimas no leite são muito utilizadas para testes de qualidade e entre as mais importantes estão a peroxidase, a catalase, a fosfatase e a lipase (TETRA PAK, 2003).

O principal carboidrato do leite é a lactose, responsável pela fermentação. A lactose é um dissacarídeo com propriedade edulcorante quatro vezes menor que a sacarose, sendo que essa propriedade pode ser aumentada por hidrólise. Este açúcar pode cristalizar em temperaturas relativamente altas e sofrer hidrólise utilizando ácidos fortes ou enzimas. Quando submetida ao aquecimento pode participar das reações de Maillard e/ou caramelização (PRUDENCIO, 2006)

Com relação à composição de minerais, a concentração total é menor do que 1 % (m/v). Os sais minerais ocorrem em solução no soro de leite ou na forma coloidal. Os mais importantes são os de cálcio, sódio, potássio e magnésio. Eles ocorrem como fosfatos, cloretos, citratos e caseinatos. Sais de potássio e de cálcio são os mais abundantes no leite. As quantidades de sais presentes não são constantes e ao final da lactação, por exemplo, o conteúdo de cloreto de sódio aumenta e dá ao leite um gosto levemente salgado, enquanto as quantidades dos outros sais são reduzidas proporcionalmente (TETRA PAK, 2003).

A composição da proteína do leite e de seus ácidos graxos desperta o interesse de fabricantes e consumidores, pois influencia nutricional e fisicamente o sabor, as propriedades físico-químicas e a aceitação dos produtos lácteos (BOBE et al., 2007). A composição do leite está extremamente relacionada com as propriedades tecnológicas e de processamento dos seus produtos derivados, tais como o queijo, manteiga, leites fermentados e outros. No entanto, outros fatores, incluindo o conteúdo de cálcio, a relação de caseína para as proteínas do soro, pH, e o tamanho dos glóbulos de gordura, também influenciam consideravelmente essas propriedades. Outra propriedade tecnologicamente importante é a estabilidade oxidativa do leite; seus antioxidantes desempenham um papel importante na prevenção da peroxidação lipídica e manutenção da sua qualidade (GLANTZ et al., 2009).

O leite sempre foi conhecido pelo seu papel fundamental na saúde dos ossos e dentes. No entanto, evidências têm revelado que o leite contém uma infinidade de componentes funcionais que trazem benefícios para a saúde muito além do esperado. Estes componentes codificam lipídios específicos, carboidratos complexos e sequências de peptídeos

criptografados que exercem atividades que afetam a pressão arterial e o humor, por exemplo. Por ser dotado de componentes biológicos, nutricionais e imunológicos, o leite pode ser utilizado para o desenvolvimento de alimentos funcionais (MILLS et al., 2011).

### 3.2. SORO DE LEITE

Soro de leite pode ser definido como o líquido remanescente após a precipitação e remoção da caseína do leite durante a fabricação de queijos (MAGALHÃES et al, 2010). Considerado um subproduto da indústria de fabricação de queijos ou de caseína (ASSADI, ABDOLMALEKI, MOKARRAME, 2008), compreende 70-90 % do volume total de leite que entra no processo e contém cerca de 50 % dos nutrientes do leite original: proteína solúvel, lactose, vitaminas e minerais (TETRA PAK, 2003).

De acordo com Cruz et al. (2009) o soro é produzido a uma taxa de 10 litros por quilograma de queijo. Segundo Luhovyy, Akhavan, Anderson (2007) nove litros de soro de leite são produzidos a partir de 10 litros de leite durante a fabricação de queijos, com aproximadamente 100 % da lactose presente originalmente e 20 % do total de proteínas do leite. Estima-se que a produção mundial anual de soro corresponda a 118 milhões de toneladas, equivalente a sete milhões de toneladas de sólidos dos quais 10 % são proteínas (CRUZ et al, 2009) e a taxa de crescimento anual, estima-se que varie entre 1 e 2 % (MAGALHÃES et al, 2010). Neste sentido o reaproveitamento do soro se faz necessário para melhorar a eficiência econômica dos laticínios além de minimizar os impactos ambientais que podem decorrer do seu descarte.

As indústrias de laticínios produzem diversos tipos de soro, dependendo do produto que é fabricado. O soro "doce" ( $\text{pH} \geq 5,8$ ) é obtido a partir da fabricação de queijos produzidos por enzimas naturais (por exemplo, Cheddar, Edam), ou seja, o soro de queijo; ou ainda pela produção de caseinatos o chamado soro de coalho de caseína. O soro médio ácido que tem um pH que varia entre 5,0-5,8, proveniente da fabricação de alguns queijos frescos e ácidos (por exemplo, Danbo, *Queso Blanco*). O soro ácido ( $\text{pH} < 5,0$ ) é obtido a partir da fabricação de queijos frescos ácidos (por exemplo, Quarg, cottage, creme-tel Neufcha, *Petit Suisse*, ou Tvorog, *Fromage frais* e *Ricotta*,). Queijos frescos são fabricados pela coagulação do leite, creme ou soro com ácido, uma combinação de ácido e de coalho ou uma combinação

de ácido e calor. Queijos frescos estão prontos para o consumo imediatamente após a produção. E há ainda o soro ácido de caseína, obtido pela produção de caseína ácida através da acidificação do leite desnatado (GALLARDO -ESCAMILLA; KELLY; DELAHUNTY, 2005; SCHULZ-COLLINS, SENGE, 2004).

O soro contém nutrientes como a lactose (4,5 – 5 % m/v), proteínas solúveis totais (0,6-0,8 % m/v), minerais (0,8 a 1,0 % m/v) lipídeos e ácidos orgânicos (ASSADI, ABDOLMALEKI, MOKARRAME, 2008). A fração lipídica é a principal causa de turbidez do soro e consiste em pequenos glóbulos de gordura, partículas de lipoproteínas e fragmentos de membrana dos glóbulos de gordura do leite (GALLARDO-ESCAMILLA; KELLY; DELAHUNTY, 2005) Para Pescuma et al. (2008) o soro é composto de 5 % (m/v) de lactose, 93 % (m/v) de água, 0,85 % (m/v) de proteínas, 0,53 % (m/v) de minerais e 0,36 % (m/v) de gordura. A composição do soro é variável e pode ser afetada pelo tipo de queijo produzido, pelo método utilizado para manufaturar a caseína, pelo tratamento térmico do leite, pela manipulação, entre outros (MIZUBUTI, 1994).

As Tabelas 2 e 3 trazem a composição química do soro doce, com um pH entre 5,9 a 6,6 e do soro ácido, com um pH entre 4,3 a 4,6.

Tabela 2. Composição química do soro doce e do soro ácido

CONSTITUINTE	SORO DOCE %(m/v)	SORO ÁCIDO %(m/v)
<b>Sólidos totais</b>	6,4	6,2- 6,5
<b>Água</b>	93,6	93,5
<b>Gordura</b>	0,05- 0,5	0,04
<b>Proteínas</b>	0,55- 0,8	0,55 – 0,75
<b>Nitrogênio Não Protéico (NNP)</b>	0,18	0,18
<b>Lactose</b>	4,6 - 4,8	4,2- 4,9
<b>Cinzas</b>	0,5	0,8
<b>Cálcio</b>	0,043	0,12
<b>Fósforo</b>	0,040	0,065
<b>Sódio</b>	0,050	0,050
<b>Potássio</b>	0,16	0,16
<b>Cloro</b>	0,11	0,11
<b>Ácido Láctico</b>	0,05	0,4

Fonte: Tetra Pak (2003) e Antunes (2003).

O soro ácido normalmente possui um maior teor de minerais e menor de proteínas quando comparado ao soro doce, sendo seu uso em alimentação mais limitado em função do gosto ácido e elevado teor salino (BIASSUTTI, 2006). Na sua forma líquida, o soro ácido apresenta características importantes que merecem ser citadas, tais como a alta concentração de água e lactose e a baixa quantidade de proteínas e lipídios residuais (ANTUNES, 2003). No entanto, tais características podem constituir um fator limitante para o seu uso, que possui

uma curta vida útil em função do elevado valor nutritivo e de umidade, temperatura e pH favoráveis ao crescimento microbológico (PRUDENCIO, 2006).

### 3.3. PROTEÍNAS DO SORO

Segundo Luhovyy, Akhavan, Anderson (2007) a última revisão da nomenclatura das proteínas do leite define as proteínas do soro como o conjunto de proteínas do leite que permanecem solúveis após a precipitação da caseína em pH 4,60. Neste grupo estão a albumina,  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbumina e imunoglobulinas (Ig), representando 98 % das proteínas solúveis totais. Também são encontradas albumina bovina sérica (BSA), alguns peptídeos de baixa massa molar e um conteúdo baixo de lactoferrina e lactoperoxidase, assim como alguns fatores de crescimento (PRUDÊNCIO et al, 2008; LUHOVYY, AKHAVAN, ANDERSON, 2007; QI, ONWULATA, 2011). A relação caseína: proteínas do soro no leite bovino é de 80:20, percentual que pode variar em função da raça do animal, da ração fornecida e do país de origem (SGARBIERI, 2004).

De acordo com Pescuma et al. (2008) as proteínas do soro têm valor biológico superior às da soja, do ovo e da própria caseína do leite, em função do alto teor de aminoácidos de cadeia ramificada como leucina, valina e isoleucina. De acordo com Luhovyy, Akhavan, Anderson (2007) as proteínas do soro possuem todos os aminoácidos essenciais. O soro de leite doce seco e o soro ácido seco contêm 10,3 e 10,5 % (m/m) de leucina, respectivamente. As proteínas do soro são consideradas suplementos nutricionais e ingredientes alimentares funcionalmente importantes. Possuem alto valor biológico devido ao padrão de aminoácidos e à elevada digestibilidade. São proteínas altamente solúveis em uma ampla faixa de pH, o que é uma característica importante para suas aplicações como espumante, emulsificante, gelificante e agentes de ligação de água em vários tipos de produtos alimentares (DISSANAYAKE, VASILJEVIC, 2009). Do ponto de vista nutricional o soro é considerado levemente superior quando comparado à caseína, pois esta última possui quantidade limitada dos aminoácidos sulfurados (metionina e cistina) (OLIVEIRA; BRAVO; TONIAL, 2012).

A  $\beta$ -lactoglobulina é o maior e a proteína encontrada no soro (45 - 57 %). Apresenta massa molar média (18,4 - 36,8 kDa) e o maior teor de aminoácidos de cadeia ramificada,

com cerca de 25,1 %. A  $\beta$ -LG possui excelentes propriedades de coagulação, formação de espuma e propriedades gelatinizantes e emulsificantes. (DISSANAYAKE, VASILJEVIC, 2009; HARAGUCHI; ABREU; PAULA, 2006; EVANS et al., 2009). A desnaturação dessa proteína ocorre acima de 70 °C, com expressivas alterações na sua conformação com a exposição de SH e NH<sub>2</sub> e formação de ligações S-S intermoleculares. Por ser termolábil, o processamento térmico aumenta a sua digestibilidade (ANTUNES, 2003).

A  $\alpha$ -lactoalbumina, no que se refere à quantidade, é a segunda proteína do soro, correspondendo de 15 a 25 % do soro. Com massa molar de 14,2 kDa, é a que possui o maior teor de triptofano (6 %) entre todas as fontes protéicas alimentares, sendo, também, rica em lisina, leucina, treonina e cistina. É a única proteína capaz de ligar-se ao cálcio. A  $\alpha$ -LA apresenta boas propriedades emulsificantes e de formação de espuma, mas tem propriedades de gelificação pobres. Apresenta atividade antimicrobiana contra bactérias patogênicas, tais como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*. (DISSANAYAKE, VASILJEVIC, 2009; HARAGUCHI; ABREU; PAULA, 2006). A proporção de  $\alpha$ -LA e  $\beta$ -LG no leite bovino é de 1:3 (BIASSUTTI, 2006). Essa proteína se desnatura a 65,2 °C, pH 6,7, no entanto, 90 % da desnaturação pode ser revertida com o resfriamento, sendo considerada portanto muito termoestável, sendo o cálcio um estabilizador da sua estrutura (ANTUNES, 2003).

A lactoferrina e a lactoperoxidase possuem propriedades bacteriostáticas. A lactoferrina é uma proteína ligadora de ferro, com massa molar de aproximadamente 76 mil Da e que se polimeriza com facilidade na presença de íons cálcio (ANTUNES, 2003). A albumina do soro bovino (BSA) constitui cerca de 10 % das proteínas do soro do leite. É uma proteína globular de alta massa molar (66 kDa), rica em cistina (aproximadamente 6 %), e importante precursora da síntese de glutatona (HARAGUCHI; ABREU; PAULA, 2006). A BSA é uma proteína transportadora de ácidos graxos insolúveis no sistema circulatório, e a sua ligação com esses ácidos estabiliza sua estrutura em relação a desnaturação (ANTUNES, 2003).

Com relação às imunoglobulinas (Igs), que são proteínas de alta massa molar (150 - 1000 kDa), quatro das cinco classes das Ig's estão presentes no leite bovino (IgG, IgA, IgM e IgE), sendo a IgG a principal delas, representando cerca de 80 % do total (HARAGUCHI; ABREU; PAULA, 2006). São proteínas muito termolábeis e suas propriedades funcionais no soro ainda não foram totalmente esclarecidas. É conhecido que a principal função da Ig é provocar imunidade passiva para o recém-nascido (ANTUNES, 2003).

O glicomacropéptido (GMP) é liberado da  $\kappa$ -caseína na primeira etapa da coagulação enzimática da fabricação de queijo. É composto de 64 resíduos de aminoácidos, tendo uma massa molar de 6,7 kDa e não possui aminoácidos aromáticos. Este peptídeo é encontrado apenas no soro doce e não no ácido (HARAGUCHI; ABREU; PAULA, 2006; MADUREIRA et al., 2010). A Tabela 4 resume as concentrações de cada proteína do soro bovino.

Tabela 3. Composição das proteínas do soro de leite bovino.

PROTEÍNA	SORO (% m/v)
$\beta$ -lactoglobulina	0,29
$\alpha$ -lactoalbumina	0,13
Caseína do soro	0,21
Imunoglobulinas	0,06
Lipoproteínas	0,06
BSA	0,06
Lactoferrina	0,02
Lactoperoxidase	0,04

Fonte: Antunes (2003).

As proteínas do soro têm potencial para uso na indústria de alimentos, porém, um grande obstáculo para as suas aplicações consiste na desestabilização induzida pelo calor. O tratamento térmico muitas vezes é obrigatório para o processamento de produtos que contém soro, e pode causar a desnaturação das proteínas, agregação, floculação, resultando na separação de fases, desestabilização da emulsão e precipitação das proteínas (DISSANAYAKE, VASILJEVIC, 2009). Neste sentido, é imprescindível para a indústria melhorar a funcionalidade do soro a fim de evitar os efeitos adversos causados pelo calor (DISSANAYAKE, VASILJEVIC, 2009). Por outro lado, o comportamento sensível das proteínas do soro de leite em relação ao calor é de particular interesse porque se as condições experimentais forem adequadamente controladas, a desnaturação de proteínas e agregação muitas vezes pode resultar em novos materiais com muitos usos potenciais (QI, ONWULATA, 2011).

Na sua forma nativa, as proteínas do soro existem como proteínas globulares, compactas e com alta solubilidade devido à porção hidrofílica. Quando são submetidas ao calor, os grupos hidrofóbicos previamente protegidos internamente na estrutura tridimensional são expostos, e ocorrem reações de troca de grupos sulfidrila e dissulfeto entre os resíduos de cisteína que ficam expostos resultando na dissociação e agregação das proteínas. Essas reações dependem de fatores como a concentração de proteínas, pH, temperatura, força iônica e condições do solvente (DISSANAYAKE, VASILJEVIC, 2009). Para Raikos (2010), o

tratamento térmico, além de melhorar a qualidade microbiológica e estender a vida de prateleira do leite pode também melhorar algumas características sensoriais devido às alterações na funcionalidade das proteínas. Quando o leite é aquecido a temperaturas acima de 65 °C, por exemplo, as proteínas do soro se desdobram e expõem os grupos hidrofóbicos e essas proteínas podem em seguida interagir com a  $\kappa$ -caseína e formar agregados induzidos pelo calor. Segundo Qi, Onwulata, (2011) quando a mistura de  $\alpha$ -LA e  $\beta$ -LG, em pH neutro, é aquecida, ocorrem tanto mudanças físicas, como por exemplo, interações hidrofóbicas, iônicas e de Van der Waals, quanto químicas, como mudanças intra e inter moleculares.

#### 3.4. QUEIJO TIPO *PETIT SUISSE* E A GERAÇÃO DO SORO ÁCIDO

O queijo tipo *Petit Suisse* é um queijo fresco originado na França (PRUDÊNCIO et al., 2008), também conhecido como Quark, em países de língua alemã, ou Tvorog, nos países do leste Europeu (SCHULZ-COLLINS, SENGE, 2004). No Brasil, é consumido como sobremesa, com vendas direcionadas principalmente para as crianças (PRUDÊNCIO et al., 2007). De acordo com o seu Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) é definido como o queijo não maturado, fresco que é obtido pela coagulação do leite com coalho e/ou enzimas específicas e/ou bacterias específicas, podendo ser adicionado de outros ingredientes alimentícios, tais como frutas, suco, mel, cereais, chocolate, vegetais e outras especiarias. Sua consistência tende a ser pastosa, branda ou mole e a cor branca ou de acordo com as substâncias adicionadas (BRASIL, 2000).

