UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José do Rio Preto

BRUNA RODRIGUES MORETTI

Efeito da suplementação do leite com proteínas de diferentes fontes (soro de leite, soja e colágeno) e da composição da cultura lática em iogurtes

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em 2009, área de Ciência e Tecnologia de Alimentos junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto.

Orientadora:
Profª. Drª. Ana Lúcia Barretto Penna

São José do Rio Preto
2009

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

Moretti, Bruna Rodrigues
Efeito da suplementação do leite com proteínas de diferentes fontes (soro de leite, soja e colágeno) e da composição da cultura lática em iogurtes / Bruna Rodrigues Moretti - São José do Rio Preto : [s.n.], 2008.

150 f.: il.; 30 cm.

Orientador: Ana Lúcia Barretto Penna
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de

Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Tecnologia de alimentos. 2. Iogurte - Indústria. 3. Soro do leite. 4. Soja. 5. Colágeno. 6. Suplemento protéico. I. Barretto-Penna, Ana Lúcia. II. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU - 637.146.34

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
Campus de São José do Rio Preto - UNESP

BRUNA RODRIGUES MORETTI

Efeito da suplementação do leite com proteínas de diferentes fontes (soro de leite, soja e colágeno) e da composição da cultura lática em iogurtes

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre, área de Ciência e Tecnologia de Alimentos junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto.

BANCA EXAMINADORA

Profª. Drª. Ana Lúcia Barretto Penna
Professor Adjunto
UNESP – São José do Rio Preto
Orientador

Profª. Drª. Mirna Lúcia Gigante
Professor Doutor
Universidade Estadual de Campinas

Profª. Drª. Mieko Kimura
Professor Assistente Doutor
UNESP – São José do Rio Preto

São José do Rio Preto, 05 de Junho de 2009

Dedico aos meus pais, Adhemar e Ubaldina, e ao meu irmão, Fernando, pelo incentivo e apoio imprescindíveis à realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Principalmente à Deus por me dar forças e coragem para buscar meus objetivos e concluir mais esta etapa da minha vida.

Aos meus pais, Adhemar e Ubaldina, e meu irmão, Fernando, por todo amor, apoio e incentivo que sempre recebi. Sem vocês eu não sou nada. Vocês são a base da minha existência. Muito obrigada!

À Profª. Drª. Ana Lúcia Barretto Penna por acreditar em mim desde o tempo da graduação, pela oportunidade dada para realização deste sonho, por todos os ensinamentos e auxílios durante a realização deste trabalho e por todos os momentos de amizade durante todos esses anos de convivência.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão de bolsa de estudos e por todo o auxílio prestado durante o período de execução deste trabalho.

A todas as minhas companheiras de laboratório, principalmente Sabrina, Graziele e Raquel, por me aguentarem todos os dias, por todos os momentos de companheirismo e amizade sincera e por me socorrerem em todos os momentos de crise. Vocês estarão para sempre no meu coração, na lista de amigos.

A todos os professores do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos do Ibilce por todos os ensinamentos e demonstrações de amizade e apoio.

A todos os técnicos dos laboratórios do DETA, principalmente Ginaldo, Luiz e Tânia, pelos diversos auxílios prestados.

Ao Prof. Dr. Roger Darros Barbosa e à Profª. Drª. Mieko Kimura por todos os questionamentos e sugestões feitos durante o exame de qualificação, que muito contribuíram para o engrandecimento deste trabalho. E às Profas. Dras. Mirna Lúcia Gigante e Mieko Kimura por todas as correções e sugestões feitas durante a defesa deste trabalho. Vocês fazem parte do que este trabalho se tornou.

Às empresas Alibra Ingredientes Ltda., Doremus Alimentos Ltda., Novaprom Food Ingredients Ltda. e Chr.Hansen (Brasil) pela doação de materiais imprescindíveis à realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS 2
LISTA DE TABELAS 3
1. INTRODUÇÃO 7
2. OBJETIVOS 9
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 10
3.1. Iogurtes 10
3.1.1. Tecnologia de fabricação 12
3.2. Suplementação protéica 17
3.2.1. Soro de leite 17
3.2.2. Proteínas da soja 21
3.2.3. Colágeno 23
3.3. Culturas láticas 27
3.4. Probióticos 30
3.4.1. *Lactobacillus acidophilus* 34
3.5. Qualidade do iogurte 35
4. MATERIAIS E MÉTODOS 38
4.1. Caracterização dos suplementos protéicos 38
4.2. Efeito da concentração de suplemento protéico sobre as características do iogurte 39
4.3. Efeito do tipo de cultura lática sobre as características do iogurte 39
4.4. Fabricação dos iogurtes 40
4.5. Análise do leite em pó reconstituído usado na fabricação dos iogurtes 41
4.6. Caracterização dos iogurtes 41
4.7. Viabilidade das bactérias ácido-láticas durante a estocagem 42
4.8. Comportamento reológico 42
4.9. Análise visual 43
4.10. Efeito do armazenamento sob refrigeração 43
4.11. Planejamento dos experimentos e análise estatística dos resultados 43
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES 45
5.1. Caracterização dos suplementos protéicos 45
5.2. Efeito da concentração de suplemento protéico sobre as características do iogurte 48
5.2.1. Análise do leite em pó reconstituído usado na fabricação dos iogurtes 48
5.2.2. Tempo de fermentação e curva de pH 51
5.2.3. Caracterização físico-química dos iogurtes 56
5.2.4. Viabilidade das bactérias ácido láticas 69
5.2.5. Análise visual 76
5.3. Efeito do tipo de cultura lática sobre as características do iogurte 77
5.3.1. Análise do leite em pó reconstituído usado na fabricação dos iogurtes 77
5.3.2. Tempo de fermentação e curva de pH 79
5.3.3. Caracterização físico-química dos iogurtes 84
5.3.4. Viabilidade das bactérias ácido-láticas 95
5.3.5. Comportamento reológico 105
6. CONCLUSÕES 120
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 121

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma geral de fabricação de iogurtes. 12
Figura 2: Esquema de protocooperação entre as bactérias láticas da cultura tradicional de iogurte durante o processo de fermentação. 15
Figura 3: Curva de solubilidade dos suplementos protéicos em função do pH. 46
Figura 4: Curva de pH dos iogurtes suplementados com isolado protéico de soro (IPSoro). .. 53
Figura 5: Curva de pH dos iogurtes suplementados com isolado protéico de soja (IPSoja). ... 53
Figura 6: Curva de pH dos iogurtes suplementados com fibra natural de colágeno (FNColageno). 54
Figura 7: Curva de pH dos iogurtes elaborados com a cultura Rich. 81
Figura 8: Curva de pH dos iogurtes elaborados com a cultura Rich + La-5. 81
Figura 9: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e fortificados com 0,5% de isolado protéico de soro. 105
Figura 10: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e fortificados com 1,0% de isolado protéico de soro. 106
Figura 11: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e fortificados com 0,5% de isolado protéico de soja. 106
Figura 12: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e fortificados com 1,0% de isolado protéico de soja. 107
Figura 13: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e fortificados com 0,5% de fibra natural de colágeno. 107
Figura 14: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e fortificados com 1,0% de fibra natural de colágeno. 108
Figura 15: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes controle fermentados com cultura Rich. 108
Figura 16: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e La-5 e fortificados com 0,5% de isolado protéico de soro. . 109
Figura 17: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e La-5 e fortificados com 1,0% de isolado protéico de soro. . 109
Figura 18: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e La-5 e fortificados com 0,5% de isolado protéico de soja. . 110
Figura 19: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e La-5 e fortificados com 1,0% de isolado protéico de soja. . 110
Figura 20: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e La-5 e fortificados com 0,5% de fibra natural de colágeno. 111
Figura 21: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e La-5 e fortificados com 1,0% de fibra natural de colágeno. 111
Figura 22: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes controle fermentados com cultura Rich e La-5. 112

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Concentrações dos suplementos protéicos (% massa/ volume).....39
Tabela 2: Caracterização físico-química das fontes protéicas. 45
Tabela 3: Teores de gordura, proteína e sólidos não gordurosos do leite em pó reconstituído dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico. 49
Tabela 4: Proteína (%) e sólidos totais (%) das misturas utilizadas na fermentação dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.....50
Tabela 5: Tempos de fermentação dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico. 51
Tabela 6: Parâmetros cinéticos da curva de acidificação dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.....55
Tabela 7: Sólidos totais, proteínas e gordura (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.....56
Tabela 8: Acidez titulável (% de ácido lático) dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico. 58
Tabela 9: Média de acidez titulável (% ácido lático) para o fator concentração de suplemento protéico dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico. .59
Tabela 10: Média de acidez titulável (% ácido lático) para o fator tempo de armazenamento dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico. 60
Tabela 11: Capacidade de retenção de água (CRA %) dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.....62
Tabela 12: Média de capacidade de retenção de água (%) para o fator concentração de suplemento protéico dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico. .63
Tabela 13: Média de capacidade de retenção de água (%) para o fator tempo de armazenamento dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico. 64
Tabela 14: Sinérese (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.....66
Tabela 15: Média de sinérese (%) para o fator concentração de suplemento protéico dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.....67
Tabela 16: Média de sinérese (%) para o fator tempo de armazenamento dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.....68
Tabela 17: População de *S. thermophilus* (UFC/mL) dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.....70
Tabela 18: Média da população de *S. thermophilus* (log UFC/mL) para o fator concentração de suplemento protéico dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico. 71
Tabela 19: Média da população de *S. thermophilus* (log UFC/mL) para o fator tempo de armazenamento dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico. 72
Tabela 20: População de *L. bulgaricus* (UFC/mL) dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.....73
Tabela 21: Média da população de *L. bulgaricus* (log UFC/mL) para o fator concentração de suplemento protéico dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico. 74
Tabela 22: Média da população de *L. bulgaricus* (log UFC/mL) para o fator tempo de armazenamento dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico. 75
Tabela 23: Teores de gordura, proteína e sólidos não gordurosos das amostras de leite em pó reconstituído dos testes sobre efeito da cultura lática. 78
Tabela 24: Proteína (%) e sólidos totais (%) das misturas utilizadas na fermentação dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.....79

Tabela 25: Tempos de fermentação dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas. 80
Tabela 26: Parâmetros cinéticos da curva de acidificação dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas. 82
Tabela 27: Médias de tempo (min) para atingir a velocidade máxima de acidificação em função do tipo de suplemento protéico. 83
Tabela 28: Sólidos totais, proteínas e gordura (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.....84
Tabela 29: Acidez titulável* (% ácido lático) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas. 87
Tabela 30: Média de teor de acidez titulável (% ácido lático) para o fator tipo de cultura lática. 88
Tabela 31: Média de teor de acidez titulável (% ácido lático) para o fator concentração de suplemento protéico. 88
Tabela 32: Médias de teor de acidez titulável (%) para o fator tempo de armazenamento. 89
Tabela 33: Capacidade de retenção de água* (%) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas. 90
Tabela 34: Médias de capacidade de retenção de água (%) para o fator tipo de cultura lática. 91
Tabela 35: Médias de capacidade de retenção de água (%) para o fator tipo de suplemento protéico.....91
Tabela 36: Médias de capacidade de retenção de água (%) para o fator concentração de suplemento protéico. 92
Tabela 37: Médias de capacidade de retenção de água (%) para o fator tempo de armazenamento. 92
Tabela 38: Sinérese* (%) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas. 93
Tabela 39: Médias de sinérese (%) para o fator tipo de cultura.....94
Tabela 40: Médias de sinérese (%) para o fator tipo de suplemento protéico. 95
Tabela 41: Médias de sinérese (%) para o fator concentração de suplemento protéico.....95
Tabela 42: População média de *S. thermophilus* (UFC/mL) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas. 96
Tabela 43: Médias de população de *S. thermophilus* (log UFC/mL) para o fator tipo de cultura.....97
Tabela 44: Médias de população de *S. thermophilus* (log UFC/mL) para o fator tempo de armazenamento. 97
Tabela 45: População média de *L. bulgaricus* (UFC/mL) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas. 99
Tabela 46: Médias de população de *L. bulgaricus* (log UFC/mL) para o fator tipo de cultura.....100
Tabela 47: Médias de população de *L. bulgaricus* (log UFC/mL) para o fator tempo de armazenamento. 100
Tabela 48: População média de *L. acidophilus* (UFC/mL) dos iogurtes fermentados com cultura Rich + La-5. 102
Tabela 49: Médias de população de *L. acidophilus* (log UFC/mL) para o fator concentração de suplemento protéico. 103
Tabela 50: Médias de população de *L. acidophilus* (log UFC/mL) para o fator tempo de armazenamento. 103
Tabela 51: Parâmetros reológicos dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas, ajustados ao Modelo da Lei da Potência – Curvas Ascendentes. 113

Tabela 52: Parâmetros reológicos dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas, ajustados ao Modelo da Lei da Potência – Curvas Descendentes. 114
Tabela 53: Médias de índice de consistência (Pa.s^n) obtidos na curva descendente dos iogurtes com isolado protéico de soro para o fator concentração de suplemento protéico. 115
Tabela 54: Médias de índice de consistência (Pa.s^n) obtidos nas curvas descendentes dos iogurtes com isolado protéico de soro para o fator concentração de suplemento protéico. 116
Tabela 55: Médias de índice de consistência (Pa.s^n) obtidos nas curvas descendentes dos iogurtes com isolado protéico de soro para o fator tempo de armazenamento. 116
Tabela 56: Médias de índice de comportamento de fluxo obtidos nas curvas descendentes dos iogurtes com isolado protéico de soro para o fator tempo de armazenamento. 116
Tabela 57: Médias de índice de consistência (Pa.s^n) obtidos na curva descendente dos iogurtes com isolado protéico de soja para o fator concentração de suplemento protéico. 117
Tabela 58: Áreas de histerese (mm^2) das curvas de tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas. 119

RESUMO

A busca por uma alimentação balanceada e por alimentos que possam trazer benefícios à saúde do consumidor fez aumentar a demanda de alimentos funcionais, incluindo os produtos lácteos probióticos. A combinação de um produto suplementado com proteínas e fermentado por microrganismos probióticos pode gerar um produto com propriedades tecnológicas, sensoriais e funcionais que atendam a demanda por esses produtos. A suplementação do leite para a fabricação de iogurtes com diferentes tipos de proteínas melhora o valor nutricional do produto e afeta principalmente a formação da estrutura do gel do iogurte, alterando propriedades como textura, firmeza, viscosidade, retenção de água e separação do soro. O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da suplementação do leite com proteínas de diferentes fontes (soro de leite, soja e colágeno) e do tipo de cultura láctica (culturas tradicionais e probióticas) sobre as características físico-químicas e microbiológicas de iogurtes. O aumento da concentração de suplemento protéico resultou em aumento da capacidade da retenção de água e em redução da sinérese dos iogurtes. A adição de fibra natural de colágeno aos iogurtes resultou em produtos com maior capacidade de retenção de água, sinérese e consistência, que são propriedades importantes para a qualidade do iogurte. Por outro lado, a suplementação com isolado protéico de soja resultou em produtos com propriedades tecnológicas inadequadas, embora tenha obtido os melhores resultados no estímulo do desenvolvimento das culturas durante a fermentação. Os iogurtes fermentados com a cultura tradicional (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) apresentaram maior acidez titulável, maior capacidade de retenção de água e menor sinérese do que os iogurtes fermentados com a cultura probiótica (*S. thermophilus*, *L. bulgaricus* e *L. acidophilus*). A suplementação do leite com diferentes fontes de proteínas afetou a composição e características tecnológicas dos iogurtes, enquanto o uso de diferentes tipos de culturas láticas afetou apenas as propriedades tecnológicas, como capacidade de retenção de água e sinérese.

1. INTRODUÇÃO

O aumento da procura por alimentos saudáveis com apelo funcional é devido à crescente preocupação da população com a saúde, que busca a melhoria dos hábitos alimentares e a prevenção de doenças através da ingestão destes alimentos. Como o iogurte é um produto lácteo com grande aceitabilidade pelos consumidores e seu consumo é considerado um hábito saudável pela maioria da população, a inclusão de ingredientes probióticos ou prebióticos neste produto é facilitada.

A produção média de iogurtes em 2006 foi de 400 mil toneladas por ano, o que representa 76% do total de produtos lácteos fermentados. No entanto, o consumo de leites fermentados no Brasil, que é de 3 kg por ano por habitante, é considerado baixo quando comparado ao consumo de países como França, Uruguai e Argentina, aonde o consumo per capita do produto é de 7 a 19 kg ao ano (SANTANA et al., 2006). Em 2007, o mercado de produtos probióticos (ingredientes, suplementos e alimentos) movimentou US$ 14,9 bilhões no mundo e a estimativa é que este mercado alcance um movimento de US$ 19,6 bilhões em 2013. Deste mercado, o segmento de iogurtes representava 36,6% em 2007 (BRANDÃO, 2008).

A combinação de um produto suplementado com proteínas e fermentado por microrganismos probióticos pode gerar um produto com propriedades tecnológicas, sensoriais e funcionais que atendam a demanda por produtos saudáveis. A suplementação do leite para a fabricação de iogurte com diferentes tipos de proteínas melhora o valor nutricional do produto e afeta principalmente a formação da estrutura do gel do iogurte, alterando propriedades como textura, firmeza, viscosidade, retenção de água e separação do soro.

Devido às suas propriedades, as proteínas do soro de leite, as proteínas da soja e o colágeno, merecem destaque. Vários estudos foram realizados sobre a suplementação do leite com proteínas do soro do leite e da soja, no entanto são raros os trabalhos sobre a adição de colágeno em alimentos.

As culturas probióticas têm sido utilizadas no desenvolvimento de produtos funcionais, nos quais os microrganismos probióticos atuam como agentes tecnológicos, melhorando as características do produto tradicional, tal como a redução da pós-acidificação, e como agentes terapêuticos, promovendo efeitos benéficos nos indivíduos que os ingerem. Para isso, o microrganismo utilizado deve apresentar comprovação dos

efeitos benéficos e se apresentar em concentração suficiente para sua atuação durante toda a vida de prateleira do produto.

A avaliação do efeito da suplementação do leite e do uso de culturas láticas distintas pode ser realizada por fatores relacionados diretamente à qualidade do iogurte, tais como acidez desenvolvida, capacidade de retenção de água, susceptibilidade à sinérese, parâmetros relacionados à estrutura e textura e viabilidade das bactérias das culturas láticas.

Neste contexto, estudos sobre a suplementação do leite com proteínas, e posterior fermentação por culturas probióticas poderão trazer contribuições para a ciência e tecnologia de produtos lácteos funcionais.

2. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo geral estudar o efeito da fortificação do leite com diferentes fontes protéicas (soro de leite, soja e colágeno) e da composição da cultura lática (cultura tradicional e probiótica) em iogurtes.

Os objetivos específicos do trabalho foram:

i. Estudar o efeito da concentração de suplemento protéico sobre as características do iogurte;
ii. Avaliar o efeito do tipo de cultura lática sobre o tempo de fermentação e a cinética de acidificação para cada combinação de suplemento protéico e cultura utilizada;
iii. Estudar o efeito do armazenamento refrigerado sobre as características físico-químicas, funcionais, reológicas e a viabilidade das bactérias láticas dos iogurtes.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Iogurtes

Os produtos lácteos fermentados fazem parte da dieta da maior parte da população mundial e vários trabalhos científicos têm sido publicados sobre os benefícios à saúde relacionados ao consumo deste tipo de produto (DAVE, SHAH, 1998).

Ao longo dos anos, o iogurte se tornou um dos produtos acidificados com maior aceitabilidade e mais consumido ao redor do mundo e os principais fatores que contribuíram para o seu crescimento no mercado de consumo são: sabor ligeiramente ácido, boa digestibilidade, possibilidade de adicionar diferentes sabores, alto valor nutricional e qualidade estável (SPREER, 1998).

A origem dos leites fermentados é relacionada aos Bálcãs, centro leste europeu e países mediterrâneos (STAFF, 1998) e sua produção está baseada no processo de degradação e acidificação do leite cru após um tempo de estocagem, devido à ação dos microrganismos presentes no meio, comumente das bactérias ácido láticas, que irão predominar na flora natural do leite em temperaturas moderadas (WALSTRA, WOUTERS, GEURTS, 2006). Variando a matéria prima, o tipo de cultura e as condições de processamento, foi desenvolvida uma grande variedade de leites fermentados ao redor do mundo.

De acordo com os Padrões de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2000), entende-se por leites fermentados os produtos resultantes da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado, em natureza ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos de origem láctea, bem como de outras substâncias alimentícias recomendadas pela tecnologia atual de fabricação de leites fermentados, através de fermentos láticos próprios.

A principal diferença entre os tipos de leites fermentados é a cultura lática empregada no seu processamento e alguns exemplos destes produtos são: iogurte, leite fermentado ou cultivado, leite acidófilo, kefir, kumys e coalhada.

Iogurte é o leite fermentado cuja fermentação se realiza com cultivos protosimbióticos de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, que podem ser complementados por outras bactérias ácido-láticas que contribuam de maneira benéfica nas características do produto final (BRASIL, 2000).

Segundo Brasil (2000), os ingredientes obrigatórios do iogurte são leite e/ou leite reconstituído padronizado em seu conteúdo de gordura e os cultivos de bactérias láticas e/ou cultivos de bactérias láticas específicas. Os ingredientes opcionais que podem ser utilizados são: (i) leite concentrado, creme, manteiga, gordura anidra de leite ou *butter oil*, leite em pó, caseinatos alimentícios, proteínas lácteas, outros sólidos de origem láctea, soros lácteos, concentrados de soros lácteos; (ii) frutas em forma de pedaços, polpa(s), suco(s) e outros preparados à base de frutas; (iii) maltodextrinas; (iv) outras substâncias alimentícias tais como: mel, coco, cereais, vegetais, frutas secas, chocolate, especiarias, café, outras, sozinhas ou combinadas; (v) açúcares e/ou glicídios (exceto polialcoóis e polissacarídeos); (vi) cultivos de bactérias láticas subsidiárias; e (vii) amidos ou amidos modificados em uma proporção máxima de 1% (m/m) do produto final; sendo que todos os ingredientes opcionais não lácteos, sós ou combinados deverão estar presentes em uma proporção máxima de 30% (m/m) do produto final.

Os iogurtes podem ser classificados quanto à estrutura do coágulo, ao conteúdo de matéria gorda e conforme adição ou não de frutas ou outros ingredientes permitidos. A principal classificação deste produto é quanto à estrutura do coágulo, classificando-os em: iogurte firme ou consistente (no qual a fermentação se realiza na própria embalagem do produto) e iogurte batido (no qual a fermentação ocorre em um tanque, seguida da homogeneização e embalagem do produto) (VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

O iogurte sem sabor foi expandido em vários outros produtos, que incluem iogurtes batidos com textura mais firme devido à adição de agentes espessantes, iogurtes para beber com vários aditivos para aumentar sua vida de prateleira e produtos de iogurte fortificados com proteínas. O emprego de bactérias láticas tradicionais em conjunto com bactérias probióticas na fermentação do leite resulta em produtos com apelo terapêutico e caracterizados por apresentarem boa digestibilidade, baixa pós-acidificação e sabor estável ao longo do tempo, com boa aceitação no mercado de produtos funcionais. Além disso, os produtos finais de iogurte podem ser congelados, concentrados ou liofilizados (SPREER, 1998).

3.1.1. Tecnologia de fabricação

A Figura 1 apresenta o fluxograma geral para a fabricação de iogurtes.

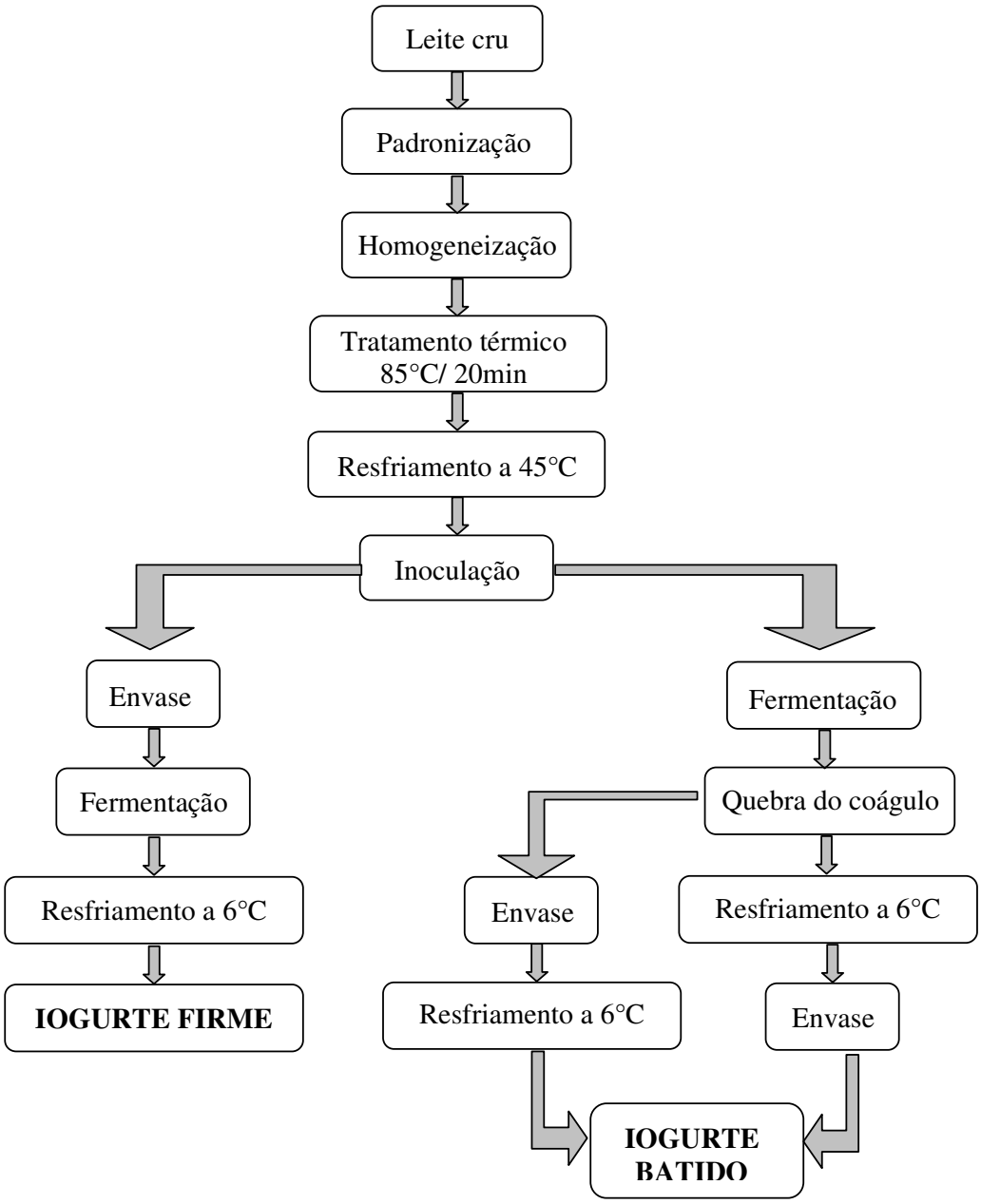


Figura 1: Fluxograma geral de fabricação de iogurtes.

As condições do processamento do iogurte variam de acordo com as especificações do fabricante e das características desejadas no produto final, mas em todos os casos existem etapas obrigatórias na sua fabricação.

O iogurte pode ser obtido a partir de leite de várias espécies, como cabra e ovelha, mas a matéria prima tradicional é o leite bovino (VARNAM, SUTHERLAND, 1994). Para obtenção de um iogurte padronizado, com características definidas e constantes, e para atender aos requisitos legais de cada país, é necessária uma etapa de padronização da composição do leite.

O conteúdo de gordura dos diferentes tipos de iogurtes fabricados em todo o mundo varia de 0,1 a 10% e os métodos empregados para a padronização do leite incluem a mistura de leite integral e leite desnatado ou o uso de centrífugas separadoras (TAMINE; ROBINSON, 1991).

Em alguns países, o leite é fortificado até um conteúdo de sólidos de 15%, o que melhora a consistência final do iogurte, diminui a tendência à sinérese e reduz ligeiramente a produção de ácido durante a fermentação, com a obtenção de um produto menos ácido, que atualmente tem melhor aceitação. A padronização do conteúdo de sólidos totais do leite pode ser feita por remoção de água, em processos como evaporação ou ultrafiltração, ou por adição de suplementos, como o leite em pó ou concentrados protéicos (VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

A homogeneização é outra etapa utilizada para modificar as características do leite utilizado na fabricação do iogurte. Este processo consiste na divisão dos glóbulos de gordura (aumento da área superficial), e tem como objetivo principal a prevenção da aglomeração dos glóbulos de gordura durante a etapa de fermentação ou durante seu período de estocagem (STAFF, 1998). Além disso, a homogeneização completa resulta na ligação de glóbulos de gordura às micelas de caseína, aumentando o volume das partículas de caseína, que podem conduzir à uma formação de gel mais macio durante a coagulação. As condições de processo geralmente utilizadas são pressão variando entre 150 e 200 bar e temperatura entre 58 e 60°C (SPREER, 1998).