Seu processamento mais comum ocorre através do tratamento térmico do leite desnatado, 85 – 95 ° C por 5 – 15 minutos. Em seguida ao resfriamento a 25 - 28° C, o leite é encaminhado para um tanque de fermentação (Tetra Pak, 2003). O leite previamente aquecido a temperaturas superiores da pasteurização comum garante um maior rendimento do queijo devido à incorporação da água pelas proteínas desnaturadas (PRUDÊNCIO, 2006). Tratamentos térmicos também podem ser realizados para diminuir o efeito dos minerais, precipitando o excesso de sais de fosfato de cálcio e reduzindo o cálcio iônico. Durante o aquecimento a  $\alpha$ -lactoalbumina e a  $\beta$ - lactoglobulina são desnaturadas e se associam à micela de caseína (VEIGA, VIOTTO, 2001).



De acordo com Veiga e Viotto (2001) para tratamentos térmicos de 85°C/30min ocorre uma maior interação entre proteínas do soro e caseína quando comparado a leite tratado a temperaturas menores (75° C por 20 min). No decorrer da fermentação, as micelas de caseína tendem a se fundir, levando à formação de uma rede densa. No entanto, o processo de fusão parece ser inibido pela presença de interações na superfície da micela, sugerindo que tratamentos térmicos mais intensos resultem em maiores agregados, mesmo após a fermentação.

No tanque de fermentação é adicionada comumente uma cultura contendo *Streptococcus lactis* e *Streptococcus cremoris*, e também uma pequena quantidade de coalho. Este último ingrediente é utilizado normalmente em quantidade que se refere a um décimo do que se costuma utilizar para produção que queijo comum, ou seja, cerca de 2 mL/ 100 kg de leite. O coágulo se forma após aproximadamente 16 horas, a pH 4,5 – 4,7. A massa é então agitada e encaminhada para o processo de termização com 56 – 60 °C por até 3 minutos, e resfriamento a 37 °C. O próximo passo é a separação centrífuga, de onde sai o soro ácido. A massa centrifugada é resfriada a 8 – 10 °C se o teor de matéria seca estiver entre 16 – 19 %; para matéria seca entre 19 – 20 % o resfriamento deve ocorrer entre 11 – 12 °C. Os resfriadores tubulares são bastante utilizados, porém inviáveis para pequenos volumes, devido às perdas que o equipamento ocasiona. O queijo tipo Quark pode ser misturado com creme e preparado de frutas ou temperos antes de ser envasado (Tetra Pak, 2003).

A Figura 1 ilustra o processamento.

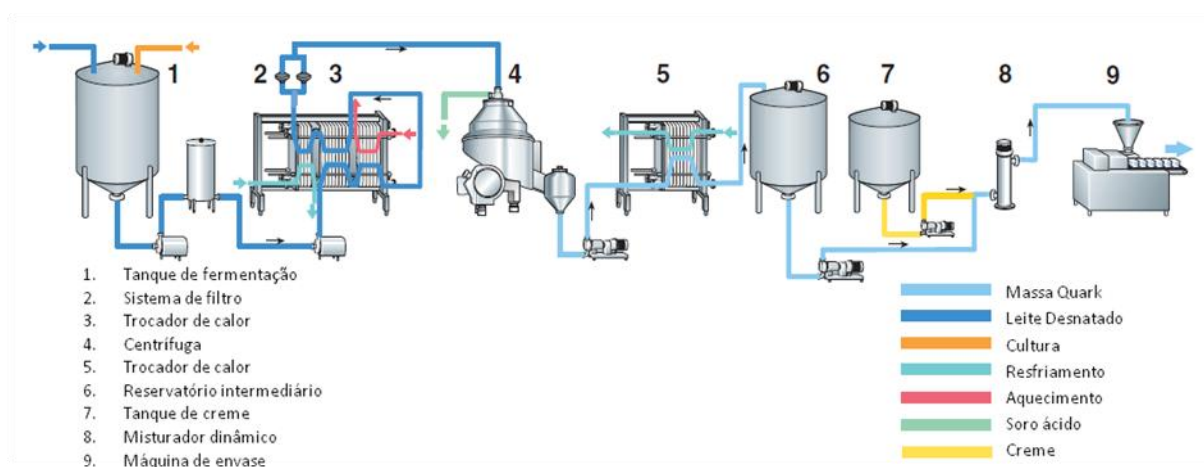


Figura 01. Representação esquemática da produção do queijo Quark  
 Fonte: Adaptado de Tetra Pak (2003).

Em comparação aos queijos maturados, os frescos geralmente têm menor teor de matéria seca, e conseqüentemente proteína e gordura, e são ricos em lactose. A maior parte do cálcio é solubilizada durante a coagulação ácida e removida com o soro de leite (SCHULZ-COLLINS e SENGE, 2004). O soro que é descarregado da centrífuga contém ainda em torno de 0,65 % (m/v) de proteínas e 0,2 % (m/v) de nitrogênio não proteico (NNP).

### 3.5. PRODUTOS DE SORO DISPONÍVEIS NO MERCADO

Dentre os produtos com soro encontrados no mercado, estão o soro doce, ácido, soro em pó, soro de leite reduzido em lactose, soro desmineralizado, concentrados proteicos com conteúdos de proteína que variam em 34 % (WPC34), 50 % (WPC50), 60 % (WPC60), 75 % (WPC75), 80 % (WPC80); isolado proteico de soro (WPI), contendo no mínimo 90 % de proteína; lactoferrina, lactoperoxidase, glicomacropéptido (GMP) (LUHOVYY, AKHAVAN, ANDERSON, 2007). Para Valduga et al. (2006), os principais derivados do soro são o soro desmineralizado (por troca iônica ou eletrodialise), comumente utilizado em formulações infantis, a lactose refinada, o concentrado proteico de soro (ultrafiltração), que contém entre 35 e 80 % de proteína e o isolado proteico de soro com um conteúdo de 90 % de proteínas e que é obtido por troca iônica e diafiltração.

Para obtenção do soro em pó há diversas tecnologias, sendo que a secagem por atomização (*spray dryer*) é comumente utilizada. Neste processo, grande parte dos nutrientes é preservada e a concentração do soro permite sua utilização como ingrediente que melhora algumas propriedades dos alimentos, tais como viscosidade, solubilidade, geleificação, emulsificação, formação de espuma e estabilidade (VALDUGA et al., 2006).

O concentrado proteico é obtido pela remoção dos constituintes não proteicos, de forma que o produto final contenha no mínimo 25 % de proteína. Em geral, o valor proteico varia de 25- 85 %, e a medida que o teor de lactose diminui o de proteína aumenta (ANTUNES, 2003). Na forma de concentrados proteicos, o soro vem sendo utilizado pela indústria de alimentos na elaboração de produtos dietéticos, nos quais age como substituinte da gordura. Um exemplo é o soro de leite microparticulado, conhecido com o nome comercial de *Simplese* que está sendo aplicado como ingrediente em vários produtos *light* (ANTUNES, CAZETTO, BOLINI, 2004). Atualmente, os concentrados de soro são muito empregados em

produtos de panificação, sobremesas congeladas, chocolates, fórmulas infantis, produtos à base de queijo, bebidas nutricionais, leites fermentados entre outros alimentos processados (VALDUGA et al., 2006). Há também o concentrado de soro com lactose reduzida que possui menos de 1 % de lactose, diferentemente dos 7 % encontrados normalmente. No processo de fabricação desse tipo de soro utiliza-se a enzima  $\beta$ -galactosidase que hidrolisa a lactose em glicose e galactose durante o processo de ultrafiltração. Outra opção para processamento é a diafiltração, originando um concentrado com 85 % de proteínas (ANTUNES, 2003).

O isolado proteico de soro (WPI) é um pó comercial com elevado teor de proteínas (> 90 %), como citado acima, é a forma comercial mais pura das proteínas do soro. É praticamente isento de gordura e lactose (ANTUNES, 2003). Normalmente, este produto é fabricado empregando-se cromatografia de troca iônica ou microfiltração, seguido pela secagem por atomização. Durante a secagem, o alimento líquido é exposto a um gás quente e a sua evaporação ocorre para produzir partículas secas, que são posteriormente separadas do fluxo de gás por vários tipos de métodos. Podem ocorrer perdas nas propriedades funcionais (QI, ONWULATA, 2011). Antunes (2003) sugere combinar dois processos, microfiltração para remover a gordura, e a hidrólise da lactose, para remover a lactose, seguidos pelos processos de ultrafiltração e diafiltração.

Considerando que o soro possui um teor de sal elevado, cerca de 8-12 % (em base seca), a sua utilização pode ser limitada. Neste sentido, o soro desmineralizado pode ter vários campos de aplicação, como por exemplo, na fabricação de sorvetes e produtos de panificação (TETRA PAK, 2003). Este produto é obtido pela remoção seletiva de parte de seus minerais, sendo o produto seco não deve conter mais de 7 % de cinzas. É produzido por troca iônica, eletrodialise ou técnicas de filtração com membranas (ANTUNES, 2003). O soro altamente desmineralizado (90 – 95 %) pode ser utilizado em fórmulas para lactantes e outros produtos. Alimentos infantis típicos têm a fórmula constituída em grande parte (50 – 60 %) por sólidos de soro de leite (TETRA PAK, 2003; OUTINEN, RANTAMAKI, HEINO, 2010).

Há ainda a proteína de soro hidrolisada, em que as proteínas após hidrólise formam peptídeos mais facilmente digeridos de forma a não alterar o valor nutricional. São produtos utilizados para alimentação de praticantes de esporte e alimentação infantil (ANTUNES, 2003). O diagrama de blocos apresentado na Figura 2 resume os vários processos que podem ser utilizados no tratamento do soro e os seus produtos finais.

A composição dos diversos tipos de soro encontrados varia de acordo com a fonte de leite, o método de preparação do soro, tipo de queijo produzido que dá origem ao soro, e as variantes de cada processo (ANTUNES, 2003).

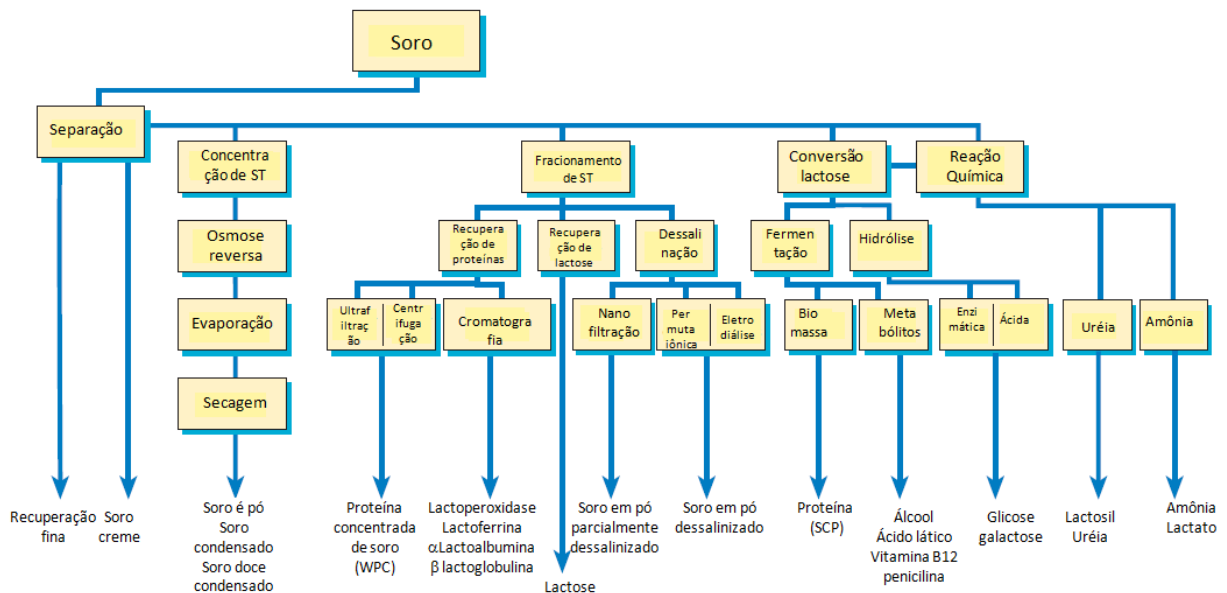


Figura 02. Diagrama de blocos das diferentes alternativas de processamento de soro.

Fonte: Tetra Pak (2003).

### 3.6. APLICAÇÕES TECNOLÓGICAS DO SORO NA INDÚSTRIA

O soro de leite possui diversas propriedades funcionais, tais como de emulsificação, formação de gel, aeração, viscosidade, entre outras. Neste sentido, apresenta potencial considerável de utilização, desde que seja processado para tornar-se um ingrediente proteico adequado para uso específico (SILVA, BOLINI, 2006). No entanto, tais propriedades podem variar conforme pH, temperatura, troca iônica, concentração, interações com outras moléculas, tipos de processamento e modificações químicas e enzimáticas (SILVA, BOLINI, ANTUNES, 2004).

Determinados países como Canadá, Estados Unidos, Austrália e Nova Zelândia e alguns da União Europeia costumam processar o soro reconhecendo-o como ingrediente funcional e agregando valor à linha de produção da indústria láctea. No Brasil, dados relacionados à disponibilidade deste subproduto são muito imprecisos. Muitas empresas que obtêm soro dos seus processos, a fim de evitar custos para tratamento do mesmo, optam pela utilização deste subproduto na alimentação animal ou descartam o excedente diretamente nos

rios (SILVA, BOLINI, 2006). Em função do seu alto teor de matéria orgânica, o soro de leite, se descartado, constitui um sério problema para o meio ambiente, pois pode aumentar significativamente os teores de demanda bioquímica/química de oxigênio (DBO/DQO) (ASSADI, ABDOLMALEKI, MOKARRAME, 2008; CRUZ et al., 2009). Segundo Qi, Onwulata (2011), o soro de leite é considerado um dos mais poluentes subprodutos, com uma DBO de 435.000 ppm e uma DQO de 460.000 ppm.

As pesquisas que envolvem a utilização do soro de leite se concentraram em suas propriedades químicas, físico-químicas e nas propriedades bioativas das suas proteínas e peptídeos, de forma a transformar o soro, que era um material de desperdício e muitas vezes indesejável, em uma mercadoria valiosa, com componentes a serem utilizados na biotecnologia e exploração de alimentos (QI, ONWULATA, 2011). No entanto, existem fatores que podem limitar a utilização do soro de leite, sendo um deles o sabor. Estudos sugerem que *off-flavors*, tais como diacetil, amargor e acidez são os principais atributos sensoriais que limitam o uso desse subproduto. Além disso, algumas enzimas pretolíticas, tais como a quimosina, podem promover a degradação de aminoácidos levando a formação de sabores indesejáveis (ARUNCHIA, CROISSANT e DRAKE, 2005). Para Croissant et al. (2009), produtos da oxidação lipídica, incluindo metil cetonas, aldeídos e ácidos graxos livres foram identificados como os principais contribuintes de *off-flavors* em proteínas de soro de leite.

Há muitos anos o soro de leite costuma ser empregado industrialmente para produção de ácido láctico por meio de processos fermentativos, sendo hoje o substrato mais comum para esse fim. O soro pode também ser fermentado como alternativa para produção de biogás e biomassa, que por sua vez são utilizados como fonte de energia (OLIVEIRA; BRAVO; TONIAL, 2012). Na Nova Zelândia, Estados Unidos e na Irlanda aproximadamente 50 % do soro gerado é utilizado para produção de etanol (BACH, 2012).

No Brasil, a elaboração de bebidas lácteas fermentadas é uma das principais opções de aproveitamento do soro de leite. Essas bebidas possuem características sensoriais semelhantes ao iogurte. De acordo com Castro et al. (2009), nos países desenvolvidos, aproximadamente 95 % do soro produzido é utilizado para a fabricação de alimentos, sendo que no Brasil, apenas 50 % é utilizado.

A utilização do soro líquido na fabricação de bebidas lácteas é uma opção bem atrativa para a indústria devido à simplicidade do processo e a possibilidade de uso dos equipamentos já existentes na usina de beneficiamento de leite reduzindo dessa forma alguns custos

(CALDEIRA et al., 2010). Apesar da proteína de soro concentrado ser comumente utilizada na fabricação de bebidas fermentadas, o soro de leite líquido representa uma boa alternativa econômica, já que os custos com evaporação ou ultrafiltração são eliminados (GALLARDO-ESCAMILLA, KELLY, DELAHUNTY, 2005).

Segundo o Regulamento Técnico Identidade Qualidade de bebidas lácteas, bebida láctea é considerada um produto obtido a partir do leite, ou leite reconstituído, e ou derivados do leite, que pode ser fermentado ou não, com ou sem adição de outros ingredientes. Neste produto, a base láctea representa no mínimo 51 % do total de ingredientes do produto final, sendo a definição das proporções corretas de leite e soro um pouco imprecisas (ALMEIDA, BONASSI, ROÇA, 2001; BRASIL, 2005).

Como a relação de utilização de leite e soro na produção de bebidas lácteas ainda não está bem definida, a alteração da composição de bebidas lácteas pode comprometer a sinérese, considerado um defeito primário e fator limitante para a aceitação pelos consumidores. Pode também comprometer a acidez que afeta a viabilidade das bactérias probióticas (CASTRO et al., 2009). Pesquisas sobre o uso de soro para fabricação de leites fermentados, especialmente bebidas lácteas, tem buscado a substituição dos sólidos do leite por sólidos do soro de leite, a fim de melhorar a textura e reduzir defeitos como a sinérese durante o armazenamento. (GALLARDO- ESCAMILLA, KELLY, DELAHUNTY, 2005). A sinérese é um efeito que ocorre devido a alguns rearranjos na rede de proteínas, produzidos por forças atrativas entre as moléculas de caseína ou micelas agrupadas que podem levar a formação de ligações intermoleculares adicionais e, conseqüentemente, a contração do gel com expulsão de líquido. A liberação espontânea de água do gel é acompanhada pela redução de seu volume e intensificada pelas mudanças de pH, temperatura e fatores mecânicos. A suscetibilidade à sinérese tende a diminuir com o aumento da matéria sólida do iogurte (ANTUNES, CAZETTO, BOLINI, 2004).

Na América do Norte, alguns fabricantes utilizam o soro ácido em formulações na elaboração de sorvetes, substituindo 25 % dos sólidos não gordurosos do leite por produtos de soro, comprovando sua viabilidade. Pesquisas demonstram que sorvetes fabricados com a incorporação de ingredientes proteicos de soro bovino, em substituição ao leite em pó desnatado, possuem características tão boas quanto de sorvetes sem a substituição (SILVA, BOLINI, 2006).

Ozen e Kilic (2009) avaliaram os efeitos nas propriedades físicas do uso do soro em leites fermentados desnatados, que são bebidas bem mais fluidas que iogurtes, pois há poucas

informações sobre esse tipo de utilização. Viscosidade inaceitável e separação do soro são os principais defeitos desse produto e para minimizar esse problema, estabilizantes como pectina, gomas e amidos são utilizados para melhorar as características físicas. O estudo utilizou WPC com o intuito de melhorar essas propriedades em comparação com os estabilizantes convencionais. Os resultados demonstraram que a adição de 2 % de WPC é benéfica para melhorar as propriedades físicas, estabilizar a estrutura e aumentar o valor nutricional do leite fermentado desnatado. Valores acima de 2 % podem enfraquecer a estrutura devido à redução no teor de caseínas.

Guimarães (2011) propôs a utilização de soro de queijo para elaboração de biscoito doce de chocolate, em substituição à água, com o intuito de utilizar o subproduto e de enriquecer nutricionalmente o biscoito. Os biscoitos foram avaliados sensorialmente através de escala hedônica de nove pontos e os resultados mostraram grande aceitabilidade do produto pelos provadores. As análises do teor proteico demonstram que os biscoitos acrescidos de soro tiveram um aumento de 7,2 % do teor de proteínas quando comparados com os biscoitos feitos com água.

Segundo Baldissera et al., (2011), a indústria de alimentos está buscando inovações baseadas em novos efeitos e outras categorias funcionais, tais como bebidas para esportistas, bebidas energéticas, bebidas calmantes e cosméticos. Bebidas lácteas elaboradas com mistura de soro de leite e outros produtos lácteos já correspondem a um terço do mercado de leites fermentados. Bebidas formuladas com soro de leite e frutas estão ganhando espaço, através de um nicho de mercado dominado pela indústria de suplementos proteicos.

O soro pode ainda ser utilizado na forma em pó para intensificar o desenvolvimento de cor durante o cozimento de produtos cárneos embutidos, aumentar o volume dos pães e bolos e agir como veículo anti-aglutinante em misturas secas (OLIVEIRA; BRAVO; TONIAL, 2012). De acordo com Pelegrini e Carrasqueira (2008) o soro ácido pode ser utilizado como realçador de sabor de molhos cremosos para saladas, retentor de água, emulsificante e como fonte de cálcio. Já o soro doce é comumente utilizado em produtos de panificação, salgadinhos, sorvetes e sobremesas lácteas.

Há algum tempo o soro está sendo aproveitado para a produção de alimentos destinados ao consumo humano e animal, caracterizando-se como uma alternativa para minimizar o impacto ambiental e aproveitar as suas propriedades nutritivas e funcionais na fabricação de novos produtos alimentícios ou para agregar valor aos já existentes.

### 3.7. LEITES FERMENTADOS

Segundo o CODEX (CODEX STAN 243-2003), leites fermentados são considerados os produtos obtidos pela fermentação por microrganismos adequados e que estejam presentes em níveis adequados, ativos e viáveis durante todo seu prazo de validade (TABASCO et al., 2007). Leites fermentados são produtos preparados pela fermentação controlada do leite, de forma a produzir acidez e sabor no nível desejado (ZUBEIR, ABDALLA, OWNI, 2005). A norma Codex para produtos lácteos fermentados define-os como produtos obtidos pela fermentação do leite através da ação de microrganismos adequados, e que devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto dentro do seu prazo de validade. Quanto a viabilidade, a norma institui que a soma dos microrganismos da cultura *starter* deve ser de no mínimo  $10^7$  g/UFC e que a contagem mínima de outros microrganismos deve ser de  $10^6$  g/UFC (TABASCO et al., 2007).

De acordo com o RTIQ de Leites Fermentados no Brasil, define-se como (BRASIL, 2007):

*“Os produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do pH do leite, ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante a ação de cultivos de microrganismos específicos. Esses microrganismos devem ser viáveis, ativos e abundantes no produtos final durante seu prazo de validade”*

Ainda, segundo o RTIQ, denomina-se leite fermentado ou cultivado aquele que sofreu fermentação através de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* sp., *Streptococcus thermophilus* e outras BAL que contribuem para as características finais do produto (BRASIL, 2007). Estes micro-organismos utilizados para elaboração de leites fermentados, exceto o *Streptococcus thermophilus* são probióticos e considerados seguros ou *Generally Recognized As Safe (GRAS)*, apresentam capacidade de adesão à mucosa intestinal e são tolerantes aos ácidos e a bile, segundo DUNNE et al. (2001) apud CUNHA et al. (2008).

A fermentação láctica oferece vantagens sensoriais devido à produção de exopolissacarídeos e de enzimas proteolíticas e lipolíticas que alteram a textura do alimento, e também pela produção de aromas como o acetaldeído (NEVES, 2005). Alguns autores relatam que não é ideal fermentar o leite usando apenas microrganismos probióticos devido ao maior tempo de fermentação necessário para reduzir o pH do leite ao ponto isoelétrico e



também em função do sabor desagradável provocado por algumas linhagens de bactérias probióticas, inviabilizando o produto econômica e comercialmente. Costuma-se utilizar os microrganismos da cultura tradicional de iogurte (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) em combinação com as bactérias probióticas para reduzir o tempo de fermentação e melhorar o sabor, corpo e textura do produto final (DAVE & SHAH, 1997 apud SILVA, 2007). De acordo com Saxelin et al. (1999 apud NEVES, 2005), é comum a utilização de duas bactérias para a fermentação do substrato, uma suporte e outra probiótica, de forma a garantir a sobrevivência e a viabilidade celular das mesmas. A bactéria suporte é empregada para dar corpo ao produto através da síntese de exopolissacarídeos, e de promover o crescimento das bactérias probióticas, baixando o pH. No entanto, os mesmos autores relatam que alguns produtos elaborados somente com bactérias probióticas apresentam maior estabilidade microbiológica durante o armazenamento.

Ainda segundo o RTIQ, os leites fermentados devem cumprir os seguintes requisitos físico-químicos: acidez de 0,6 – 2,0 g de ácido láctico por 100 g, conteúdo de matéria gorda de no máximo 0,5 g/100 g quando desnatado, e para proteínas mínimo 2,9 g/100 g. Há na legislação uma observação que permite um teor menor de proteínas no caso de leites fermentados com agregados, açucarados e/ou saborizados, desde que não se reduzam a uma proporção maior do que a porcentagem de substâncias alimentícias não-lácteas (BRASIL, 1999).

### 3.8. ANÁLISE SENSORIAL

Submeter o leite fermentado à análise sensorial é muito importante para avaliar e conhecer a sua qualidade. A análise sensorial é um método subjetivo, pois submete o produto à um julgamento humano, utilizando os órgãos do sentido. A escolha da análise sensorial correta proporciona resultados reprodutíveis e precisos, quando comparados aos métodos objetivos (BARBOSA, 2011).

Quando o intuito é avaliar se os consumidores gostam ou não do produto utiliza-se um teste afetivo, de aceitação através do uso da escala hedônica, com termos que variam do “gostei extremamente” até o “desgostei extremamente” (BARBOSA, 2011). Soares et al (2011) preparam iogurtes com soro pasteurizado a 90°C/5min acrescido de 8% e 10% de leite

em pó e submeteram ao teste de aceitação sensorial com escala hedônica. Como resultado obteve-se ótima aceitação e as diferenças entre as formulações não foram perceptíveis aos julgadores ( $P < 0,05$ ), considerando os atributos cor, sabor, odor e viscosidade. Estes dados permitem concluir que há viabilidade comercial para a produção desta bebida láctea com soro.

O teste de aceitação tem como vantagens requerer menos tempo para avaliação, possuir uma ampla faixa de aplicação, além de que permite ser utilizado com provadores pouco treinados. A aplicação deste método consiste pode ocorrer nos casos de desenvolvimento de novos produtos, determinação da aceitação ótima em termos da variação do número de ingredientes, modificações na formulação ou alterações de processamento, para determinar os efeitos de variáveis como processamento, formulação, matérias-primas, empacotamento, condições de estocagem e tempo de conservação dos alimentos (MONTEIRO, 2002).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. MATERIAL

Todos os reativos utilizados foram *pro analysis* e os equipamentos e materiais foram fornecidos pelos Laboratórios de Ciência de Tecnologia de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

O trabalho foi realizado em conjunto com uma indústria de laticínios de região centro – oriental do Paraná, que forneceu o soro ácido, os demais ingredientes e equipamentos necessários para elaboração do leite fermentado.

O soro ácido foi coletado fresco na saída da centrífuga (Westfalia: KDB 30-02-076) que separa a massa Quark do soro ácido, do processo de fabricação do queijo *Petit Suisse*. A base fermentada utilizada para elaboração do produto foi coletada diretamente dos tanques de fermentação, após atingir o tempo de fermentação proposto. A base fermentada corresponde à mistura do leite desnatado, leite em pó, mix de vitaminas (Mix Cassab BTV – 4353, Vitaminas A,C,D,E) e citrato de sódio (Cargill).

Os demais ingredientes adicionados à base fermentada para elaboração do produto final também foram cedidos pela empresa e correspondem ao xarope de sacarose pasteurizado (62 °Brix), aroma de frutas cítricas (559609 – Firmenich), sorbato de potássio granulado (M. Cassab) e suco de laranja - concentrado adoçado (Orion).

### 4.2. MÉTODOS

Os métodos de preparo do leite fermentado assim como as metodologias de análises utilizadas estão descritos a seguir.

A Figura 3 descreve o processo original de elaboração do leite fermentado.

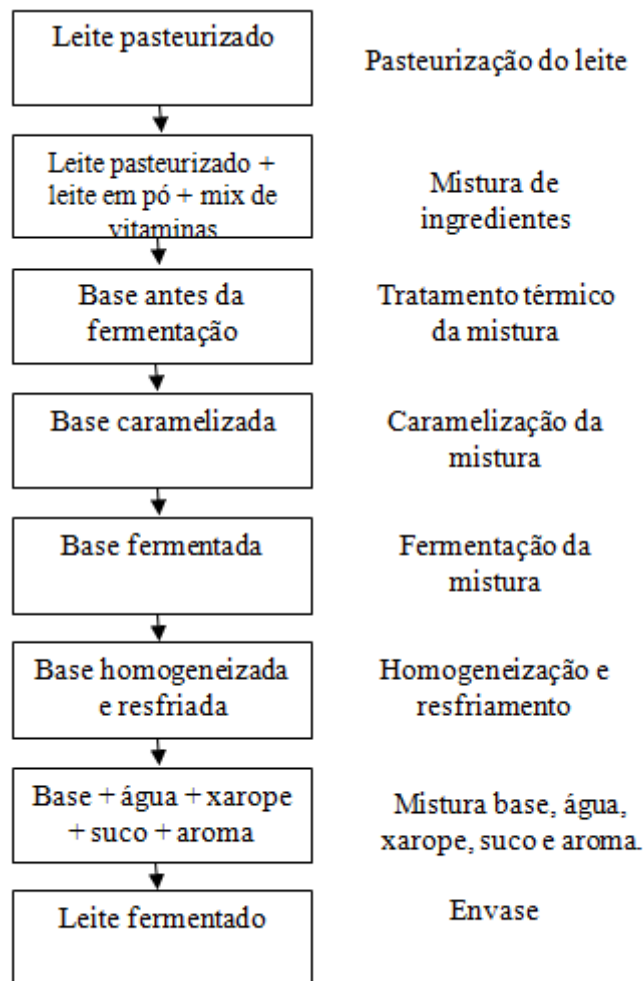


Figura 3. Fluxograma do processo original de elaboração do leite fermentado desnatado.

O leite foi pasteurizado a  $73\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 15 segundos (equipamento modelo VT20 – GEA), padronizado com 0,03 % de gordura e resfriado a  $6\pm 1^{\circ}\text{C}$  (equipamento Inoxil modelo S38RKC). Na etapa de mistura de ingredientes para formação da base foram adicionados ao leite fluido leite em pó desnatado, mix de vitaminas e citrato. Essa mistura seguiu então para novo tratamento térmico, de  $90\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 5 minutos, e depois foi resfriada a  $75^{\circ}\text{C}$ . Em seguida, a mistura resfriada foi enviada para os tanques de fermentação (Inoxil modelo S98.031.09) onde passou pelo processo de caramelização,  $95^{\circ}\text{C}$  por 3 horas, seguindo com o resfriamento –  $40^{\circ}\text{C}$ . Após a caramelização e resfriamento foi adicionado à mistura o fermento (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* sp.) e nesta etapa a mistura fermentou por aproximadamente 60 horas, até atingir o padrão de acidez de 320 °D, formando a base fermentada. Após a fermentação, a base foi homogeneizada (equipamento modelo TMC – 18, Artepeças - sob pressão de 100 bar) e resfriada até  $15\text{-}17^{\circ}\text{C}$  (equipamento

modelo S38RKC, Inoxidável). O processo permite uma mistura em linha da base fermentada com os demais ingredientes que são o xarope de sacarose pasteurizado, água, aroma de frutas cítricas, suco de laranja e sorbato de potássio. Em seguida o produto elaborado foi envasado em embalagens Tetra Pak de 80 g. O volume de base fermentada corresponde a 25 % do volume total do produto, a água corresponde a 54 % e os demais ingredientes 21 %.

#### 4.3. PASTEURIZAÇÃO DO SORO ÁCIDO

O soro ácido foi coletado fresco no momento do uso e pasteurizado em banho-maria a 95 °C por 5 minutos. Em seguida, estocado em freezer a -5°C até o abaixamento da temperatura para 5°C. Após a pasteurização o soro foi misturado com a base fermentada e demais ingredientes, conforme descrito no item 4.6.

#### 4.4. ANÁLISES DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE FERMENTADO

##### 4.4.1. Determinação de acidez total expressa em ácido láctico

A determinação da acidez total foi realizada medindo-se o teor de ácido láctico presente em 100 g de amostra, pela titulação com NaOH 0,1N com alíquota de 10 mL de amostra, na presença de fenolftaleína como indicador (BRASIL, 2006).

##### 4.4.2. Determinação de sólidos solúveis totais (°brix)

A determinação de sólidos solúveis foi realizada através de refratômetro manual, modelo PAL – 1, marca Atago.

##### 4.4.3. Determinação de pH

Os valores de pH foram determinados em potenciômetro digital (marca Micronal, modelo B474), devidamente calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e 4,0 (NORMAS ANALÍTICAS DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

#### 4.4.4. Determinação de proteínas

O teor de foi calculado nitrogênio total pelo método Micro Kjeldahl e o teor de proteína pelo fator de correção 6,25 (AOAC, 1998).

#### 4.4.5. Determinação de açúcares redutores totais

A análise de determinação de açúcares redutores para leite, pelo método de Lane-Eynon, seguindo a Instrução Normativa n° 68 (BRASIL, 2006).

#### 4.4.6. Determinação de glicose

Glucose foi quantificada empregando-se o método colorimétrico de glicose oxidase (GOD), conforme Dahlquist (1961). Foi utilizada solução padrão de glucose de  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  e as amostras foram submetidas à análise espectrofotometria (equipamento marca Shimadzu - Japão, modelo UV mini - 1240) a 520 nm para obtenção da concentração de glucose.

#### 4.4.7. Determinação de lactose

A determinação de açúcares redutores para leite foi feita pelo método de Lane-Eynon, para glicídios redutores em lactose, seguindo a Instrução Normativa n° 68 (BRASIL, 2006).

### 4.5. CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICA DO SORO ÁCIDO

O soro ácido foi coletado fresco na produção e em seguida encaminhado para o laboratório de análises físico-químicas onde permaneceu sob refrigeração ( $< 10 \text{ }^\circ\text{C}$ ) até o momento das análises. As análises físico-químicas de acidez, pH, e lactose seguiram a mesma

metodologia descrita para leite fermentado, item 4.4. As análises de proteínas, umidade, sólidos totais, cinzas e lipídeos foram realizadas conforme relatado abaixo.

#### 4.5.1. Determinação proteínas totais

As proteínas do soro ácido foram determinadas pelo sistema automatizado, Leco FP-528, certificado pela *Association of Official Agricultural Chemists* (1990) com conversão do teor de nitrogênio total em proteína pelo fator 5,8 segundo Sgarbieri et al. (1999)

#### 4.5.2. Determinação de umidade

Foi determinado pelo método de secagem em estufa à 105°C (Estufa de Secagem marca Quimis, modelo Q317M-52) (AOAC, 1998).

#### 4.5.3. Determinação de sólidos totais

Foi determinado por cálculos de diferença com base na umidade.

#### 4.5.4. Determinação de lipídeos

A análise de determinação do teor de gordura foi efetuada pelo Método Butirométrico para leite baseadas na Instrução Normativa n° 68 (BRASIL, 2006).

#### 4.5.5. Teor de Cinzas

Foi determinada pelo método de incineração em forno mufla a 550°C (Marca Quimis, modelo Q3/8M-24) (AOAC, 1999).

### 4.6. ELABORAÇÃO DO PRODUTO

Foram realizados alguns ensaios preliminares com o objetivo de identificar a melhor opção de combinação de ingredientes e fatores sem alterar significativamente as

características sensoriais do produto, garantindo o atendimento aos requisitos legais estabelecidos pelo RTIQ e proporcionando a melhoria do processo.