O tratamento térmico empregado influi diretamente na qualidade do produto final, pois afeta a microflora presente no meio e a formação do coágulo do iogurte, devido à desnaturação das proteínas do soro. Os principais objetivos deste tratamento são: (i) eliminação dos microrganismos patogênicos e prevenção da deterioração do leite pelos microrganismos presentes naturalmente no mesmo; (ii) redução da população total de microrganismos a um nível que não comprometa o crescimento dos microrganismos da

cultura lática; e (iii) desnaturação das proteínas do soro, a fim de melhorar a textura do produto final e auxiliar na prevenção da separação do soro em qualquer tempo subseqüente durante a vida de prateleira do produto (STAFF, 1998). Na prática, o tratamento varia desde uma pasteurização de alta temperatura e tempo curto até um processo de ultra-pasteurização ou UHT (*Ultra High Temperature*), que utiliza temperaturas muito altas por um período curto (até 150°C por 5 segundos) (VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

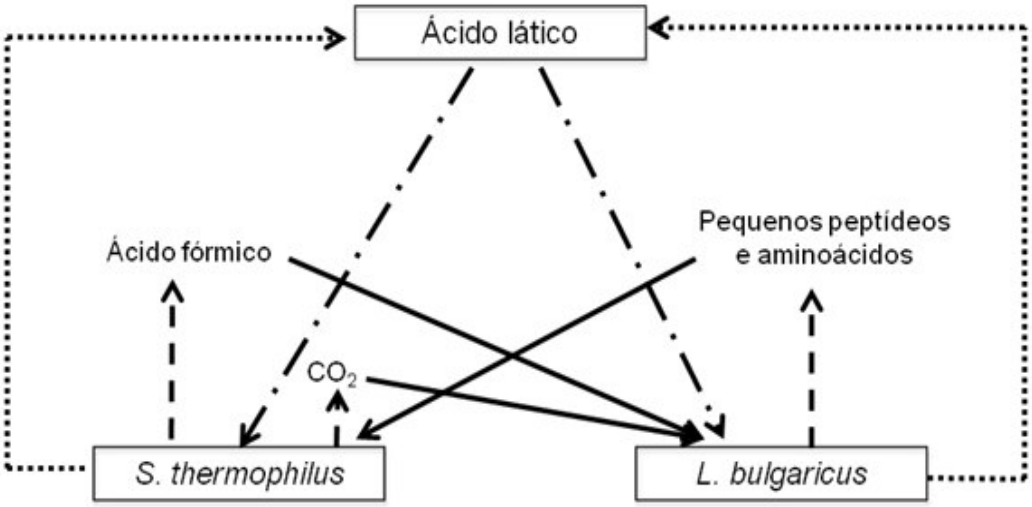
Outro efeito importante do aquecimento é o aumento do caráter hidrofílico das proteínas, que reduz a sinérese e aumenta a consistência do gel. Este efeito é conseqüência das ligações covalentes entre a κ-caseína e a β-lactoglobulina que dão lugar a uma nova estrutura superficial com poucos grupos hidrofóbicos expostos. A máxima hidratação é obtida aquecendo-se o leite a 85°C por 30 minutos e o iogurte elaborado com este leite apresenta um comportamento tixotrópico verdadeiro. Um tratamento térmico mais severo aumenta a hidrofobicidade, favorecendo a sinérese e produzindo um iogurte com qualidade inferior (VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

Segundo Brandão (1995), o tratamento térmico a 95°C por 5 minutos ou o tratamento térmico a 85°C por 20 a 30 minutos desnatura mais de 85% das proteínas do soro, reduz consideravelmente a biota original, ativa a cultura (por diminuir a quantidade de oxigênio dissolvido no meio) e melhora a consistência do iogurte (devido à desnaturação das proteínas do soro e subseqüente agregação das mesmas à micela de caseína). A desnaturação das proteínas do soro reduz a contração do coágulo da caseína do iogurte, diminuindo, conseqüentemente, a sinérese.

A fermentação do leite acontece devido à ação da cultura lática empregada. O *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* são proteolíticos e melhoram o crescimento do *Streptococcus thermophillus* através da liberação de peptídeos pequenos e aminoácidos, principalmente valina. O conteúdo normal destes aminoácidos no leite é muito pequeno e os cocos formam ácido muito lentamente neste meio, porque são proteolíticos fracos. O estímulo do crescimento dos bacilos causado pela ação dos cocos se deve à produção de ácido fórmico em condições anaeróbicas e pela rápida produção de CO_2. Devido à esta estimulação mútua, durante o crescimento combinado destas duas bactérias no leite, a produção de ácido lático é muito mais rápida do que se fossem empregadas as culturas puras. No entanto, também ocorre antibiose no iogurte, pois quando certa acidez é alcançada, os cocos não podem mais crescer, e só acontece desenvolvimento dos bacilos, que são menos susceptíveis à acidez. A protocooperação e a antibiose são de grande

importância no crescimento das bactérias do iogurte e na qualidade do iogurte (WALSTRA et al., 1999).

Um esquema simplificado da protocooperação entre as bactérias da cultura tradicional do iogurte durante a etapa de fermentação está apresentado na Figura 2.



(Adaptado de WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 2006).

Figura 2: Esquema de protocooperação entre as bactérias láticas da cultura tradicional de iogurte durante o processo de fermentação.

A cultura mista utilizada na fabricação do iogurte inicialmente converte parte da lactose em ácido lático, o qual promove a desestabilização do complexo caseína-proteínas do soro desnaturadas, por solubilização do fosfato de cálcio e dos citratos. Os agregados de micelas de caseína e/ou micelas isoladas vão se associando e coalescem parcialmente à medida que o pH se aproxima de 4,6-4,7, ou seja, do ponto isoelétrico da caseína, formando o coágulo característico do iogurte (TAMINE; ROBINSON, 1991).

Em relação à concentração do inóculo, empresas que comercializam culturas recomendam de 0,1 a 0,5%, dependendo do tipo de cultura e das características desejadas no produto final (PINHEIRO, 2003). Penna; Gurram; Barbosa-Cánovas (2007) compararam culturas compostas por *S. thermophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus* e *B. longum* de duas marcas comerciais (DPL ABY 611 e YO MIX 236) para fermentação de iogurtes. Estes autores observaram que os microrganismos se

multiplicavam mais rapidamente em iogurtes com baixos níveis de inoculação para a cultura DPL ABY 611 e na maioria dos casos, as contagens eram mais elevadas quando o nível de inoculação era 0,2% para a cultura YO MIX 236. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Dave e Shah (1997), que estudaram o efeito da concentração da cultura (0,05, 0,1, 0,15, e 0,2%) sobre a viabilidade das bactérias do iogurte e probióticas e que relataram que os iogurtes preparados com baixos teores de inóculo apresentaram maior pós-acidificação.

De acordo com Tamime e Robinson (1991), a relação ótima entre cocos e bacilos para o desenvolvimento do sabor e aroma característicos do produto é dependente das propriedades das cepas utilizadas e é de aproximadamente 1:1. Entretanto, atualmente, as culturas comerciais apresentam uma relação diferenciada entre os microrganismos, podendo chegar a aproximadamente 13:1 entre *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*, o que contribui para um menor tempo de fermentação e um baixo grau de pós-acidificação no produto final (PINHEIRO, 2003).

O balanço adequado da cultura é importante para a obtenção de um iogurte com boas características organolépticas relativas ao sabor, aroma e textura. A predominância de qualquer uma das espécies pode acarretar em defeitos para o produto final. Os principais fatores que podem afetar o balanço adequado entre os dois microrganismos são o tempo e a temperatura de incubação e a porcentagem de inóculo. Por exemplo, um tempo menor de incubação resultaria em um produto com maior proporção de cocos e com um sabor fraco. Por outro lado, um tempo maior de incubação ou um resfriamento inadequado favoreceria a predominância de bacilos resultando num produto com gosto amargo (WALSTRA et al., 1999).

Na maioria dos casos, as operações realizadas após a fermentação no processo de fabricação do iogurte se limitam à refrigeração, adição de polpa de frutas ou outros ingredientes e o envase. A refrigeração do produto é realizada, geralmente, em duas fases: a primeira fase consiste no resfriamento a 15-20°C, após a qual se faz a quebra do coágulo e/ou adição da polpa de frutas, e a segunda fase consiste no resfriamento até temperaturas inferiores a 5°C, que será a temperatura de armazenamento (VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

3.2. Suplementação protéica

A suplementação do leite para fabricação do iogurte com fontes de proteínas afeta as propriedades de textura dos iogurtes, com redução da separação do soro e aumento da firmeza e viscosidade do iogurte (LUCEY; MUNRO; SINGH, 1999).

Ingredientes funcionais, como a soja, proteínas do soro ou o colágeno, podem contribuir na formação da estrutura do gel, mas são adicionadas tipicamente às formulações para melhorar a retenção de água, purificação, rendimento do processo, consistência ou para redução do custo (DOERSCHER; BRIGGS; LONERGAN, 2003).

Vários estudos foram realizados sobre a suplementação do leite com proteínas do soro do leite e da soja, mas as pesquisas sobre a adição de colágeno em iogurte e a comparação entre os suplementos protéicos soro do leite, soja e colágeno não foram encontrados.

3.2.1. Soro de leite

O soro é um subproduto da fabricação de queijos, constituindo a fase aquosa do leite, resultante da dessora do coágulo. Ele pode ser caracterizado como um líquido amarelo-esverdeado e dependendo do tipo de queijo, pode possuir sabor ligeiramente ácido ou doce (ABREU, 2000).

O valor nutricional do soro é indiscutível. Durante a fabricação do queijo, somente a caseína e a gordura do leite são removidas, restando as proteínas do soro (ABREU, 2000), várias vitaminas hidrossolúveis (tiamina, riboflavina, ácido pantotênico, vitamina B_6 e B_{12}), minerais (cálcio, magnésio, zinco e fósforo) e um alto teor de lactose (USDEC, 1997).

As proteínas do soro apresentam quase todos os aminoácidos essenciais em excesso às recomendações de ingestão diária, exceto pelos aminoácidos aromáticos (fenilalanina e tirosina) que não aparecem em excesso, mas atendem às recomendações para todas as idades. Estas proteínas apresentam elevadas concentrações dos aminoácidos triptofano, cisteína, leucina, isoleucina e lisina (SGARBIERI, 2004).

As proteínas do soro de leite são altamente digeríveis e rapidamente absorvidas pelo organismo, estimulando a síntese de proteínas sanguíneas e teciduais, a tal ponto que alguns pesquisadores as classificaram como proteínas de metabolização rápida, muito

adequadas para situações de estresses metabólicos, em que a reposição de proteínas no organismo se torna emergencial (SGARBIERI, 2004).

Pesquisas conduzidas em universidades norte-americanas indicam que suplementos alimentares e produtos enriquecidos com derivados de soro de leite têm diversas aplicações para melhorar a saúde dos seres humanos, proporcionando maior força e melhor performance para atletas, suprindo adequadamente as necessidades de cálcio para evitar osteoporose e outras doenças e até prevenindo problemas cardiovasculares. É comum o seu uso por praticantes de esportes que buscam melhor desempenho e recuperação física eficiente. Testes em laboratório indicam que o cálcio proveniente de fontes lácteas pode ter o poder de regular a pressão arterial e reduzir o colesterol (US DAIRY EXPORT COUNCIL SOUTH AMERICA, 2008).

As proteínas do soro compõem um grupo diversificado de proteínas com características estruturais bem diferentes, sendo que as principais são: β-lactoglobulina (β-Lg), α-lactalbumina (α-La), albumina do soro bovino (BSA), imunoglobulinas (Ig), lactoferrina e lisozima, mas também podem estar presentes alguns peptídeos derivados da caseína (ANTUNES, 2003).

A β-Lg é a proteína de maior proporção no soro de leite (aproximadamente 50%) e é uma proteína globular de peso molecular aproximado de 18 kDa e que contém 162 resíduos de aminoácidos. Ela é classificada como uma lipocalina, cuja estrutura forma uma espécie de cálice de caráter hidrofóbico, que contribui para que ela seja uma proteína bastante estável em solução em uma ampla faixa de pH, apresentando, porém, diferentes estados de associação e passando por cinco transições induzidas pelo pH, na faixa de 1 a 13. Como é uma proteína termossensível, vários efeitos são produzidos por ação da temperatura, como perda de solubilidade e exposição de regiões específicas da molécula que resulta em diferentes tipos de interações com outros componentes (SGARBIERI, 2005).

A α-La representa cerca de 13% das proteínas totais do soro e é a única proteína deste grupo capaz de se ligar ao cálcio. Sua molécula é formada por 123 resíduos de aminoácidos e tem um peso molecular de aproximadamente 14 kDa. Se apresenta como uma molécula globular, praticamente esférica, com quatro ligações dissulfídicas e não apresenta grupos fosfato (ANTUNES, 2003). A α-La é solúvel na faixa de pH 4,5 a 5,5, porém abaixo de pH 4 e acima de pH 5,5 suas moléculas associam-se em dímeros e trímeros e agregam-se gerando polímeros que sedimentam (SGARBIERI, 2005).

As Ig ocorrem no leite bovino em pequenas quantidades, com maior concentração somente no colostro, e sua estrutura são monômeros de uma unidade básica composta de quatro cadeias polipeptídicas ligadas covalentemente por ligações dissulfídicas. São proteínas muito termolábeis e suas propriedades funcionais no soro ainda não foram determinadas (ANTUNES, 2003).

A BSA tem conformação nativa globular, solúvel em água, formada por uma cadeia polipeptídica com cerca de 580 resíduos de aminoácidos e apresenta peso molecular de 66,2 kDa. Em seu estado nativo apresenta solubilidade elevada na faixa de pH entre 1,5 e 8, mas quando as suas ligações dissulfeto são rompidas a solubilidade desta proteína fica mínima na faixa de pH entre 3,5 e 5 (SGARBIERI, 2005). A BSA é uma proteína transportadora de ácidos graxos insolúveis no sistema circulatório, sendo que a ligação com ácidos graxos estabiliza a molécula contra desnaturação. Além de ligar-se a ácidos graxos pode se ligar a outros lipídeos e substâncias responsáveis pelo sabor e aroma (ANTUNES, 2003).

A secagem e a remoção de componentes não-protéicos do soro de leite, com o aumento da concentração de proteínas, levam a produtos comerciais denominados concentrados protéicos de soro (WPC, com 25 a 80% de proteínas) ou isolados protéicos de soro (WPI, com mais de 90% de proteínas). Os WPC e WPI vêm sendo usados pela indústria alimentícia devido às suas propriedades nutricionais e funcionais. A β-lactoglobulina (55 a 62% das proteínas do soro), a α-lactalbumina (~10%), as imunoglobulinas (~10%) e a albumina do soro do leite (~6%) constituem-se nas macromoléculas responsáveis pelas propriedades funcionais dos WPC e WPI, dentre as quais podem ser citadas as de agentes gelificantes, emulsificantes e estabilizantes de espuma (ANDRADE; NASSER, 2005).

O pH, assim como a força iônica, pode alterar a distribuição das cargas entre as cadeias laterais das proteínas causando aumento ou diminuição das interações entre as moléculas de proteína. O concentrado protéico de soro é composto por quatro frações protéicas principais que apresentam pontos isoelétricos de 5,2 para a β-lactoglobulina, 4,2 a 4,5 para a α-lactalbumina, 4,7 a 4,9 para a albumina do soro bovino e 5,5 a 8,3 para as imunoglobulinas (ANTUNES, MOTTA, ANTUNES, 2003).

Durante o aquecimento de soluções de concentrado protéico de soro ocorre desnaturação das proteínas do soro, que são naturalmente globulares, expondo grupamentos reativos que poderão se envolver em ligações hidrofóbicas, pontes dissulfeto,

interações iônicas e induzidas pelo cálcio. Durante o resfriamento formam-se principalmente pontes de hidrogênio. As taxas de desnaturação das proteínas dependem do pH, da composição iônica e da concentração de sólidos totais (ANTUNES, MOTTA, ANTUNES, 2003).

Devido às suas propriedades funcionais, as proteínas do soro podem ser usadas em uma ampla faixa de formulações, alimentos infantis, dietas especiais, produtos de panificação, produtos lácteos (BARBOSA et al., 2003), sopas, sucos de frutas fortificadas com proteínas, bases para molhos, iogurtes, bebidas fermentadas, chocolates e sorvetes (PENNA, 2002). A incorporação de produtos de soro em iogurtes melhora as características de sabor e textura, além de outros parâmetros nutricionais (HUGUNIN, 1999).

A capacidade das proteínas do soro de leite, quando em solução de formar géis estáveis através do aquecimento é uma importante propriedade funcional destas proteínas. A reação inicial do processo de gelatinização envolve o enfraquecimento e quebra das pontes de hidrogênio e dissulfídicas desestabilizando a estrutura conformacional das proteínas. Posteriormente, ocorre polimerização das moléculas de proteína produzindo uma estrutura tridimensional capaz de imobilizar fisicamente grande parte do solvente, através de ligações dissulfídicas intermoleculares, interações hidrofóbicas e iônicas. A integridade física do gel é mantida pelo contrabalanceamento das forças de atração e repulsão entre as moléculas de proteína e destas com o solvente circundante (ANTUNES, MOTTA, ANTUNES, 2003).

Alguns benefícios relacionados à fortificação do leite com fontes de proteínas do soro (concentrados ou isolados protéicos) nas características do iogurte são: maior produção de acetaldeído, aumento da viscosidade e redução da sinérese, melhora das características sensoriais e melhora da capacidade tamponante com baixo pH (TAMIME; ROBINSON, 1991).

Antunes, Motta e Antunes (2003) determinaram o perfil de textura e capacidade de retenção de água de géis ácidos de concentrado protéico de soro de leite e relataram que os maiores valores de firmeza, coesividade, elasticidade e capacidade de retenção de água, de maneira geral, aconteceram nos géis com maior concentração protéica, tempo e temperatura de desnaturação. Com relação ao pH, os géis formados em pH 4,0 apresentaram-se mais elásticos e com maior capacidade de retenção de água, enquanto que os géis formados em pH 4,9 a 5,2 mostraram-se mais firmes e coesos.

Lucey, Munro e Singh (1999) estudaram o efeito do tratamento térmico e da adição de proteínas do soro na estrutura e nas propriedades reológicas de géis ácidos de leite desnatado e concluíram que a adição de proteínas do soro após o tratamento térmico não influencia na formação da matriz do gel, mas que a adição realizada antes do tratamento térmico faz com que as proteínas se desnaturem e interajam com as micelas de caseína melhorando a estrutura do gel formado.

Dave e Shah (1998) estudaram o efeito da suplementação com diversos ingredientes (soro de leite, concentrado protéico de soro, hidrolisado de caseína, cisteína e triptona) sobre a viabilidade das bactérias probióticas no iogurte e relataram menor taxa de acidificação do leite durante a fermentação e maior acréscimo na acidez titulável durante estocagem refrigerada nos iogurtes fortificados com concentrado protéico de soro, devido ao favorecimento do desenvolvimento das bactérias da cultura pelo enriquecimento do meio com o concentrado protéico do soro.

Antunes, Cazetto e Bolini (2004) determinaram o perfil de textura, sinérese e propriedades sensoriais de iogurtes desnatados probióticos adicionados de concentrado protéico do soro do leite e relataram que o concentrado protéico de soro proporcionou iogurtes mais firmes e gomosos, com menores valores de sinérese.

3.2.2. Proteínas da soja

A soja é uma leguminosa cada vez mais consumida por razões econômicas e nutricionais. Na verdade, produtos de soja são fontes importantes e de baixo custo de proteínas, minerais, fósforo e vitaminas. Além disso, produtos de soja representam um importante papel na saúde. O consumo de soja não é somente adequado para pessoas com reações alérgicas causadas pelo leite, mas também é recomendado para prevenir doenças do coração, obesidade, problemas com colesterol, câncer, diabetes, doenças no rim e osteoporose. Isto tem promovido a recente chegada de numerosos produtos derivados da soja, como farinha de soja, soja texturizada, produtos de soja semelhantes aos produtos lácteos, produtos de soja semelhantes aos produtos cárneos, produtos de panificação preparados com farinha de soja, dentre outros, a fim de facilitar seu consumo e melhorar seu sabor e aroma (GARCÍA et al., 1998). Nos Estados Unidos, a proteína de soja representa cerca de 2,1% do consumo médio diário de proteína comparado com 13% nos países orientais (DRAKE et al., 2000).

Estudos recentes têm indicado que o consumo de proteínas da soja diminui o colesterol sérico e diminui o risco de vários tipos de câncer. Em resposta a esses estudos, o Departamento de Alimentos e Medicamentos Americano (*Food and Drug Administration*) aprovou a alegação de alimento benéfico à saúde em outubro de 1999 para alimentos contendo pelo menos 6,25g de proteína de soja por porção. A aprovação desta alegação combinada com os efeitos positivos à saúde, tem aumentado muito a consciência dos consumidores sobre os benefícios da soja e criado um grande mercado potencial para produtos derivados da soja (DRAKE; GERARD, 2003).

A soja transformou-se em um insumo importante para o mercado de alimentos funcionais devido às propriedades ligadas a seus componentes: proteínas, lecitinas, fibras e fitoquímicos (ESTEVES; MONTEIRO, 2001).

A proteína isolada de soja é a forma mais refinada entre os derivados protéicos mais comuns da soja (tais como farinha de soja, proteína texturizada e concentrada). Possui mais de 90% de proteínas e é preparada a partir da fração protéica dos grãos de soja separada dos demais componentes não protéicos. As proteínas isoladas de soja são macromoléculas de tamanhos e estruturas variadas que são denominadas globulinas e são formadas principalmente por dois tipos de moléculas de tamanho diferentes: a beta-con-glicinina e a glicinina, sendo que essas moléculas são responsáveis pelas propriedades funcionais da proteína isolada de soja. Além disso, as proteínas isoladas de soja possuem perfil de sabor mais neutro que as proteínas concentradas e texturizadas, sendo mais indicadas quando não se deseja alterar o sabor intrínseco dos alimentos (BUNGE ALIMENTOS, 2007).

Isolados protéicos de soja são produzidos a partir de flocos ou de farinha de soja por remoção da maior parte dos componentes não protéicos. Os flocos de proteína ou farinha são solubilizados em pH 6,8 a 10, usando um agente alcalino, e separados por centrifugação ou filtração dos resíduos fibrosos insolúveis. O sobrenadante resultante é acidificado (pH 4,5) para precipitação das proteínas restantes e separação dos oligossacarídeos solúveis por centrifugação. Então, a proteína é pulverizada em secador por atomização (*spray-dried*), podendo ser neutralizada a pH 6,5-7 para aumentar sua solubilidade e funcionalidade (GARCÍA et al., 1998).

O principal problema dos produtos de soja é seu sabor marcante e adstringente. Como durante a fermentação lática ocorre a formação de acetaldeído e de diacetil, que conferem características sensoriais agradáveis ao produto final, o extrato de soja vem sendo utilizado para o preparo de iogurtes, melhorando a sua aceitabilidade. O extrato de soja é adequado ao crescimento de bactérias láticas e os oligossacarídeos, aminoácidos e

peptídeos presentes na soja estimulam o crescimento microbiano (HAULY; FUCHS; PRUDENCIO-FERREIRA, 2005).

Vários estudos foram desenvolvidos com o objetivo de obter um produto parecido com o iogurte a partir do extrato aquoso de soja, principalmente com adição de ingredientes, como oligofrutose e inulina (FUCHS et al., 2005) e minerais, como o ferro (UMBELINO; CARDELLO, ROSSI, 2001) ou cálcio (UMBELINO et al., 2001).

Produtos fermentados obtidos a partir do extrato aquoso de soja podem ser encontrados em lojas de produtos naturais, mas, infelizmente, apresentam textura granulosa e estranha, sabor e odores estranhos, o que dificulta a aceitação e o consumo desta classe de produtos. No entanto, o consumo de produtos lácteos tradicionais e probióticos continua aumentando. Uma maneira de oferecer veículos adicionais de consumo de proteína de soja é a combinação dos benefícios e mercado consumidor de produtos lácteos semelhantes ao iogurte com os potenciais benefícios à saúde das proteínas da soja (DRAKE et al., 2000).

Drake et al. (2000) estudaram as propriedades químicas, microbiológicas e sensoriais de iogurtes com baixa quantidade de gordura fortificados com 1; 2,5 ou 5% de concentrado protéico de soja e relataram que os iogurtes adicionados de 1 ou 2,5% de concentrado protéico de soja são mais similares aos iogurtes tradicionais em termos de sabor, aroma e textura. O iogurte fortificado com 2,5% de concentrado protéico de soja poderia ser classificado como “boa fonte” de proteína de soja e poderia oferecer uma forma de introduzir quantidades modestas de proteína de soja no consumo da população.

3.2.3. Colágeno

O processo de industrialização da carne gera determinados subprodutos, como pés, rabos, ossos, colágeno, dentre outros, com valor nutricional importante. A transformação de subprodutos em alimentos é uma fonte alternativa de nutrição e uma forma de gerar riquezas, além de contribuir para a diminuição da poluição ambiental, já que é possível transformar algo que seria descartado na natureza em um produto alimentício.

Segundo o Centro das Indústrias de Curtumes do Brasil (CICB), apenas o setor de peles e couros bovinos gerou, no ano de 2000, aproximadamente US$ 1,85 bilhão em divisas. Ressalta-se a crescente busca por produtos alternativos extraídos da pele animal, para serem aproveitados nas áreas alimentícia, cosmética e biomédica. A exemplo, por

meio de processos biotecnológicos, já é possível obterem-se lâminas de queratina, queratina em pó, colágeno (gel e pó), dentre outros (CARDOSO et al., 2001).

O colágeno é um tipo de proteína fibrosa que contém cadeias peptídicas organizadas de forma aproximadamente paralela a um eixo, produzindo fibras ou folhas longas. Ele é um componente dos ossos e do tecido conjuntivo, organizado em fibras insolúveis de grande resistência e que desempenha papel estrutural (CAMPBELL, 2000).

O colágeno constitui cerca de 30% de toda a matéria orgânica do corpo de um animal ou cerca de 60% das proteínas totais do corpo, fato que explica a grande quantidade de matérias primas possíveis para a fabricação de seus derivados. Os tecidos com as maiores quantidades de colágeno são as peles e os ossos (OCKERMAN; HANSEN, 1994). Ele se destaca das outras proteínas animais devido ao seu alto teor de glicina e prolina e à presença de 4-hidroxiprolina e 5-hidroxilisina, além de conter também carboidratos (glicose e galactose) unidos de forma O-glicosídica à cadeia peptídica por meio da hidroxilisina (BELITZ; GROSCH, 1985).

Devido ao maior conteúdo ácido, básico e de aminoácido hidroxilado do que resíduos lipofílicos, o colágeno é uma proteína hidrofílica e sua estrutura secundária não favorece a formação de cadeias de α-hélice, devido ao grande número de resíduos prolil e hidroxiprolil. As cadeias colagenosas são macromoléculas helicoidais com a tendência de se ligar intermolecularmente, ao invés das ligações com outras moléculas e pontes de hidrogênio (ARVANITOYANNIS, 1999). A estrutura terciária é formada por duas ou três cadeias de tropocolágeno ligadas covalentemente e a quaternária refere-se à formação de pequenos agregados de moléculas de tropocolágeno. As moléculas de colágeno ligam-se entre si para formar a fibra de colágeno (WOLF, 2007).

O colágeno e suas frações têm um importante papel na composição da dieta humana por pelo menos duas razões: são fonte de fibras nutritivas e constituem uma fonte de proteína animal (NEKLYUDOV, 2003).

O colágeno é solúvel em tampão ácido diluído e, sob condições normais, as fibras de colágeno são ligeiramente extensíveis. Em aquecimento a 60°C, o colágeno úmido submete-se a uma redução drástica em seu comprimento (para 1/3 a 1/4 do tamanho original) e adquire elasticidade (provavelmente devido à distribuição das pontes de hidrogênio cruzadas entre as cadeias do colágeno). Em presença de ácido, álcalis e soluções aquosas salinas, o colágeno absorve considerável quantidade de água. O ponto isoelétrico do colágeno se encontra na faixa de 6,5 a 8,5 (NEKLYUDOV, 2003).

A hidratação do colágeno é mínima no intervalo de valores de pH entre 6 e 8 e só apresenta aumento significativo nos extremos da escala de valores de pH. A capacidade da matriz de colágeno absorver água em valores de pH abaixo de 5 e também em valores elevados, ou seja, acima de 8, é bastante conhecida. O decréscimo na absorção de água observado no colágeno insolúvel de animais velhos tem sido atribuído à presença de muitas ligações cruzadas (cross-linking) na matriz protéica. Pode-se avaliar a quantidade destas ligações por meio da queda na absorção de água em função da idade do animal (STRADULIS; LEMOS, 2005).

O colágeno possui uma gama de aplicações industriais, sendo normalmente utilizado em produtos cárneos, farmacêuticos, de panificação, como complemento alimentar, em alimentos funcionais e como espessante para molhos e bebidas (WOLF, 2007).

Estudos sobre o colágeno começaram em 1930, mas até as últimas três décadas, estes trabalhos se concentraram em sua estrutura. Publicações com o uso do colágeno e suas frações na indústria alimentícia não são abundantes (NEKLYUDOV, 2003), principalmente na área de produtos lácteos.

Lai, Li e Li (2008) determinaram o efeito da concentração e da temperatura no comportamento reológico de soluções de colágeno através de análise em reômetro oscilatório e relataram que para todas as concentrações testadas, o comportamento reológico foi pseudoplástico, com a viscosidade aparente aumentando quase linearmente com o aumento da freqüência. As mudanças na faixa de temperatura testada afetaram fortemente as propriedades reológicas da solução de colágeno, com um repentino decréscimo na viscosidade aparente a 30-33°C, que reflete o colapso da estrutura de tripla hélice do colágeno.

Meullenet et al. (1994) adicionaram fibras de colágeno em salsichas de frango do tipo alemã (Frankfurter) e relataram que os produtos com pequenas quantidades de fibra de colágeno apresentaram baixos valores de tensão de cisalhamento e que a adição de colágeno resultou em produtos com maior dureza, mais elásticos e com menor suculência do que o convencional.