Para os testes realizados e a elaboração do produto final, submetido à análise sensorial, a base fermentada foi coletada diretamente dos tanques de fermentação nos tempos propostos (25 e 40 horas). Em seguida, estocada em freezer a  $-5^{\circ}\text{C}$  até atingir a temperatura de  $5^{\circ}\text{C}$ . A base resfriada foi homogeneizada com auxílio de *mixer* e adicionada dos demais ingredientes nas mesmas proporções da formulação original: xarope de sacarose pasteurizado (62 °Brix), soro ácido pasteurizado (em substituição da água), aroma de frutas cítricas, suco de laranja e o sorbato de potássio. Estes ingredientes foram coletados diretamente na produção no momento de uso. O produto final foi estocado em garrafas de politereftalato de etila em geladeira a  $9\pm 1^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.6.1. Etapa 1 – Viabilidade do uso do soro em leite fermentado

Foram realizados testes preliminares em que o produto foi feito conforme item 4.6, seguindo a combinação de ingredientes descrita na Tabela 04. A base fermentada, o xarope, o soro ácido e os demais ingredientes foram coletados na indústria e misturados em laboratório. O objetivo do ensaio foi avaliar a aplicabilidade do soro ácido líquido em leite fermentado.

O produto foi feito conforme formulação original, sem alterar a quantidade dos demais ingredientes. O volume total de água adicionado foi substituído parcialmente pelo soro, em diferentes proporções. As amostras produzidas foram analisadas em relação a pH, brix, acidez e teor de proteínas, conforme metodologia descrita no item 4.4. Foi realizada informalmente a degustação das amostras pelos funcionários da empresa em estudo que trabalham no processo de fabricação de leite fermentado, e por sua vez, conhecem as características sensoriais do produto padrão.

Tabela 04. Combinação de ingredientes para elaboração de leite fermentado - etapa 01.

<b>Ingredientes</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
<b>Base</b>	X	X	X
<b>Água</b>	50%	70%	30%
<b>Soro</b>	50%	30%	70%
<b>Xarope</b>	W	W	W
<b>Suco Laranja</b>	Y	Y	Y
<b>Aroma</b>	Z	Z	Z



#### 4.6.2. Etapa 2- Base em menor concentração e reduzido tempo de fermentação.

Com base nos resultados obtidos pelos testes do item 4.6.1 constatou-se que o uso do soro ácido em substituição a água é viável. Desta forma, foi definida a utilização de soro para substituir 100 % do volume de água, e não mais parcialmente, aproveitando ao máximo esse subproduto da fabricação de queijos. Na Tabela 05 são apresentadas as novas combinações realizadas.

As bases utilizadas foram coletadas diretamente da produção com tempos de fermentação de 10 e 30 horas (padrão = 60 h). Testar a redução do tempo de fermentação teve por objetivo melhorar o processo, tornando a fabricação desse produto mais rápida e possibilitando conseqüentemente aumento da produção.

Foram realizados cálculos de balanceamento de massa para identificar o percentual de ganho de proteínas com a substituição completa do volume de água por soro ácido, considerando a média de proteínas que o soro apresentou ao longo de um foi de 0,84 %. Neste sentido, o novo ensaio propôs também a redução do volume de base utilizada, em 10, 20 e 30 % para as amostras com 30 horas, visando mais um ganho no processo, diminuindo os custos da empresa para elaboração do produto.

Os ingredientes foram misturados com o uso de *mixer* e estocados em garrafas PET de 1 L. As garrafas foram estocadas em freezer até o abaixamento da temperatura para 5 °C. Em seguida os produtos foram degustados informalmente pelos funcionários da empresa e analisados em relação ao brix, pH e proteínas. O soro utilizado para a elaboração do produto foi coletado fresco e pasteurizado conforme descrito acima.

Tabela 05. Combinações de ingredientes para elaboração do leite fermentado – etapa 02.

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>Horas fermentação</b>	30	30	30	10
<b>Volume Base</b>	90%	80%	70%	100%
<b>Soro</b>	100%	100%	100%	100%
<b>Xarope</b>	W	W	W	W
<b>Suco Laranja</b>	Y	Y	Y	Y
<b>Aroma</b>	Z	Z	Z	Z

Obs.: Os percentuais estabelecidos estão em relação ao volume original de cada ingrediente na fórmula.

#### 4.6.3. Etapa 3- Análise de regressão

Empregou-se a análise de regressão com o intuito de verificar a viabilidade de trabalhar com bases fermentadas acima de 20 horas e abaixo de 60 horas (padrão) combinados com a redução do volume da mesma, avaliando o efeito de cada um desses fatores sobre a concentração total de proteínas, considerando que os demais parâmetros podem ser ajustados. Optou-se por utilizar base no tempo 25 e 40 horas, considerando os resultados do item 4.6.2.

Todos os ingredientes utilizados no teste foram coletados na indústria e misturados em laboratório. O soro utilizado para a elaboração do produto foi coletado fresco e pasteurizado conforme descrito acima. Em seguida foi analisado em relação a pH e acidez.

Os testes foram realizados seguindo as combinações propostas na Tabela 06 e as variáveis de resposta analisadas foram: pH, acidez, brix e teor proteico. Todas as respostas foram analisadas em duplicatas e proteínas em quadruplicatas. A análise estatística dos resultados foi realizada através da regressão linear fazendo-se uso dos softwares Excel 2003 e Matlab 2010.

Tabela 06. Matriz dos ensaios combinando-se as variáveis estudadas.

<b>Experimento</b>	<b>Tempo de Fermentação (h)</b>	<b>Volume de soro (%)</b>	<b>Volume de base utilizado em relação ao total (%)</b>
<b>1</b>	25	100	95
<b>2</b>	25	100	85
<b>3</b>	25	100	70
<b>4</b>	40	100	95
<b>5</b>	40	100	85
<b>6</b>	40	100	70

#### 4.7. ANÁLISE SENSORIAL - TESTE DE COMPARAÇÃO MÚLTIPLA

Para a realização da análise sensorial o trabalho foi encaminhado para aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos, sendo aprovado através do parecer n°133.108/2012.

Com base nos resultados obtidos com os testes acima foi definido que as formulações finais para serem submetidas à análise sensorial seriam aquelas obtidas com 25 e 40 h de

fermentação. Foi testada novamente a possibilidade de redução do volume de base, propondo-se 10 % a menos.

Tabela 07. Combinações de tempo de fermentação e volume de base para elaboração do leite fermentado.

<b>Experimento</b>	<b>Tempo de Fermentação (h)</b>	<b>Volume de soro (%)</b>	<b>Volume de base utilizado em relação ao total (%)</b>
<b>1</b>	25	100	90
<b>2</b>	25	100	100
<b>3</b>	40	100	90
<b>4</b>	40	100	100

Após a elaboração as amostras foram analisadas quanto ao teor de proteínas, e as que apresentaram os maiores valores foram submetidas a sensorial empregando-se o teste de comparação múltipla, de acordo com a NBR 13526 (1995), incluindo a amostra comercial de igual sabor como a amostra padrão em quatro repetições. Com a participação de provadores treinados, foi utilizada a escala básica para comparação com o padrão (Leite fermentado adoçado desnatado) com extremidades denominadas extremamente inferiores ao padrão (1) e extremamente melhores que o padrão (9), conforme a Figura 04.

Os provadores foram treinados na própria indústria pela área de Análise Sensorial e Inovação (ASI) para análise e monitoramento dos produtos elaborados. Os mesmos passaram pelos seguintes testes: gostos básicos, teste de reconhecimento de odor, teste de acuidade visual estojo de cores, teste de textura, teste de viscosidade e teste triangular, considerando 100 % de acerto para seleção dos provadores no teste de gostos básico e 75 % para os demais.

Em todas as avaliações, as amostras de leite fermentado, aproximadamente 20 ml, foram tomadas aleatoriamente, codificadas conforme o teste aplicado e distribuídas em um copo plástico branco. O teste foi realizado no laboratório de análise sensorial da indústria, as amostras foram apresentadas aos provadores localizados em seções separadas, em uma sala com iluminação uniforme e à temperatura ambiente  $\pm 20^{\circ}\text{C}$ .

**Análise Sensorial**

Nome: ..... Data: .....  
 Sexo: ( ) F ( ) M Idade: ( ) < 25 ( ) 25-35 ( ) 36-50 ( ) > 50

**TESTE DE COMPARAÇÃO MÚLTIPLA**

Você está recebendo amostras de leite fermentado. Por favor, prove as amostras e a amostra padrão e indique sua opinião com relação à escala proposta.

	Código da amostra		
9	Extremamente melhor que o padrão		
8	Muito melhor que o padrão		
7	Moderadamente melhor que o padrão		
6	Ligeiramente melhor que o padrão		
5	Igual ao padrão		
4	Ligeiramente pior que o padrão		
3	Moderadamente pior que o padrão		
2	Muito pior que o padrão		
1	Extremamente pior que o padrão		

Observações: .....  
**Obrigada pela colaboração!!!**

Figura 4. Ficha de avaliação sensorial – teste de comparação múltipla.

**4.8. ANÁLISE SENSORIAL E ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO PRODUTO FINAL**

Com base no resultado obtido na análise sensorial do item 4.7 foi escolhido o produto que teve sua base fermentada por 25 horas para ser submetido à aceitabilidade. O método aplicado foi o teste de aceitação com uma equipe composta por 77 consumidores. Utilizou-se escala hedônica de 9 pontos com extremidades denominadas desgostei muitíssimo (1) e gostei muitíssimo (9), conforme Figura 5. Além disso, foi realizado um questionamento a respeito da intenção de compra por parte dos consumidores onde se empregou escala de 5 (cinco) pontos onde, 5 (cinco) representa "certamente compraria" e 1 (um) "certamente não compraria", empregando os procedimentos descritos para análise sensorial (MEILGAARD et al, 1991).

A amostra foi apresentada em copo plástico branco e o teste foi realizado no laboratório de análise sensorial da Universidade Estadual de Ponta Grossa, onde as amostras foram apresentadas aos consumidores localizados em seções separadas, em uma sala com iluminação uniforme e à temperatura ambiente (~20 °C).

O leite fermentado elaborado para o teste de aceitação foi produzido conforme descrição acima (item 5.1). Utilizou-se base com 25 horas de fermentação e o produto foi analisado físico-quimicamente conforme já descrito.

Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Departamento de Engenharia de Alimentos  
Laboratório de Análise Sensorial

Nome:..... Data: .....  
Sexo: ( ) F ( ) M Idade: ( ) <25 ( ) 25-35 ( ) 36-50 ( ) > 50

#### TESTE DE ACEITAÇÃO

Você está recebendo amostra de leite fermentado. Por favor, prove a amostra e avalie o quanto você gostou ou desgostou da mesma conforme a escala abaixo.

- 9 ( ) Gostei muitíssimo  
8 ( ) Gostei muito  
7 ( ) Gostei moderadamente  
6 ( ) Gostei ligeiramente  
5 ( ) Não gostei/nem desgostei  
4 ( ) Desgostei ligeiramente  
3 ( ) Desgostei moderadamente  
2 ( ) Desgostei muito  
1 ( ) Desgostei muitíssimo

Se você encontrasse esse produto a venda, você compraria?  
( ) Certamente compraria ( ) Provavelmente compraria ( ) Tenho dúvida se compraria ( ) Provavelmente não compraria ( ) Certamente não compraria

Observações:.....

**Obrigada pela colaboração!!!**

Figura 5. Ficha de avaliação sensorial – teste de aceitação.

#### 4.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados do acompanhamento físico-químico do soro ácido foram inicialmente submetidos ao teste de Levene utilizados para análise da distribuição dos dados. Confirmada a homogeneidade, os resultados foram expressos em valores de média  $\pm$  erro padrão e coeficiente de variação. Para as comparações entre as estações foi utilizado o teste de Fisher. A análise de correlação de Pearson foi empregada para identificar as possíveis associações entre os parâmetros. O nível de significância adotado para todas as análises foi  $p < 0,05$ . Os resultados da análise sensorial, teste de comparação múltipla foi analisado por análise de variância – ANOVA. A aceitabilidade do leite fermentado foi calculada através das médias

das respostas dos consumidores, expressos em porcentagem e a intenção de compra demonstrada em histograma e porcentagem. Os dados foram tratados no programa computacional Action © *Copyright* 1997-2011 *Estacamp*.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO SORO ÁCIDO

A Tabela 8 traz os resultados das análises físico-químicas do soro ácido de uma indústria de produtos lácteos que foram realizadas no período de novembro de 2011 até novembro de 2012.

Tabela 08. Análises físico-química do soro ácido coletado entre novembro de 2011 e novembro de 2012 em uma indústria de produtos lácteos.

	<b>Acidez</b>	<b>Lipídeos</b>	<b>Minerais</b>	<b>Umidade</b>	<b>ST</b>	<b>pH</b>	<b>Proteínas</b>	<b>Lactose</b>
	% (m/v)	% (m/v)	% (m/v)	% (m/v)	% (m/v)		% (m/v)	% (m/v)
<b>Média</b>	0,61	0,09	0,61	94,44	5,57	4,37	0,84	4,18
<b>Erro Padrão</b>	0,07	0,04	0,37	0,54	0,57	0,14	0,55	0,84
<b>Coefficiente variação%</b>	11,55	43,55	61,38	0,57	10,23	3,12	65,84	20,05
<b>Levene</b>	0,0002	0,0000	0,0068	0,0006	0,0012	0,0002	0,0001	0,0053

Os resultados estão expressos em % e correspondem a análise de 65 amostras.

Levene:  $p < 0,05$  – dados homogêneos.

ST: Sólidos Totais.

Os resultados encontrados são similares aos apresentados por Antunes (2003) e Tetra Pak (2003), em que obtiveram valores entre 0,55- 0,75 % (m/v) para proteínas, 6,2-6,5 % (m/v) para sólidos totais e acidez de 0,4% (m/v). Mizubuti (1994) analisou o soro ácido líquido e encontrou 0,61-0,80 % (m/v) para proteínas, 4,30 – 4,90 % (m/v) para lactose e sólidos de 5,20 – 6,80 % (m/v). Gallardo-Escamilla; Kelly e Delahunty (2005) analisaram a composição físico-química do soro ácido proveniente do queijo Quarg e encontraram valores de 0,76 % (m/v) para proteínas e pH de 4,36. Turhan; Etzel (2004) relataram para soro ácido proveniente do queijo Cottage valores de 0,74 % (m/v) para proteínas. Martínez-Hermosilla, Hulbert e Liao (2000) descreveram também para soro ácido proveniente do queijo tipo Cottage, sólidos de 6,32 % (m/v), 0,75 % (m/v) de proteínas, 0,60 % (m/v) de minerais, e umidade de 93,68 %. Casper; Wendorff e Thomas, (1998) investigaram o soro proveniente do queijo Chevre (pH 4,6), elaborado com leite de cabra, e os valores foram de 0,53 % (m/v) para proteínas, 5,07 % (m/v) para lactose, 0,76 % (m/v) para minerais e 6,40 % (m/v) de

sólidos totais. Djuric, et al. (2004) encontraram para soro ácido 4,69 % (m/v) de lactose, 0,82% (m/v) de proteínas e 0,50 % (m/v) para minerais.

Tais diferenças encontradas entre os valores da pesquisa e o relatado pelos demais pesquisadores podem ser explicadas pela variação de diversos fatores, tais como a composição do leite de origem, o pré-tratamento deste último e as condições de processamento utilizadas para a fabricação do queijo, como a pasteurização o tipo e a quantidade de fermento e do coagulante de caseína utilizados (JOHANSEN; VEGARUD; SKEIE, 2002). Por exemplo, a microbiologia que o leite fermentado é submetido durante a sua transformação em queijo pode modular a composição dos queijos diretamente sintetizando vitaminas B ou indiretamente por solubilizar certos minerais que podem ser perdidos no soro de leite (LUCAS et al., 2005).

De acordo com Johansen; Vegarud e Skeie (2002) a composição química do soro depende da composição química do leite, que por sua vez varia de acordo com o estágio de lactação das vacas, diferenças de um animal para o outro, reprodução e alimentação das vacas. Fagan et al. (2008) relatam que a composição do leite pode variar em função de alguns fatores nutricionais, ambientais, forma de manejo, higiene na ordenha assim como a refrigeração pós ordenha. Quando o binômio umidade relativa e temperatura ambiente ultrapassa a zona de conforto térmico, vacas da raça Holandesa sofrem estresse calórico, o que leva a diminuição na ingestão de matéria seca, e este último afeta diretamente as características do leite (SOUZA et al., 2010).

Cabe ressaltar também que as tendências econômicas na comercialização do leite, em função do crescente consumo de produto lácteos, também afetam a composição do leite em longo prazo. A implantação de sistemas de pagamento por qualidade fundamenta-se em fazer com que os produtores orientem sua produção de acordo com as necessidades de mercado. Se as indústrias pagarem bônus para proteína e gordura, os produtores tenderão a procurar tecnologias para aumentar a concentração destes componentes no leite. Sabe-se que a indústria que deu origem ao soro ácido da atual pesquisa é adepta desse tipo de política, incentivando seus produtores na produção de leite com teores elevados de proteína.

Observa-se que o teor de proteína está em torno de 18 % acima dos valores reportados em outros trabalhos, o que pode estar relacionado ao intenso melhoramento genético e nutricional dos rebanhos da região centro oriental do Paraná, local de coleta do soro ácido do presente trabalho. Ribas et al. (2004) estudaram a variação dos sólidos totais em amostras de leite de 32.590 rebanhos dos estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo e obtiveram para



proteínas médias de 3,20 %, superiores às descritas por Durães et al. (2001) apud Ribas et al. (2004), de 3,10 %, e das evidenciadas pelo DAIRY HERD IMPROVEMENT ANALYSIS (DHIA) (2001 apud RIBAS et al., 2004) de 3,18 %.