Doerscher, Briggs e Lonergan (2003) estudaram o efeito do colágeno suíno nas propriedades térmicas e viscoelásticas de géis protéicos obtidos a partir de proteínas miofibrilares suínas. Os autores relataram que a adição de colágeno à formulação aumentou a capacidade de retenção dos géis, indicando que a matriz formada nos géis de

proteínas miofibrilares e colágeno apresenta melhor capacidade de retenção de água (95,05 a 95,77%) do que o gel formado somente com proteínas miofibrilares (controle), com aumento linear conforme o aumento da concentração de colágeno adicionada. As propriedades reológicas dos géis foram determinadas através de teste oscilatório utilizando pequenas pressões e o módulo de armazenamento (G') aumentou durante o aquecimento para todos os tratamentos, mas a firmeza do gel e o valor G' a 85°C foi menor com o aumento da adição de colágeno nos sistemas mistos de proteínas. Durante o resfriamento, os géis apresentaram firmeza do gel e valor G' menores nas amostras com 20% ou mais de colágeno.

Alguns estudos relatam as propriedades e aplicações da gelatina ou do colágeno hidrolisado em produtos alimentícios, inclusive em iogurtes.

A gelatina comercial é um produto protéico solúvel em água quente, obtida por meio de hidrólise parcial do colágeno com ácido ou álcali diluídos, respectivamente designadas gelatinas tipo A e B. Em virtude da variedade de fontes de colágeno e dos diferentes métodos de produção, as gelatinas comerciais apresentam diferenças em suas propriedades físicas e químicas. Elas podem variar em composição e na seqüência de aminoácidos das cadeias polipeptídicas, quanto ao ponto isoelétrico e massa molecular (ROMAN; SGARBIERI, 2007).

Embora a gelatina não apresente composição adequada para promover crescimento e manter o balanço de nitrogênio no organismo, seu perfil atípico de aminoácidos estimula a síntese de colágeno nas cartilagens e na matriz extracelular de outros tecidos (NICKERSON, 2006).

Fiszman, Lluch e Salvador (1999) estudaram o efeito da adição de gelatina na microestrutura de géis ácidos de leite e no iogurte em suas propriedades reológicas e relataram que a adição de gelatina ao leite durante a preparação do iogurte mudou a microestrutura do produto através da formação de finas camadas ou superfícies que interagem com a matriz de caseína, agrupando as micelas de caseína em várias zonas. A gelatina conecta as micelas de caseína e as cadeias das outras proteínas do leite e, consequentemente, cria uma estrutura de rede contínua, praticamente homogênea. Esta estrutura de coágulo mais interconectada pode levar à uma retenção de água mais eficiente, reduzindo a sinérese.

A gelatina forma géis fisicamente reversíveis e a formação do gel é devida à recuperação da conformação de tripla hélice do colágeno nativo. Para muitas aplicações nas áreas alimentícia, farmacêutica, fotográfica ou cosmética, é necessária a adição de

agentes que ajudem na formação de ligações cruzadas e que conduzam a melhores propriedades mecânicas e térmicas do gel formado pela proteína em uma faixa maior de temperatura e umidade. Este fato levou os pesquisadores a fazerem várias investigações para entender melhor, experimentalmente e teoricamente, os mecanismos da gelificação física da gelatina pura e da gelatina na presença de vários compostos químicos ou físicos que ajudam na formação de ligações cruzadas como os copolímeros, polieletrólitos ou surfactantes aniônicos (CARN et al., 2008).

Carn et al. (2008) estudaram a influência de aglomerados de decavanadato nas propriedades reológicas de gelatina e propuseram um mecanismo que explica a renaturação da conformação de tripla hélice do colágeno e dissolução das estruturas de tripla hélice em soluções de gelatina na presença de vanadatos. No primeiro estágio, no começo do processo de renaturação, em temperatura de 50°C, as cadeias de gelatina estão em uma conformação de espirais aleatórias e as espécies de vanadatos estão homogeneamente dispersas nesta rede. Uma determinada quantidade de aglomerados de decavanadato altamente carregados negativamente forma ligações cruzadas entre as diferentes cadeias de gelatina, formando um gel físico fraco, cujas propriedades elásticas dependem exponencialmente da concentração de vanadatos. Neste ponto, a presença de ligações cruzadas entre a gelatina e o vanadato pode levar a uma redução da agitação térmica das macromoléculas e induzir a uma maior proximidade e alinhamento das cadeias de gelatina, promovendo as interações físicas entre as moléculas de gelatina e formação das estruturas de tripla hélice (em temperaturas entre 40 e 25°C). Em um segundo estágio, quando a temperatura começa a aumentar, a fusão das triplas hélices começa a acontecer em regiões com pouca concentração de vanadato. O vanadato pode estabilizar as estruturas de tripla hélice através da formação de agregados de moléculas com estrutura de tripla hélice via formação de ligações eletrostáticas ou pela formação de microgéis estáveis entre as moléculas de gelatina e vanadato.

3.3. Culturas láticas

As bactérias ácido-láticas (LAB) são descritas como microrganismos Gram positivos, desprovidos de citocromos e que preferem condições anaeróbicas (mas são aerotolerantes), fastidiosas, tolerantes ao ácido e estritamente fermentativas, produzindo ácido lático como produto principal (STILES; HOLZAPFEL, 1997). Os mais importantes

gêneros são: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* e *Bifidobacterium* (VASILJEVIC, SHAH, 2008).

LAB são comumente subdivididas em dois grupos distintos baseados em seu metabolismo do carboidrato. O grupo homofermentativo consiste de *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* e sua característica principal é a transformação da fonte de carbono principalmente em ácido lático. Ao contrário das homofermentativas, as bactérias heterofermentativas produzem quantidades equimolares de lactato, gás carbônico, etanol e acetato, a partir da glicose, e os membros deste grupo incluem *Leuconostoc*, *Weissell*a e alguns lactobacilos (VASILJEVIC, SHAH, 2008).

A cultura lática empregada no processamento do iogurte é composta por *Streptococcus thermophillus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. A temperatura ótima de crescimento do *S. thermophilus* situa-se entre 40-45ºC, com um mínimo a 20ºC e um máximo a 50ºC. Para o *L. bulgaricus*, a temperatura ótima de crescimento situa-se entre 40-43ºC, com um mínimo a 22ºC e um máximo a 52,5ºC. Quando ocorre uma associação entre *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* a temperatura ótima de crescimento fica entre 40 e 45ºC e a coagulação pode demorar mais que quatro horas, dependendo da porcentagem de inóculo adicionada (SILVA, 2007).

As culturas láticas podem ser divididas em mesofílicas ou termofílicas, dependendo de suas características quanto à temperatura de desenvolvimento. Ainda que o termo termofílico seja reservado para microrganismos que apresentam faixa ótima de desenvolvimento entre 55 e 70°C, ele é empregado na indústria de produtos lácteos para descrever culturas que são mais ativas entre 35 e 45°C, de modo a diferenciar as culturas utilizadas em iogurtes, descritas como termofílicas, das culturas utilizadas na fabricação de queijos, que são descritas como mesofílicas e que apresentam desenvolvimento ótimo entre 20 e 35°C. Literalmente falando, bactérias mesofílicas têm uma faixa de crescimento ótimo entre 20 e 45°C e, portanto, todos os microrganismos citados anteriormente são estritamente mesofílicos (STAFF, 1998).

As duas bactérias da cultura lática produzem ácido lático a partir da glicose. A galactose, formada durante a decomposição da lactose, não é convertida, o que leva a um aumento da concentração da galactose, conforme ocorre a redução do conteúdo de lactose. A maior parte da glicose é decomposta por uma via homofermentativa, sendo que o *S. thermophilus* produz o isômero L e o *L. bulgaricus* produz o isômero D do ácido lático. Os isômeros são produzidos em quantidades iguais. Outros compostos são produzidos em

menores quantidades, como o gás carbônico, o ácido acético e o etanol (WALSTRA et al., 1999).

Em culturas puras, alguns açúcares (lactose, glicose, galactose) estimulam o crescimento dos microrganismos, mas em culturas mistas, as taxas de crescimento podem ser reduzidas. Em uma cultura mista, o *S. thermophilus* inicialmente utiliza a lactose e excreta galactose e o organismo permanece ativo em pH acima de 4,6. Depois disso, o *L. bulgaricus* é o único microrganismo ativo e que continua utilizando a lactose e causando o aumento dos níveis de galactose (STAFF, 1998).

Durante a estocagem do iogurte sob resfriamento, a atividade metabólica das bactérias da cultura lática é reduzida. No entanto, o produto final pode sofrer uma pós-acidificação devido à atividade metabólica persistente da bactéria lática. A pós-acidificação é mais intensa nos primeiros sete dias de fabricação do iogurte devido ao consumo de lactose, produção de ácido lático e à alta atividade metabólica da bactéria em valores de pH mais elevados (BEAL et al., 1999). O principal responsável pelo fenômeno de pós-acidificação do iogurte é o *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (DAVE; SHAH, 1997).

As culturas láticas são comercializadas na forma líquida, congeladas ou liofilizadas. As culturas concentradas congeladas e liofilizadas usualmente contêm de 10^9 a 10^{12} células ativas por grama e são utilizadas para inoculação direta nos tanques de fermentação (tipicamente de 1100-9000 litros). Uma cultura concentrada congelada contendo 10^{11} células/g, adicionada na proporção de 1 kg para 10.000 litros de leite, resultará em um produto com uma contagem inicial de 10^7 UFC/g (STAFF, 1998).

De acordo com os Padrões de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2000), o iogurte deve apresentar uma contagem de bactérias láticas totais de no mínimo 10^7 UFC/g de produto.

As culturas mistas de bactérias ácido-láticas são complexas, pois diferentes cepas de uma mesma espécie podem apresentar características distintas, incluindo taxa de crescimento, produção de ácido, produção de compostos aromatizantes, atividade proteolítica, sensibilidade e produção de bacteriocinas e sensibilidade aos fagos. As possíveis interações entre os microrganismos podem ser benéficas (cooperação) ou prejudiciais (inibição) e podem gerar mudanças incontroláveis na composição da biota de bactérias durante a fermentação do leite (BELLENGIER, RICHAR, FOUCAUD, 1997).

As bactérias do iogurte podem formar uma camada de glicocalix, que consiste predominantemente de cadeias de polissacarídeos formados de galactose e outros açúcares.

Eles podem ser parcialmente secretados no meio e são denominados exopolissacarídeos (WALSTRA et al., 1999). As espécies de *Streptococcus thermophilus* produtoras de exopolissacarídeos têm um papel importante como estabilizantes da rede protéica do iogurte. A natureza dos polissacarídeos varia de acordo com a cepa e apresentam como componentes majoritários a glicose e a galactose, mas as proporções entre os açúcares são variáveis. Estudos realizados por microscopia eletrônica têm demonstrado que os microrganismos da cultura lática se encontram nos espaços entre os aglomerados de caseína, na matriz do iogurte, com filamentos de polissacarídeos que unem as bactérias com a rede do coágulo (VARNAM; SUTHERLAND, 1994). Para uma consistência adequada do iogurte, o mais importante é o tipo de polissacarídeo produzido e não a quantidade produzida, que varia de acordo com o microrganismo presente no iogurte (WALSTRA et al., 1999).

3.4. Probióticos

Élie Metchnikoff é considerado o precursor dos probióticos devido aos seus estudos sobre a população caucasiana. Ele propôs que o consumo dos produtos lácteos fermentados por microrganismos produtores de ácido prolongaria a vida por seus consumidores. A partir deste estudo, vários outros pesquisadores se interessaram pelos efeitos dos leites fermentados, os microrganismos utilizados na fermentação, seus produtos e ações destas substâncias no ser humano (HELLER, 2001).

Segundo o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais ou de Saúde (BRASIL, 2002), entende-se por probióticos os microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo. As seguintes espécies são frequentemente utilizadas: *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei, Bifidobacterium bifidum, B. longum, B. infantis* e *B. adolescentis* (PINHEIRO; PENNA, 2002).

As culturas probióticas têm sido exploradas extensivamente pela indústria de produtos lácteos como uma ferramenta para o desenvolvimento de produtos funcionais. Uma estimativa apontou que existem aproximadamente 70 tipos de produtos diferentes que contém probióticos no mundo, dentre eles produtos lácteos, como iogurte e queijo, maionese e produtos cárneos, mas esta lista continua crescendo. Microrganismos probióticos também são aplicáveis comercialmente em leite, leite fermentado, suco de frutas, sorvete e produtos a base de cereais. O consumo de produtos lácteos funcionais no

leste europeu, Estados Unidos e Japão aumentou cerca de 12% no período de 2005 a 2007. Produtos probióticos são muito populares no Japão, aonde mais de 53 tipos diferentes de produtos contendo probióticos estão presentes no mercado (VASILJEVIC, SHAH, 2008).

Como os leites fermentados possuem uma imagem de produto saudável e como os consumidores estão familiarizados com a presença de microrganismos viáveis em produtos fermentados, a comercialização e aceitação de produtos lácteos fermentados probióticos pelos consumidores é facilitada, o que explica a grande quantidade destes produtos no mercado mundial (HELLER, 2001).

Os papéis das bactérias probióticas em fermentações láticas são auxiliar: (i) a conservação do leite através da produção de ácido lático e possivelmente compostos antimicrobianos; (ii) a produção de compostos de sabor e aroma (como por exemplo o acetaldeído em iogurtes e queijos) e outros metabólitos (tal como polissacarídeos extracelulares) que fornecerão um produto com propriedades sensoriais desejáveis pelo consumidor; (iii) a melhora do valor nutricional do alimento, como, por exemplo, através da liberação de aminoácidos livres ou da síntese de vitaminas; e (iv) a provisão de propriedades terapêuticas e profiláticas especiais para prevenção de câncer e controle dos níveis de colesterol sérico. Os potenciais benefícios são resultantes do desenvolvimento e ação das bactérias durante a produção dos alimentos fermentados. Como benefícios terapêuticos também podem ser citados a profilaxia contra alguns tipos de infecções intestinais e a melhora na digestão da lactose (PARVEZ et al., 2006).

Vários critérios têm sido reconhecidos e sugeridos como de grande importância para a seleção dos probióticos, mas um consenso geral existe para alguns parâmetros chave, sugeridos pela FAO/WHO (2002), que são:

- Critérios de segurança: origem, patogenicidade e infectividade, fatores de virulência (toxicidade, atividade metabólica e propriedades intrínsecas, como resistência a antibióticos);
- Critérios tecnológicos: cepas estáveis geneticamente, viabilidade desejada durante o processamento e estocagem, boas propriedades sensoriais, resistência a fagos, produção em larga escala;
- Critérios funcionais: tolerância ao ácido e sucos gástricos, tolerância à bile, adesão a superfícies mucosas e efeitos benéficos à saúde validados e documentados;
- Critérios fisiológicos desejáveis: imunomodulação, atividade antagônica contra microrganismos patogênicos presentes no sistema gastrointestinal (por exemplo:

Helicobacter pylori, *Candida albicans*), metabolismo do colesterol, metobolismo da lactose, propriedades antimutagênicas e anticarcinogênicas.

Além disso, as espécies devem ter capacidade de fermentar e acidificar o leite até um valor de pH entre 4,4 e 4,6 em um tempo de no máximo 14 a 16 horas e apresentar atuação benéfica nas características sensoriais dos produtos (KAPITULA; KLEBUKOWSKA; KORNACKI, 2008).

As propriedades mais importantes para os probióticos incluem a tolerância ao ácido e à bile, aderência à mucosa intestinal humana, colonização temporária do trato gastrointestinal humano, produção de substâncias antimicrobianas e inibição do crescimento de microrganismos patogênicos (SALMINEN; OUWEHAND; ISOLAURI, 1998).

Em 2001, um painel de especialistas da FAO/WHO sugeriu que a especificidade da ação probiótica é mais importante do que a fonte do microrganismo. Esta conclusão foi baseada na incerteza da origem da microflora intestinal humana, desde que bebês nascem com o intestino virtualmente estéril. No entanto, o painel enfatizou uma necessidade para realização de novos e melhores testes *in vitro* para predizer a performance dos probióticos nos humanos (VASILJEVIC; SHAH, 2008).

As bactérias tradicionais do iogurte não são nativas dos seres humanos e não podem colonizar o intestino para promover a saúde humana. As bactérias probióticas crescem vagarosamente no leite e a prática usual é adicionar a cultura lática tradicional do iogurte em conjunto com as bactérias probióticas no processo de fermentação para produção de iogurte probiótico (SHAH; LANKAPUTHRA, 1997).

A viabilidade e a atividade das bactérias são considerações importantes, porque estas bactérias devem sobreviver no alimento durante sua vida de prateleira e durante o trânsito sob condições ácidas no estômago e resistir à degradação pelas enzimas hidrolíticas e sais biliares (VASILJEVIC; SHAH, 2008).

Devido ao seu baixo crescimento no leite, a quantidade de inóculo de probióticos utilizada é geralmente maior (5-10%) do que a quantidade usual de cultura lática tradicional. O pH do produto final é o fator crucial para a sobrevivência dos microrganismos probióticos. Abaixo de pH 4,4 os probióticos não se desenvolvem bem e um decréscimo considerável da população de bactérias probióticas é usualmente observado (VASILJEVIC; SHAH, 2008).

A habilidade da bactéria de fermentar o leite depende da cepa e não somente da espécie. Esta habilidade é também uma conseqüência da capacidade da bactéria de

hidrolisar as substâncias presentes no meio de crescimento e de assimilá-las, assim como possuir um sistema enzimático para o transporte dos ingredientes do alimento até as células bacterianas. Além disso, a atividade proteolítica da cepa tem influência significativa na sua taxa de crescimento e produção de ácido (KAPITULA; KLEBUKOWSKA; KORNACKI, 2008).

Segundo Gueimond et al. (2004) e Kapitula, Klebukowska e Kornacki (2008), a viabilidade e a atividade das culturas probióticas podem ser afetadas pelos seguintes fatores:

- *Durante a produção de preparações probióticas:* presença de ácidos orgânicos durante o cultivo, concentração (alta pressão osmótica, baixa atividade de água, alta concentração de alguns íons), temperatura (congelamento, vácuo e secagem atomizada), estocagem prolongada (exposição ao oxigênio e oscilação de temperatura);
- *Durante a produção de um produto contendo probióticos:* escassez de nutrientes, antagonismo por alguma espécie, aumento na acidez, potencial redox positivo (presença de oxigênio), presença de compostos antimicrobianos (por exemplo, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas) e temperatura de estocagem;
- *Durante o trânsito gastrointestinal:* ácidos e sucos gástricos, sais biliares e antagonismo microbiano.

De acordo com Gomes e Malcata (1999), em função da baixa velocidade de multiplicação das culturas probióticas em relação às bactérias láticas tradicionais, o controle da assepsia e a adição de promotores de crescimento são pré-requisitos para se obter altas contagens iniciais de células viáveis de probióticos. Caso contrátio, esta população ficaria muito abaixo daquela da cultura iniciadora.

Para benefícios terapêuticos, a população de bactéria probiótica no iogurte deve estar entre 10^5 e 10^6 células viáveis por mililitro ou grama de produto (SHAH; LANKAPUTHRA, 1997). A Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos, instituída junto à Câmara Técnica de Alimentos (BRASIL, 1999), responsável por avaliar os produtos com alegações de propriedades funcionais e/ou de saúde aprovados no país, estabeleceu que a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada na faixa de 10^8 a 10^9 UFC na quantidade diária recomendada para consumo deste produto.

3.4.1. *Lactobacillus acidophilus*

Os lactobacilos são encontrados em meios ricos em carboidratos, Gram positivos, não formam esporos, catalase negativa com algumas exceções notáveis, aparecendo como bastonetes ou cocobacilos. Eles são fermentativos e microaerófilos. O gênero *Lactobacillus* pertence ao filo *Firmicutes*, classe *Bacilli*, ordem *Lactobacillates*, família *Lactobacillaceae* e os gêneros relativos mais próximos são *Paralactobacillus* e *Pediococcus* (GARRITY; BELL; LILBURN, 2004). Este é um dos gêneros mais numerosos, com 106 espécies descritas. Algumas espécies comumente isoladas do intestino humano são *Lactobacillus acidophilus, L. salivarius, L. casei, L. plantarum, L. fermentum, L. reuteri* e *L. brevis* (MITSUOKA, 1992). As propriedades funcionais e segurança de algumas cepas particulares de *L. casei, L. rhamnosus, L. acidophilus* e *L. johnsonii* têm sido extensivamente estudadas e bem documentadas.

O *Lactobacillus acidophilus* apresenta como propriedades terapêuticas e profiláticas uma significante redução da diarréia em pacientes recebendo irradiação, redução de câncer no cólon em experimentos com cobaias animais, prevenção de infecção urogenial e redução no nível de colesterol sérico (PARVEZ et al., 2006).

Segundo Itsaranuwat, Al-Haddad e Robinson (2003), o *L. acidophilus* é um habitante normal do final do intestino delgado e, neste lugar, as espécies ocupam o lúmen e aderem às superfícies da parede do intestino, realizando as seguintes ações:

- Secreta ácido lático, que abaixa o pH do intestino e ajuda a inibir o desenvolvimento de patógenos invasivos como a *Salmonella* sp ou cepas de *Escherichia coli*;
- Compete com sucesso pelo espaço e nutrientes contra as mesmas espécies de bactérias patogênicas;
- Metaboliza a lactose residual, ajudando a diminuir o desconforto em consumidores com baixos níveis de lactase natural do intestino.

L. acidophilus é um microrganismo capaz de colonizar o intestino até em condições de baixa tensão superficial causada pela presença dos sais biliares. No entanto, várias cepas deste microrganismo não apresentam bom desenvolvimento em leite e sobrevive muito pouco em produtos fermentados (GARDINI et al., 1999).

Os lactobacilos são microrganismos exigentes e requerem para seu bom desenvolvimento baixo teor de oxigênio, carboidratos passíveis de fermentação, proteínas e seus produtos de quebra, algumas vitaminas do complexo B, ácidos nucléicos, ácidos

graxos livres insaturados e minerais, como magnésio, manganês e ferro. Os leites enriquecidos com proteínas do soro têm maior conteúdo de grupos tiol, o que favorece o crescimento do *L. acidophilus*, e a adição de peptona e tripsina estimula a sua produção de ácido (GOMES; MALCATA, 1999).

Taillandier et al. (1996) relataram que as condições ótimas de desenvolvimento do *L. acidophilus* são: pH 6,0, 30°C, em meio contendo 40g/L de glicose, 20g/L de peptona, 20g/L de extrato de levedura, 5g/L de acetato de sódio e 3g/L de citrato de sódio.

O *L. acidophilus* apresenta tolerância ao ácido variando de 0,3 a 1,9% de acidez titulável e uma faixa de crescimento ótima em pH 5,5 a 6,0 (GOMES; MALCATA, 1999) e temperatura de 37°C, podendo se desenvolver em temperaturas entre 20 e 48°C (PINHEIRO; PENNA, 2002).

O desenvolvimento de *L. acidophilus* é afetado pelo baixo pH do meio, sendo que uma rápida redução da sua população tem sido observada sobre condições ácidas, tanto *in vitro* como *in vivo* e o seu crescimento cessa em pH abaixo de 4 (SHAH et al., 1995).

Estudos (GILLILAND; SPECK, 1977; SCHIOPPA et al., 1981; HULL et al., 1984) mostraram que *L. acidophilus* e *B. bifidum* são instáveis em iogurtes. *L. acidophilus* quando adicionados em iogurte firme depois do seu processamento, apresentam uma perda de viabilidade entre 90 e 99% em 3-5 dias e desaparecem completamente no período de sete dias. Quando o microrganismo é adicionado junto com os microrganismos da cultura tradicional do iogurte durante o seu processamento, a perda de viabilidade ainda ocorre, mas o *L. acidophilus* sobrevive melhor.

3.5. Qualidade do iogurte

A avaliação da qualidade do iogurte pode ser feita através de algumas análises de composição, vida de prateleira e avaliações sensoriais, tais como sabor, aparência, consistência e textura. O iogurte deve apresentar quatro atributos importantes: corpo, textura, sabor e aroma e tempo ou vida de prateleira (PINHEIRO, 2003). Para o controle da qualidade do iogurte é importante a determinação de características relacionadas à sua estrutura física, como susceptibilidade à sinérese, capacidade de retenção de água e parâmetros reológicos ou de textura.

A sinérese é o fenômeno de separação de soro do coágulo do iogurte durante a vida útil do produto e é indesejável, resultando na formação de uma camada de soro na superfície do iogurte, que leva à sua rejeição por parte dos consumidores. A sinérese

espontânea é resultado da contração natural do gel, sem aplicação de qualquer força externa, como por exemplo, a centrifugação, e está relacionada com a instabilidade da rede protéica, a qual perde sua capacidade de ligar a fase aquosa do produto (LUCEY, 2002).

As principais causas da separação do soro em géis ácidos, como o iogurte, são uma rápida acidificação do leite e uma temperatura de incubação alta. Outras possíveis causas para este fenômeno são: tratamento térmico excessivo da mistura, baixo teor de sólidos totais (proteína e/ou gordura) da mistura, movimento ou agitação durante ou logo após a formação do coágulo e baixa produção de ácido (pH 4,8) (LUCEY, SINGH, 1998).

Para se evitar este tipo de defeito pode-se recorrer a algumas práticas como homogeneização da gordura ou aumento do conteúdo de proteínas para cerca de 3,5%, diminuição do conteúdo de minerais, tratamento térmico adequado, abaixamento da temperatura de incubação, resfriamento lento do coágulo, uso de culturas produtoras de substâncias viscosas, uso de estabilizantes e cuidados na manipulação e no transporte (KROGER, 1976).

Quando a etapa de resfriamento do iogurte é realizada muito rapidamente, pode ocasionar sinérese. A temperatura ótima de armazenamento para evitar as perdas de viscosidade e a sinérese é de 10 a 20°C (VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

Independentemente do tipo de fortificação, o teor de proteína do leite é o fator mais importante que influencia as propriedades reológicas e físicas do iogurte. Um aumento no teor de proteínas ocasionará um aumento na quantidade de água ligada e, consequentemente, na firmeza do gel resultante (JAROS; ROHM, 2003).

Os géis protéicos são formados por interações intermoleculares resultando na formação de uma rede tridimensional de fibras de proteínas que promovem a rigidez na estrutura formada (LAN et al., 1995). As propriedades físicas dos leites fermentados são afetadas por vários fatores, incluindo a composição e o tratamento térmico do leite, o manuseio mecânico do coágulo durante as etapas do processamento, o uso de estabilizantes e o tipo de cultura (HASSAN et al., 1996b).

A estrutura física do iogurte é uma rede formada por micelas de caseína agregadas, nas quais parte das proteínas do soro foi depositada devido ao tratamento térmico, e englobam também glóbulos de gordura e soro. Os maiores poros da rede são da ordem de 10μm. A existência de uma rede contínua demonstra que o iogurte é um gel, um material viscoelástico caracterizado por sua pequena tensão inicial de escoamento (100 Pa). Se o gel é fragmentado, como no processamento do iogurte batido, pode ser formado um líquido viscoso de comportamento não-Newtoniano, classificado como pseudoplástico e que

apresenta uma viscosidade aparente. Os iogurtes firme e batido apresentam diferenças notáveis de textura (WALSTRA et al., 1999).

O iogurte apresenta considerável histerese. Após a aplicação de uma alta tensão de cisalhamento, quando o iogurte volta a ser submetido a tensões mais baixas, a viscosidade aparente é permanentemente menor e o comportamento de viscosidade se torna próximo ao Newtoniano, o que pressupõe uma quebra da estrutura quase permanente. A quebra da estrutura não é completamente permanente porque a viscosidade aumenta ligeiramente quando o iogurte é deixado em repouso por um longo período e isso tudo está relacionado ao comportamento de um líquido contendo fragmentos de gel (WALSTRA et al., 1999).

A viscosidade aparente de iogurtes batidos, em certa tensão de cisalhamento, depende da firmeza do gel formado, da intensidade da operação de quebra do coágulo, da sinérese (quanto maior a sinérese, menos viscoso e mais granuloso fica o produto) e das espécies de bactérias utilizadas na cultura lática (espécies produtoras de exopolissacarídeos podem resultar em iogurtes com maior viscosidade) (WALSTRA et al., 1999).

A agitação excessiva e as forças de cisalhamento reduzem a viscosidade do iogurte e devem ser evitadas após a etapa de fermentação. No entanto, elas reduzem os grânulos presentes no iogurte e, por esta razão, o iogurte batido passa por um processo de agitação ou através de uma malha fina (texturizador) para uniformizar o coágulo e reduzir os grânulos, mas o processo deve ter um rigoroso controle ou então a operação causa redução excessiva da viscosidade e favorece a separação de soro livre (VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

A formação de grânulos é um defeito grave no iogurte que parece estar relacionado com as proteínas. Os grânulos contêm 82% de proteína e 4% de fósforo, mas em comparação com o coágulo que os rodeia, contém somente traços de gordura e lactose. Foi comprovado por microscopia eletrônica que os grânulos têm uma estrutura definida e compacta, com superfície lisa e que não se ligam com as caseínas da rede que constitui o coágulo. A formação destes grânulos é associada à presença do *L. bulgaricus* na cultura iniciadora e a um alto conteúdo de proteínas. Há indícios de que mudanças na estrutura micelar são fatores de predisposição para a formação dos grânulos (VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Caracterização dos suplementos protéicos

Foram utilizados 3 tipos de suplementos protéicos nos tratamentos realizados, sendo:

i. Isolado protéico de soro (IPSoro) (Alibra Ingredientes Ltda.);
ii. Isolado protéico de soja (IPSoja) (Doremus Alimentos Ltda.);
iii. Fibra natural de colágeno (FNColágeno) (Novaprom Food Ingredients Ltda).

A caracterização de cada tipo de suplemento protéico foi realizada pelas análises:

- Sólidos totais: secagem em estufa a vácuo por 24 horas a 70ºC, conforme recomendado pela American Public Health Association (CASE, BRADLEY JR.; WILLIAMS, 1985);
- Proteínas: o teor de proteínas foi determinado pelo método Micro Kjeldahl (AOAC, 1995), utilizando o fator 6,38 para o isolado protéico de soro, 6,25 para o isolado protéico de soja e 5,55 para a fibra natural de colágeno;
- Gordura: o teor de gordura foi determinado por extração a quente pelo método de extração de Soxhlet (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985);
- Cinzas: incineração em mufla a 550°C por 8 horas (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

Além disso, foi determinada a curva de solubilidade dos suplementos protéicos em função do pH, seguindo a metodologia descrita por Stefabsson e Hultin (1994). Para isso 2 gramas de suplemento protéico foram dispersos em 30 mL de água destilada. Em seguida, o pH foi ajustado com ácido acético glacial ou solução de hidróxido de sódio, usando pHmetro digital portátil (Modelo pH-1500, Instrutherm Instrumentos de Medição Ltda). A massa total da suspensão foi completada para 100 gramas com água destilada. Em seguida, a suspensão foi agitada em temperatura ambiente durante 30 minutos e centrifugada posteriormente a 8000 rpm por 20 minutos a 4°C. Os teores de nitrogênio das soluções antes da centrifugação (nitrogênio total) e dos sobrenadantes das soluções centrifugadas (nitrogênio solúvel) foram determinados, em duplicata, pelo método de Kjeldahl. A solubilidade foi calculada pela relação entre a proteína solúvel no sobrenadante e a proteína total, expressa em porcentagem.

4.2. Efeito da concentração de suplemento protéico sobre as características do iogurte

Para determinar o efeito da concentração de suplemento protéico sobre as características do iogurte, foram testadas 4 concentrações diferentes para cada tipo de suplemento protéico, definidas de acordo com as indicações de seus fabricantes ou dados da literatura indicando a dosagem mais usada na suplementação de leites fermentados. Assim, foram realizados 12 tratamentos e um tratamento controle (sem adição de proteína), conforme indicado na Tabela 1, todos utilizando a cultura tradicional de iogurte Rich (Chr. Hansen, Brasil), composta por *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophillus*.

Tabela 1: Concentrações dos suplementos protéicos (% massa/ volume).

Proteína	**Concentração (% massa/volume)**			
Isolado protéico de soro	0,5	1,0	1,5	2,0
Isolado protéico de soja	0,5	1,5	2,5	3,5
Fibra natural de colágeno	0,2	0,6	1,0	1,4

Nesta etapa do estudo, foram realizadas as análises do leite, a fabricação dos iogurtes, a caracterização físico-química, o acompanhamento da viabilidade das bactérias ácido-láticas e a análise visual das amostras de iogurte, conforme detalhado nos itens posteriores.

4.3. Efeito do tipo de cultura lática sobre as características do iogurte

A partir dos resultados do efeito da concentração de proteína sobre as características do iogurte, foram definidas as concentrações de 0,5 e 1,0 % de suplemento protéico para a fortificação dos iogurtes.

Para a elaboração dos iogurtes foram utilizadas as variáveis: três fontes de proteína (isolado protéico de soro, isolado protéico de soja e fibra natural de colágeno), duas concentrações de proteína (0,5 e 1,0%) e dois tipos de cultura (tradicional e probiótica). Também foram utilizados dois controles (sem adição de proteína) para cada tipo de cultura, totalizando 14 tratamentos, realizados com repetição, totalizando 28 experimentos.

As culturas láticas testadas foram:

i. ***Tradicional**:* cultura lática Rich composta de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophillus* (Chr.Hansen, Brasil);

ii. ***Probiótica**:* cultura lática Rich (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) e cultura lática La-05 composta de *Lactobacillus acidophilus* (Chr.Hansen, Brasil).

Nesta etapa do estudo, foram realizadas as análises do leite, a fabricação dos iogurtes, a caracterização físico-química, o acompanhamento da viabilidade das bactérias ácido-láticas, a avaliação do comportamento reológico e a análise visual das amostras de iogurte, conforme detalhado nos itens posteriores.

4.4. Fabricação dos iogurtes

Os iogurtes foram fabricados a partir de leite integral em pó reconstituído em água a 40°C com aproximadamente 14% de sólidos totais. Para cada tratamento foi utilizado 2000 mL de leite em pó reconstituído. O leite foi aquecido a 60°C e suplementado com isolado protéico de soro de leite, proteína isolada de soja ou fibra natural de colágeno nas diferentes concentrações conforme o experimento. No tratamento controle não foi adicionada nenhuma fonte de proteína.

A seguir, a mistura foi aquecida a 85°C e mantida por 20 minutos em banho com termostato para ocorrer a destruição de microrganismos indesejáveis e a desnaturação das proteínas do soro. Passado este tempo, a mistura foi resfriada em banho de água e gelo até atingir 42°C, para receber a cultura lática em condições higiênicas, obedecendo as recomendações do fabricante.

O produto foi incubado em estufa a 42°C em banho maria, com temperatura controlada e circulação de água, e fermentado até obter-se um valor de pH próximo a 4,6. Terminada a fermentação, foi feito um resfriamento inicial até 20°C, seguida de quebra do coágulo por agitação manual de forma padronizada, com um disco perfurado de aço inox por 2 minutos, seguido de um resfriamento final a 5°C. O iogurte pronto foi então embalado em copos plásticos com capacidade para 70 mL e armazenado a 5ºC para posterior análise.

O tempo de fermentação dos iogurtes foi calculado a partir da inoculação até atingir o pH de 4,6. O valor de pH dos iogurtes foi medido em pHmetro digital portátil (Modelo pH-1500, Instrutherm Instrumentos de Medição Ltda) e registrado continuamente em

registrador automático de dados (Data Logger Modelo CDR-510, Instrutherm Instrumentos de Medição Ltda), a cada 2 minutos.

A partir dos valores de pH registrados foram traçadas curvas em função do tempo. A relação da variação de pH em função do tempo (dpH/dt) forneceu a velocidade de acidificação nos pontos medidos. No final do período de incubação foram calculados os seguintes parâmetros cinéticos:

- $V_{máx}$ = velocidade máxima de acidificação (10^{-3} upH/min);
- $t_{Vmáx}$ = tempo no qual se atinge a velocidade máxima ($V_{máx}$) (min).

4.5. Análise do leite em pó reconstituído usado na fabricação dos iogurtes

Para a análise do leite foi utilizado o equipamento "Ekomilk" (BULTEH LTDA. 2000) que utiliza o princípio de ultrassom e correlaciona os dados obtidos com a composição do leite. O equipamento fornece os teores de gordura, proteínas e sólidos não gordurosos.

4.6. Caracterização dos iogurtes

Para a caracterização físico-química das amostras de iogurtes foram realizadas as análises:

- Sólidos totais: o teor de sólidos totais foi determinado por secagem em estufa a vácuo por 24 horas a 70ºC, conforme recomendado pela American Public Health Association (CASE, BRADLEY JR.; WILLIAMS, 1985);
- Proteínas: o teor de nitrogênio total foi determinado pelo método Micro Kjeldahl, e foi utilizado o fator de 6,38 para conversão de nitrogênio total em proteína (AOAC, 1995) para todos os iogurtes, pois embora tenha sido feita a suplementação, a maior parte das proteínas é láctea.
- Gordura: o teor de gordura foi determinado pelo método de Gerber, conforme recomendado pela American Public Health Association (CASE, BRADLEY JR.; WILLIAMS, 1985);
- Acidez titulável: o teor de acidez titulável foi determinado por titulação ácido alcalimétrica usando-se solução de NaOH 1/9 N e fenolftaleína como indicador (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

A capacidade de retenção de água (CRA) dos iogurtes foi determinada submetendo-se uma amostra de 10 gramas do iogurte em teste à centrifugação a 15000 × G por 15 minutos a 20°C (HARTE et al., 2003). A CRA é expressa como:

$$CRA(\%) = \left[1 - \frac{Peso\ do\ soro\ após\ centrifugação}{Peso\ do\ iogurte}\right] \times 100$$

A susceptibilidade dos iogurtes à sinérese foi determinada pelo volume de soro desprendido de uma amostra de 100 mL de iogurte, colocada sobre uma peneira de aço inox (Mesh 120), acoplada a um funil e a uma proveta graduada de 50 mL, após 2 horas a 6°C (HASSAN et al., 1996).

Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.7. Viabilidade das bactérias ácido-láticas durante a estocagem

O acompanhamento da viabilidade das bactérias láticas nos iogurtes foi realizado por contagem em placa dos microrganismos, com inoculação por profundidade, após 2, 18 e 36 dias de fabricação, sendo:

- Contagem de *Streptococcus thermophilus*: foi feita em ágar M17, incubado a 37°C por 48h, em aerobiose (IDF, 1997);
- Contagem de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*: foi feita em ágar MRS glicose acidificado, incubado a 37°C por 72h, em anaerobiose (IDF, 1997);
- Contagem de *Lactobacillus acidophilus*: foi feita utilizando-se o HHD ágar, incubado a 37ºC por 72 h, em anaerobiose (IDF, 1995).

4.8. Comportamento reológico

Os parâmetros reológicos foram obtidos a 10ºC, em triplicata, utilizando-se um reômetro de cone e placa, modelo RVDV III, marca Brookfield, Stoughton, USA. O reômetro possui uma camisa termostatizada situada ao redor do arranjo cone e placa, em cujo interior circula água para aquecimento ou resfriamento, permitindo um melhor controle da temperatura. O aumento da tensão de cisalhamento foi obtido pelo aumento da rotação, a partir da variação contínua da velocidade angular do cone. Devido às características muito distintas entre os produtos foram utilizadas 2 condições de teste, para que o torque não ultrapassasse 90% e os resultados fossem mais precisos. Os iogurtes com menor consistência foram submetidos a teste com cone CPE-41 (que utiliza 2,0 mL de

amostra e cuja faixa de viscosidade medida varia entre 0,005 e 122 Pa.s), em que a velocidade aumentava linearmente de 0,1 a 22,5 rpm em 281s, seguida de redução linear até 0,1 rpm nos 281s subseqüentes. Os iogurtes com maior consistência foram submetidos a teste com cone CPE-52 (que utiliza 0,5 mL de amostra e cuja faixa de viscosidade varia entre 0,039 e 983 Pa.s), em que a velocidade aumentava linearmente de 50 a 240,9 rpm em 461s, seguida de redução linear até 50 rpm nos 461s subseqüentes. A taxa deformação foi determinada utilizando-se o programa computacional Brookfield Reocalc for Windows.

4.9. Análise visual

Os iogurtes foram submetidos à avaliação visual pelo pesquisador, sendo que os parâmetros analisados foram: aparência e cor, consistência, formação de grumos e separação de fases.

4.10. Efeito do armazenamento sob refrigeração

Para avaliar o efeito do armazenamento refrigerado sobre as características do iogurte com suplemento protéico foram realizadas análises após 2, 18 e 36 dias de fabricação. Os resultados mostraram que o produto não se mantinha estável por 36 dias, sendo que o período de estocagem para a avaliação do tipo de cultura lática sobre as características do iogurte foi modificado e as análises foram realizadas após 2, 14 e 28 dias de fabricação.

4.11. Planejamento dos experimentos e análise estatística dos resultados

A análise das amostras de leite utilizadas na fabricação dos iogurtes seguiu um delineamento inteiramente casualizado. Foi feita a análise de variância dos resultados e a comparação entre as médias foi feita através do teste de Tukey, considerando-se um nível de significância de 5% de probabilidade.

A análise do efeito da concentração de suplemento protéico sobre as características do iogurte foi feita para cada tipo de suplemento protéico individualmente, a partir de um delineamento fatorial, considerando os fatores: concentração de suplemento protéico e tempo de armazenamento. Foi feita a análise de variância dos resultados experimentais e

foi utilizado o teste de Tukey para avaliar as diferenças de médias, no caso de diferença significativa nos fatores ou interação entre eles.

A análise do efeito do tipo de cultura lática sobre as características do iogurte sobre as características do iogurte foi feita a partir de um delineamento fatorial, considerando os fatores: tipo de cultura lática, tipo de suplemento protéico, concentração de suplemento protéico e tempo de armazenamento. Foi feita a análise de variância dos resultados experimentais e foi utilizado o teste de Tukey para avaliar as diferenças de médias, no caso de diferença significativa nos fatores ou interação entre eles.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Caracterização dos suplementos protéicos

Conforme as fichas técnicas dos fornecedores, o isolado protéico de soro (IPSoro) contém em média 4,5% de umidade, no máximo 1% de lipídeos e 90% de proteínas (em base seca); o isolado protéico de soja (IPSoja) contém umidade menor do que 6%, teor de proteína total igual ou superior a 90% e teor de gordura de 0,5% (em base seca); e a fibra natural de colágeno (FNColágeno) contém umidade máxima de 5,0%, mínimo de 99% de proteína bruta (N × 6,25), teor de gordura menor ou igual a 3,0%, teor de cinzas menor ou igual a 2,5% (em base seca) e pH (em solução a 10%) entre 6,5 e 9,0.

Todos os suplementos protéicos analisados apresentaram teor de sólidos totais superior a 90%, sendo que o IPSoja apresentou o maior teor e a FNColágeno o menor teor (Tabela 2). As diferenças nas composições dos suplementos protéicos estão relacionadas à natureza do composto e aos processamentos de obtenção dos isolados protéicos e da fibra de colágeno.

Tabela 2: Caracterização físico-química das fontes protéicas.

Análise	IPSoro *	IPSoja *	FNColágeno *
Sólidos totais (%)	93,13 ± 0,13	95,89 ± 0,18	91,38 ± 0,21
Proteína (%) **	86,90 ± 0,47	82,78 ± 0,42	92,88 ± 0,43
Gordura (%) **	0,99 ± 0,04	1,47 ± 0,01	0,95 ± 0,00
Cinzas (%) **	2,65 ± 0,09	4,29 ± 0,01	1,34 ± 0,03

* IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno. ** em base seca.

Segundo o Regulamento Técnico para Produtos Protéicos de Origem Vegetal (BRASIL, 2005), as proteínas isoladas de soja devem apresentar como requisito específico no mínimo 88% de proteínas em base seca (N × 6,25). O IPSoja analisado apresentou teor de proteínas abaixo do requisito estabelecido pela legislação. A única fonte protéica que apresentou teor de proteína em base seca superior a 90% foi a FNColágeno. Os teores de proteínas encontrados experimentalmente são menores do que os indicados nas especificações técnicas, possivelmente devido a diferenças no tempo de armazenamento dos suplementos protéicos antes das análises e na metodologia empregada.

A solubilidade de uma proteína é definida como a porcentagem de proteína que se mantém em solução ou dispersão coloidal sob condições específicas e que não sedimenta com forças centrífugas moderadas (ORDÓÑEZ et al., 2005), sendo afetada principalmente pelo valor de pH e temperatura.

O suplemento protéico que apresentou os maiores valores de solubilidade foi o IPSoro, mantendo-se quase constante com relação ao pH. A FNColágeno apresentou os menores valores de solubilidade, também se mantendo quase constante com a variação do pH. Somente o IPSoja apresentou grande variação de solubilidade com o aumento do pH, desde solubilidades baixas até elevadas (Figura 3).

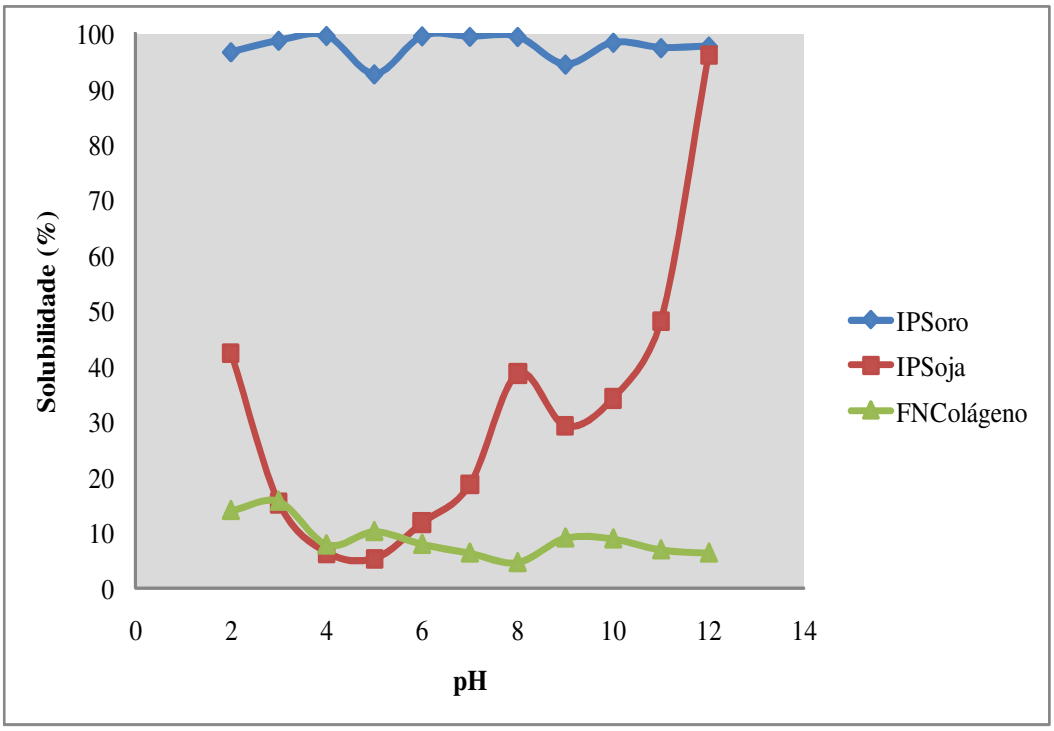


Figura 3: Curva de solubilidade dos suplementos protéicos em função do pH.

A solubilidade do IPSoro foi superior a 92% em toda a faixa de pH analisada (entre pH 2 e 12). A maior solubilidade foi observada em pH 4 (99,60%) e a menor em pH 5 (92,75%) (Figura 3). Os resultados obtidos são semelhantes aos relatados por Roman e Sgarbieri (2007), que traçaram o perfil de solubilidade de um isolado protéico de soro em água e em solução salina na faixa de pH de 2,3 a 7,5. A solução aquosa de isolado protéico de soro apresentou solubilidade variando de 91,7% (em pH 4,5) a 96,2% (em pH 7,5).

Os pontos com menor solubilidade da curva do IPSoro são explicadas pelas transições induzidas pelo pH na β-lactoglobulina, pois esta é a proteína em maior proporção no soro de leite e apresenta mudança em sua estrutura terciária entre pH 4,5 e 6,0 e transição de Tanford, que é uma transição acompanhada por alterações localizadas nas estruturas secundária e terciária da proteína, entre pH 6,5 e 8,5 (SGARBIERI, 2005).

A solubilidade do IPSoja variou consideravelmente com relação ao pH da solução, com valores entre 5,24% em pH 5 e 96,08% em pH 12 (Figura 3). Os resultados mostram uma solubilidade média em pH 2, com declínio até pH 5 e aumento da solubilidade do pH 5 a 12 (ponto em que a solubilidade foi máxima), com um pico no valor de pH 8. Este perfil de solubilidade foi muito diferente do encontrado na literatura. Silva (2007) traçou o perfil de solubilidade de isolados protéicos de soja comerciais com relação ao pH e os produtos analisados apresentaram solubilidade entre, aproximadamente, 5 e 30%, mantendo-se baixa e quase constante entre os pH 2 e 5, com leve aumento até o pH 8, quando o maior teor de solubilidade foi observado.

A maior parte das proteínas da soja são globulinas com peso molecular acima de 100kDa (principalmente glicinina e β-conglicinina), com ponto isoelétrico entre pH 4,2 e 4,6 e solubilidade mínima em valores de pH 3,7 e 5,2 e máxima entre pH 1,5 e 2,5 e acima de 6,3 (SAIDU, 2005; MCKLEM, 2002), explicando a solubilidade elevada observada em pH 2 e o aumento da solubilidade do IPSoja a partir de pH 6,0.

O isolado protéico de soja comercial apresenta baixa solubilidade e fraca propriedade emulsificante devido ao tratamento térmico que recebe durante o processo de secagem, resultando em desnaturação parcial das proteínas (MITIDIERI; WAGNER, 2002).

A solubilidade da FNColágeno variou de 4,69 a 15,66%, com maior solubilidade em pH 3 e menor em pH 8. A curva se apresentou decrescente, com alguns picos em pH 3, 5 e 9 (Figura 3). Wolf (2007) relatou que apenas pouco mais de 10% de fibra natural de colágeno são solúveis em pH 3, que é um resultado semelhante ao observado no presente estudo, em que a solubilidade foi de 15,66%.

A hidratação do colágeno é mínima em soluções de pH entre 6 e 8 e só apresenta aumento significativo nos extremos da escala de valores de pH (STRADULIS; LEMOS, 2005). Isto explica os maiores valores de solubilidade em pH 2 e 3 e o leve aumento na solubilidade a partir do pH 8 observado na curva.

O leite apresenta pH entre 6,4 e 6,7 e durante a sua fermentação para a produção de leites fermentados, há a produção de ácido lático pelas bactérias láticas da cultura, que

abaixa o valor de pH do meio para valores entre 3,8 e 4,6 (STAFF, 1998). O pH final da maioria dos iogurtes varia entre 4,6 e 4,0 (LUCEY; SINGH, 1998).

O IPSoro é o único suplemento protéico testado que apresenta solubilidade alta nesta faixa de pH (entre 99 e 92%), pois as solubilidades do IPSoja e da FNColágeno em pH 4,6 são menores do que 10%, o que afetaria diretamente na quantidade de proteína dissolvida e disponível durante a formação da estrutura do coágulo. Entretanto, as solubilidades dos suplementos protéicos foram determinadas em soluções aquosas e no iogurte estes suplementos estão incluídos na matriz protéica formada durante a fermentação do leite, o que pode implicar em interações e ligações diferentes entre os tipos de proteínas e em sua solubilidade.

5.2. Efeito da concentração de suplemento protéico sobre as características do iogurte

As tabelas com os resultados de todas as análises estatísticas dos resultados estão apresentadas no Anexo 1.

5.2.1. Análise do leite em pó reconstituído usado na fabricação dos iogurtes

A análise estatística dos resultados apontou que houve diferença significativa, ao nível de 1% de probabilidade, entre os teores de gordura, de proteína e de sólidos totais das amostras de leite utilizadas nos diferentes tratamentos. Entretanto, a variação na composição foi muito pequena, podendo ser considerada normal para este tipo de experimento (variações inerentes à etapa de reconstituição do leite).

O teor de gordura das amostras de leite utilizadas na fabricação variou entre 3,90 e 4,25%, o teor de proteína variou entre 3,39 e 3,69% e o teor de sólidos não gordurosos variou entre 9,27 e 10,03%, sendo que os menores valores encontrados foram para a amostra de leite utilizada no tratamento com 0,5% de IPSoro e os maiores valores para o tratamento com 1,0% de FNColágeno (Tabela 3).

O leite em pó utilizado em todos os tratamentos é do mesmo lote, mas não foi possível realizar todas as fermentações simultaneamente, devido à falta de equipamentos e materiais em número suficiente, e, consequentemente, a reconstituição das amostras de leite foi realizada individualmente.

De acordo com Amiot (1991), o leite apresenta em média 3,9% de gordura, 3,2% de proteínas, 13,1% de extrato seco total e 9,2% de extrato seco desengordurado. No entanto, para a fabricação de iogurtes, o leite foi reconstituído para aproximadamente 14% de sólidos totais, o que justifica os valores maiores nos conteúdos de gordura, proteína e sólidos totais do que os conteúdos médios do leite.

Tabela 3: Teores de gordura, proteína e sólidos não gordurosos do leite em pó reconstituído dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Gordura (%)**	Proteína (%)**	Sólidos Não Gordurosos (%)**
IPSoro *	0,5	3,90 ± 0,01 ^{h}	3,39 ± 0,01 ^{h}	9,27± 0,01 ^{h}
	1,0	4,09 ± 0,01 ^{c}	3,54 ± 0,01 ^{de}	9,66 ± 0,01 ^{de}
	1,5	4,06 ± 0,01 ^{de}	3,55 ± 0,01 ^{d}	9,68 ± 0,01 ^{de}
	2,0	4,08 ± 0,01 ^{cd}	3,56 ± 0,01 ^{d}	9,71 ± 0,01 ^{d}
IPSoja *	0,5	3,96 ± 0,01 ^{g}	3,46 ± 0,00 ^{g}	9,43 ± 0,01 ^{g}
	1,5	4,04 ± 0,01 ^{e}	3,54 ± 0,01 ^{de}	9,66 ± 0,01 ^{de}
	2,5	4,19 ± 0,00 ^{b}	3,64 ± 0,00 ^{c}	9,91 ± 0,00 ^{c}
	3,5	3,99 ± 0,01 ^{f}	3,49 ± 0,01 ^{f}	9,51 ± 0,01 ^{f}
FNColágeno *	0,2	4,05 ± 0,01 ^{e}	3,53 ± 0,01 ^{e}	9,63 ± 0,02 ^{e}
	0,6	4,20 ± 0,02 ^{b}	3,65 ± 0,02 ^{bc}	9,96 ± 0,03 ^{bc}
	1,0	4,25 ± 0,01 ^{a}	3,69 ± 0,01 ^{a}	10,03 ± 0,06 ^{a}
	1,4	3,98± 0,00 ^{fg}	3,49 ± 0,00 ^{f}	9,53 ± 0,01 ^{f}
Controle	—	4,22 ± 0,01 ^{b}	3,66 ± 0,01 ^{b}	9,98 ± 0,01 ^{ab}

$^{a,b,...,h}$ Para a mesma coluna as médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno ** Média ± desvio padrão.

As propriedades físicas do iogurte, como consistência e viscosidade do coágulo são de grande importância em sua aceitação e, em geral, quanto maior o conteúdo de extrato seco desengordurado do leite utilizado na elaboração do iogurte, maior será a consistência e viscosidade do produto final. Possivelmente o iogurte de melhor qualidade é obtido a

partir de leite com extrato seco total de 15 a 16%, mas a maior parte dos iogurtes comerciais apresentam de 14 a 15% de extrato seco total (TAMINE; ROBINSON, 1991).

A partir da composição físico-química dos suplementos protéicos e das amostras de leite utilizadas na fabricação dos iogurtes dos diferentes tratamentos, foi possível calcular o conteúdo de proteínas e de sólidos totais na mistura utilizada em cada fermentação (Tabela 4).

Tabela 4: Proteína (%) e sólidos totais (%) das misturas utilizadas na fermentação dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Proteína (%)	Sólidos Totais (%)
IPSoro *	0,5	3,81	13,57
	1,0	4,37	14,54
	1,5	4,78	14,91
	2,0	5,19	15,35
IPSoja *	0,5	3,85	13,80
	1,5	4,71	14,91
	2,5	5,57	16,09
	3,5	6,17	16,29
FNColágeno *	0,2	3,71	13,84
	0,6	4,18	14,62
	1,0	4,57	15,04
	1,4	4,72	14,59
Controle	—	3,66	14,20

* IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno

Em cada grupo de iogurtes com o mesmo suplemento protéico, quanto maior a concentração de suplemento protéico, maior foi o teor de sólidos da mistura, com exceção dos iogurtes fortificados com FNColágeno, pois o iogurte elaborado com 1,4% de FNColágeno apresentou teor de sólidos totais da mistura menor do que o iogurte elaborado com 1,2%. Isto se deve à diferença na composição do leite utilizado na sua fabricação.

5.2.2. Tempo de fermentação e curva de pH

Os tempos de fermentação dos tratamentos variaram entre 274 e 456 minutos, sendo que os tratamentos suplementados com FNColágeno apresentaram o menor tempo médio de fermentação e os tratamentos suplementados com IPSoro apresentaram o maior tempo médio de fermentação. Não foi observada nenhuma relação entre o aumento da concentração do suplemento protéico e o tempo de fermentação do iogurte (Tabela 5).

Tabela 5: Tempos de fermentação dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Tempo de Fermentação (min)
IPSoro *	0,5	414
	1,0	348
	1,5	456
	2,0	342
IPSoja *	0,5	300
	1,5	366
	2,5	326
	3,5	346
FNColágeno *	0,2	274
	0,6	306
	1,0	318
	1,4	312
Controle	—	370

* IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno

A cultura Rich é comercializada liofilizada em envelopes para inoculação direta à temperatura ambiente e devido à falta de recomendações do fornecedor da cultura lática utilizada, a cultura foi armazenada à temperatura ambiente, o que acarretou em perda de viabilidade dos microrganismos ao longo do tempo. Assim, os iogurtes dos tratamentos fortificados com FNColágeno, que foram processados primeiro (logo após a compra da cultura), apresentaram tempos de fermentação menores, variando entre 274 min e 318 min.

Os iogurtes dos tratamentos adicionados com 0,5 e 2,0% de IPSoro, que foram processados por último, foram aqueles que tiveram maiores tempos de fermentação, principalmente devido à perda de viabilidade da cultura.