Os resultados do teste de Pearson, na Tabela 9, demonstram que não há correlação entre proteínas e os demais componentes, apenas com a lactose conforme esperado, em que foi encontrada correlação negativa ( $r = -0,715$ ). Não foi encontrada correlação entre sólidos e proteínas, e a correlação de sólidos foi maior com lactose do que com gordura, diferente do relatado em outras pesquisas em que se analisaram as correlações dos componentes do leite. Ribas et al. (2004) analisaram amostras de leite e encontraram a maior correlação de sólidos com a gordura ( $r = 0,875$ ), seguido pela proteína ( $r = 0,653$ ) e a menor correlação com lactose ( $r = 0,237$ ), por ser o componente que apresenta a menor variação e, principalmente, por ser o principal agente osmótico do leite.

Tabela 09. Matriz de correlação entre os parâmetros físico-químicos do soro ácido.

	Umidade	ST	pH	Proteína
<b>Lipídeos</b>	-0,2798	0,2790	-0,2991	
	p=0,025	p=0,026	p=0,016	
<b>Mineral</b>	-0,4201	0,4110		
	p=0,001	p=0,001		
<b>Sólidos Totais</b>	-0,9735			
	p=0,00			
<b>Lactose</b>	-0,5971	0,6090		-0,7158
	p=0,000	p=0,000		p=0,000

Valores expressos correspondem ao  $r$  – coeficiente de correlação e  $p < 0,01$ .  
Total de 65 amostras.

Na Tabela 10 pode ser observado o perfil físico-químico do soro por estação do ano. O teor de cinzas apresentou alto coeficiente de variação de 61,38 % e diferença significativa entre o verão e as demais estações. Pesquisas relatam que a composição mineral do soro ácido líquido é muito semelhante à composição do soro doce, exceto para cálcio e magnésio (WONG, LaCROIX e McDONOUGH, 1978). Foram encontrados valores cerca de três vezes maiores de cálcio em soro ácido quando comparado com doce, e para magnésio cerca de 50 % a mais. Tais mudanças foram atribuídas às diferenças nos métodos usados para precipitar a caseína. Durante a coagulação do queijo Cheddar, o cálcio precipita como um complexo de caseinato de cálcio de forma que a maior parte dele fica na coalhada. Por outro lado, durante a precipitação para elaboração do queijo Cottage a maior parte do cálcio fica ionizado, e as

quantidades deste são maiores no soro de leite do que na coalhada (WONG, LaCROIX e McDONOUGH, 1978). Segundo Jeličić et al. (2008) o conteúdo de cálcio é mais elevado no soro de leite ácido devido solubilidade muito mais elevada em meio ácido. Antunes (2003) aponta 1251 mg kg<sup>-1</sup> de Ca para soro ácido e 466 mg kg<sup>-1</sup> para doce; 649 mg kg<sup>-1</sup> de fósforo no soro ácido e 412 mg kg<sup>-1</sup> no doce, fechando um total de cinzas de 7333 mg kg<sup>-1</sup> para soro ácido e 5252 mg kg<sup>-1</sup> para doce. Glantz et al. (2009) investigaram a composição do leite de rebanhos na Suécia, nas estações de verão e inverno e, ao contrário do demonstrado nesta pesquisa, constaram menor teor de minerais no inverno do que no verão, exceto para o cálcio. Segundo Lucas et al. (2005), para fabricação de queijos, o fosfato inorgânico é completamente solubilizado a um pH de 5,2, enquanto que a solubilização completa de Ca e Mg é obtida somente depois de acidificação a pH 3,5. Consequentemente, quanto maior a acidificação do leite antes da drenagem maior a proporção de minerais perdida no soro. Variações no processo relacionadas à acidificação podem justificar as diferenças encontradas.

Tabela 10. Análises da composição centesimal e propriedades físico-químicas do soro ácido nas quatro estações de nov.2011 até nov. de 2012.

	Acidez	Lipídeos	Cinzas	Umidade	ST	pH	Proteínas	Lactose
	%(m/m)	%(m/v)	%(m/v)	%(m/v)	%(m/v)		%(m/v)	%(m/v)
<b>Primavera (set/dez)</b>	0,596 <sup>ab</sup>	0,085 <sup>a</sup>	0,619 <sup>a</sup>	94,571 <sup>a</sup>	5,425 <sup>bc</sup>	4,312 <sup>b</sup>	0,515 <sup>c</sup>	4,216 <sup>ab</sup>
<b>Desvio Padrão</b>	0,03	0,03	0,21	0,38	0,38	0,13	0,23	0,42
<b>Verão (dez/mar)</b>	0,638 <sup>a</sup>	0,061 <sup>b</sup>	0,367 <sup>b</sup>	94,837 <sup>a</sup>	5,129 <sup>c</sup>	4,478 <sup>a</sup>	0,968 <sup>ab</sup>	3,942 <sup>b</sup>
<b>Desvio Padrão</b>	0,06	0,06	0,13	0,68	0,69	0,06	0,31	1,05
<b>Outono (mar/jun)</b>	0,615 <sup>ab</sup>	0,100 <sup>a</sup>	0,828 <sup>a</sup>	94,066 <sup>b</sup>	6,001 <sup>a</sup>	4,441 <sup>a</sup>	0,639 <sup>bc</sup>	4,734 <sup>a</sup>
<b>Desvio Padrão</b>	0,12	0,00	0,60	0,27	0,33	0,13	0,39	0,64
<b>Inverno (jun/set)</b>	0,58 <sup>b</sup>	0,100 <sup>a</sup>	0,661 <sup>a</sup>	94,230 <sup>b</sup>	5,770 <sup>ab</sup>	4,227 <sup>c</sup>	1,218 <sup>a</sup>	3,840 <sup>b</sup>
<b>Desvio Padrão</b>	0,04	0,00	0,19	0,34	0,34	0,04	0,84	0,80

Médias seguidas por letras diferentes diferem significativamente entre si nas colunas, ao nível de significância de  $p < 0,05$  – Teste de Fisher. ST: sólidos totais. Verão n= 18, inverno n= 15, outono n= 16, primavera n=15.

Os valores encontrados para a lactose do soro apontam média de 4,07 % para as estações mais quentes e 4,28 % para as estações mais frias. As pesquisas feitas por Silva (2004) demonstram que as estações do ano resultaram em impacto considerável sobre a lactose, pois nos períodos de calor os teores de lactose foram mais baixos do que nas estações mais frias. Walstra e Jenness (1984) apud Silva (2004) encontraram variação do teor de lactose no leite entre 4,5 e 5,0 % (p/v).

Observa-se nos resultados que a gordura apresentou alto coeficiente de variação, porém ainda menor que o da proteína, entretanto é importante considerar que o leite utilizado na fabricação do queijo que originou o soro era desnatado. Além disso, o processo de centrifugação do leite para desnate pode apresentar algumas variações, resultando em pequenas alterações no percentual final de gordura no leite. Segundo Heck et al. (2009) dos principais componentes do leite, a lactose tem a menor variação, a gordura a maior e a proteína com variação intermediária. De fato, a lactose variou pouco, e a proteína apresentou o maior coeficiente de variação.

Observa-se através dos resultados apresentados na Figura 6 que os valores de proteínas mais altos foram encontrados no verão e no inverno. Johansen; Vegarud e Skeie (2002) estudaram a composição do soro dos queijos Cheddar e Novergia nas diferentes estações do ano e obtiveram resultados semelhantes. As concentrações de  $\beta$ -lactoglobulina foram significativamente maiores durante o inverno e verão em comparação com a temporada de primavera, e as concentrações de  $\alpha$ -lactalbumina foram significativamente mais altas durante verão, em comparação com a primavera e o outono. Tais diferenças são atribuídas à interferência do clima na qualidade e disponibilidade da pastagem, modificando o tipo de forrageira fornecida aos animais.

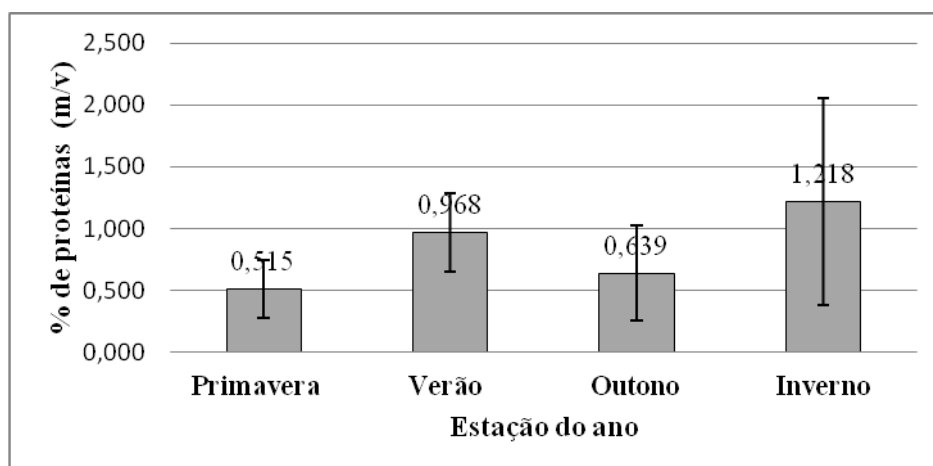


Figura 6. Percentual de proteínas no soro ácido por estação do ano (de novembro de 2011 até novembro de 2012).

Souza et al. (2010) analisaram o teor de gordura e proteína do leite nas lactações iniciadas nas diferentes estações do ano e não encontraram diferença significativa. Segundo Heck et al. (2009) a única proteína que apresentou variação sazonal significativa na

composição do leite foi a  $\alpha$ -LA, proteína do soro. Esta proteína apresenta um padrão sazonal parecido com a quantidade de lactose do leite. O motivo exato ainda é desconhecido, mas sugere-se que está relacionado ao fato de que a  $\alpha$ -LA é uma coenzima na produção de lactose.

Andrade (2002) analisou os dados provenientes do Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná (PARLPR), no período de 1991 a 2000, e obteve as maiores médias de  $235,69 \pm 1,91$  kg de proteína no mês de junho, que corresponde a 3,07% de proteínas no leite. Em percentual, no mês de janeiro, foram encontradas as maiores médias de proteína ( $3,10 \pm 0,006$  %). Estes resultados provavelmente, devem-se ao fato que os animais recebem durante o inverno suplementação nutricional para superar o período de estiagem que estão sujeitos. Heck et al. (2009) analisaram amostras de leite na Holanda pelo período de um ano, e constataram que proteínas e gorduras apresentaram seus valores máximos no período do inverno. Glantz et al. (2009) investigaram a composição do leite de rebanhos na Suécia, nas estações de verão e inverno, constaram que o teor de proteínas foi maior no inverno (3,52 g/100g) do que no verão (3,26 g/100 g).

Segundo Van Bruggen (2007) apud Heck et al. (2009) os principais ingredientes das rações para gado de raça holandesa incluem erva fresca, silagem de capim, silagem de milho (*Zea mays*) e concentrados. Durante o inverno o consumo de concentrado é maior (31 %) do que nas demais estações e quanto maior a proporção de concentrado em relação a forragem, mais baixos são os níveis de fibra e mais altos os de amido na dieta, o que resulta num aumento da produção de ácido propiônico no rúmen. O ácido propiônico é o principal precursor da glicose, e o fornecimento de nutrientes glicogênicos conduz a sinais hormonais na vaca que resultam em aumento da concentração de proteínas do leite (JENKINS, MCGUIRE, 2006 apud HECK et al., 2009; GONZALES et al., 2004), corroborando como observado para a estação de inverno neste trabalho.

O teor de sólidos foi maior no outono, seguido do inverno e apresentando diferença significativa em relação às estações mais quentes. Ribas et al. (2004) também encontraram os maiores valores de sólidos no leite nos meses de maio e junho, e os menores nos meses de dezembro e janeiro. Heck et al. (2009) também encontraram maiores valores de sólidos no inverno do que no verão. Tais diferenças são justificadas pelo conjunto de variáveis a que os rebanhos estão sujeitos ao longo do ano, tais como variações de manejo, clima, composição do rebanho e melhoramento genético, que por sua vez influenciam diretamente o consumo de matéria seca e no metabolismo dos animais (HECK et al, 2009 e RIBAS et al., 2004).

Pesquisas visando identificar as causas de variação na composição do leite são muito importantes para toda a cadeia láctea, pois podem servir como ferramenta para a melhoria da qualidade e aumento da produtividade (SOUZA et al., 2010). Segundo Casper; Wendorff e Thomas, (1998) estudos sobre a variação da composição do soro são importantes para prever as características funcionais dos produtos derivados do soro de leite.

## 5.2. ELABORAÇÃO DO PRODUTO

### 5.2.1. Etapa 1 – Viabilidade do uso do soro em leite fermentado

Os resultados das análises físico-químicas demonstram resultados semelhantes para as diferentes concentrações de soro utilizadas, considerando-se pH, brix e acidez. Conforme os resultados mostrados na Tabela 11, os valores de brix se mantiveram dentro do padrão estabelecido, mas os resultados de pH ficaram fora da faixa padrão, que corresponde a 3,8-4,0. O teor de proteína se manteve diretamente proporcional ao volume de soro adicionado, revelando que o uso do soro possibilita contribuir com o enriquecimento nutricional do produto.

Durante a degustação realizada pelos funcionários da empresa foi identificada diferença entre as amostras, porém os provadores afirmaram que todas ficaram sensorialmente agradáveis, com sabor semelhante ao produto padrão (dados não disponíveis). Neste sentido, concluiu-se que o uso de soro ácido para elaboração de leite fermentado desnatado é viável.

Tabela 11. Análises físico-químicas amostras de leite fermentado - Etapa 01.

<b>Experimento (água/soro)</b>	<b>Acidez (°D)</b>	<b>pH</b>	<b>Brix</b>	<b>Proteína (%, m/v)</b>
<b>A (50/50)</b>	80	4,16	16	1,25
<b>B (70/30)</b>	71	4,19	16	1,21
<b>C (30/70)</b>	83	4,11	16	1,38

### 5.2.2. Etapa 02 – Base em menor concentração e reduzido tempo de fermentação.

O leite fermentado elaborado com base fermentada por 10 horas e com substituição total de água da formulação original por soro (experimento D) apresentou acidez elevada e sabor diferente do comercializado, descaracterizando o produto original. Neste sentido, foi descartada a possibilidade de trabalhar com tempos de fermentação muito reduzidos em relação ao padrão que é de 60 h.

A Tabela 12 traz os resultados obtidos com as demais amostras, onde se utilizou base fermentada por 30 horas, 100 % do volume de água substituído por soro ácido e variações no volume de base. Observa-se que os valores de pH, brix e acidez ficaram acima do padrão, que é de 3,8 - 4,0 e 16 - 18 e 70 - 75 °D, respectivamente. O percentual de proteínas se manteve diretamente proporcional ao volume de base utilizada. Observa-se que para as amostras com 90 e 80 % do volume de base o teor proteico permaneceu acima do limite mínimo estabelecido que corresponde a 2,03. Desta forma, sugere-se que há a possibilidade de trabalhar com diminuição do volume total de base utilizado em função da adição dos sólidos do soro ácido.

A degustação realizada pelos funcionários demonstrou que os produtos ficaram sensorialmente aceitáveis (dados não apresentados), apesar de ser constatada diferença em comparação com o produto padrão. Tais resultados confirmaram a possibilidade de trabalhar com soro ácido e tempos de fermentação reduzidos.

Tabela 12. Análises físico-químicas das amostras de leite fermentado elaborado com base fermentada por 30 horas.

<b>Experimento (%Base)</b>	<b>Acidez (°D)</b>	<b>pH</b>	<b>Brix</b>	<b>Proteína (%, m/v)</b>
<b>A (90)</b>	100,5	4,07	21	2,38
<b>B (80)</b>	100,4	4,10	21	2,08
<b>C (70)</b>	100,3	4,12	21	1,99

### 5.2.3. Etapa 03 – Análise de regressão

Na Tabela 13 é apresentada a matriz de planejamento utilizada no ensaio com as respectivas respostas. O modelo descrito abaixo foi identificado utilizando-se a proteína como

fator de resposta. O mesmo confirma como já esperado, que o volume de base utilizado interfere mais na quantidade de proteína do produto final do que o tempo de fermentação da base. Ambas as variáveis de processo influenciam de forma diretamente proporcional a variável de resposta. O valor do R<sup>2</sup> encontrado para o modelo abaixo (Equação 1) foi de 0,9821.

Modelo:

$$y = 0,4352 + (0,0053 * Tempo) + (0,04179 * Base) + (-0,00043 * Tempo * Base) + (-0,00029 * Base^2) \text{ (Eq. 1.)}$$

Tabela 13. Matriz de experimentos e variáveis dependentes.

Experimento	Tempo de Fermentação (h)	Volume de base (%)	Proteínas % (m/v)	° Brix	Acidez °D	pH
1	25	95	1,90	21	94,5	4,48
2	25	85	1,92	21	93,5	4,47
3	25	70	1,77	21	87,7	4,48
4	40	95	1,97	21	100	4,31
5	40	85	1,87	21	101	4,34
6	40	70	1,67	21	98	4,33

Através dos cálculos de balanceamento de massa, constatou-se um ganho proteico de 20 % em relação ao uso de água. O teor proteico do soro utilizado no teste era de 0,825 %, o que permitiria reduzir em até 5 % o volume de base utilizada sem alterar os padrões mínimos de proteína estabelecidos pela legislação. No entanto, observa-se pelos resultados da Tabela 13 que em nenhuma das combinações os resultados de proteína atingiram o mínimo estabelecido que corresponde a 2,03%.

Os resultados obtidos podem ser justificados pelas variáveis do processo, tais como fatores operacionais relacionados ao preparo do produto e atendimento aos padrões físico-químicos da matéria prima e demais ingredientes.

As demais variáveis também extrapolaram os valores estabelecidos pelos padrões do produto comercial, que são pH de 3,8 – 4,0, acidez de 70 – 75 °D e °Brix de 16 – 18°. Porém, os teores de acidez, pH e °Brix podem ser corrigidos variando-se os demais ingredientes do produto, sem comprometer a qualidade sensorial do mesmo.