Em consulta à empresa fabricante das culturas, foi recomendado que este tipo de cultura, mesmo sendo cultura liofilizada, deve ser armazenado em temperaturas abaixo de -18°C, para manter a viabilidade dos microrganismos e a proporção entre os mesmos.

A habilidade da cultura lática de desenvolver sua função no produto depende da atividade da cultura, ou seja, da taxa de sobrevivência das células durante as condições de processamento (meio de crescimento, presença de compostos criogênicos, congelamento e secagem) e armazenamento (condições da embalagem e temperatura) da cultura lática. Além disso, a atividade da cultura lática também é incluenciada pela presença de contaminantes, fagos ou outros microrganismos. Algumas alterações importantes no processamento do iogurte estão diretamente relacionadas à atividade da cultura, como por exemplo a produção de ácido lático e compostos de sabor e aroma (TAMIME, 1981).

Além disso, outros fatores importantes que influenciam o crescimento das bactérias da cultura lática são a concentração de inóculo, a atividade de água, a osmolalidade, as concentrações de oxigênio e de substâncias inibitórias do meio (OLIVEIRA; DAMIN, 2003)

O tempo necessário para a fermentação de iogurte fabricado a partir da cultura tradicional de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* é geralmente curto, por volta de 2,5 horas, devido à protosimbiose exibida por estes microrganismos (HELLER, 2001). No entanto, todos os tratamentos apresentaram tempo de fermentação superior a 4 horas, devido principalmente à perda de viabilidade da cultura utilizada.

As Figuras 6 a 8 apresentam as curvas de pH durante a fermentação dos iogurtes, agrupados por tipo de suplemento protéico utilizado.

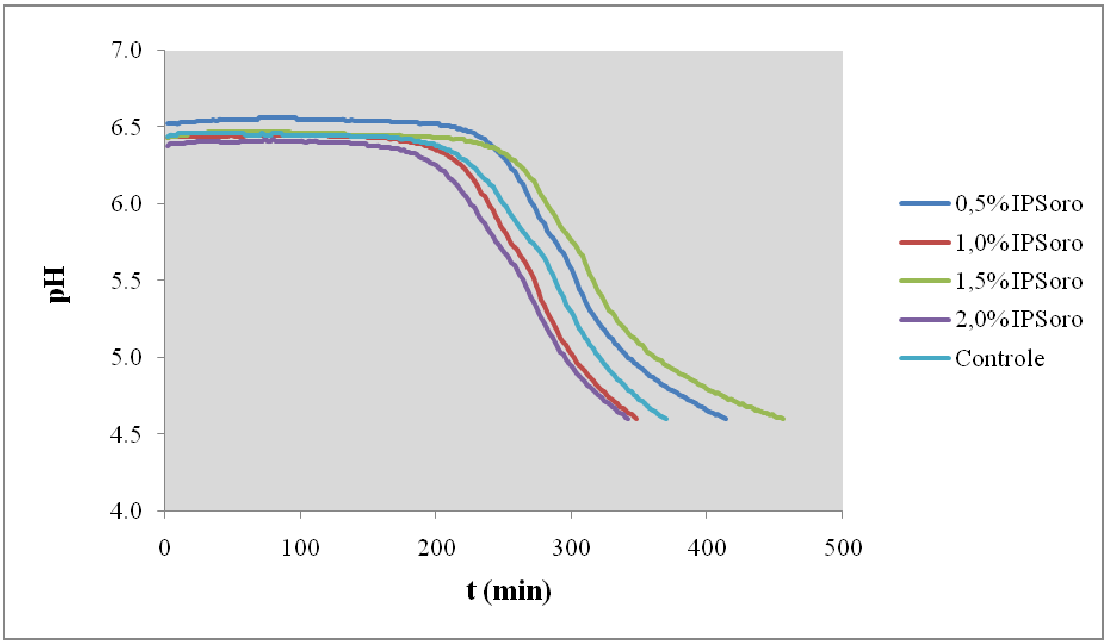


Figura 4: Curva de pH dos iogurtes suplementados com isolado protéico de soro (IPSoro).

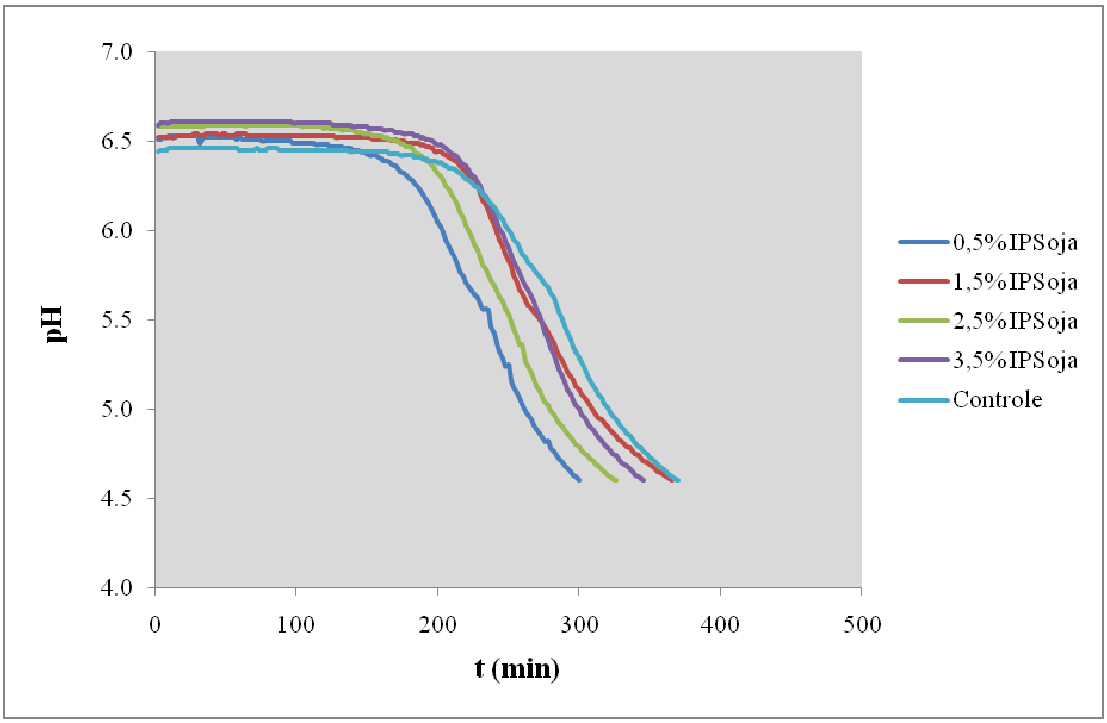


Figura 5: Curva de pH dos iogurtes suplementados com isolado protéico de soja (IPSoja).

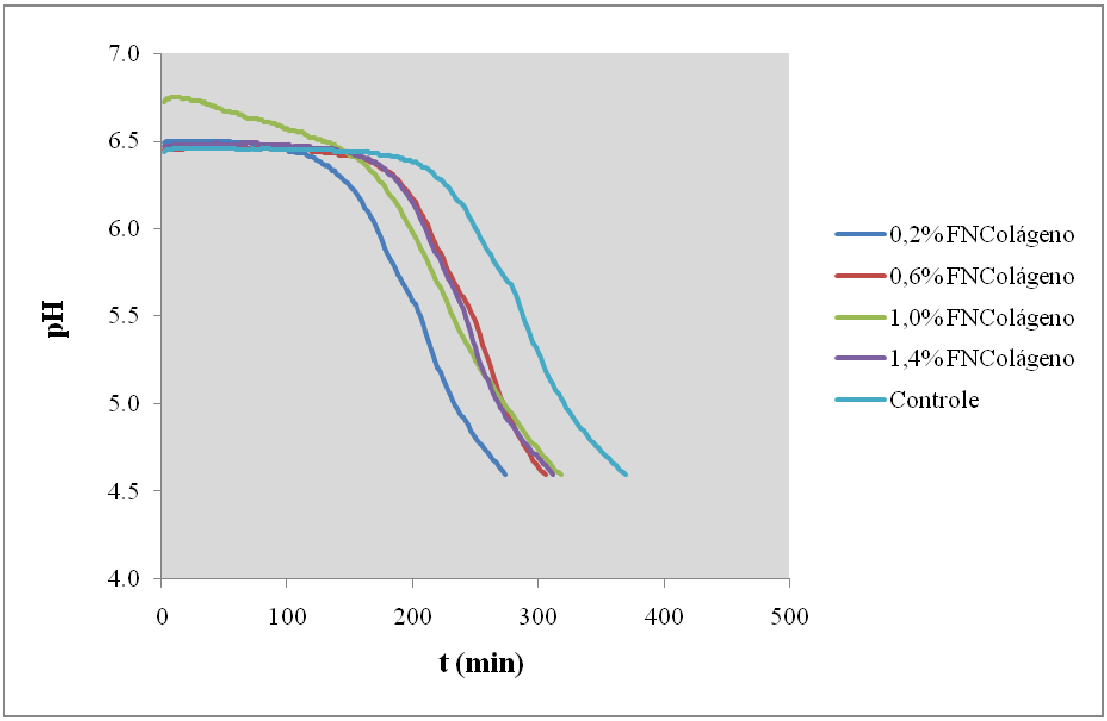


Figura 6: Curva de pH dos iogurtes suplementados com fibra natural de colágeno (FNColageno).

Em geral a curva de pH durante o processo de fermentação de iogurtes apresenta 3 fases: 1) fase de latência, com baixo declínio de pH; 2) fase logarítmica, com rápido declínio de pH; e 3) redução da taxa de acidificação. A forma da curva de fermentação é estritamente dependente de vários parâmetros, como a base láctea, o tipo e a concentração de ingredientes utilizados na suplementação do leite, a cultura lática utilizada, a temperatura de incubação e o tratamento térmico aplicado ao leite (SOUKOULIS et al., 2007). Em todos os tratamentos, a fase de latência da curva de pH da fermentação dos iogurtes foi relativamente longa, o que pode ser explicado pela perda de viabilidade da cultura lática utilizada, o que dificultou o seu desenvolvimento no leite, e pelo aumento da concentração de sólidos totais devido à fortificação dos iogurtes com os diferentes suplementos protéicos.

A velocidade máxima de acidificação foi de 20×10^{-3} upH/min, em todos os tratamentos, sendo que os iogurtes suplementados com FNColágeno apresentaram menor tempo e os iogurtes suplementados com IPSoro apresentaram maior tempo para atingir esta velocidade, quando comparados os grupos de tratamentos por tipo de suplemento protéico. No entanto, não foi observado nenhum padrão de aumento ou redução do tempo para

atingir a velocidade máxima relativo à concentração de suplemento protéico utilizado em um mesmo grupo (Tabela 6).

Oliveira e Damin (2003) estudaram o efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação de leites fermentados. O tempo para atingir a velocidade máxima ($14,5 \times 10^{-3}$ upH/min) foi de 312 minutos para o leite fermentado com 12% de sólidos totais e 264 minutos para o leite fermentado com 15% de sólidos, sem adição de sacarose. Além disso, em todos os leites fermentados, os tempos para atingir a velocidade máxima de acidificação foram maiores para os leites fermentados padronizados para 12% de sólidos totais do que os leites fermentados padronizados para 15% de sólidos totais.

Dave e Shah (1998) estudaram o efeito da suplementação com diversos ingredientes (soro de leite, concentrado protéico de soro, hidrolisado de caseína, cisteína e triptona) sobre a viabilidade das bactérias probióticas no iogurte e relataram que os iogurtes fortificados com concentrado protéico de soro favoreceram o desenvolvimento das bactérias da cultura lática (composta de *S. thermophilus*, *L. acidophilus* e bifidobactéria).

Tabela 6: Parâmetros cinéticos da curva de acidificação dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	$V_{máx} \times 10^{-3}$ (upH/min)	Tempo para atingir $V_{máx}$ (min)
IPSoro *	0,5	20	264
	1,0	20	242
	1,5	20	308
	2,0	20	264
IPSoja *	0,5	20	194
	1,5	20	230
	2,5	20	214
	3,5	20	230
FNColágeno *	0,2	20	176
	0,6	20	212
	1,0	20	228
	1,4	20	212
Controle	—	20	282

* IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno

Nos tratamentos realizados, não foi possível comprovar a influência do aumento da concentração de sólidos (ocasionado pelo aumento da concentração de suplemento protéico) ou do enriquecimento do meio pelos diferentes suplementos protéicos na cinética de acidificação dos iogurtes.

5.2.3. Caracterização físico-química dos iogurtes

Os teores de sólidos totais variaram entre 13,67% (iogurte com 0,2% de FNColágeno) e 17,10% (iogurte com 3,5% de IPSoja) (Tabela 7).

Tabela 7: Sólidos totais, proteínas e gordura (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Sólidos Totais (%) **	Proteínas (%) **	Gordura (%) **
IPSoro *	0,5	14,31 ± 0,16 [ef]	4,09 ± 0,16 [f]	4,1 ± 0,0 [a]
	1,0	14,87 ± 0,18 [de]	4,42 ± 0,02 [e]	4,0 ± 0,0 [a]
	1,5	15,08 ± 0,32 [cd]	4,91 ± 0,04 [d]	4,0 ± 0,1 [a]
	2,0	15,83 ± 0,01 [b]	5,15 ± 0,11 [c]	4,1 ± 0,0 [a]
IPSoja *	0,5	14,39 ± 0,08 [ef]	3,74 ± 0,16 [g]	3,9 ± 0,1 [a]
	1,5	15,69 ± 0,20 [bc]	4,95 ± 0,03 [cd]	4,0 ± 0,1 [a]
	2,5	16,23 ± 0,18 [b]	5,53 ± 0,09 [b]	4,1 ± 0,1 [a]
	3,5	17,13 ± 0,09 [a]	6,47 ± 0,04 [a]	4,1 ± 0,1 [a]
FNColágeno *	0,2	13,67 ± 0,37 [g]	3,56 ± 0,02 [g]	4,1 ± 0,0 [a]
	0,6	14,72 ± 0,06 [de]	4,12 ± 0,03 [f]	4,1 ± 0,0 [a]
	1,0	14,94 ± 0,27 [de]	4,58 ± 0,05 [e]	3,9 ± 0,1 [a]
	1,4	15,11 ± 0,16 [cd]	4,87 ± 0,04 [d]	4,1 ± 0,1 [a]
Controle	—	13,93 ± 0,34 [fg]	3,74 ± 0,07 [g]	4,0 ± 0,1 [a]

* IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno. ** Média ± desvio padrão.

Conforme esperado, com o aumento da concentração de suplemento protéico houve aumento do conteúdo de sólidos totais para os iogurtes fortificados com os diferentes tipos de suplementos protéicos, sendo que todos os iogurtes apresentaram teor de sólidos totais

maior do que o do iogurte controle, sem nenhuma adição de suplemento protéico, com exceção do iogurte fortificado com 0,2% de FNColágeno, que não apresentou diferença significativa com o iogurte controle.

O teor de sólidos totais do leite para a produção de iogurtes pode ser igual ou inferior a 9% em iogurtes de baixo teor de gordura e no máximo 30% em outros tipos de iogurte, no entanto a maioria dos iogurtes comerciais apresentam cerca de 15% de sólidos totais (TAMINE; ROBINSON, 1999). Teores de sólidos totais acima de 25% afetam a disponibilidade de água livre e retardam a atividade da cultura (TAMINE; DEETH, 1980).

A padronização do conteúdo de sólidos totais do leite para fabricação de iogurtes para 15% resulta em melhora da consistência final do iogurte, redução da tendência à sinérese e leve redução da produção de ácido durante a fermentação, o que aumenta a aceitação do produto pela maioria dos consumidores (VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

Os teores de proteína das amostras variaram entre 3,56% (iogurte com 0,2% de FNColágeno) e 6,47% (iogurte com 3,5% de IPSoja) (Tabela 6). Quanto maior a concentração de suplemento protéico adicionado, maior foi o teor de proteína dos iogurtes.

O Padrão de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2000) estabelece como requisito físico-químico que os leites fermentados apresentem no mínimo 2,9 g/100g de proteínas lácteas, requisito atendido em todos os produtos analisados.

O conteúdo de proteínas do leite é um parâmetro de grande influência nas características físicas e na textura dos produtos lácteos fermentados, pois ocorrem modificações na estrutura do gel formado durante a fermentação quando a composição do leite utilizado na produção do leite fermentado é modificada. Além disso, variações na estrutura e na composição da matriz do alimento devido à natureza das proteínas podem ser responsáveis pela modificação na retenção do sabor e aroma do produto (SAINT-EVE et al. 2006), influenciando diretamente na aceitação do iogurte.

Os teores de gordura das amostras de iogurte variaram entre 3,9% e 4,1% (Tabela 6), sem diferença significativa entre os iogurtes. De acordo com o Padrão de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2000), os leites fermentados integrais devem apresentar conteúdo de matéria gorda láctea entre 3,0 e 5,9g/ 100g de produto. Todos os produtos testados atendem ao estabelecido pela legislação e estão incluídos na faixa normal para iogurtes integrais.

O teor de gordura do leite afeta favoravelmente a qualidade do iogurte, pois a gordura estabiliza a contração do gel protéico, previne a separação do soro no produto final e afeta a percepção sensorial do produto, que apresenta textura mais macia e cremosa

(THOMOPOULOS; TZIZ; MILKAS, 1993). No entanto, o teor de gordura no iogurte elevado pode causar enfraquecimento da estrutura do coágulo devido às interrupções que os glóbulos de gordura formam na estrutura do mesmo (WALSTRA et al., 1999).

A acidez titulável variou entre 0,93 e 1,22% de ácido lático para as amostras de iogurte fortificadas com IPSoro, entre 0,90 e 1,42% de ácido lático para as amostras com IPSoja, e entre 0,84 e 1,31% de ácido lático para as amostras com FNColágeno (Tabela 8).

Tabela 8: Acidez titulável (% de ácido lático) dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Acidez (% de ácido lático) ** 2 dias	18 dias	36 dias
IPSoro *	0,5	0,96 ± 0,00 ^{bB}	1,15 ± 0,00 ^{bA}	1,15 ± 0,00 ^{aA}
	1,0	0,97 ± 0,00 ^{bC}	1,18 ± 0,00 ^{abA}	1,07 ± 0,01 ^{bB}
	1,5	0,93 ± 0,01 ^{bB}	1,19 ± 0,00 ^{abA}	1,15 ± 0,01 ^{aA}
	2,0	1,08 ± 0,00 ^{aB}	1,22 ± 0,00 ^{aA}	1,12 ± 0,01 ^{abB}
IPSoja *	0,5	0,90 ± 0,01 ^{dC}	0,97 ± 0,00 ^{cB}	1,09 ± 0,01 ^{cA}
	1,5	1,00 ± 0,01 ^{cB}	1,09 ± 0,01 ^{bA}	1,09 ± 0,01 ^{cA}
	2,5	1,08 ± 0,00 ^{bC}	1,14 ± 0,01 ^{bB}	1,36 ± 0,00 ^{bA}
	3,5	1,21 ± 0,00 ^{aB}	1,42 ± 0,00 ^{aA}	1,42 ± 0,00 ^{aA}
FNColágeno *	0,2	0,97 ± 0,02 ^{bC}	1,04 ± 0,00 ^{cB}	1,13 ± 0,02 ^{bA}
	0,6	0,84 ± 0,00 ^{cB}	1,08 ± 0,03 ^{bcA}	1,13 ± 0,01 ^{bA}
	1,0	1,23 ± 0,07 ^{aB}	1,23 ± 0,00 ^{aB}	1,31 ± 0,00 ^{aA}
	1,4	0,97 ± 0,00 ^{bB}	1,12 ± 0,00 ^{bA}	1,11 ± 0,01 ^{bA}
Controle	—	0,89 ± 0,00	1,05 ± 0,01	1,07 ± 0,00

Para os iogurtes adicionados com o mesmo suplemento protéico: ^{a,b,c,d} As médias seguidas pela mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si; ^{A,B,C,D} As médias seguidas pela mesma letra maiúscula na mesma linha não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno. ** Média ± desvio padrão.

Houve diferença significativa entre os teores de acidez titulável dos iogurtes ($p<0,01$) considerando os fatores concentração de suplemento protéico e tempo de armazenamento, para a interação destes fatores e entre os tratamentos e o controle.

Nos iogurtes fortificados com IPSoro e IPSoja, quanto maior a concentração de suplemento protéico adicionado, maior foi o teor de acidez titulável das amostras de iogurte. Para os iogurtes fortificados com a FNColágeno não houve um padrão entre a concentração de suplemento protéico e a acidez titulável (Tabela 9).

Tabela 9: Média de acidez titulável (% ácido lático) para o fator concentração de suplemento protéico dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Média do fator
IPSoro *	0,5	1,09 [b]
	1,0	1,07 [b]
	1,5	1,09 [b]
	2,0	1,14 [a]
IPSoja *	0,5	0,99 [d]
	1,5	1,06 [c]
	2,5	1,20 [b]
	3,5	1,35 [a]
FNColágeno *	0,2	1,04 [bc]
	0,6	1,02 [c]
	1,0	1,26 [a]
	1,4	1,07 [b]

[a, b] Para os iogurtes adicionados com o mesmo suplemento protéico as médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Em geral, espera-se que quanto maior a concentração de proteína adicionada ao iogurte, maior o teor de acidez titulável, devido ao caráter ácido das proteínas adicionadas, mas este comportamento não foi observado nos iogurtes adicionados de fibra natural de colágeno, em que o tratamento com 1,0% de proteína apresentou maior acidez titulável do que o tratamento com 1,4% de proteína adicionada. Isto pode ser causado por diferenças na acidez inicial do leite utilizado na fabricação dos iogurtes e pelas diferenças na composição das misturas utilizadas na fermentação dos iogurtes, visto que o teor de sólidos totais do iogurte com 1,4% de FNColágeno foi menor do que o teor do iogurte com 1,2% de FNColágeno (Tabela 4).

Além disso, espera-se que quanto maior a concentração de suplemento protéico adicionado ao iogurte, maior o teor de acidez titulável, pois os suplementos enriquecem o meio e favorecem o desenvolvimento dos microrganismos. No entanto, a FNColágeno apresenta baixa solubilidade no pH do iogurte, o que deixa esta fonte protéica indisponível para o desenvolvimentos dos microrganismos.

Para os iogurtes adicionados de IPSoro, houve um aumento de acidez durante o período de 1 para 18 dias de armazenamento e depois houve um declínio no período de 18 a 36 dias de armazenamento, enquanto que para os iogurtes adicionados de IPSoja e de FNColágeno, o teor de acidez titulável das amostras de iogurte aumentou ao longo do tempo de armazenamento (Tabela 10), devido à pós-acidificação causada pela atividade metabólica da cultura lática durante o período de estocagem refrigerada.

Tabela 10: Média de acidez titulável (% ácido lático) para o fator tempo de armazenamento dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Dias de armazenamento	Média do fator
IPSoro *	2	0,99 [c]
	18	1,19 [a]
	36	1,12 [b]
IPSoja *	2	1,05 [c]
	18	1,16 [b]
	36	1,24 [a]
FNColágeno *	2	1,00 [c]
	18	1,12 [b]
	36	1,17 [a]

[a, b] Para os iogurtes adicionados com o mesmo suplemento protéico as médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Para os iogurtes fortificados com IPSoro, a diferença da acidez titulável das amostras com 1 dia de armazenamento e com 18 dias de armazenamento é grande, devido a pós-acidificação maior nos primeiros dias de armazenamento. As oscilações observadas nos teores de acidez no final do período de estocagem provavelmente estão relacionadas a diferenças entre as amostras de iogurte, visto que a amostra total do iogurte (processo em

batelada) foi distribuída em copos plásticos de 70 mL, para posterior análise, conforme o planejamento para avaliar as mudanças nos iogurtes durante o tempo de armazenamento.

Durante a estocagem do iogurte sob resfriamento, a atividade metabólica das bactérias da cultura lática é reduzida. No entanto, o produto final pode sofrer uma pós-acidificação devido à atividade metabólica persistente da bactéria lática. A pós-acidificação é mais intensa nos primeiros sete dias de fabricação do iogurte devido ao consumo de lactose, produção de ácido lático e à alta atividade metabólica da bactéria em valores de pH mais elevados (BEAL et al., 1999). O principal responsável pelo fenômeno de pós- acidificação do iogurte é o *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (DAVE; SHAH, 1997).

Silva (2007) elaborou iogurtes com diferentes concentrações de culturas láticas tradicionais e probióticas e relatou um aumento de acidez no período de 28 dias de estocagem refrigerada de 20,89%, 24,64% e 25% para os iogurtes com 0,5%, 1,0% e 1,5% de cultura lática, respectivamente.

A redução de pH após a fermentação é influenciada pelo teor de sólidos totais, teor de gordura e concentração de inóculo utilizada na fabricação do leite fermentado e o aumento do teor de sólidos induz a uma maior queda de pH durante a estocagem (GARDINI et al., 1999).

Antunes, Cazetto e Bolini (2005) estudaram a viabilidade de microrganismos probióticos, pós-acidificação e perfil sensorial de iogurtes sem gordura adicionados de concentrado protéico de soro e relataram pós-acidificação em todos os iogurtes formulados, sendo que os iogurtes fabricados com cultura probiótica apresentaram pós-acidificação menos acentuada, devido à menor proporção de *L. bulgaricus*.

Os teores de acidez dos iogurtes variaram entre 0,90 e 1,31% de ácido lático, atendendo o Padrão de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2000), que estabelece que a acidez dos leites fermentados deve estar entre 0,6 e 2,0g de ácido lático/ 100g de produto final.

A capacidade de retenção de água (CRA) variou entre 34,55 e 50,28% para os iogurtes fortificados com IPSoro, entre 28,01 e 42,39% para os iogurtes com IPSoja e entre 32,50 e 46,85% para os iogurtes com FNColágeno (Tabela 10).

Houve diferença significativa ($p<0,01$) na capacidade de retenção de água (CRA) dos iogurtes fortificados com IPSoro, com IPSoja e com FNColágeno para os fatores concentração de suplemento protéico e tempo de armazenamento, para a interação destes fatores e entre os tratamentos e o controle.

Tabela 11: Capacidade de retenção de água (CRA %) dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	CRA (%) ** 2 dias	18 dias	36 dias
IPSoro *	0,5	34,55 ± 0,40 ^{cB}	35,57 ± 0,28 ^{dB}	39,65 ± 0,36 ^{cA}
	1,0	35,26 ± 1,07 ^{cB}	40,79 ± 0,18 ^{cA}	36,69 ± 0,80 ^{dB}
	1,5	40,19 ± 0,54 ^{bC}	45,28 ± 0,28 ^{bA}	43,18 ± 0,42 ^{bB}
	2,0	43,77 ± 0,66 ^{aC}	50,28 ± 0,11 ^{aA}	46,02 ± 1,53 ^{aB}
IPSoja *	0,5	28,01 ± 0,24 ^{cB}	31,59 ± 0,79 ^{cA}	30,32 ± 0,29 ^{dA}
	1,5	34,94 ± 0,40 ^{bA}	31,44 ± 0,10 ^{cB}	34,61 ± 0,69 ^{cA}
	2,5	34,42 ± 0,45 ^{bC}	36,22 ± 0,22 ^{bB}	38,81 ± 0,51 ^{bA}
	3,5	37,94 ± 0,06 ^{aB}	42,39 ± 0,41 ^{aA}	41,75 ± 0,92 ^{aA}
FNColágeno *	0,2	34,46 ± 0,38 ^{dA}	33,47 ± 0,54 ^{bA}	32,50 ± 0,43 ^{dA}
	0,6	39,17 ± 0,67 ^{cA}	33,81 ± 1,47 ^{bC}	37,04 ± 0,36 ^{cB}
	1,0	46,85 ± 0,52 ^{aA}	42,98 ± 0,93 ^{aB}	39,83 ± 1,05 ^{bC}
	1,4	41,89 ± 1,78 ^{bB}	41,77 ± 0,99 ^{aB}	45,86 ± 0,60 ^{aA}
Controle	—	31,68 ± 0,09	31,54 ± 0,24	34,71 ± 0,68

Para os iogurtes adicionados com o mesmo suplemento protéico: ^{a,b,c,d} As médias seguidas pela mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si; ^{A,B,C,D} As médias seguidas pela mesma letra maiúscula na mesma linha não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno. ** Média ± desvio padrão.

Para os diferentes suplementos protéicos testados, quanto maior a concentração de suplemento, maior foi a capacidade de retenção de água dos iogurtes (Tabela 12). Além disso, todos os tratamentos, com exceção daqueles adicionados de 0,5% e 1,5% de IPSoja, apresentaram CRA maiores do que o controle, possivelmente devido às interações entre os suplementos protéicos adicionados e as proteínas do leite.

Tabela 12: Média de capacidade de retenção de água (%) para o fator concentração de suplemento protéico dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Média do fator
IPSoro *	0,5	36,59 [c]
	1,0	37,58 [c]
	1,5	42,88 [b]
	2,0	46,69 [a]
IPSoja *	0,5	29,97 [d]
	1,5	33,66 [c]
	2,5	36,48 [b]
	3,5	40,69 [a]
FNColágeno *	0,2	33,48 [c]
	0,6	36,67 [b]
	1,0	43,22 [a]
	1,4	43,17 [a]

[a, b] Para os iogurtes adicionados com o mesmo suplemento protéico as médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Com o aumento da concentração protéica adicionada para formação de géis, ocorre modificação da textura dos mesmos, resultando em aumento da firmeza e intensificando a retenção de água pela matriz formada (ANTUNES; MOTTA; ANTUNES, 2003). A ligação ou a retenção de água é um resultado da interação entre a proteína ou alimento protéico com a água e se relaciona com outras propriedades funcionais, tais como textura, viscosidade, geleificação e emulsificação (ANTUNES, 2003).

A capacidade das proteínas do soro de leite, quando em solução, de formar géis estáveis através do aquecimento é uma importante propriedade funcional, cujas propriedades dependem de fatores como concentração de proteína, pH, temperatura e duração do tratamento térmico. A adição de concentrado protéico de soro potencializaria a capacidade de retenção de água dos iogurtes na medida em que o pH diminui, ao longo do período de armazenamento (ANTUNES; MOTTA; ANTUNES, 2003). O iogurte com maior CRA foi o adicionado de 2,0% de IPSoro, demonstrando a capacidade deste suplemento protéico de interagir com a água e com esta propriedade funcional.

Como a firmeza do gel é determinada pelo número e força das ligações entre as micelas de caseína, fatores que interferem na associação entre as micelas de caseína, como proteína de soja e glóbulos de gordura, resultam na formação de um coágulo menos firme (HASSAN et al., 1996). Assim, o iogurte adicionado de 0,5% de IPSoja pode ter resultado em um coágulo com CRA menor do que o controle devido à interferência das proteínas da soja na associação das micelas de caseína.

Na presença de ácido, o colágeno absorve considerável quantidade de água (NEKLYUDOV, 2003), possivelmente devido às mudanças da carga eletrostática dos aminoácidos da cadeia do colágeno e da subseqüente formação de ligações entre as moléculas de proteínas provenientes do leite e do próprio colágeno, o que explica a melhora na capacidade de retenção de água dos iogurtes adicionados de FNColágeno em relação ao controle.

Para os iogurtes adicionados de IPSoro, não foi observada nenhuma tendência de aumento ou declínio de CRA durante o tempo de armazenamento. Enquanto que para os iogurtes adicionados de IPSoja, a CRA aumentou com o armazenamento e para os iogurtes adicionados de FNColágeno, a CRA diminuiu com o armazenamento (Tabela 13).

Tabela 13: Média de capacidade de retenção de água (%) para o fator tempo de armazenamento dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Dias de armazenamento	Média do fator
IPSoro *	2	38,44 [c]
	18	42,98 [a]
	36	41,39 [b]
IPSoja *	2	33,83 [c]
	18	35,41 [b]
	36	36,37 [a]
FNColágeno *	2	40,59 [a]
	18	38,01 [b]
	36	38,81 [b]

[a, b] Para os iogurtes adicionados com o mesmo suplemento protéico as médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Possivelmente, estas mudanças da capacidade de retenção de água ao longo do tempo de armazenagem do iogurte são devido à modificação da estrutura do gel formado durante este período de estocagem. No caso dos iogurtes adicionados de IPSoja pode ter ocorrido uma maior hidratação das proteínas da soja durante o período de armazenamento, embora estas proteínas apresentem baixa solubilidade entre pH 3,7 e 5,2. No caso dos iogurtes adicionados de FNColágeno pode ter ocorrido um enfraquecimento do coágulo formado devido ao aumento da acidez titulável durante o período de armazenamento, acarretando em uma contração do coágulo e conseqüente liberação de soro. As diferenças de comportamento dos iogurtes fortificados com os diferentes suplementos protéicos são devido às diferenças nas estruturas e composição de aminoácidos das diferentes proteínas, que levam a diferentes ligações e relações entre as proteínas adicionadas e as proteínas do leite durante a fermentação e posterior armazenamento.

A sinérese variou entre 9,00 e 18,33% para os iogurtes adicionados de IPSoro, entre 14,00 e 25,00% para os iogurtes adicionados de IPSoja e entre 1,47 e 23,17% para os iogurtes adicionados com FNColágeno (Tabela 14).

Houve diferença significativa de sinérese para os iogurtes fortificados com IPSoro ($p<0,01$) considerando o fator concentração de suplemento protéico, a interação entre os fatores concentração de suplemento protéico e tempo de armazenamento e entre os tratamentos e o controle. Para os iogurtes fortificados com IPSoja e FNColágeno, houve diferença significativa de sinérese ($p<0,01$) para os fatores concentração de suplemento protéico e tempo de armazenamento, para a interação destes fatores e entre os tratamentos e o controle.

Tabela 14: Sinérese (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Sinérese (%) ** 2 dias	18 dias	36 dias
IPSoro *	0,5	18,33 ± 0,58 aA	17,00 ± 0,00 aB	17,00 ± 0,00 aB
	1,0	13,00 ± 0,00 bB	12,67 ± 0,29 bB	14,00 ± 0,00 bA
	1,5	10,67 ± 0,29 cA	10,83 ± 0,29 cA	10,00 ± 0,00 cA
	2,0	9,33 ± 0,58 dB	10,67 ± 0,58 cA	9,00 ± 0,00 dB
IPSoja *	0,5	22,17 ± 0,76 aB	23,00 ± 0,00 aB	24,30 ± 0,60 aA
	1,5	21,00 ± 1,00 aC	23,67 ± 0,58 aB	25,00 ± 0,00 aA
	2,5	15,83 ± 0,29 bB	16,67 ± 0,58 bB	18,17 ± 0,29 bA
	3,5	14,00 ± 0,00 cB	17,33 ± 0,58 bA	14,00 ± 0,00 cB
FNColágeno *	0,2	22,33 ± 0,58 aAB	22,00 ± 0,00 aB	23,17 ± 0,29 aA
	0,6	17,67 ± 0,58 bA	16,67 ± 0,58 bB	15,00 ± 0,00 bC
	1,0	9,33 ± 0,58 cA	6,17 ± 0,29 cB	6,00 ± 0,00 cB
	1,4	1,53 ± 0,12 dA	2,00 ± 0,02 dA	1,47 ± 0,06 dA
Controle	—	24,33 ± 0,58	24,67 ± 0,58	22,67 ± 0,29

Para os iogurtes adicionados com o mesmo suplemento protéico: a, b, c, d As médias seguidas pela mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si; A, B, C, D As médias seguidas pela mesma letra maiúscula na mesma linha não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno. ** Média ± desvio padrão.

Em todos os casos, quanto maior a concentração de suplemento protéico adicionado, menor foi a sinérese observada nos iogurtes (Tabelas 15). A fortificação e o consequente aumento no teor de proteína do leite utilizado na fabricação do iogurte pode prevenir a separação do soro, influenciando as propriedades reológicas e físicas do iogurte. Um aumento no teor de proteínas ocasiona um aumento na quantidade de água ligada e, consequentemente, na firmeza do gel resultante (JAROS; ROHM, 2003).

Tabela 15: Média de sinérese (%) para o fator concentração de suplemento protéico dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Média do fator
IPSoro *	0,5	17,44 [a]
	1,0	13,22 [b]
	1,5	10,50 [c]
	2,0	9,67 [d]
IPSoja *	0,5	23,17 [a]
	1,5	23,22 [a]
	2,5	16,89 [b]
	3,5	15,11 [c]
FNColágeno *	0,2	22,50 [a]
	0,6	16,44 [b]
	1,0	7,17 [c]
	1,4	1,67 [d]

[a, b] Para os iogurtes adicionados com o mesmo suplemento protéico as médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Todos os tratamentos apresentaram sinérese menor do que o tratamento controle, sendo que o desempenho foi melhor para a FNColágeno, seguido do IPSoro e IPSoja, respectivamente, demonstrando que a suplementação apresenta vantagens, pois melhora a qualidade tecnológica do produto.

O melhor desempenho do colágeno pode ser atribuído ao seu alto conteúdo de aminoácidos de caráter ácido, básico e hidroxilados, o que torna a molécula muito hidrofílica e favorece a formação de ligações entre as moléculas (ARVANITOYANNIS, 1999). Assim, possivelmente durante a formação do coágulo, a FNColágeno pode ter favorecido a formação de ligações entre as moléculas de proteínas do leite e do próprio suplemento protéico, o que levou a uma menor separação do soro da estrutura do gel.

O IPSoja apresentou menor solubilidade em solução aquosa do que o IPSoro e os iogurtes fortificados com IPSoja apresentaram menores valores de CRA do que os iogurtes fortificados com IPSoro, o que pode explicar a maior sinérese nos tratamentos adicionados de IPSoja, possivelmente devido à formação de um gel mais fraco do que nos tratamentos adicionados com os outros tipos de suplementos protéicos.

Os tratamentos com 0,5 e 1,5% de IPSoja não tiveram diferença significativa nos resultados obtidos. Os iogurtes com 0,5% de IPSoro, 2,5% de IPSoja e 0,6% de FNColágeno apresentaram resultados semelhantes.

A sinérese é altamente indesejável em iogurtes e ocorre devido ao rearranjo da rede formada pelo coágulo do iogurte, levando a um aumento no número de junções partícula-partícula, fazendo com que o coágulo se retraia, expelindo um líquido intersticial. A tendência à sinérese depende da temperatura de incubação, da temperatura de envase do produto final e do pH do iogurte (WALSTRA et al., 1999).

Para o fator tempo de armazenamento, a sinérese aumentou ao longo do armazenamento para os iogurtes adicionados de IPSoja, enquanto que para os iogurtes adicionados de FNColágeno, a sinérese diminuiu ao longo dos dias de armazenamento (Tabela 16). Os iogurtes adicionados de IPSoro não apresentaram diferença significativa na sinérese durante a estocagem.

Tabela 16: Média de sinérese (%) para o fator tempo de armazenamento dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Dias de armazenamento	Média do fator
IPSoro *	2	12,83 [a]
	18	12,79 [a]
	36	12,50 [a]
IPSoja *	2	18,25 [b]
	18	20,17 [a]
	36	20,38 [a]
FNColágeno *	2	12,72 [a]
	18	11,71 [b]
	36	11,41 [b]

[a, b] Para os iogurtes adicionados com o mesmo suplemento protéico as médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Achanta, Aryana e Boeneke (2007) estudaram iogurtes firmes fortificados com diferentes tipos de minerais e relataram que a sinérese foi significativamente menor durante a primeira semana de estocagem quando comparada com a terceira e quinta semana de estocagem refrigerada. Os autores citaram que o decréscimo do pH durante a

estocagem pode ter causado um efeito de contração na matriz da micela de caseína, liberando mais soro. Portanto, o aumento na sinérese dos iogurtes fortificados com IPSoja pode ser devido ao aumento da acidez titulável dos iogurtes durante o período de armazenamento refrigerado.

Durante o resfriamento, o coágulo se torna mais firme e se o iogurte foi formulado corretamente, o soro da superfície é reabsorvido após 24 horas de estocagem refrigerada (STAFF, 1998). A redução da sinérese durante o período de estocagem dos iogurtes adicionados de FNColágeno pode ser devido à uma maior retenção do soro na matriz formada. Embora a capacidade de retenção de água dos iogurtes adicionados de FNColágeno tenha diminuído ao longo do período de estocagem, isto não quer dizer que a sinérese também diminuiria, pois a sinérese espontânea é resultado da contração natural do gel, sem aplicação de qualquer força externa, como por exemplo, a centrifugação, e está relacionada com a instabilidade da rede protéica (LUCEY, 2002) e durante a determinação da CRA dos iogurtes é aplicada uma elevada força centrífuga nas amostras.

5.2.4. Viabilidade das bactérias ácido láticas

As populações de *S. thermophilus* variaram entre $2{,}53 \times 10^{8}$ e $3{,}72 \times 10^{12}$ UFC/mL de iogurte. A menor população média foi observada no iogurte adicionado de 0,2% de FNColágeno e a maior população foi observada naquele com 1,0% de IPSoro (Tabela 17).

Para a análise estatística da população de microrganismos, foi feita a transformação logarítmica dos dados. Houve diferença significativa ($p<0{,}01$) entre a população de *S. thermophilus* dos iogurtes dos diferentes tratamentos, considerando os fatores concentração de suplemento protéico e tempo de armazenamento, para a interação destes fatores e entre os tratamentos e o controle.

Tabela 17: População de *S. thermophilus* (UFC/mL) dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	UFC/ mL 2 dias	18 dias	36 dias
IPSoro *	0,5	$1,90 \times 10^{12\ aA}$	$1,55 \times 10^{12\ bA}$	$1,99 \times 10^{10\ bB}$
	1,0	$2,69 \times 10^{12\ aA}$	$3,41 \times 10^{12\ aA}$	$3,06 \times 10^{12\ aA}$
	1,5	$2,81 \times 10^{12\ aA}$	$3,17 \times 10^{12\ aA}$	$1,32 \times 10^{10\ bB}$
	2,0	$1,98 \times 10^{10\ bA}$	$8,90 \times 10^{9\ cB}$	$4,45 \times 10^{8\ cC}$
IPSoja *	0,5	$1,32 \times 10^{10\ bA}$	$1,38 \times 10^{10\ bB}$	$1,30 \times 10^{10\ aB}$
	1,5	$9,08 \times 10^{12\ aA}$	$2,15 \times 10^{10\ aB}$	$1,26 \times 10^{10\ aC}$
	2,5	$1,46 \times 10^{12\ bA}$	$1,58 \times 10^{10\ abB}$	$7,20 \times 10^{9\ bC}$
	3,5	$1,67 \times 10^{12\ bA}$	$1,58 \times 10^{10\ abB}$	$8,35 \times 10^{9\ bC}$
FNColágeno *	0,2	$3,50 \times 10^{9\ dB}$	$5,37 \times 10^{10\ cC}$	$1,53 \times 10^{10\ aA}$
	0,6	$1,27 \times 10^{10\ bB}$	$1,02 \times 10^{10\ bB}$	$1,79 \times 10^{10\ aA}$
	1,0	$5,55 \times 10^{9\ cB}$	$1,34 \times 10^{10\ bA}$	$1,39 \times 10^{10\ aA}$
	1,4	$3,72 \times 10^{12\ aA}$	$2,44 \times 10^{10\ aB}$	$2,53 \times 10^{8\ bC}$
Controle	—	$1,22 \times 10^{10}$	$1,44 \times 10^{12}$	$2,23 \times 10^{12}$

Para os iogurtes adicionados com o mesmo suplemento protéico: ^{a,b,c,d} As médias seguidas pela mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si; ^{A,B,C,D} As médias seguidas pela mesma letra maiúscula na mesma linha não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Não foi observada nenhuma relação entre o aumento da concentração de suplemento protéico e a população de *S. thermophilus* (Tabela 18).

Tabela 18: Média da população de *S. thermophilus* (log UFC/mL) para o fator concentração de suplemento protéico dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Média do fator
IPSoro *	0,5	11,58 [b]
	1,0	12,48 [a]
	1,5	11,69 [b]
	2,0	9,63 [c]
IPSoja *	0,5	10,79 [b]
	1,5	11,13 [a]
	2,5	10,74 [b]
	3,5	10,78 [b]
FNColágeno *	0,2	9,48 [d]
	0,6	10,12 [b]
	1,0	10,00 [c]
	1,4	10,45 [a]

[a, b] Para os iogurtes adicionados com o mesmo suplemento protéico as médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Houve redução da população de *S. thermophilus* durante o armazenamento dos iogurtes em todos os tratamentos, com exceção do controle (Tabela 19). O *S. thermophilus* não apresenta bom desenvolvimento em pH abaixo de 4,6 (STAFF, 1998) e como os iogurtes apresentaram pós-acidificação durante o período de armazenamento, o aumento da acidez dos iogurtes ocasionou a perda de viabilidade do *S. thermophilus*. O resultado obtido para o iogurte controle não é o esperado e não foi encontrado nenhum caso na literatura de aumento da contagem de *S. thermophilus* durante o armazenamento refrigerado, e este mesmo resultado pode ser devido a diferenças da população entre as amostras de um mesmo iogurte (processo em batelada) ou a erros na análise microbiológica.

Tabela 19: Média da população de *S. thermophilus* (log UFC/mL) para o fator tempo de armazenamento dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Dias de armazenamento	Média do fator
IPSoro *	2	11,86 [a]
	18	11,79 [a]
	36	10,39 [b]
IPSoja *	2	12,36 [a]
	18	10,22 [b]
	36	10,00 [c]
FNColágeno *	2	10,49 [a]
	18	9,81 [b]
	36	9,74 [c]

[a, b] Para os iogurtes adicionados com o mesmo suplemento protéico as médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

As populações de *S. thermophilus* nos iogurtes fortificados com 0,2; 0,6 e 1,0% de FNColágeno e o iogurte controle foram maiores aos 36 dias de fabricação. Apesar da diferença estatística dos resultados, as variações foram pequenas quando se considera desenvolvimento microbiano. Embora tenha sido observado um aumento gradual da acidez titulável dos iogurtes com o tempo de estocagem refrigerada, esta acidez não ocasionou em perda de viabilidade do *S. thermophilus*. Isto pode ter acontecido por alguma capacidade tamponante ou por algum fator de crescimento presente neste suplemento protéico que não permitiu que o aumento de acidez influenciasse no desenvolvimento do microrganismo.

As populações de *L. bulgaricus* variaram entre $2,90 \times 10^5$ UFC/mL de iogurte (iogurte com 0,5% de IPSoja) e $2,41 \times 10^{12}$ UFC/mL de iogurte (iogurte com 2,0% de IPSoro) (Tabela 20). Em todos os produtos, a população de *L. bulgaricus* foi maior do que no iogurte controle.

Tabela 20: População de *L. bulgaricus* (UFC/mL) dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	UFC/ mL 2 dias	18 dias	36 dias
IPSoro *	0,5	$9{,}95 \times 10^{7\ bA}$	$3{,}40 \times 10^{7\ cB}$	$2{,}60 \times 10^{5\ dC}$
	1,0	$1{,}56 \times 10^{8\ bA}$	$7{,}50 \times 10^{7\ bB}$	$3{,}85 \times 10^{7\ bB}$
	1,5	$1{,}08 \times 10^{10\ aA}$	$7{,}55 \times 10^{7\ bB}$	$2{,}06 \times 10^{6\ cC}$
	2,0	$1{,}32 \times 10^{10\ aB}$	$2{,}41 \times 10^{12\ aA}$	$1{,}80 \times 10^{8\ aC}$
IPSoja *	0,5	$2{,}90 \times 10^{5\ cC}$	$3{,}30 \times 10^{11\ aA}$	$2{,}05 \times 10^{7\ bB}$
	1,5	$3{,}08 \times 10^{10\ bA}$	$8{,}65 \times 10^{7\ cB}$	$4{,}30 \times 10^{7\ bB}$
	2,5	$8{,}10 \times 10^{11\ aA}$	$1{,}64 \times 10^{10\ bB}$	$2{,}20 \times 10^{8\ aB}$
	3,5	$1{,}67 \times 10^{12\ aA}$	$1{,}95 \times 10^{12\ aA}$	$1{,}49 \times 10^{10\ aB}$
FNColágeno *	0,2	$1{,}40 \times 10^{8\ cB}$	$5{,}44 \times 10^{10\ bA}$	$1{,}33 \times 10^{8\ cC}$
	0,6	$2{,}54 \times 10^{6\ dC}$	$4{,}85 \times 10^{8\ cB}$	$3{,}21 \times 10^{8\ bA}$
	1,0	$5{,}00 \times 10^{9\ bB}$	$1{,}59 \times 10^{12\ aA}$	$1{,}99 \times 10^{12\ aA}$
	1,4	$1{,}27 \times 10^{12\ aA}$	$1{,}72 \times 10^{12\ aA}$	$1{,}67 \times 10^{8\ cB}$
Controle	—	$1{,}09 \times 10^{8}$	$5{,}55 \times 10^{7}$	$1{,}65 \times 10^{5}$

Para os iogurtes adicionados com o mesmo suplemento protéico: [a, b, c, d] As médias seguidas pela mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si; [A, B, C, D] As médias seguidas pela mesma letra maiúscula na mesma linha não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Para a análise estatística da população de microrganismos, foi feita a transformação logarítmica dos dados. Houve diferença significativa ($p<0{,}01$) entre as populações de *L. bulgaricus* dos diferentes tratamentos, considerando os fatores concentração de suplemento protéico e tempo de armazenamento, para a interação destes fatores e entre os tratamentos e o controle.

Para os iogurtes fortificados com IPSoro e IPSoja, quanto maior a concentração de proteína, maior foi a população de *L. bulgaricus*. Os tratamentos com 1,0 e 1,5% de IPSoro e os tratamentos com 0,5 e 1,5% de IPSoja não diferiram entre si. Entretanto, para os iogurtes com FNColágeno não foi observada nenhuma tendência de aumento ou redução da população de *L. bulgaricus* e o aumento da concentração de suplemento protéico (Tabelas 21).

O IPSoro e o IPSoja podem ter favorecido o desenvolvimento do *L. bulgaricus* através do enriquecimento do leite, fornecendo maior quantidade de proteínas e aminoácidos essenciais, visto que este microrganismo é reconhecidamente proteolítico (WALSTRA et al., 1999). Como o FNColágeno é composto fundamentalmente por glicina e prolina, estes aminoácidos parecem não interferir no desenvolvimento do *L. bulgaricus*, o que fez com que o aumento da concentração de FNColágeno não resultasse no aumento da população de *L. bulgaricus.*

Tabela 21: Média da população de *L. bulgaricus* (log UFC/mL) para o fator concentração de suplemento protéico dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Média do fator
IPSoro *	0,5	6,97 [c]
	1,0	7,88 [b]
	1,5	8,07 [b]
	2,0	10,25 [a]
IPSoja *	0,5	8,10 [c]
	1,5	8,68 [c]
	2,5	10,47 [b]
	3,5	11,54 [a]
FNColágeno *	0,2	9,33 [c]
	0,6	7,53 [d]
	1,0	11,40 [a]
	1,4	10,85 [b]

[a, b] Para os iogurtes adicionados com o mesmo suplemento protéico as médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Os iogurtes adicionados de IPSoro e de IPSoja apresentaram redução da população de *L. bulgaricus* ao longo do tempo de armazenagem. Para os iogurtes adicionados de FNColágeno, a população de *L. bulgaricus* foi praticamente constante, com ligeiro aumento aos 18 dias de armazenamento, seguida de redução aos 36 dias de fabricação (Tabela 22). Embora o *L. bulgaricus* seja um microrganismo mais resistente à presença de ácidos do que o *S. thermophilus* e continue se desenvolvendo mesmo durante a estocagem refrigerada (STAFF, 1998), a atividade metabólica do *L. bulgaricus* é maior nos primeiros

dias de estocagem (BEAL et al., 1999). Com a redução do pH, este microrganismo também pode apresentar perda de viabilidade, devido à inibição do seu desenvolvimento conforme a redução do pH, como foi demonstrado pelos resultados obtidos.

Tabela 22: Média da população de *L. bulgaricus* (log UFC/mL) para o fator tempo de armazenamento dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Dias de armazenamento	Média do fator
IPSoro *	2	9,08 [a]
	18	8,91 [b]
	36	6,88 [c]
IPSoja *	2	10,01 [a]
	18	10,48 [a]
	36	8,60 [b]
FNColágeno *	2	9,34 [b]
	18	10,71 [a]
	36	9,29 [b]

[a, b] Para os iogurtes adicionados com o mesmo suplemento protéico as médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

O Padrão de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2000) estabelece como requisito microbiológico que o iogurte apresente uma população de bactérias láticas totais de no mínimo 10^7 UFC/g. Como as contagens de *S. thermophilus* foram superiores a 10^8 UFC/g e as contagens de *L. bulgaricus* superiores a 10^6 UFC/g, podemos concluir que os iogurtes atenderam o requisito estabelecido pela legislação.

Os resultados obtidos experimentalmente são superiores aos relatados por Hussain, Rahman e Atkinson (2009), que observaram população média de bactérias láticas de $4,6 \times 10^8$ UFC/g de produto em amostras de iogurte comerciais.

As contagens médias de *S. thermophilus* ao longo do período de estocagem são superiores às de *L. bulgaricus* para a maioria dos tratamentos (as únicas exceções são os tratamentos adicionados de 2,0% de IPSoro e de 3,5% de IPSoja), o que é adequado sob o ponto de vista tecnológico, pois reduz a pós-acidificação do iogurte.

5.2.5. Análise visual

Os iogurtes fortificados com IPSoro, IPSoja e FNColágeno apresentaram características físicas e aparência distintas. Pela análise visual dos produtos, pode-se observar que:

- Os iogurtes fortificados com concentrações de 1,0 e 1,4% de FNColágeno apresentaram grande formação de grânulos;
- Os iogurtes fortificados com IPSoja apresentaram coloração ligeiramente distinta dos outros tratamentos, sendo um pouco mais amarelada e não apresentaram formação de grânulos;
- Todos os iogurtes fortificados com IPSoro apresentaram uma matriz rígida, com grande formação de grânulos. O coágulo formado na fermentação dos iogurtes com 1,5 e 2,0% de IPSoro se apresentou muito firme, semelhante ao coágulo de queijos;
- Como não foi utilizado conservante, a maioria dos iogurtes com 36 dias de fabricação apresentou desenvolvimento de fungos ou leveduras.

A formação de grânulos é um defeito grave no iogurte que parece estar relacionado com as proteínas. Os grânulos contêm 82% de proteína e 4% de fósforo, mas em comparação com o coágulo que os rodeia, contém somente traços de gordura e lactose. Foi comprovado por microscopia eletrônica que os grânulos têm uma estrutura definida e compacta com uma superfície lisa e que não se ligam com as caseínas da rede que constitui o coágulo. A formação destas partículas é associada à presença do *L. bulgaricus* na cultura iniciadora e também com um alto conteúdo de proteínas e parece que as mudanças na estrutura micelar são um fator de predisposição para a formação dos grânulos (VARNAM; SUTHERLAND, 1994), o que explica a presença de elevada quantidade de grânulos nos iogurtes com alta concentração de IPSoro e FNColágeno.

Tendo em vista que: (i) os iogurtes fabricados com 1,5 e 2,0% de IPSoro apresentaram consistência muito distinta da esperada e com grande formação de grânulos; (ii) os iogurtes fabricados com 1,0 e 1,4% de FNColágeno apresentaram a mesma capacidade de retenção de água e a sinérese apresentada pelo iogurte com 1,0% de FNColágeno foi muito inferior aos outros tratamentos; e (iii) as variações nas propriedades funcionais de capacidade de retenção de água e sinérese dos iogurtes adicionados de IPSoja não foram tão pronunciadas; foi estabelecido para o estudo do tipo de cultura lática sobre as características do iogurte que as concentrações de suplemento protéico seriam de 0,5 e 1,0% para todos os tratamentos.

Além disso, devido à contaminação observada, os iogurtes fabricados não tiveram um prazo de validade de 36 dias (nas condições de processamento) e, portanto, a avaliação dos iogurtes durante o armazenamento foi alterada para 2, 14 e 28 dias de fabricação.

5.3. Efeito do tipo de cultura lática sobre as características do iogurte

5.3.1. Análise do leite em pó reconstituído usado na fabricação dos iogurtes

O teor de gordura das amostras de leite em pó reconstituído utilizadas na fabricação dos iogurtes variou entre 4,01 e 4,68%, o teor de proteína variou entre 3,31 e 3,84% e o teor de sólidos não gordurosos variou entre 4,01 e 4,70% (Tabela 23).

Durante a reconstituição das amostras de leite, a quantidade de pó calculada foi para obter um leite em pó reconstituído com cerca de 14% de sólidos totais. No entanto, o teor de sólidos totais das amostras variou entre 11,04% e 15,20%, com um teor médio das amostras de 13,85% de sólidos totais. As variações observadas na composição físico-química das amostras de leite reconstituído são provenientes de erros durante a reconstituição do leite e ao método de análise utilizado, visto que a determinação da composição através do equipamento Ekomilk é mais imprecisa do que a metodologia convencional.

Tabela 23: Teores de gordura, proteína e sólidos não gordurosos das amostras de leite em pó reconstituído dos testes sobre efeito da cultura lática.

Cultura	Suplemento Protéico	%	Gordura (%) *	Proteína (%) *	Sólidos não gordurosos (%) *
Rich **	IPSoro ***	0,5	4,20 ± 0,02 [b]	3,50 ± 0,03 [c]	9,55 ± 0,08 [c]
		1,0	4,22 ± 0,06 [b]	3,57 ± 0,06 [abc]	9,73 ± 0,16 [abc]
	IPSoja ***	0,5	4,29 ± 0,08 [b]	3,53 ± 0,04 [bc]	9,62 ± 0,11 [bc]
		1,0	4,21 ± 0,00 [b]	3,56 ± 0,09 [abc]	9,70 ± 0,24 [abc]
	FNColágeno ***	0,5	4,52 ± 0,20 [a]	3,70 ± 0,17 [ab]	10,07 ± 0,47 [ab]
		1,0	4,52 ± 0,18 [a]	3,73 ± 0,13 [a]	10,15 ± 0,35 [a]
	Controle	—	4,15 ± 0,01 [b]	3,48 ± 0,03 [c]	9,49 ± 0,08 [c]
Rich + La-5 **	IPSoro	0,5	4,18 ± 0,18 [b]	3,43 ± 0,14 [c]	9,36 ± 0,36 [c]
		1,0	4,25 ± 0,06 [b]	3,49 ± 0,04 [c]	9,52 ± 0,12 [c]
	IPSoja	0,5	4,24 ± 0,20 [b]	3,49 ± 0,15 [c]	9,50 ± 0,40 [c]
		1,0	4,32 ± 0,10 [ab]	3,55 ± 0,06 [abc]	9,67 ± 0,17 [abc]
	FNColágeno	0,5	4,27 ± 0,06 [b]	3,51 ± 0,07 [c]	9,56 ± 0,17 [c]
		1,0	4,29 ± 0,04 [b]	3,54 ± 0,06 [abc]	9,65 ± 0,16 [bc]
	Controle	—	4,23 ± 0,03 [b]	3,48 ± 0,02 [c]	9,49 ± 0,06 [c]

[a,b,c] As médias seguidas pela mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si. * Média ± desvio padrão. ** Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*. *** IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

A partir da composição físico-química dos suplementos protéicos e das amostras de leite utilizadas na fabricação dos iogurtes dos diferentes tratamentos, foi possível calcular o conteúdo de proteínas e de sólidos totais na mistura utilizada em cada fermentação (Tabela 24).