### 5.3. ANÁLISE SENSORIAL - TESTE DE COMPARAÇÃO MÚLTIPLA

#### 5.3.1. Análises físico-químicas do leite fermentado por 25 e por 40 horas.

A Tabela 14 apresenta os resultados obtidos para as quatro amostras produzidas. O soro ácido utilizado para elaboração dos produtos apresentou teor proteico de 0,488 %. Observa-se que os valores de proteína encontrados para as amostras com 10 % de redução do volume de base ficaram abaixo do mínimo estabelecido. Considerando-se que o teor proteico depende do volume de base adicionado e que o processo pode apresentar oscilações em função de problemas operacionais concluiu-se que o presente trabalho seria realizado alterando-se apenas dois fatores: soro em substituição da água e redução do tempo de fermentação. Além disso, o coeficiente de variação de proteínas do soro é alto de forma que torna difícil reduzir o volume de proteína adicionada pela base compensando pela proteína do soro. Desta forma, o uso do soro poderá promover incrementos na quantidade de proteínas do produto, e a possibilidade de produzir um leite fermentado fora dos padrões de legislação fica descartada.

Tabela 14. Análises da composição centesimal e propriedades físico-químicas dos leites fermentados.

Teste	Tempo de Fermentação (h)	Volume de base (% m/v)	Proteínas (% m/v)	°Brix	Acidez °D	pH	Glicose (% m/v)	Lactose (% m/v)	Açúcares redutores (% m/v)
1	25	90	1,69	22	90	4,14	-	-	-
2	25	100	2,54	22	90	4,17	1,10	7,44	8,54
3	40	90	1,89	22	95	4,07	-	-	-
4	40	100	2,06	22	100	4,06	1,91	6,29	8,20

Com relação às análises físico-químicas observa-se que o valor de °Brix foi o mesmo para todas as amostras porque o xarope de sacarose foi adicionado conforme fórmula original, em proporções idênticas. Evidencia-se que o leite fermentado preparado com a base de menor tempo de fermentação apresenta valores maiores de lactose em comparação ao leite com base de 40 h, conforme o esperado. O excesso de lactose que deixou de ser consumida resulta em um produto um pouco mais doce, porém a doçura pode ser diminuída reduzindo a adição de xarope de sacarose da fórmula final. Cabe importante ressaltar que a lactose é apenas ligeiramente doce de forma que ela não altera o sabor da bebida acabada (HOLSINGER, POSATI; DEVILBISS; 1974).



### 5.3.2. Teste de comparação múltipla

A análise sensorial foi realizada com uma equipe de 13 provadores treinados, composta de três homens e 10 mulheres com idades entre 26 – 35 anos. As amostras foram avaliadas em quadruplicata, sendo as análises distribuídas em quatro sessões durante três dias.

Os resultados da análise sensorial demonstram que não há diferença significativa entre as amostras de 25 e 40 h, com  $p > 0,05$  ( $p=0,095$ ). O que difere as duas amostras é o tempo de fermentação da base e conseqüentemente a quantidade de aromas produzidos pelos microrganismos durante a fermentação.

O desenvolvimento do sabor nos fermentados de leite ocorre em função de uma série de processos bioquímicos em que microrganismos fornecem as enzimas que por sua vez conduzem a degradação de proteínas resultando na formação dos componentes de aroma que contribuem para a percepção sensorial dos produtos lácteos. Mais especificamente, as caseínas são degradadas em peptídeos e aminoácidos e estes são precursores importantes dos compostos voláteis de aroma (SMIT; SMIT; ENGELS, 2005).

O leite fermentado é produzido utilizando-se bactérias probióticas, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* sp. Sabe-se que o *L.acidophilus* é responsável pela produção de compostos voláteis que conferem aroma, tais como acetaldeído, diacetil e acetoína. Imhof e Bosset (1994) relataram que o aumento de ácido láctico no meio diminuiu ligeiramente a produção de diacetil por este microrganismo; com valor de pH inferior a 4,25 a produção de compostos de aroma foi inibida. Cardenas; Ledesma e Oliver (1989 apud IMHOF; BOSSET 1994) relataram que *L. acidophilus* crescido em meios complexos ou sintéticos produziu significativamente mais diacetil e acetoína na presença de piruvato.

O *Bifidobacterium* sp contribui com a formação do aroma do produto através da produção de etanol, diacetil, acetaldeído, propanona, butanona. *Lactobacillus casei* é responsável também pela produção de etanol, diacetil e acetoína e diferencia-se pela produção de ácido acético. Estudos sugerem que quanto mais elevadas forem as concentrações de piruvato no meio, maior a quantidade de diacetil e acetoína produzidos (IMHOF; BOSSET 1994). Segundo pesquisadores, no caso da fermentação da lactose, a conversão principal resulta na formação de lactato pelas BAL, mas uma fração de piruvato pode, como alternativa, ser convertida em compostos de sabor tais como acetoína, diacetil, acetaldeído, ou em ácido acético (LEROY; VUYST, 2004; SMIT; SMIT E ENGELS, 2005).

Neste sentido, a redução no tempo de fermentação poderia prejudicar a formação desses compostos, interferindo na qualidade sensorial do produto, porém não foi evidenciado diferença conforme análise apresentada. Sugere-se que a presença dos demais ingredientes adicionados contribui com a formação do sabor, tais como o xarope de sacarose, o aroma de laranja e o suco de laranja, compensando dessa forma a diferença no tempo de fermentação. Além disso, há a contribuição do soro para o sabor do produto final, pois o volume adicionado na elaboração dos dois leites fermentados submetidos à análise sensorial é significativo, correspondendo a 54 % do volume total do produto final.

Existem poucos os estudos que demonstram a interferência do soro no sabor do produto final e a variação na sua composição volátil. O sabor de sólidos de soro de leite sempre foi considerado um fator limitante para sua utilização em produtos alimentares (MORTENSON; VICKERS; REINECCIUS 2008). As primeiras pesquisas sobre compostos voláteis de aroma de vários tipos de proteína de soro de leite foram divulgadas no início de 1970 e os produtos analisados em tais publicações incluíam preparados de soro em pó, concentrado proteico de soro (WPC), soro em pó doce, e soro líquido; a compilação dos compostos aromatizantes reportados a partir destas publicações gerou uma lista com aproximadamente 200 compostos diferentes que compreendem ácidos, aldeídos, furanos, cetonas, lactonas, e pirazinas (MORTENSON; VICKERS; REINECCIUS 2008). Ferretti e Flanagan (1971) apud Morr e Ha (1991) identificaram 24 compostos voláteis a partir de soro de leite comercial em pó tais como benzaldeído, fenol, álcool benzilo, dimetilsulfona, e ácido propiônico, butírico e benzoico. Wright et al. (2009) identificaram a composição de voláteis no concentrado proteico de soro 80% (WPC80) e no isolado proteico de soro (WPI) e encontraram substâncias que são associadas ao sabor envelhecido, aroma de cogumelos; e outras que são caracterizadas pelo aroma de cebola ou repolho e couve, responsáveis pelo *off-flavor* em WPI. Encontraram ainda diacetil, conhecido por seu aroma amanteigado. Os pesquisadores Karagul-Yuceer et al. (2003) apud GALLARDO-ESCAMILLA, KELLY, DELAHUNTY (2005) relataram que o sabor de soro de leite depende da variedade de queijo produzido. Um estudo que proporcionou a análise sensorial de diversos tipos de soro demonstra que o soro ácido oriundo da elaboração de queijo Quarg apresentou escores significativamente mais elevados para odor e sabor de iogurte em comparação com os demais. Os fermentos utilizados nesse tipo de queijo, se ativos, produzem etanal (acetaldeído) e 2,3 butadiona (Diacetil). Ambos, acetaldeído e diacetil, são compostos que podem contribuir

significativamente com o aroma e sabor característicos dos leites fermentados (GALLARDO-ESCAMILLA; KELLY; DELAHUNTY, 2005).

Ainda com relação ao tempo de fermentação, pesquisas evidenciam que essa variável de processo afeta a taxa de acidificação, a cinética de geleificação, taxa de agregação e o tipo e tempo das interações e rearranjos da caseína para formação do gel. Peng; Horne e Lucey, (2009) demonstraram que iogurtes feitos com longos tempos de fermentação apresentaram maior separação de soro e formação de géis mais fracos, sugerindo que a redução do tempo de fermentação melhora as propriedades de gel. Segundo a legislação, para determinar o momento em que a fermentação deve parar utiliza-se como parâmetro o percentual de ácido láctico produzido, que deve ter valor mínimo de 0,60 % (m/v) para que ocorra inibição do crescimento de bactérias patogênicas (BRASIL, 2000). Neste contexto, ambas as bases fermentadas (25 e 40 h) já estavam com os valores mínimos estipulados (250 e 310 °D). Isto sugere que a base fermentada por 25 horas é viável para elaboração do leite fermentado. Além de não resultar em diferenças significativas no sabor do produto final, possibilita a otimização do processo, reduzindo o tempo de espera para fermentação e permitindo aumento da capacidade de produção.

No resultado do teste de comparação múltipla as médias dos valores atribuídos foram de 2,77 e 2,48 para os leites fermentados com 25 e 40 h, respectivamente, permitindo considerar que os dois produtos ficaram entre muito pior e moderadamente pior que o padrão. Nenhuma amostra foi considerada melhor que o padrão durante as provas feitas pela equipe.

O leite fermentado comercial, utilizado como padrão, possui pH entre 3,8 e 4,0, 18 ° brix e acidez variando entre 70 – 75 °D. Neste sentido, observa-se que os produtos de 25 e 40 horas com soro ficaram mais doces e mais ácidos que o padrão, corroborando os relatos apresentados pelos provadores, em que afirmaram desgostar das amostras por estarem muito doces e/ou muito ácidas.

A ProTeste – Associação Brasileira de Defesa do Consumidor realizou uma pesquisa com onze marcas de leite fermentados desnatados, em que os consumidores avaliaram itens como aroma e consistência. Segundo a ProTeste, na avaliação sensorial a amostra comercial utilizada como padrão nesta pesquisa foi classificada entre as que obtiveram a melhor aceitação (ProTeste, 2011). O estudo demonstra ainda que há uma diferença considerável nos níveis de açúcar, acidez e proteínas entre as diferentes amostras, de forma que o nível de aceitação entre os consumidores varia muito, também em função do preço.

Neste sentido, o resultado obtido neste teste de comparação múltipla não permite concluir que o leite fermentado com soro é um produto de baixa aceitação, pois a amostra padrão foi considerada o melhor produto em relação a aroma e consistência em comparação com as demais disponíveis no mercado.

#### 5.4. PRODUTO FINAL – ANÁLISE SENSORIAL

##### 5.4.1. Análises físico-químicas do leite fermentado e base fermentada

A base láctea utilizada para elaboração do leite fermentado apresenta as características físico-químicas mostradas na Tabela 15.

Tabela 15. Análises físico-químicas da base com 25 horas de fermentação.

<b>Proteínas</b> <b>% (m/v)</b>	<b>Acidez</b> <b>°D</b>	<b>Lactose</b> <b>(% m/v)</b>	<b>Glicose</b> <b>(% m/v)</b>
6,35	210	9,30	0

Através de cálculos estimou-se um teor de 11 g de lactose por 100 mL de base láctea, constituído de 86 % de leite desnatado (4,9 %) e 13 % de leite em pó desnatado (51 %) antes da inoculação do fermento láctico. Observa-se pela Tabela 15 que após as 25 horas de fermentação obteve-se 9,30% (m/v) de lactose, de forma que nem toda lactose presente originalmente na base foi consumida, pois o produto fermentou por menos da metade do tempo padrão que corresponde a 60 h. Masson (2010) avaliou o teor de lactose de bebidas lácteas fermentadas por 4 horas e também constatou baixo consumo de lactose, sendo que a base apresentava em torno de 6,0 a 7,0 g de lactose/100 mL. Após a fermentação, encontraram valores que variaram entre 3,31 e 5,13 g lactose/100 g para as amostras e controles de bebida láctea e de 3,81 a 5,29 g/ 100 g para as bebidas lácteas com aspartame. Panesar, Kennedy, Knill e Kosseva (2010) investigaram o efeito do tempo de fermentação do soro para produção de ácido láctico, de zero até 72 horas, e evidenciaram que o aumento da utilização da lactose e produção de ácido láctico foi encontrado até 36 h; posteriormente, nenhuma melhoria em ambos os parâmetros foi observada. Isto pode ser justificado pelo fato da cultura atingir a fase estacionária.

O leite fermentado elaborado para ser submetido ao teste de aceitação apresentou as características físico-químicas descritas na tabela 16. O soro ácido utilizado para elaboração do mesmo apresentou teor proteico de 0,48 % (m/v), pH 4,12 e lactose de 4,52 % (m/v).

Tabela 16. Análises da composição centesimal e propriedades físico-químicas do leite fermentado por 25 horas.

Tempo de Fermentação	Proteínas % (m/v)	°Brix	Acidez °D	pH	Lactose (% m/v)	Glicose (% m/v)	Açúcares redutores (% m/v)
25h	2,0	22	95	4,10	6,07	1,50	7,57

A base láctea utilizada na elaboração do leite fermentado possuía em torno de 9,30% (m/m) de lactose, como visto na Tabela 15. Considerando que para o preparo do leite fermentado utilizou-se 25 % de base e 54 % de soro, estima-se através de cálculos que o teor de lactose do produto final ficaria em torno de 6,01 % (m/v), de acordo com o observado.

Observa-se que o teor de açúcares redutores foi de 7,57 % (m/v). Santos et al. (2008) produziram bebidas lácteas com substituição de leite por soro de queijo nas seguintes proporções 20, 40, 60 e 80 %, e obtiveram para açúcares redutores 7,74; 8,81; 10,48 e 10,57 % (m/v), respectivamente. O preparo do produto final inclui a adição de xarope de sacarose, sabe-se que a ligação glicosídica da sacarose é relativamente lábil, podendo sofrer hidrólise em meio ácido liberando glicose e frutose, que são açúcares redutores (DEMIATE, et al., 2002).

Cunha et al. (2008) prepararam um leite fermentado com 70 % de leite e 30 % de soro e encontraram 2,23 % para proteínas, 72,33 °D acidez, pH 4,53 e açúcares totais de 13,29 % (m/v). A adição do soro resultou num produto com menores teores de sólidos em relação ao leite fermentado com 100 % de leite. Almeida, Bonassi e Roça (2001) encontraram 1,94, 1,97 e 2,12 % (m/v) de proteínas para bebidas lácteas com teores de soro entre 50, 40 e 30 % respectivamente, diminuindo o teor de proteínas com o aumento de soro, porém sem diferença significativa. Outra pesquisa relata a elaboração de bebidas lácteas fermentadas com 10, 30 e 50 % de soro, com teor de proteínas encontrado, respectivamente, de 2,08, 2,02 e 1,65 % (m/v), também diminuindo com o aumento da concentração do soro (OLIVEIRA, 2006). É importante ressaltar que estes resultados relatados se referem a bebidas em que o soro foi fermentado juntamente com o leite. De fato, o soro possui menos proteína que o leite e sua substituição implica em redução no teor proteico do produto final. No presente trabalho o soro

foi adicionado após a fermentação, em substituição a água, sendo um incremento no teor proteico, no entanto, o produto final não apresentou alta quantidade de proteínas, pois o soro utilizado estava com metade do valor encontrado na média anual.

#### 5.4.2. Teste de aceitação

O teste de aceitação foi realizado com 77 consumidores sendo 40 % homens e 60 % mulheres. O resultado da análise sensorial realizada foi de 90 % de aceitação, com a média de resposta de 8,10, que corresponde ao “gostei muito” na escala hedônica. De acordo com Teixeira et al. (1987) apud Pelegrini; Carrasqueira (2008), para que um produto seja considerado como aceito em relação as suas propriedades sensoriais, é imprescindível que obtenha um índice de aceitabilidade de no mínimo 70 %, concluindo que o leite fermentado com soro ácido foi bem aceito pelos consumidores.

O histograma da Figura 7 apresenta a distribuição de idade da equipe de consumidores em que a maioria, 52 %, tem idade inferior a 25 anos, pois a análise sensorial foi realizada dentro da universidade, com estudantes, professores e funcionários.

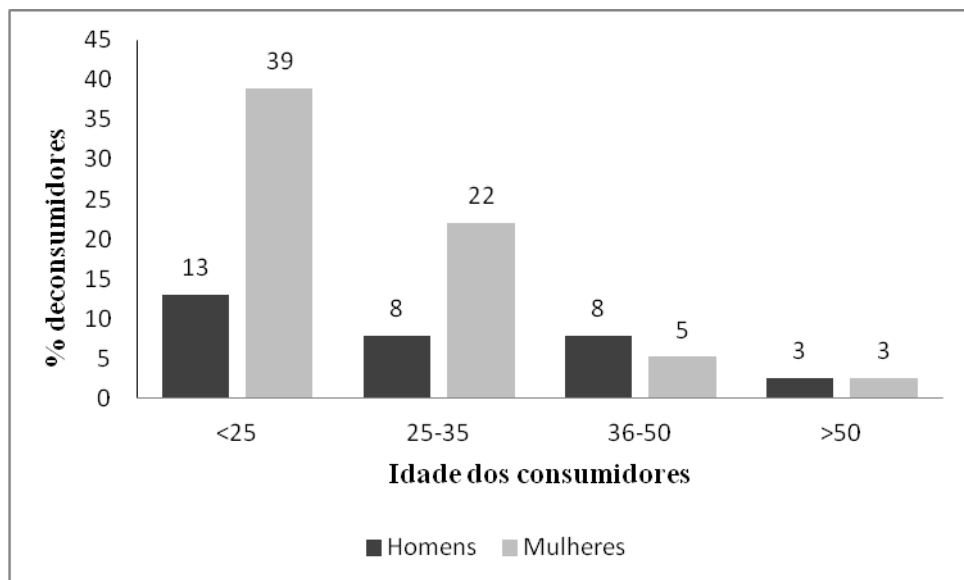


Figura 7. Distribuição por idade dos consumidores

Através da distribuição da Figura 8 identifica-se que 43 % dos consumidores gostaram muito, 38 % gostaram muitíssimo, 13 % gostaram moderadamente. As demais categorias da escala não foram apontadas pelos consumidores.