Tabela 24: Proteína (%) e sólidos totais (%) das misturas utilizadas na fermentação dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Cultura	Suplemento Protéico	%	Proteína (%)	Sólidos totais (%)
Rich *	IPSoro **	0,5	3,91	14,14
		1,0	4,40	14,73
	IPSoja **	0,5	3,92	14,32
		1,0	4,34	14,72
	FNColágeno **	0,5	4,14	14,97
		1,0	4,61	15,43
	Controle	—	3,48	13,64
Rich + La-5 *	IPSoro	0,5	3,85	13,94
		1,0	4,32	14,56
	IPSoja	0,5	3,88	14,15
		1,0	4,33	14,80
	FNColágeno	0,5	3,95	14,22
		1,0	4,42	14,71
	Controle	—	3,48	13,72

* Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*. ** IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

5.3.2. Tempo de fermentação e curva de pH

Os tempos de fermentação dos iogurtes variaram entre 242 e 274 min (Tabela 25). A análise de variância dos tempos de fermentação dos tratamentos indicou que não houve diferença significativa dos resultados (ao nível de 5% de probabilidade) para todos os fatores testados (tipo de cultura, tipo de proteína e concentração de proteína), para as interações destes fatores e entre os tratamentos e o controle, ou seja, o tipo de cultura, o tipo e a concentração de suplemento protéico não afetou o tempo de fermentação dos iogurtes.

Tabela 25: Tempos de fermentação dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Suplemento Protéico	%	Tempo médio (min) *	
		Rich **	Rich + La-5 **
IPSoro ***	0,5	250 ± 0,0	273 ± 26,9
	1,0	266 ± 5,7	274 ± 19,8
IPSoja ***	0,5	242 ± 0,0	255 ± 18,4
	1,0	244 ± 5,7	250 ± 22,6
FNColágeno ***	0,5	253 ± 13,7	252 ± 8,5
	1,0	259 ± 12,7	253 ± 9,9
Controle		248 ± 14,1	254 ± 11,3

* Média ± desvio padrão. ** Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*. *** IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Damin et al. (2008) relataram que o tempo de fermentação dos iogurtes elaborados com cultura composta por *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* (324 min) foi menor do que para os iogurtes elaborados com cultura composta por *S. thermophilus* e *L. acidophilus* (558 min).

As Figuras 7 e 8 apresentam as curvas de pH durante a fermentação dos iogurtes, agrupados por tipo de cultura utilizada.

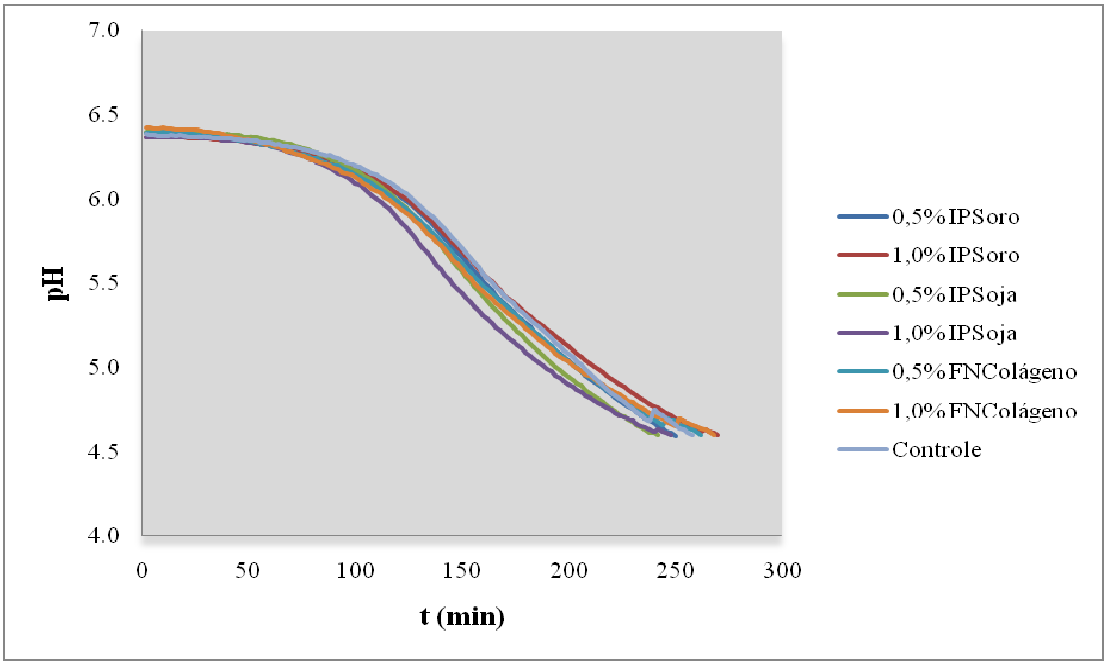


Figura 7: Curva de pH dos iogurtes elaborados com a cultura Rich.

IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

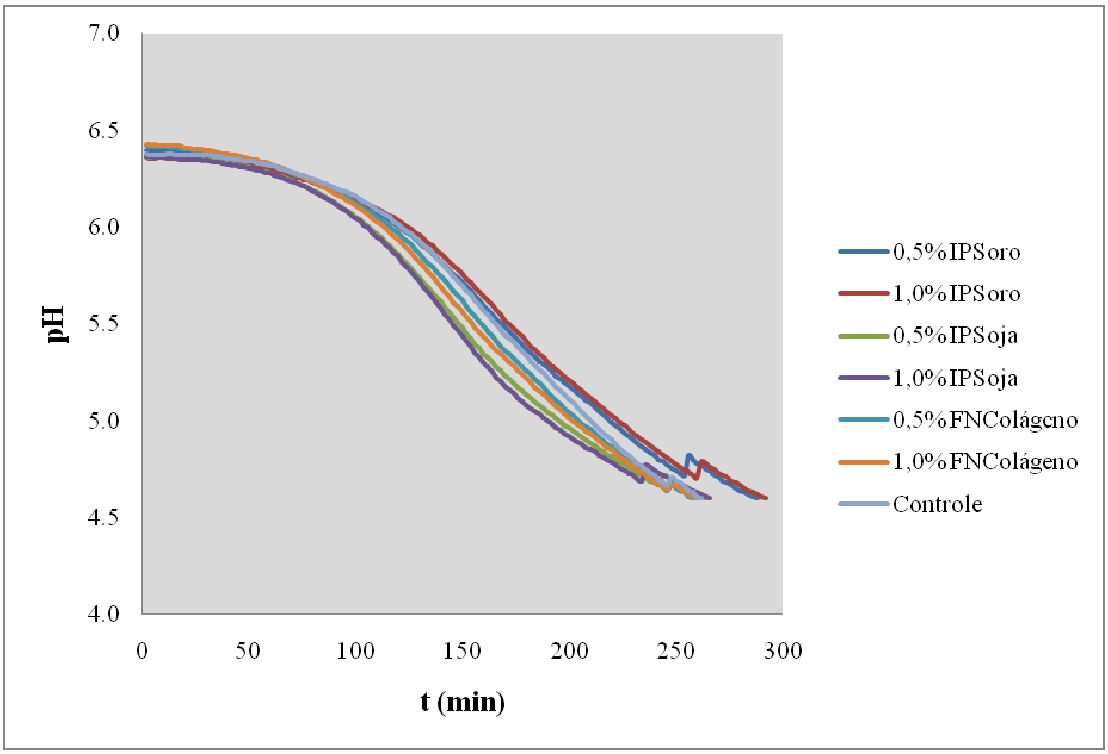


Figura 8: Curva de pH dos iogurtes elaborados com a cultura Rich + La-5.

IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Comparando as curvas de pH dos iogurtes elaborados para estudar o efeito da concentração de suplemento protéico sobre as características do iogurte com os iogurtes do estudo do efeito da cultura lática, os últimos apresentaram menor fase de latência durante o processo de fermentação, devido à diferença de viabilidade das culturas utilizadas.

Em todos os tratamentos a velocidade máxima atingida foi de 15×10^{-3} upH/ min. Não foi observado nenhum padrão de aumento ou redução do tempo para atingir a velocidade máxima em função da concentração de suplemento protéico ou do tipo de cultura utilizada (Tabela 26).

Tabela 26: Parâmetros cinéticos da curva de acidificação dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Suplemento Protéico	%	$V_{máx}$ (upH/min)	Tempo para atingir $V_{máx}$ (min) * Rich **	Rich + La-5 **
IPSoro ***	0,5	15×10^{-3}	130 ± 2,8	142 ± 19,8
	1,0	15×10^{-3}	131 ± 7,1	134 ± 2,8
IPSoja ***	0,5	15×10^{-3}	121 ± 4,2	118 ± 14,1
	1,0	15×10^{-3}	111 ± 9,9	114 ± 8,5
FNColágeno ***	0,5	15×10^{-3}	126 ± 11,3	127 ± 1,4
	1,0	15×10^{-3}	119 ± 9,9	124 ± 2,8
Controle	—	15×10^{-3}	133 ± 12,7	136 ± 8,5

* Média ± desvio padrão. ** Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*. *** IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

A análise de variância dos resultados do tempo para atingir a velocidade máxima de acidificação dos iogurtes indicou que houve diferença significativa ($p<0,01$) para o fator tipo de suplemento protéico e entre os tratamentos e o controle.

Oliveira e Damin (2003) estudaram o efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação de leites fermentados fabricados com cultura tradicional e culturas probióticas (*L. acidophilus* e *L. rhamnosus*) e relataram que em cada grupo de tratamento, com mesma concentração de sólidos totais e teor de sacarose, os iogurtes elaborados com cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* sempre apresentaram menor tempo de fermentação e maior velocidade máxima de acidificação do que os iogurtes elaborados com cultura de *S. thermophilus* e *L. acidophilus*.

Não houve influência do tipo de cultura estudada para os parâmetros cinéticos do iogurte e, possivelmente, isto se deve ao fato de que os iogurtes elaborados com a cultura probiótica continham uma quantidade de inóculo maior do que os iogurtes elaborados com a cultura tradicional.

Os iogurtes fortificados com IPSoro apresentaram os maiores tempos para atingir a velocidade máxima de acidificação e os iogurtes IPSoja apresentaram os menores tempos, enquanto que os iogurtes com FNColágeno não diferiram de ambos (Tabela 27).

Tabela 27: Médias de tempo (min) para atingir a velocidade máxima de acidificação em função do tipo de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Média do fator
IPSoro *	134,25 [a]
IPSoja *	116,00 [b]
FNColágeno *	124,00 [ab]

* IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Dave e Shah (1998) estudaram o efeito da suplementação do leite com diversos ingredientes (soro de leite, concentrado protéico de soro, hidrolisado de caseína, cisteína e triptona) sobre a viabilidade das bactérias probióticas no iogurte e relataram que os iogurtes suplementados com soro, concentrado protéico de soro, hidrolisado de caseína e triptona apresentaram maior taxa de acidificação do leite durante a fermentação, possivelmente devido ao enriquecimento do meio, que levou a um desenvolvimento mais rápido das bactérias da cultura. Entretanto, nos iogurtes estudados, o IPSoja foi uma forma mais eficiente de enriquecimento do meio, pois o tempo de fermentação e o tempo para atingir a velocidade máxima de acidificação foram menores quando comparados aos demais tratamentos.

5.3.3. Caracterização físico-química dos iogurtes

Os teores de sólidos totais das amostras de iogurte variaram entre 14,36% (iogurte controle da cultura Rich) e 16,26% (iogurte fortificado com 1,0% de fibra natural de colágeno da cultura Rich) (Tabela 28). Estes valores são semelhantes aos relatados por Dave e Shah (1998), que estudaram o efeito da suplementação com diferentes ingredientes (leite desnatado em pó, soro em pó e concentrado protéico de soro) na viabilidade de bactérias probióticas em iogurte. Os iogurtes adicionados de 2% (peso/ volume) de 2 tipos de concentrados protéicos de soro comerciais apresentaram teor de sólidos totais médios de 15,70 e 15,75%, enquanto que o iogurte controle adicionado de 2% de leite desnatado em pó apresentou teor de sólidos totais de 15,55%.

Tabela 28: Sólidos totais, proteínas e gordura (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Cultura	Suplemento Protéico	%	Sólidos Totais (%) *	Proteína (%) *	Gordura (%) *
Rich **	IPSoro ***	0,5	15,19 ± 0,07 ^{bcd}	4,10 ± 0,04 ^{fg}	4,3 ± 0,0 ^{a}
		1,0	15,38 ± 0,10 ^{bc}	4,56 ± 0,09 ^{bc}	4,2 ± 0,0 ^{a}
	IPSoja ***	0,5	14,94 ± 0,12 ^{bcd}	3,94 ± 0,05 ^{gh}	4,2 ± 0,0 ^{a}
		1,0	15,51 ± 0,12 ^{abc}	4,34 ± 0,02 ^{cde}	4,2 ± 0,0 ^{a}
	FNColágeno ***	0,5	15,72 ± 0,96 ^{ab}	4,26 ± 0,18 ^{def}	4,3 ± 0,1 ^{a}
		1,0	16,26 ± 0,96 ^{a}	4,89 ± 0,27 ^{a}	4,3 ± 0,1 ^{a}
	Controle	—	14,36 ± 0,21 ^{d}	3,63 ± 0,05 ^{i}	4,2 ± 0,1 ^{a}
Rich + La-5 **	IPSoro	0,5	14,92 ± 0,11 ^{bcd}	4,03 ± 0,06 ^{fg}	4,2 ± 0,0 ^{a}
		1,0	15,26 ± 0,22 ^{bc}	4,48 ± 0,01 ^{bcd}	4,3 ± 0,0 ^{a}
	IPSoja	0,5	15,03 ± 0,21 ^{bcd}	3,86 ± 0,15 ^{ghi}	4,2 ± 0,0 ^{a}
		1,0	15,35 ± 0,15 ^{bc}	4,21 ± 0,04 ^{ef}	4,2 ± 0,0 ^{a}
	FNColágeno	0,5	14,94 ± 0,11 ^{bcd}	4,09 ± 0,11 ^{fg}	4,2 ± 0,0 ^{a}
		1,0	15,43 ± 0,28 ^{abc}	4,61 ± 0,08 ^{b}	4,2 ± 0,0 ^{a}
	Controle	—	14,73 ± 0,08 ^{cd}	3,67 ± 0,05 ^{hi}	4,2 ± 0,0 ^{a}

^{a,b,c} As médias seguidas pela mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si. * Média ± desvio padrão. ** Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*. *** IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Apesar da diferença significativa no teor de sólidos totais dos iogurtes elaborados com as diferentes culturas láticas, esta variação é pequena e decorrente de diferenças no teor de sólidos totais do leite utilizado na fabricação de iogurtes, cujas médias foram de 14,06 ± 0,40% e 13,79 ± 0,15%, respectivamente para os iogurtes elaborados com a cultura Rich e para os iogurtes elaborados com a cultura Rich + La-5. O conteúdo de sólidos totais do iogurte afeta principalmente a estrutura do coágulo do iogurte e a viabilidade das bactérias da cultura lática.

Gastaldi et al. (1997) avaliaram o efeito do conteúdo de sólidos sobre a formação do gel ácido. Os autores utilizaram leite em pó desnatado reconstituído em diferentes concentrações de sólidos totais (10, 15 e 20%) que foi acidificado pela adição de glucona-δ-lactona. A solubilização do fosfato de cálcio coloidal, a dissociação e a solvatação da micela de caseína foram afetadas pelo teor de sólidos do leite. Segundo os autores, o aumento da firmeza e elasticidade deveu-se à maior concentração de caseína na mistura, que favoreceu as interações protéicas.

Gardini et al. (1999) demonstraram que quanto maior o conteúdo de sólidos não gordurosos no iogurte, maior é a perda de viabilidade viabilidade do *L. acidophilus* e do *L. bulgaricus* durante o armazenamento refrigerado, ainda que a população continue maior do que o inóculo inicial.

Os teores de proteína das amostras de iogurte variaram entre 3,63% (iogurte controle da cultura Rich) e 4,89% (iogurte fortificado com 1,0% de FNColágeno da cultura Rich) (Tabela 28). Os iogurtes fabricados com a cultura tradicional (Rich) apresentaram maiores teores de proteína do que os iogurtes fabricados com a cultura probiótica (Rich + La-5). Esta diferença se deve às diferenças observadas na composição do leite utilizado na fabricação dos iogurtes, visto que apresentaram um teor de proteína médio de 3,58 ± 0,10% e 3,50 ± 0,04%, respectivamente, para as culturas tradicional e probiótica.

Além das mudanças causadas na estrutura do coágulo formado, a suplementação do leite com fontes protéicas causa o estímulo do desenvolvimento das bactérias da cultura lática, devido à incorporação de peptídeos e aminoácidos ao meio, que causa redução do tempo de fermentação e melhora na viabilidade das bactérias probióticas (SHAH, 2000).

Os teores de gordura das amostras de iogurte variaram entre 4,2 e 4,3% (Tabela 28). A variação do teor de gordura dos iogurtes é muito pequena e a diferença mínima significativa do teste estatístico foi de 0,1, que corresponde ao erro inerente ao método de análise utilizado. As diferenças observadas no teor de gordura do iogurte são devidas às diferenças da composição do leite utilizado na fabricação dos iogurtes e da composição dos suplementos protéicos, que apresentaram teor de gordura variando de 0,87 a 1,41%.

Vinderola, Mocchuitti e Reinheimer (2002) estudaram a viabilidade da microflora em iogurtes argentinos durante estocagem refrigerada e relataram que iogurtes com alto conteúdo de gordura apresentam atividade inibitória maior para as culturas probióticas do que os outros tipos de iogurte. Entretanto, como o teor de gordura dos iogurtes experimentais foi normal, provavelmente não afetou o desenvolvimento dos microrganismos das culturas utilizadas.

Os teores de acidez das amostras de iogurte variaram entre 1,03% (iogurte fortificado com 0,5% de IPSoro fermentado pela cultura Rich aos 2 dias de armazenamento) e 1,45% (iogurte fortificado com 1,0% de IPSoja fermentado pela cultura Rich aos 28 dias de armazenamento) (Tabela 29).

Houve diferença significativa ($p<0,01$) para o teor de acidez das amostras de iogurte considerando os fatores tipo de cultura, concentração de suplemento protéico, tempo de armazenamento, para as interações entre tipo de cultura e tipo de suplemento protéico, entre tipo de cultura e tempo de armazenamento, entre tipo de suplemento protéico e tempo de armazenamento, e entre os tratamentos e o controle.

Tabela 29: Acidez titulável* (% ácido lático) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Dias de Armazenamento	Rich **	Rich + La-5 **
IPSoro ***	0,5	2	1,03 ± 0,08	1,08 ± 0,02
		14	1,35 ± 0,04	1,32 ± 0,02
		28	1,39 ± 0,03	1,38 ± 0,06
	1,0	2	1,09 ± 0,03	1,08 ± 0,02
		14	1,42 ± 0,03	1,34 ± 0,04
		28	1,42 ± 0,03	1,40 ± 0,07
IPSoja ***	0,5	2	1,06 ± 0,05	1,02 ± 0,04
		14	1,37 ± 0,03	1,26 ± 0,01
		28	1,40 ± 0,04	1,33 ± 0,01
	1,0	2	1,12 ± 0,01	1,03 ± 0,04
		14	1,43 ± 0,03	1,32 ± 0,04
		28	1,45 ± 0,06	1,39 ± 0,03
FNColágeno ***	0,5	2	1,10 ± 0,01	1,06 ± 0,02
		14	1,41 ± 0,03	1,27 ± 0,03
		28	1,37 ± 0,04	1,30 ± 0,03
	1,0	2	1,12 ± 0,01	1,07 ± 0,00
		14	1,42 ± 0,02	1,28 ± 0,03
		28	1,42 ± 0,01	1,32 ± 0,04
Controle	—	2	1,01 ± 0,04	1,06 ± 0,00
		14	1,25 ± 0,04	1,34 ± 0,05
		28	1,29 ± 0,04	1,39 ± 0,08

* Média ± desvio padrão. ** Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*. *** IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Os iogurtes fabricados com a cultura tradicional (Rich) apresentaram maiores teores de acidez do que os iogurtes fabricados com a cultura probiótica (Rich + La-5) (Tabela 30), possivelmente porque o *L. acidophilus* é um microrganismo fraco formador de ácido e muito exigente nutricionalmente, o que faz com que a taxa de produção de ácido lático na fermentação com este microrganismo seja menor (GARDINI et al., 1999).

Tabela 30: Média de teor de acidez titulável (% ácido lático) para o fator tipo de cultura lática.

Cultura	Média do fator
Rich *	1,30 [a]
Rich + La-5 *	1,24 [b]

[a,b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*.

Os iogurtes adicionados com 1,0% de suplemento protéico apresentaram maiores teores de acidez do que os iogurtes adicionados com 0,5% de suplemento protéico (Tabela 31), devido ao caráter ácido das proteínas adicionadas. Esta variação é semelhante à observada por Oliveira e Damin (2003) quando estudaram o efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. Os leites fermentados com maiores teores de sólidos totais apresentaram maior acidez total e houve aumento de cerca de 7% no teor de acidez após 7 dias de armazenamento.

Tabela 31: Média de teor de acidez titulável (% ácido lático) para o fator concentração de suplemento protéico.

Concentração	Média do fator
0,5%	1,25 [b]
1,0%	1,28 [a]

[a,b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

O teor de acidez aumentou ao longo do período de armazenamento (Tabela 32), devido à pós-acidificação durante a estocagem refrigerada. O aumento foi maior nos primeiros 14 dias, com leve acréscimo de acidez após este período. A produção de ácido lático pelo *L. bulgaricus* durante o armazenamento refrigerado pode afetar o desenvolvimento e a viabilidade do *L. acidophilus* (ZACARCHENCO; MASSAGUER-ROIG, 2004).

Tabela 32: Médias de teor de acidez titulável (%) para o fator tempo de armazenamento.

Dias de armazenamento	Média do fator
2	1,07 [c]
14	1,35 [b]
28	1,38 [a]

[a, b, c] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

O aumento da acidez durante a estocagem é usual e foi relatada por Damin et al (2008) quando estudaram o efeito da estocagem refrigerada na viabilidade da cultura, na acidificação e nas propriedades reológicas de leites fermentados preparados com iogurte e bactérias probióticas. Os leites fermentados pela cultura tradicional *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) apresentaram 1,27 ± 0,02% de ácido lático após 1 dia de estocagem, aumentando para 1,33 a 1,42% de ácido lático aos 35 dias de estocagem, que são resultados semelhantes aos resultados encontrados neste estudo.

A capacidade de retenção de água (CRA) das amostras de iogurte variou entre 31,71% (iogurte controle, cultura Rich, 2 dias de armazenamento) e 52,63% (iogurte fortificado com 1,0% de FNColágeno, cultura Rich, 14 dias de armazenamento) (Tabela 33). Estes valores são menores do que os relatados por Paz e Netto (2006). Estes autores fizeram a caracterização estrutural e funcional de géis simples e mistos de isolados protéicos de soja e de soro de leite e determinaram a capacidade de retenção de água de géis com concentração variando de 8 a 14% de proteína dos isolados protéicos puros ou misturados em diferentes proporções, com pH ajustados em diferentes valores. Em pH 7,0, os valores de CRA variaram de 85% para o gel de isolado protéico de soja a 93% para o gel de isolado protéico de soro, entretanto, em pH 3,5, os valores de CRA variaram de 50% a 73%, respectivamente.

Houve diferença significativa ($p<0,05$ ou $p<0,01$) para a capacidade de retenção de água das amostras de iogurte considerando os fatores tipo de cultura, tipo de suplemento protéico, concentração de suplemento protéico, tempo de armazenamento, para as interações entre tipo de cultura e tipo de suplemento protéico, entre tipo de cultura e concentração de suplemento protéico, entre tipo e concentração de suplemento protéico, entre tipo de suplemento protéico e tempo de armazenamento, entre os fatores tipo de cultura, tipo de suplemento protéico e tempo de armazenamento, e entre os tratamentos e o controle.

Tabela 33: Capacidade de retenção de água* (%) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Dias de Armazenamento	Rich **	Rich + La-5 **
IPSoro ***	0,5	2	37,57 ± 1,32	35,41 ± 0,34
		14	35,88 ± 1,51	37,65 ± 1,35
		28	37,04 ± 1,41	37,73 ± 1,97
	1,0	2	41,00 ± 1,76	38,36 ± 0,29
		14	39,35 ± 0,45	40,24 ± 1,36
		28	40,30 ± 0,70	40,77 ± 1,69
IPSoja ***	0,5	2	31,71 ± 1,02	33,89 ± 1,48
		14	36,84 ± 1,02	36,29 ± 1,64
		28	36,16 ± 1,19	35,87 ± 2,17
	1,0	2	33,43 ± 1,28	34,49 ± 2,01
		14	39,33 ± 1,04	37,58 ± 1,38
		28	37,30 ± 0,91	36,86 ± 1,95
FNColágeno ***	0,5	2	37,89 ± 5,13	37,80 ± 0,75
		14	40,79 ± 4,88	36,58 ± 1,19
		28	40,21 ± 3,35	41,76 ± 0,68
	1,0	2	48,37 ± 10,40	44,31 ± 2,20
		14	52,63 ± 11,58	41,42 ± 1,44
		28	50,26 ± 6,33	47,31 ± 0,40
Controle	—	2	34,47 ± 6,28	33,75 ± 1,82
		14	33,59 ± 1,25	35,32 ± 0,31
		28	34,58 ± 1,34	36,46 ± 1,37

* Média ± desvio padrão. ** Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*. *** IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Os iogurtes fabricados com a cultura tradicional (Rich) apresentaram maiores valores de capacidade de retenção de água do que os iogurtes fabricados com a cultura probiótica (Rich + La-5) (Tabela 34), embora a diferença observada seja muito pequena.

Tabela 34: Médias de capacidade de retenção de água (%) para o fator tipo de cultura lática.

Cultura	Média do fator
Rich *	39,78 [a]
Rich + La-5 *	38,58 [b]

[a,b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*.

Os iogurtes adicionados de FNColágeno apresentaram maiores valores de CRA e os iogurtes adicionados de IPSoja apresentaram menores valores de CRA (Tabela 35). A interação das proteínas com a água ocorre através da formação de ligações, como as pontes de hidrogênio, ligações dipolo-dipolo ou interações com os grupos ionizados das cadeias laterais dos aminoácidos. Assim, quanto maior for a proporção de aminoácidos com cadeias laterais hidrofílicas, maior será a capacidade de retenção de água dos sistemas compostos pela proteína (ORDÓÑEZ et al., 2005). Os principais fatores que afetam a capacidade de retenção de água de uma proteína são sua composição de aminoácidos, sua estrutura e conformação, a polaridade e a carga na superfície, a força iônica, o pH e a temperatura (DAMODARAN, 1996). Portanto, as diferenças observadas na CRA dos iogurtes possivelmente são devidas às diferenças na estrutura e composição dos diferentes suplementos protéicos utilizados.

Tabela 35: Médias de capacidade de retenção de água (%) para o fator tipo de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Média do fator
IPSoro *	38,44 [b]
IPSoja *	35,81 [c]
FNColágeno *	43,28 [a]

[a,b,c] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Os iogurtes adicionados com 1,0% de suplemento protéico apresentaram maiores valores de CRA do que os iogurtes adicionados com 0,5% de suplemento protéico (Tabela 36), devido ao maior número de ligações formadas entre as proteínas do leite e suplementos protéicos adicionados.

Tabela 36: Médias de capacidade de retenção de água (%) para o fator concentração de suplemento protéico.

Concentração	Média do fator
0,5%	37,06 [b]
1,0%	41,30 [a]

[a, b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

A capacidade de retenção de água foi menor para os iogurtes analisados aos 2 dias de armazenamento, aumentando significativamente até o 14º dia de estocagem e permanecendo constante após este período (Tabela 37). Com o aumento da acidez do iogurte durante o período de estocagem, principalmente nos primeiros dias quando a pós-acidificação é mais acentuada, pode ocorrer uma contração do coágulo do iogurte (ACHANTA; ARYANA; BOENEKE, 2007), que pode desestabilizar a estrutura formada e resultar em uma redução da capacidade de retenção do iogurte. Entretanto, embora tenha acontecido pós-acidificação em todos os iogurtes, houve um aumento na capacidade de retenção de água, possivelmente devido a uma maior hidratação dos suplementos protéicos e retenção de soro livre na matriz do gel.

Tabela 37: Médias de capacidade de retenção de água (%) para o fator tempo de armazenamento.

Dias de armazenamento	Média do fator
2	37,85 [b]
14	39,55 [a]
28	40,13 [a]

[a, b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

A sinérese das amostras de iogurte variou entre 2,9% (iogurtes fortificado com 1,0% de FNColágeno da cultura Rich aos 28 dias de armazenamento) e 22,5% (iogurte controle da cultura Rich aos 2 dias de armazenamento e iogurte fortificado com 1,0% de IPSoja da cultura Rich aos 2 dias de armazenamento) (Tabela 38).