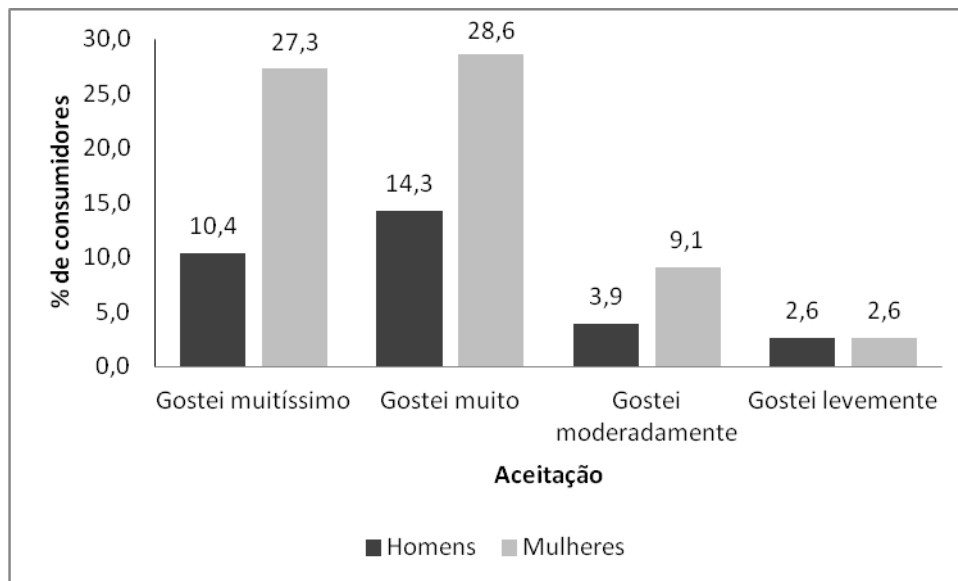


Figura 8. Histograma da aceitação do leite fermentado pelos consumidores por sexo.

Soares et al. (2011) prepararam iogurte com soro de queijo de coalho e a análise sensorial resultou em ótima aceitação, sendo que as diferenças entre as formulações não foram percebidas pelos julgadores. Outra pesquisa relata a substituição de leite por soro nas concentrações de 20, 40, 60 e 80 %. A amostra com 40 % teve a melhor aceitação, com média de 7,8 que é próximo ao gostei muito na escala hedônica, as formulações com os maiores níveis de soro de queijo, apresentaram os piores resultados com notas próximas do termo hedônico “indiferente” (SANTOS et al., 2008). Djuric et al. (2004) propuseram a adição de soro ácido no preparo de bebidas com laranja, maçã e pêssigo. Os resultados evidenciaram que o néctar de laranja não foi suficiente para cobrir o odor desagradável do soro de leite. A bebida com maçã apresentou odor e sabor desagradáveis e uma aparência pobre. Apenas a bebida com pêssigo se manteve com cor e aparência agradáveis e foi capaz de esconder o sabor desagradável se soro. Outro estudo que avaliou a adição de soro de queijo no suco de abacaxi obteve 84 % das notas entre gostei muitíssimo e gostei moderadamente, com 69,7 % dos provadores assumindo que comprariam o produto (PELEGRINI; CARRASQUERIA, 2008). Oliveira (2006) elaborou bebidas lácteas fermentadas com soro nas concentrações de 10, 30 e 50 % e as amostras com 10 % foram consideradas menos preferidas pelos julgadores; tal resultado foi atribuído ao fato desta ser a menos doce em função da menor quantidade de soro que é rico em lactose. Sisnando et al. (2011) prepararam uma bebida misturando soro

doce com polpa de cajarana e o resultado da avaliação sensorial apresentou o produto entre os termos hedônicos “gostei moderadamente” e “gostei extremamente”; para o teste de intenção de compra 73 % dos provadores afirmaram que comprariam o produto.

Em geral, a menor preferência por bebidas com soro pode estar relacionada também à menor viscosidade das mesmas. A consistência das bebidas lácteas fermentadas está diretamente relacionada à formação do gel proteico de caseína. Com a adição de soro a concentração de caseínas é menor, de forma que o gel proteico fica mais fraco, reduzindo consequentemente a viscosidade do produto (SANTOS et al., 2008). No entanto, o leite fermentado preparado é um produto bem fluido, de baixa viscosidade. Nele, o soro ácido está substituindo a água e não o leite, como na maioria dos relatos. A adição do soro ácido em substituição da água permitiu que o produto ficasse mais consistente, de forma que alguns consumidores registraram nas fichas de avaliação sensorial que o produto agradou por estar mais “encorpado” e consistente. De fato, o nível de aceitação foi bem elevado em comparação com as demais pesquisas.

Como citado anteriormente são muitas as dificuldades que podem aparecer no processo de elaboração de bebidas com soro de leite, seu excesso de umidade torna o soro suscetível à deterioração microbiana, as proteínas são termossensíveis, conteúdo de minerais e acidez são relativamente altos, também o soro pode contribuir com o aparecimento de coágulos no produto final e a formação de maiores quantidades de sedimento durante os tratamentos térmicos (Jeličić et al., 2008). Por outro lado, bebidas compostas por leite e soro, que enfatizam os benefícios à saúde, representaram como divulgado por análises de mercado (NUTRA INGREDIENTS, 2009 apud BALDISSERA et al., 2011), mais de 70 % dos lançamentos globais em alimentos funcionais. A maioria das inovações aconteceu na Europa Ocidental (28%), na Ásia (24%), seguidas pela América Latina (18%).

A Figura 9 apresenta a aceitabilidade por idade e nota-se que os provadores com menos de 25 anos foram os que mais atribuíram a nota 9 (gostei muitíssimo), e em geral, foram os que mais consideraram positivo a doçura do produto segundo as observações relatadas nas fichas de avaliação sensorial. Do percentual de homens que participaram da análise, 46 % gostaram muito, enquanto 40 % das mulheres gostaram muitíssimo.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *Scripto Sensu*  
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

PAOLLA LIEVORE

CARACTERIZAÇÃO DO SORO ÁCIDO E USO NA ELABORAÇÃO DE LEITE  
FERMENTADO

PONTA GROSSA  
2013

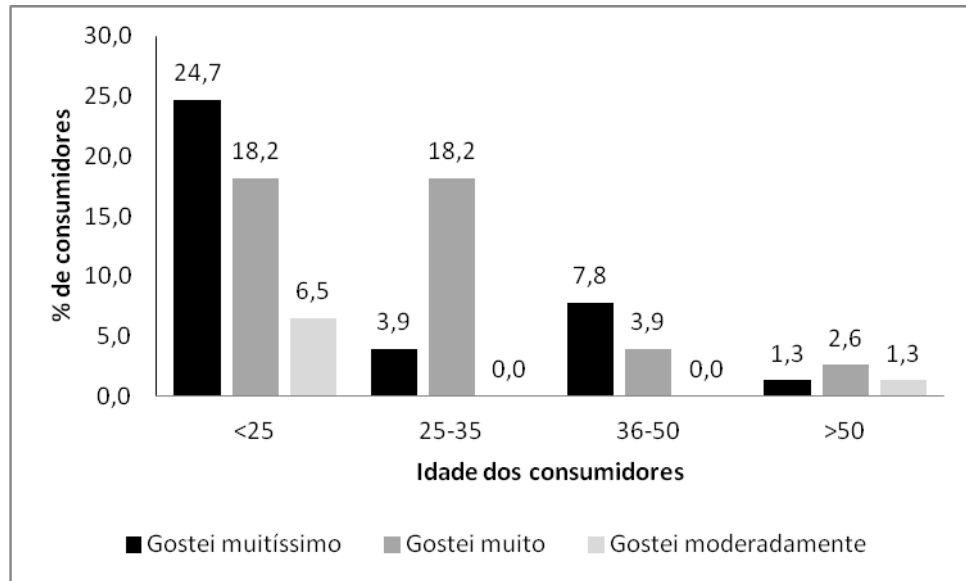


Figura 9. Histograma da aceitação do leite fermentado pelos consumidores por idade.

Em relação aos comentários registrados pelos consumidores os mais recorrentes foram relacionados ao dulçor do leite fermentado. Dentre os consumidores que gostaram muitíssimo do produto os comentários ressaltaram o dulçor como um aspecto muito positivo. Já para os consumidores que gostaram moderadamente os comentários enfatizaram que o excesso de dulçor foi considerado negativo. Segundo a pesquisa realizada pela ProTeste, o leite fermentado que obteve menor aceitação foi a amostra com menor teor de açúcar (ProTeste, 2011). Outros estudos também relatam a preferência do brasileiro por bebidas mais doces, assim como a tendência do público jovem em preferir bebidas mais suaves e adocicadas (SOUZA et al., 2011; PRADO, et al., 2011).

Na Figura 10 são mostrados os resultados da intenção de compra pelos consumidores. Em torno de 54 % dos consumidores que participaram da análise certamente comprariam o produto, 38 % provavelmente comprariam e apenas 8 % tiveram dúvida em relação à compra. Também não foi apontada nenhuma das categorias negativas da escala.

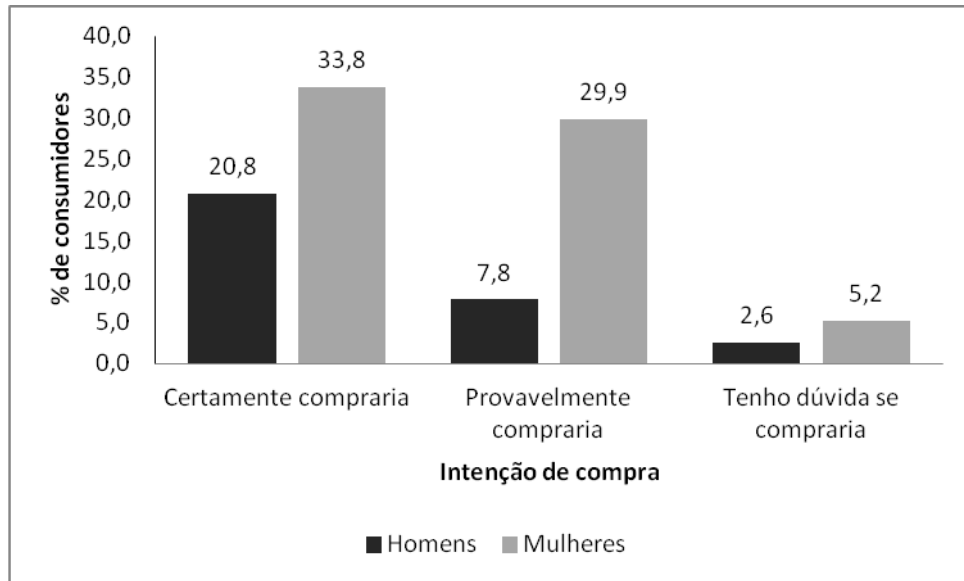


Figura 10. Histograma da intenção de compra por sexo.

Todos os resultados demonstrados com a análise sensorial são favoráveis e permitem considerar que o uso do soro ácido líquido e a redução do tempo de fermentação da base resultam num produto agradável sensorialmente e aceito pelos consumidores.

Na indústria em estudo, a utilização do soro ácido líquido para fabricação do leite fermentado traria ganhos consideráveis, tais como a redução do consumo de 179.000 litros de água por mês, a elaboração de um produto mais consistente e enriquecido nutricionalmente; a diminuição de custos com transporte de soro e a diminuição do volume de xarope gasto, considerando que a doçura do produto pode ser diminuída. Além disso, também possibilitaria a melhoria do processo, com a redução do tempo de fermentação. Atualmente a capacidade de fermentação da linha corresponde a 10 litros por minuto, se o tempo de fermentação for diminuído para 25 horas, a capacidade fica em torno de 24 L/min aumentando a eficiência da linha. Os 10 litros de base por minuto são suficientes para produzir 40 litros de produto acabado por minuto; considerando-se que a capacidade de envase é de 72 L/min, conclui-se que o processo é o gargalo da produção. Utilizando-se a vazão de 24 L/min é possível produzir 96 L/min de produto acabado de forma que o processo deixa de ser o gargalo da produção.

No entanto, o volume de soro gerado na indústria é de aproximadamente 90.000 litros por dia, e este soro é utilizado para a alimentação animal. A produção de leite fermentado desnatado corresponde a um volume de 11.000 litros por dia. Considerando o aproveitamento do soro na proporção de 54 % do volume de leite fermentado, restariam ainda em torno de

84.000 litros de soro para descarte e/ou consumo animal. Assim, outros estudos são necessários a fim de propor novas formas de uso do subproduto, que poderia incluir a ampliação da produção do leite fermentado.

## 6. CONCLUSÃO

Os resultados das análises físico-químicas do soro ácido apresentaram homogeneidade, as médias são similares às encontradas por diversos autores, no entanto foi observado valores um pouco maiores para proteínas. Os coeficientes de variação estão de acordo com a literatura, sendo maiores para proteínas e gorduras em relação aos demais parâmetros. As diferenças na composição do soro ácido por estação do ano demonstraram que o conteúdo de proteínas foi maior nas estações de verão e inverno. Foram encontradas diferenças significativas entre essas duas estações para todos os demais parâmetros, exceto lactose. O maior teor de minerais, lactose e conseqüentemente de sólidos totais foi observado durante o outono.

Com relação ao processo de fabricação de leite fermentado, além da utilização do soro em substituição aos 100% do volume de água presente originalmente, foi possível reduzir o tempo de fermentação da base em 60% em relação ao tempo da formulação padrão, possibilitando uma melhoria na eficiência do processo. Estas alterações ainda assim permitiram a elaboração de um leite fermentado com os teores de proteínas e acidez conforme a legislação vigente.

O teste de comparação múltipla demonstrou que não há diferença significativa entre as amostras do produto com 25 e 40 h de fermentação. No entanto o leite fermentado foi considerado por todos os provadores treinados como inferior em comparação com o padrão. Este resultado não foi considerado negativo uma vez que o leite fermentado padrão é apontado como um produto de excelente aceitação por outras pesquisas. O teste de aceitação ao qual foi submetido apresentou 90 % de aceitação, com as médias de respostas entre os termos da escala hedônica “gostei muitíssimo” e “gostei moderadamente”. Na análise de intenção de compra constatou-se que 54 % dos consumidores que participaram da degustação certamente comprariam o produto e 38 % provavelmente comprariam.

A utilização de soro ácido líquido com ingrediente para elaboração de leite fermentado se mostrou viável neste estudo, porém evidencia-se que há inúmeras outras oportunidades para seu uso que merecem ser investigadas, tanto pelas suas propriedades nutricionais e funcionais quanto em função do alto volume que é produzido.

## 7. REFERÊNCIAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 13526**. Teste de Comparação múltipla em análise sensorial dos alimentos e bebidas - Procedimento. 1995.

ALMEIDA, K E.; BONASSI, I. A. ROÇA, R. de O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo minas frescal **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.21, n.2, p.187-192, maio-ago. 2001.

ANDRADE, U. V. C. de. **Fatores ambientais sobre a produção total de leite, gordura e proteína em vacas da raça holandesa na bacia leiteira de castrolanda, estado do Paraná**, 2002,40 f .Dissertação (Pós-Graduação em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

ANTUNES, Aloísio José. **Funcionalidade das proteínas do soro de leite bovino**. Barueri-SP: Manole. 2003.

ANTUNES, A. E. C.; CAZETTO, T. F.; BOLINI, H. M. A Iogurtes desnatados probióticos adicionados de concentrado protéico do soro de leite: perfil de textura, sinérese e análise sensorial. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 2, p. 107-114. 2004.

**ANUÁRIO – leite e derivados**. N. 131. Max Gráfica e Editora, São Paulo, 2012.

ASSADI, M. M.; ABDOLMALEKI, F.; MOKARRAME, R. R. Application of whey in fermented beverage production using kefir starter culture. **Nutrition & Food Science**. v. 38, n. 2, p. 121-127. 2008.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of A.O.A.C. international**. 16. ed. Arlington: Virgínia, 1998.

ARUNCHIA WHETSTINE, M. E.; CROISSANT, A. E.; DRAKE, M. A. Characterization of Dried Whey Protein Concentrate and Isolate Flavor. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 11, p. 3826–3839. 2005.

BACH, F. **Avaliação das condições de produção de fermentado acético de soro de leite**, 2012, 124 f. Dissertação (Pós Graduação em Engenharia Química) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2012.

BALDISSERA, A.C.; BETTA, F. D.; PENNA, A.L.B.; DE DEA LINDNER, J. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, out./dez. 2011.

BARBOSA, E.S.P. **Estudo comparativo de características físico-químicas e sensoriais de batatas das cultivares francesas: chipir, colorado, opaline e soléia**. 2011. 116 f. Dissertação – (Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

BIASSUTTI, E. A. R. **Otimização das condições da hidrólise enzimática das proteínas do soro de leite para obter elevado teor de oligopeptídeos: utilização da subtilisina e da pancreatina**. 2006. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Regulamento da Agricultura e do Abastecimento, Instrução Normativa Nº 16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebidas lácteas. DAS/SIPOA. **Diário Oficial da União**, Brasília, 23 de agosto de 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Regulamento da Agricultura e do Abastecimento, Instrução Normativa Nº 46, de 23 de outubro de 2007. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. DAS/SIPOA. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 de outubro de 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62 de 26/08/2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 68 de 12/12/2006. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do abastecimento. Instrução normativa nº 53, de 29 de dezembro de 2000. Dispões sobre o regulamento técnico de Identidade e Qualidade de Queijo *Petit Suisse*. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Regulamento da Agricultura e do Abastecimento, Instrução Normativa Nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite

Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel DAS/SIPOA. **Diário Oficial da União**, Brasília, 29 de dezembro de 2011.

BOBE, G.; LINDBERG, G. L.; FREEMAN, A. E.; BEITZ, D. C. Short Communication: Composition of Milk Protein and Milk Fatty Acids Is Stable for Cows Differing in Genetic Merit for Milk Production. **Journal of Dairy Science**. v. 90, n. 8, p. 3955-3960. 2007.

BRUN-LAFLEUR, L.; DELABY, L.; HUSSON, F.; FAVERDIN, P. Predicting energy  $\times$  protein interaction on milk yield and milk composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 93, n.9, p. 4128–4143. 2010

CALDEIRA, L. A. et al. Desenvolvimento de bebida láctea sabor morango utilizando diferentes níveis de iogurte e soro lácteo obtidos com leite de búfala. **Ciência Rural**, Santa Maria. 2010.

CASPER, J.L; WENDORFF, W.L; THOMAS, D.L. Seasonal Changes in Protein Composition of Whey from Commercial Manufacture of Caprine and Ovine Specialty Cheeses. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 3117-3122. 1998.

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

CODEX Alimentarius Commission. (2003). CODEX standard for fermented milks. **Codex Stan 243-2003**. Retrieved September 1, 2006, from [http://www.codexalimentarius.net/download/standards/400/CXS\\_243e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/standards/400/CXS_243e.pdf).

CROISSANT, A. E.; KANG, E. J.; CAMPBELL, R. E.; BASTIAN, E.; DRAKE, M. A. The effect of bleaching agent on the flavor of liquid whey and whey protein concentrate. **Journal of Dairy Science**. v. 92, n. 12, p. 5917–5927. 2009.

CRUZ, A. G.; SANT'ANA, A.; MACCHIONE, M. M.; TEIXEIRA, A. M.; SCHMIDT, F. L. Milk Drink Using Whey Butter Cheese (queijo manteiga) and Acerola Juice as a Potential Source of Vitamin C. **Food Bioprocess Technology**. v.2, p.368–373. 2009.

CUNHA, T.M.; CASTRO, F.P. de; BARRETO, P.L.M.; PRUDÊNCIO, E.S.; BENEDET, H.D. Avaliação físico-química, microbiológica e reológica de bebida láctea e leite fermentado adicionados e probióticos. **Semina: ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 103-116, jan./mar. 2008.



DAHLQUIST, A. Determination of maltase and isomaltase activities with a glucose oxidase reagent. **Biochemical Journal.**, London, n.80, p.547-51, 1961.

DEMIATE, I.M.; WOSIACK, G; CZELUSNIAK, C.; NOGUEIRA, A. Determinação de açúcares redutores e totais em alimentos: comparação entre o método calorimétrico e titulométrico. **Publicatio UEPG**, n.1, v.8, p.65-78. 2002

DISSANAYAKE, M.; VASILJEVIC, T. Functional properties of whey proteins affected by heat treatment and hydrodynamic high-pressure shearing. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 4, p. 1387–1397, nov. 2009.

DJURIC, M.; CARIC, M; MILANOVIC, S.; TEKIC, M.; PANIC, M. Development of whey - based beverages. **Europe Food Research Technology**, v. 219, p. 321-328, 2004.

EVANS, J.; ZULEWSKA, J.; NEWBOLD, M.; DRAKE, M.A. AND BARBANO, D.M. Comparison of composition, sensory, and volatile components of thirty-four percent whey protein and milk serum protein concentrates. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 10. 2009.

FAGAN, E. P.; TAMANINI, R.; FAGNANI, R.; BELOTI, V.; AGUIAR F. BARROS, M. de; CABREIRA JOBIM,C. Avaliação de padrões físico-químicos e microbiológicos do leite em diferentes fases de lactação nas estações do ano em granjas leiteiras no Estado do Paraná Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n.3, p. 651-660, jul./set. 2008

FAO, 2010. Disponível no site: < <http://faostat.fao.org/site/603/default.aspx#ancor>>. Acesso em 03 de julho de 2011.

GHALY, A.E.; KAMAL M.A. Submerged yeast fermentation of acid cheese whey for protein production and pollution potential reduction. **Water Research**, v.38, p.631–644, 2004.

GALLARDO-ESCAMILLA, F. J.; KELLY, A. L.; DELAHUNTY, C. M. Sensory characteristics and related volatile flavor compound profiles of different types of whey. **Journal of Dairy Science**. v.88, p. 2689–2699. 2005.

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, **Food Science and Technology**, v. 42, p.239–243. 2009.

GLANTZ, M, LINDMARK MÅNSSON , H; STÅLHAMMAR , H; BÅRSTRÖM , L.O; FRÖJELIN, M; KNUTSSON ,A; TELUK , C. AND PAULSSON, M. Effects of animal selection on milk composition and processability. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n.9, p. 4589 - 4603. 2009.

GLANTZ, M; DEVOLD, T. G; VEGARUD, G.E; LINDMARK MÅNSSON, H; STÅLHAMMAR , H; PAULSSON, M. Importance of casein micelle size and milk composition for milk gelation. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n.4, p. 1444–1451. 2010.

GONZALEZ, H.deL.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R.; GOMES, J.F.; JUNIOR, W.S.; SILVA, M.A. da. Avaliação da Qualidade do Leite na Bacia Leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos meses do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1531-1543. 2004.

GUIMARÃES, Daniela Helena. Utilização de Soro de Queijo na Elaboração de Biscoitos Doces. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v.13, n. 2, jul/dez. 2011.

HARAGUCHI, F.K.; ABREU W.C.; DE 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, p. 479-488, 2006.

HOLSINGER, V. H.; POSATI, L. P; DeVILBISS E. D. Whey Beverages: A Review. **Journal of dairy science**, v. 57., n. 8, 1974.

HECK , J. M. L., VAN VALENBERG, H. J. F., DIJKSTRA , J.; VAN HOOIJDONK, A. C. M. Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. **Journal of Dairy Science**, n.92, p.4745–4755. 2009.

IMHOF, R.; BOSSET, J.O. Relationships between micro-organisms and formation, **Z Lebensm Unters Forsch**, v 198, p 267-276, 1994.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 2nd. Brasília: Anvisa, 1–834, 2005.

JELIČIĆ, I.; BOŽANIĆ, R.; TRATNIK, L. Whey-based beverages- a new generation of diary products. **Mljekarstvo**, v.58, n.3, p. 257-274. 2008.

JOHANSEN, A.G., VEGARUD, G.E.; SKEIE S. Seasonal and regional variation in the composition of whey from Norwegian Cheddar-type and Dutch-type cheeses. **International Dairy Journal**, v. 12. p.621–629, 2002.

LEROY, F.; VUIYST, L.De. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. **Trends in Food Science & Technology**, v 15, p 67-78, 2004.

LUCAS, A.; ROCK, E.; CHAMBA, J.-F.; VERDIER-METZ, I.; BRACHET, P.; COULON, J.-B. Respective effects of milk composition and the cheese-making process on cheese compositional variability in components of nutritional interest. **Nutritional quality of cheese**. Abr/jun., p.21-41, 2005.

LUHOVYY, B.L.; AKHAVAN, T.; ANDERSON, G.H. Whey proteins in the regulation of food intake and satiety. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 26, n. 6, p. 704S–712. 2007.

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

MAGALHÃES, K. T.; PEREIRA, M. A.; NICOLAU, A.; DRAGONE, G.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J. A.; ALMEIDA SILVA, J. B.; SCHWAN, R. F. Production of fermented cheese whey-based beverage using kefir grains as starter culture: Evaluation of morphological and microbial variations. **Bioresource Technology**. v.101, p. 8843–8850. 2010.

MARTÍNEZ-HERMOSILLA, A.; HULBERT, G.J., LIAO, W.C. Effect of Cottage Cheese Whey Pretreatment and 2-phase Crossflow Microfiltration/Ultrafiltration on Permeate Flux and Composition, **Journal Of Food Science**, v. 65, n. 2. 2000.

MASSON, L.M.P. **Desenvolvimento de bebida láctea fermentada submetida ao processamento térmico e/ou à homogeneização à ultra- alta pressão**. 2010. 108 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos em Engenharia Química)- Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

MEILGAARD, M.; CIVILE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 2.Edição. Editora CRC Press, Nova York. 354 p. 1991.

MILLS, S.A, et al. Milk intelligence: Mining milk for bioactive substances associated with human health. **International Dairy Journal**. v. 21, p.377-401. 2011.

MONTEIRO, M.A.M. **Caracterização sensorial da bebida de café (Coffea arabica L.): análise descritiva quantitativa, análise tempo-intensidade e testes afetivos**. 2002. 181f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

MORR, C.V; HA, E.Y.W. Off- flavors of Whey Protein Concentrates: A Literature Review. **International Dairy Journal**, v 1, p 1- 11. 1991.

MORTENSON, M., A; VICKERS, Z., M; REINECCIUS, G.A. Flavor of whey protein concentrates and isolates. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 649-657. 2008.

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

NEVES, Luciana De Souza. **Fermentado probiótico de suco de maçã**. 2005. Tese (Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Processos Biotecnológicos Agroindustriais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

OLIVEIRA, D.S; TIMM,C.D. Composição do leite com instabilidade da caseína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n.2, p. 259-263, abr.-jun. 2006.

OLIVEIRA, D. F. de; BRAVO, C. E. e TONIAL, I. B. Soro de leite: um subproduto valioso. **Revista do Instituto Laticínios “Cândido Tostes”**, Mar/Abr, nº 385, v. 67, p. 64-71. 2012.

OLIVEIRA, R. P. S. et al. Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotic survival and fatty acids profiles in nonfat symbiotic fermented milk. **International Journal of Food Microbiology**, v.128, p. 467–472, out. 2009.

OLIVEIRA, V. M. **Formulação de bebida láctea fermentada com diferentes concentrações de soro de queijo, enriquecida com ferro: caracterização físico-química, análises bacteriológicas e sensoriais**. 2006. 78f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2006

OUTINEN, M.; RANTAMAKI, P.; HEINO, A. Effect of Milk Pretreatment on the Whey Composition and Whey Powder Functionality. **Journal of Food Science**. v. 75, n 1. 2010.

OZEN, A. E.; KILIC, M. Improvement of physical properties of nonfat fermented milk drink by using whey protein concentrate. **Journal of Texture Studies**, v. 40, p. 288–299. 2009.

PANESAR, P.S.; KENNEDY, J. F.; KNILL, C.J.; KOSSEVA, M. Production of L(+) Lactic Acid using *Lactobacillus casei* from Whey, **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.53 n.1: pp. 219-226, Jan/Feb. 2010.

PELEGRINI, D.H.G.; CARRASQUEIRA, R.L. Aproveitamento das Proteínas do Soro do Leite no Enriquecimento Nutricional de Sucos Vitaminados. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v.10, n. 1, p. Jan/Jun. 2008.

PENG, Y., HORNE, D. S.; LUCEY, J. A. Impact of preacidification of milk and fermentation time on the properties of yogurt. **Journal of Dairy Science**. v. 92, n. 7, 2009.

PESCUMA, M.; HERBERT, H. M.; MOZZI, F.; FONT DE VALDEZ, G. Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. **Food Microbiology**. v.25, p. 442–451, fev. 2008.

PRADO, A.S.; PAIVA, E.F.F.; PEREIRA, R.; G.F.A; SETTE, R. de S; SILVA, J.R.; PAIVA, L.C.; BARBOSA, C.A. Hábitos de consumo e preferência pelo tipo de bebida do café (*Coffea arabica* L.) entre jovens de Machado/ MG. **Coffe Science**, Lavras, v. 6, n. 3, p 184-192, set./dez. 2011.

**PROTESTE – Associação de Consumidores**. Rio de Janeiro: Airam Lima Jr. 2011

PRUDENCIO, I. D. **Propriedades físicas de queijo *petit suisse* elaborado com retentado de soro de queijo e estabilidade de antocianinas e betalainas adicionadas**. 2006. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2006.

PRUDENCIO, I.; PRUDENCIO, E. S.; GRIS, E. F.; TOMAZI, T.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Petit suisse manufactured with cheese whey retentate and application of betalains and anthocyanins. **Food Science and Technology**, v. 41, p. 905–910, maio. 2007.

PRUDENCIO, I.D.; PRUDENCIO, E.S. GAUCHE, C. Flow properties of petit suisse cheeses: use of cheese whey as a partial milk substitute. **Journal of Food Science**. n. 2, vol. 20. 2008.

QI, P. X.; ONWULATA, C. I. Physical properties, molecular structures, and protein quality of texturized whey protein isolate: Effect of extrusion moisture content<sup>1</sup>. **Journal of Dairy Science**. v. 94, n. 5. p. 2231–2244. 2011.

RAIKOS, V. Effect of heat treatment on milk protein functionality at emulsion interfaces. A review. **Food Hydrocolloids**. v. 24, p.259–265. 2010.

RIBAS, N.P.; HARTMANN, W.; MONARDES, H.G., ANDRADE, U.V.C de. Sólidos Totais do Leite em Amostras de Tanque nos Estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.2343-2350, 2004.

SANTOS, C.T.; COSTA, A. R.; FONTAN, G. C .R.; FONTAN, R.C.I.; BONOMO, R. C.F. Influência da concentração de soro na aceitação sensorial de bebida láctea fermentada com

polpa de manga. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara ISSN 0103-4235. v.19, n.1, p. 55-60, jan./mar. 2008.

SCHULZ-COLLINS, SENGE, 2004. Acid and Acid/Rennet- curd cheeses. Part A: Quark, Cream Cheese and Related Varieties. Cheese: **Chemistry, Physics and Microbiology**, v.2. 2004.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**. 2004.

SGARBIERI, V. C.; ALVIM, I. D.; VILELA, D. S.E.; BALDINI, S. L.V.; BRAGAGNOLO, N. Produção piloto de derivados de levedura (*Saccharomyces* sp) para uso como ingrediente na formulação de alimentos. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v.2, n.1, p.119-125, 1999.

SILVA, Sabrina Vieira da. **Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico**. 2007,97 f. Dissertação (Mestrado do Programa de Pós- Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal De Santa Maria, Santa Maria, 2007.

SILVA, K.; BOLINI, H. M. A.; ANTUNES, A. J. Soro de leite bovino em sorvete. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 2, p. 187-196, 2004.

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

SILVA, Paulo Henrique Fonseca da,. **Leite UHT: fatores determinantes para sedimentação e gelificação**. 128 p. Juiz de Fora: Do Autor, 2004.

SIMÕES, D.R.S; WASZCZYNSKYJ, N.; WOSIACKI, G. Aromas em maçãs, suco e sidra: revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 27, n. 1, p. 153-172, jan./jun. 2009.

SISNANDO, I.M.P.; MACÊDO, W.V.L.; ABREU, L.P.; SILVA, J.N.; ALVES, T.T.L. Elaboração e aceitação sensorial de bebida à base de soro de leite de vaca com polpa de cajarana (*Spondias macrocarpa* sp.). In. 3o Encontro Universitário da UFC no Cariri, 2011, Juazeiro do Norte. **Anais**, Juazeiro do Norte. 2011.

SMIT, G.; SMIT, B. A.; ENGELS, W. J.M. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavor profiling of cheese products. **FEMS Microbiology Reviews**, v 29, p 591-610, 2005.

SOARES, D.S., FAI, A.E.C.; OLIVEIRA, A.M., PIRES, E.M.F., STAMFORD, T.L.M. Aproveitamento de soro de queijo para produção de iogurte probiótico. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.4, p.996-1002. 2011.

SOUZA, F. K. F. D et al. Desenvolvimento de fermentadores em série para o estudo cinético de fermentado de maçã. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. Ponta Grossa, v.5, n.1, p. 379-386. 2011.

SOUZA, R. de; SANTOS, G.T. de; VALLOTO, A.A.; SANTOS, A.L. dos; GASPARINO, E.; SILVA, D.C. da; SANTOS, W.B.R. dos. Produção e qualidade do leite de vacas da raça Holandesa em função da estação do ano e ordem de parto. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, n.2, p. 484-495 abr/jun, 2010.

TABASCO, R.; PAARUP, T.; JANER, C.; PELA´EZ, C., REQUENA, T. Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. paracasei* subsp. *paracasei* and *Bifidobacterium lactis* in fermented Milk. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 1107–1114. 2007.

TETRA PAK. **Dairy processing handbook**. Sweden, 2003.

TURHAN, K.N; ETZEL, M.R. Whey Protein Isolate and -Lactalbumin Recovery from Lactic Acid Whey Using Cation-Exchange Chromatography. **Journal of food science**, v. 69, n. 2, 2004.

VALDUGA, E.; PAVIANI, L. C.; MAZUR, S.P.; FINZER, J. R. D. Aplicação do soro de leite em pó na panificação. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.17, n.4, p.393-400, out./dez. 2006.

VEIGA, P.G.; VIOTTO; W.H. Fabricação de queijo petit suisse por ultrafiltração de leite coagulado. Efeito do tratamento térmico do leite no desempenho da membrana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n.3, p. 267-272, set.-dez. 2001

ZUBEIR, I. E.M. EL; ABDALLA, W. M.; EL OWNI, O.A.O. Chemical composition of fermented milk (roub and mish) in Sudan. **Food Control**. v. 16, p. 633–637, jul. 2005.

WONG, N. P. ; LaCROIX, D. E.; McDONOUGH, F. E. Minerals in Whey and Whey Fractions. **Journal of Dairy Science**. April, p. 1700-1703. 1978.

WRIGHT, B.J; ZEVCHAK, S.E; WRIGHT, J.M; DRAKE, M.A. The Impact of Agglomeration and Storage on Flavor and Flavor Stability of Whey Protein Concentrate 80% and Whey Protein Isolate. **Journal of food science**, v. 74, n. 1. 2009.