Tabela 38: Sinérese* (%) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Dias de Armazenamento	Rich **	Rich + La-5 **
IPSoro ***	0,5	2	16,8 ± 0,2	16,0 ± 0,9
		14	18,4 ± 2,0	16,2 ± 1,0
		28	16,5 ± 1,4	16,4 ± 0,4
	1,0	2	12,3 ± 0,3	12,4 ± 0,8
		14	12,6 ± 0,3	12,8 ± 0,5
		28	12,5 ± 0,5	12,9 ± 0,2
IPSoja ***	0,5	2	16,6 ± 4,3	19,9 ± 1,6
		14	21,8 ± 0,3	21,4 ± 0,2
		28	21,1 ± 0,8	20,2 ± 0,4
	1,0	2	22,5 ± 3,0	19,9 ± 0,2
		14	19,5 ± 0,5	20,0 ± 0,5
		28	19,7 ± 1,0	20,7 ± 0,7
FNColágeno ***	0,5	2	15,3 ± 2,3	18,0 ± 0,5
		14	14,1 ± 2,3	17,6 ± 0,4
		28	13,3 ± 2,3	18,1 ± 0,4
	1,0	2	5,9 ± 2,8	9,0 ± 0,3
		14	4,0 ± 2,0	5,9 ± 0,2
		28	2,9 ± 1,1	5,5 ± 0,3
Controle	—	2	23,6 ± 1,9	21,8 ± 0,2
		14	23,1 ± 1,6	21,8 ± 0,2
		28	18,6 ± 3,9	22,0 ± 0,5

* Média ± desvio padrão. ** Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*. *** IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Houve diferença significativa ($p<0,05$ ou $p<0,01$) para a sinérese das amostras de iogurte considerando os fatores tipo de cultura, tipo de suplemento protéico e concentração de suplemento protéico, para as interações entre tipo de cultura e tipo de suplemento protéico, entre tipo e concentração de suplemento protéico, entre tipo de suplemento protéico e tempo de armazenamento, entre concentração de suplemento protéico e tempo de armazenamento, entre os fatores tipo de cultura, tipo e concentração de suplemento

protéico, entre os fatores tipo de suplemento protéico, concentração de suplemento protéico e tempo de armazenamento, entre todos os fatores, e entre os tratamentos e o controle.

Os iogurtes fabricados com a cultura probiótica (Rich + La-5) apresentaram maior sinérese do que os iogurtes fabricados com a cultura tradicional (Rich) (Tabela 39). Estes resultados são semelhantes aos apresentados por Antunes, Cazetto e Bollini (2004), que estudaram o efeito da adição de concentrado protéico de soro a iogurtes desnatados probióticos sobre a sinérese dos iogurtes. Os autores concluíram que para os iogurtes sem fortificação, a sinérese foi maior para os iogurtes fabricados com culturas probióticas (cultura contendo *S. thermophilus, L. bulgaricus* e *L. acidophilus* e cultura contendo *S. thermophilus, L. bulgaricus, L. acidophilus* e *Bifidobacterium longum*) do que os iogurtes fabricados com a cultura tradicional de iogurte. Para os iogurtes fortificados com o concentrado protéico de soro não houve diferença significativa na sinérese dos iogurtes fabricados com os diferentes tipos de cultura lática.

Tabela 39: Médias de sinérese (%) para o fator tipo de cultura.

Cultura	Média do fator
Rich *	14,67 [b]
Rich + La-5 *	15,72 [a]

[a, b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*.

Confirmando os resultados obtidos no estudo do efeito da concentração de suplemento protéico nas características do iogurte, os iogurtes adicionados de IPSoja apresentaram maior sinérese e os iogurtes adicionados de FNColágeno apresentaram menor sinérese (Tabela 40) e os iogurtes adicionados de 1,0% de suplemento protéico apresentaram menor sinérese do que os iogurtes adicionados com 0,5% de suplemento protéico (Tabela 41).

Tabela 40: Médias de sinérese (%) para o fator tipo de suplemento protéico.

Suplemento Protéico	Média do fator
IPSoro *	14,51 [b]
IPSoja *	20,26 [a]
FNColágeno *	10,80 [c]

[a, b, c] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Tabela 41: Médias de sinérese (%) para o fator concentração de suplemento protéico.

Concentração	Média do fator
0,5%	17,64 [a]
1,0%	12,74 [b]

[a, b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Ao longo do tempo de armazenamento, alguns iogurtes apresentaram aumento, enquanto outros apresentaram redução da sinérese. O aumento da sinérese está relacionado à uma contração do gel do iogurte, devido à diminuição do pH ao longo do tempo de armazenamento, com um conseqüente aumento da liberação de soro do coágulo. A redução da sinérese ao longo do tempo de armazenamento pode estar relacionada à uma maior absorção de água pela matriz do coágulo do iogurte, que podem ser causadas por mudanças na sua estrutura e formação de mais ligações entre as proteínas e o soro livre.

5.3.4. Viabilidade das bactérias ácido-láticas

A população de *S. thermophilus* variou entre 9,53 x 10^9 (iogurte controle da cultura Rich aos 28 dias de armazenamento) e 2,00 x 10^{12} UFC/mL de iogurte (iogurte adicionado de 1% de IPSoro da cultura Rich aos 2 dias de armazenamento) (Tabela 42). Estes valores são superiores aos apresentados por Gueimond et al. (2004), que relataram populações de *S. thermophilus* variando entre 10^7 e 10^9 UFC/mL em leites fermentados comerciais durante 30 dias de estocagem refrigerada a 4°C.

Tabela 42: População média de *S. thermophilus* (UFC/mL) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Dias de Armazenamento	Rich *	Rich + La-5 *
IPSoro **	0,5	2	$1,50 \times 10^{12}$	$1,76 \times 10^{12}$
		14	$1,72 \times 10^{12}$	$1,90 \times 10^{12}$
		28	$1,16 \times 10^{10}$	$6,13 \times 10^{11}$
	1,0	2	$2,00 \times 10^{12}$	$2,06 \times 10^{12}$
		14	$1,48 \times 10^{12}$	$2,01 \times 10^{12}$
		28	$8,74 \times 10^{11}$	$8,18 \times 10^{9}$
IPSoja **	0,5	2	$1,40 \times 10^{12}$	$1,90 \times 10^{12}$
		14	$1,52 \times 10^{12}$	$9,10 \times 10^{11}$
		28	$8,22 \times 10^{11}$	$7,13 \times 10^{11}$
	1,0	2	$1,17 \times 10^{12}$	$2,23 \times 10^{12}$
		14	$1,37 \times 10^{12}$	$1,81 \times 10^{12}$
		28	$4,32 \times 10^{11}$	$8,60 \times 10^{11}$
FNColágeno **	0,5	2	$1,45 \times 10^{12}$	$1,50 \times 10^{12}$
		14	$1,20 \times 10^{12}$	$1,81 \times 10^{12}$
		28	$7,83 \times 10^{9}$	$1,16 \times 10^{12}$
	1,0	2	$1,67 \times 10^{12}$	$1,77 \times 10^{12}$
		14	$1,50 \times 10^{12}$	$1,56 \times 10^{12}$
		28	$9,58 \times 10^{9}$	$7,16 \times 10^{11}$
Controle	—	2	$1,32 \times 10^{12}$	$1,14 \times 10^{12}$
		14	$8,23 \times 10^{11}$	$1,27 \times 10^{12}$
		28	$9,53 \times 10^{9}$	$5,36 \times 10^{11}$

* Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*. ** IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Houve diferença significativa ($p<0,05$ ou $p<0,01$) para a população de *S. thermophilus* das amostras de iogurte considerando os fatores tipo de cultura, tempo de armazenamento, para as interações entre tipo de cultura e tempo de armazenamento, entre tipo de suplemento protéico e tempo de armazenamento, e entre os tratamentos e o controle.

Os iogurtes fabricados com a cultura probiótica (Rich + La-5) apresentaram maior população de *S. thermophilus* do que os iogurtes fabricados com a cultura tradicional (Rich) (Tabela 43). Esta diferença pode ser devido a um desenvolvimento maior das bactérias da cultura tradicional quando em conjunto com a cultura de *L. acidophilus*, visto que tanto o *S. thermophilus* quanto o *L. bulgaricus* apresentaram maior população nos iogurtes probióticos do que nos iogurtes tradicionais, mesmo sendo empregadas quantidades iguais de inóculo da cultura Rich.

Tabela 43: Médias de população de *S. thermophilus* (log UFC/mL) para o fator tipo de cultura.

Cultura	Média do fator
Rich *	11,62 [b]
Rich + La-5 *	11,84 [a]

[a, b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*.

Apesar da pequena diferença, houve redução da população de *S. thermophilus* durante o armazenamento (Tabela 44), devido à perda de viabilidade da cultura ocasionada pela pós-acidificação dos iogurtes durante o armazenamento refrigerado. Além disso, a redução na contagem de *S. thermophilus* pode ser causa pelo potencial redox negativo dos iogurtes, visto que este microrganismo é classificado como microaerófilo ou aeróbico (DAVE, SHAH, 1998).

Tabela 44: Médias de população de *S. thermophilus* (log UFC/mL) para o fator tempo de armazenamento.

Dias de armazenamento	Média do fator
2	12,21 [a]
14	12,11 [a]
28	10,87 [b]

[a, b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

O conteúdo de proteínas e fosfato presentes nos concentrados protéicos de soro melhoram a capacidade tamponante do iogurte e podem aumentar a viabilidade da cultura (KAILASAPATHY; SUPRIADI, 1996), justificando as maiores populações de *S. thermophilus* nos iogurtes com IPSoro. Além disso, os outros suplementos protéicos também podem favorecer o desenvolvimento dos microrganismos da cultura lática por constituírem fontes suplementares de proteína.

As contagens de *L. bulgaricus* variaram entre 4,88 x 10^9 (iogurte controle, cultura probiótica, 28 dias de armazenamento) e 4,03 x 10^{12} UFC/g de iogurte (iogurte adicionado de 1% de IPSoro, cultura probiótica, 2 dias de armazenamento) (Tabela 45), superiores aos encontrados na literatura. Dave e Shah (1996) avaliaram diferentes tipos de meio de cultura para contagem de microrganismos presentes em amostras de iogurte comercial e de um iogurte fabricado em laboratório (com cultura contendo *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* e bifidobactérias) e relataram contagens de *L. bulgaricus* em meio MRS acidificado até pH 5,2 variando entre $<10^3$ UFC/g e $1,51 \times 10^7$ UFC/g.

Houve diferença significativa ($p<0,05$ ou $p<0,01$) para a população de *L. bulgaricus* das amostras de iogurte considerando os fatores tipo de cultura, tempo de armazenamento, para as interações entre tipo de cultura e concentração de suplemento protéico, entre tipo de cultura e tempo de armazenamento, entre tipo e concentração de suplemento protéico, entre tipo de suplemento protéico, concentração de suplemento protéico e tempo de armazenamento, e entre os tratamentos e o controle.

Tabela 45: População média de *L. bulgaricus* (UFC/mL) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Dias de Armazenamento	Rich *	Rich + La-5 *
IPSoro **	0,5	2	$1,53 \times 10^{12}$	$2,45 \times 10^{12}$
		14	$1,25 \times 10^{12}$	$1,36 \times 10^{12}$
		28	$2,29 \times 10^{10}$	$5,98 \times 10^{9}$
	1,0	2	$2,31 \times 10^{12}$	$4,03 \times 10^{12}$
		14	$1,36 \times 10^{12}$	$2,41 \times 10^{12}$
		28	$3,00 \times 10^{11}$	$2,68 \times 10^{12}$
IPSoja **	0,5	2	$1,18 \times 10^{12}$	$1,43 \times 10^{12}$
		14	$1,84 \times 10^{12}$	$1,47 \times 10^{12}$
		28	$8,55 \times 10^{9}$	$4,67 \times 10^{11}$
	1,0	2	$1,45 \times 10^{12}$	$2,00 \times 10^{12}$
		14	$1,23 \times 10^{12}$	$2,49 \times 10^{12}$
		28	$1,16 \times 10^{10}$	$5,58 \times 10^{11}$
FNColágeno **	0,5	2	$2,84 \times 10^{12}$	$1,21 \times 10^{12}$
		14	$2,86 \times 10^{12}$	$1,41 \times 10^{12}$
		28	$6,47 \times 10^{11}$	$4,37 \times 10^{11}$
	1,0	2	$1,08 \times 10^{12}$	$3,04 \times 10^{12}$
		14	$2,22 \times 10^{12}$	$1,19 \times 10^{12}$
		28	$6,75 \times 10^{9}$	$1,59 \times 10^{10}$
Controle	—	2	$1,22 \times 10^{12}$	$2,51 \times 10^{12}$
		14	$2,26 \times 10^{12}$	$1,59 \times 10^{10}$
		28	$7,63 \times 10^{9}$	$4,88 \times 10^{9}$

* Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*. ** IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Os iogurtes fabricados com a cultura probiótica apresentaram maior população de *L. bulgaricus* do que os iogurtes fabricados com a cultura tradicional (Tabela 46).

Tabela 46: Médias de população de *L. bulgaricus* (log UFC/mL) para o fator tipo de cultura.

Cultura	Média do fator
Rich *	11,57 [b]
Rich + La-5 *	11,80 [a]

[a, b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. * Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*.

A população de *L. bulgaricus* foi menor para os iogurtes analisados aos 28 dias de armazenamento (Tabela 47). Embora os lactobacilos apresentem maior tolerância à acidez do iogurte (toleram valores de pH na faixa de 3,5 a 3,8) (LOURESN-HATTINGH; VILJOEN, 2001), o aumento da acidez titulável dos iogurtes durante a armazenagem estocada pode ter causado a redução da população de *L. bulgaricus*.

Tabela 47: Médias de população de *L. bulgaricus* (log UFC/mL) para o fator tempo de armazenamento.

Dias de armazenamento	Média do fator
2	12,26 [a]
14	12,21 [a]
28	10,58 [b]

[a, b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

As populações dos microrganismos da cultura lática tradicional variaram entre 10^9 e 10^{12} UFC/ mL de iogurte, que são valores superiores aos encontrados na literatura. Dave e Shah (1996) obtiveram $1,74 \times 10^9$ UFC/g e $4,47 \times 10^8$ UFC/g de *S. thermophilus* e $<10^3$ UFC/g e $1,51 \times 10^7$ UFC/g de *L. bulgaricus* em amostras de iogurte comercial e em um iogurte fabricado em laboratório.

Vinderola, Bailo e Reinheimer (2000) estudaram a viabilidade da microflora probiótica em iogurtes argentinos durante estocagem refrigerada. Os iogurtes produzidos com a cultura lática por inoculação direta apresentaram contagens superiores a 10^7 UFC/mL. As contagens de *S. thermophilus* foram superiores (pelo menos 1 ciclo logarítmico) do que as contagens de *L. bulgaricus*. Nos iogurtes produzidos com a cultura lática por inoculação semidireta, os conteúdos iniciais de ambas bactérias foram similares (aproximadamente 10^8 a 10^9 UFC/mL). Em todos os casos, ao final da estocagem, as

contagens das bactérias da cultura iniciadora não foram diferentes significativamente ($p>0,05$) do que as contagens iniciais (VINDEROLA; MOCCHUITTI; REINHEIMER, 2002).

Os iogurtes experimentais em geral não apresentaram um padrão entre a relação de *S. thermophilus* e de *L. bulgaricus* e foi observada redução da população dos dois microrganismos ao final do período de estocagem.

As populações de *L. acidophilus* dos iogurtes probióticos variaram entre $5,08 \times 10^{11}$ (iogurte adicionado de 0,5% de IPSoro aos 28 dias de armazenamento) e $1,07 \times 10^{14}$ UFC/mL de iogurte (iogurte controle aos 2 dias de armazenamento) (Tabela 48).

Houve diferença significativa ($p<0,05$ ou $p<0,01$) na população de *L. acidophilus* das amostras de iogurte considerando os fatores concentração de suplemento protéico, tempo de armazenamento, para as interações entre tipo e concentração de suplemento protéico, entre tipo de suplemento protéico e tempo de armazenamento, entre os três fatores, e entre os tratamentos e o controle.

As elevadas populações de *L. acidophilus* podem ser explicadas por uma dificuldade de diferenciação das colônias de *L. acidophilus* e *L. bulgaricus* no meio HHD utilizado.

A quantificação da população de *L. acidophilus* em leites fermentados é difícil, especialmente se na cultura lática houver outras bactérias ácidas-láticas. As limitações na etapa de quantificação são devidas à falta de seletividade do meio empregado na enumeração de colônias e na inabilidade para distinguir colônias de *L. acidophilus* e das outras bactérias (NIGHSWONGER; BRASHEARS; GILLILAND, 1996).

Como a intenção inicial deste estudo era utilizar outras espécies de culturas probióticas, inclusive cultura contendo quatro espécies diferentes de bactérias (*S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* sp), na elaboração do projeto foi escolhido o meio HHD agar, o qual realça diferenças morfológicas das colônias dos microrganismos (*L. acidophilus* se apresentam como colônias grandes com centro azul e circunferência branca, *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* como colônias azuis e bifidobactérias como colônias brancas). No entanto, Barreto et al. (2003) relataram que os resultados obtidos com este meio na enumeração dos microrganismos de produtos probióticos comerciais foram superestimados e que colônias de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* acabam sendo contadas como *L. acidophilus*, indicando que a diferenciação com base nas diferenças morfológicas das colônias não é um critério seguro para contagem diferencial de *L. acidophilus* em produtos contendo essas 3 espécies.

Tabela 48: População média de *L. acidophilus* (UFC/mL) dos iogurtes fermentados com cultura Rich + La-5.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Dias de Armazenamento	População *L. acidophilus* (UFC/mL)
IPSoro *	0,5	2	$1,26 \times 10^{14}$
		14	$1,79 \times 10^{14}$
		28	$5,08 \times 10^{11}$
	1,0	2	$8,77 \times 10^{13}$
		14	$2,59 \times 10^{14}$
		28	$7,98 \times 10^{11}$
IPSoja *	0,5	2	$1,49 \times 10^{14}$
		14	$2,00 \times 10^{14}$
		28	$3,43 \times 10^{13}$
	1,0	2	$1,59 \times 10^{14}$
		14	$1,44 \times 10^{12}$
		28	$5,88 \times 10^{11}$
FNColágeno *	0,5	2	$7,31 \times 10^{13}$
		14	$1,78 \times 10^{14}$
		28	$7,50 \times 10^{11}$
	1,0	2	$1,12 \times 10^{14}$
		14	$2,12 \times 10^{14}$
		28	$1,28 \times 10^{12}$
Controle	—	2	$1,07 \times 10^{14}$
		14	$3,48 \times 10^{13}$
		28	$3,56 \times 10^{11}$

* IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

Devido ao seu baixo crescimento no leite, a quantidade de inóculo de probióticos utilizada é geralmente maior (5-10%) do que a quantidade usual de cultura lática tradicional (VASILJEVIC; SHAH, 2008).

O *L. acidophilus* apresenta tolerância ao ácido variando de 0,3 a 1,9% de acidez titulável, são microrganismos exigentes e requerem para seu bom desenvolvimento baixa tensão de oxigênio, carboidratos passíveis de fermentação, proteínas e seus produtos de

quebra, algumas vitaminas do complexo B, ácidos nucléicos derivativos, ácidos graxos livres insaturados e minerais como magnésio, manganês e ferro. Os leites enriquecidos com proteínas do soro têm maior conteúdo de grupos tiol, o que favorece o crescimento do *L. acidophilus*, ainda que a peptona e a tripsina estimule a sua produção de ácido (GOMES; MALCATA, 1999). No entanto, não foi observada nenhum favorecimento do crescimento do *L. acidophilus* nos iogurtes fortificados com IPSoro, quando comparados aos outros tipos de suplementos protéicos utilizados.

Os iogurtes adicionados de 0,5% de suplemento protéico apresentaram maior população de *L. acidophilus* do que os iogurtes adicionados de 1,0% de suplemento protéico (Tabela 49), indicando que os suplementos apresentaram uma atividade inibitória ao *L. acidophilus* na maior concentração testada. Os efeitos de vários tipos de suplementos sobre a atividade das culturas láticas em leites fermentados foram estudados por vários autores (GOMES, MALCATA, 1999; SODINI et al., 2002; DAMIN, 2003) e o efeito inibidor ou estimulante na atividade dos microrganismos dependem do tipo e da concentração do suplemento adicionado.

Tabela 49: Médias de população de *L. acidophilus* (log UFC/mL) para o fator concentração de suplemento protéico.

Concentração	Média do fator
0,5%	13,35 [a]
1,0%	13,04 [b]

[a,b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

A população de *L. acidophilus* foi menor para os iogurtes analisados aos 28 dias de armazenamento (Tabela 50), representando a perda de viabilidade deste microrganismo na estocagem refrigerada.

Tabela 50: Médias de população de *L. acidophilus* (log UFC/mL) para o fator tempo de armazenamento.

Dias de armazenamento	Média do fator
2	13,63 [a]
14	13,93 [a]
28	12,04 [b]

[a, b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

No estudo de Dave e Shah (1998) sobre o efeito da suplementação com diversos ingredientes na viabilidade das bactérias probióticas no iogurte, as populações de *L. acidophilus* foram consideravelmente menores para os iogurtes suplementados com soro e concentrado protéico de soro do que para os iogurtes controle, possivelmente devido ao menor tempo de fermentação destes produtos, o que não permitiu um desenvolvimento maior do *L. acidophilus* no produto. Durante a estocagem refrigerada, todos os iogurtes apresentaram perda de viabilidade do *L. acidophilus*.

Vários estudos têm demonstrado que os microrganismos probióticos apresentam baixo crescimento no leite, resultando em concentrações baixas no iogurte final e em perda de viabilidade durante estocagem refrigerada por longo tempo (VASILJEVIC; SHAH, 2008).

Gardini et al. (1999) estudaram a produção de compostos de aroma e a viabilidade de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Lactobacillus acidophilus* em leites fermentados. A população de *L. acidophilus* foi sempre superior a $1,99 \times 10^8$ UFC/g inicialmente, com uma perda de viabilidade de 0,76 ciclos após estocagem refrigerada.

Nighswonger, Brashears e Gilliland (1996) estudaram a viabilidade de *L. acidophilus* e *L. casei* em produtos lácteos fermentados durante estocagem refrigerada e relataram que iogurtes fabricados a partir de 2 culturas comerciais mistas de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* adicionadas de cultura comercial de *L. acidophilus* (La-5) apresentou redução da população de *L. acidophilus* após 28 dias de armazenamento a 5°C, com contagens variando entre $2,45 \times 10^5$ e $1,20 \times 10^7$ UFC/g (utilizando o meio *Lactobacillus* selection agar modificado).

A viabilidade e a atividade das bactérias são considerações importantes, porque estas bactérias devem sobreviver no alimento durante sua vida de prateleira e durante o transito através das condições ácidas no estômago e resistir à degradação pelas enzimas hidrolíticas e sais biliares (VASILJEVIC; SHAH, 2008). Alguns fatores que podem ser responsáveis pela redução da viabilidade da microflora probiótica em produtos lácteos fermentados são: pós-acidificação do iogurte, oxigênio dissolvido, interação entre as espécies de microrganismos, produção de compostos como o peróxido de hidrogênio, prática de inoculação e condições de estocagem (KAILASAPATHY, RYBKA, 1997; SHAH et al., 1995).

5.3.5. Comportamento reológico

O iogurte batido é classificado como um líquido viscoso de comportamento não Newtoniano, denominado pseudoplástico (WALSTRA et al., 1999), pois apresenta uma diminuição drástica na viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento (SCHRAMM, 2006). A diferença entre as curvas ascendentes e descendentes, denominada área de histerese, caracteriza os iogurtes como fluidos tixotrópicos, o que significa que após a aplicação de uma alta tensão de cisalhamento, a viscosidade aparente em tensões de cisalhamento baixas é permanentemente menor (WALSTRA et al., 1999), como pode ser visualizado nos reogramas dos iogurtes elaborados com os diferentes tipos de suplementos protéicos e tipos de cultura lática (Figuras de 9 a 22). Este fenômeno é resultado da quebra estrutural do gel e em muitos casos, o produto restabelece sua estrutura após um tempo de repouso. Quanto maior a área sob a curva, maior é o efeito tixotrópico (HOLDSWORTH, 1993).

Os iogurtes suplementados com IPSoro e com FNColágeno foram submetidos a cisalhamento com rotação entre 0,1 a 22,5 rpm (cone CPE-41), com exceção dos iogurtes com 0,5% de FNColágeno fabricado com a cultura Rich + La-5, que foi submetido a cisalhamento com rotação entre 50,0 e 240,9 rpm (cone CPE-52), assim como os iogurtes suplementados com IPSoja e os iogurtes controle.

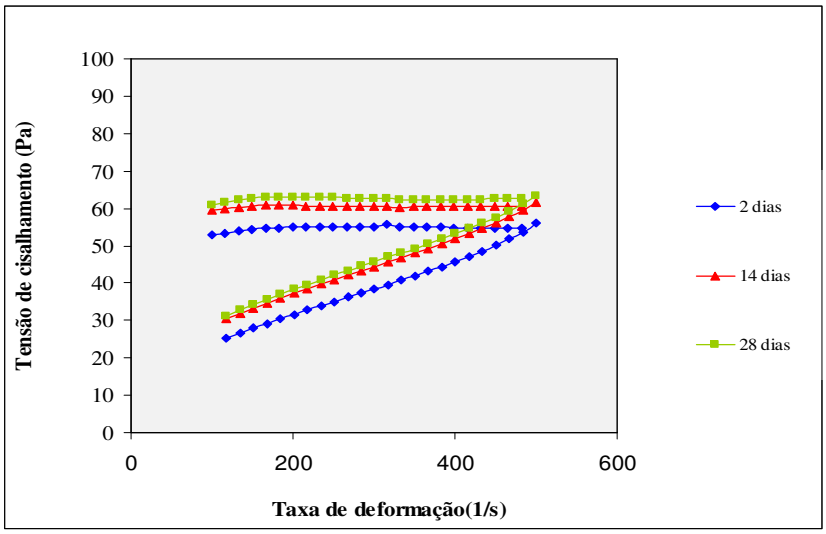


Figura 9: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e fortificados com 0,5% de isolado protéico de soro.

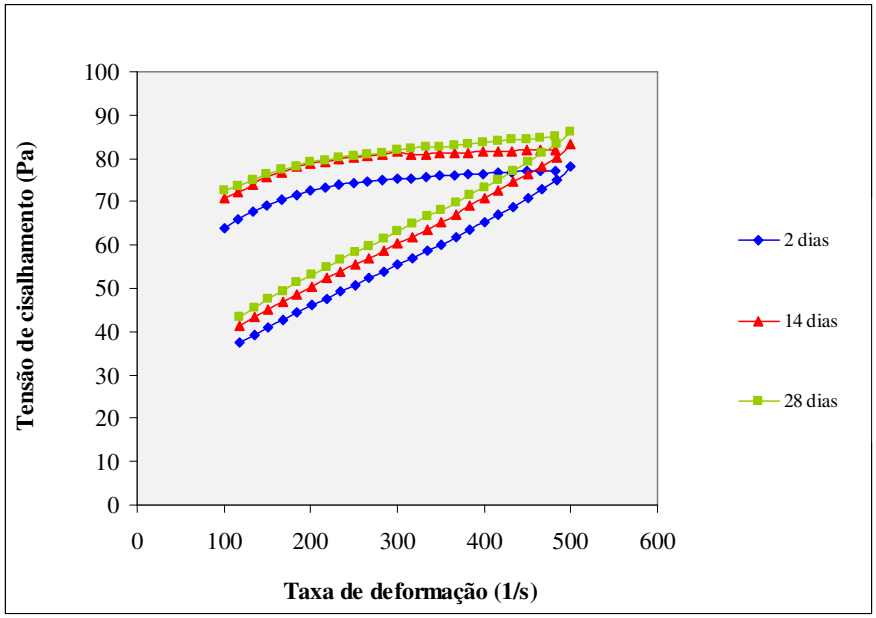


Figura 10: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e fortificados com 1,0% de isolado protéico de soro.

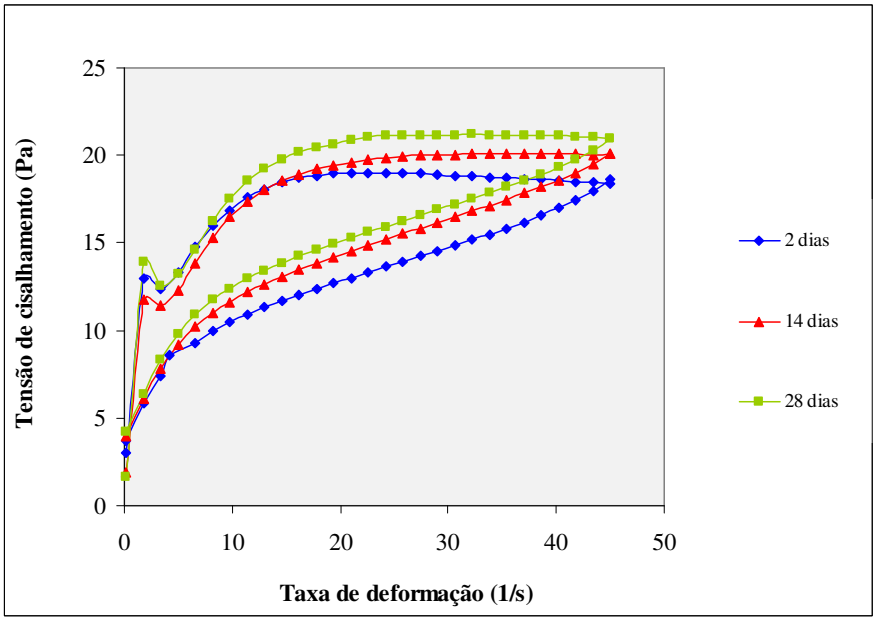


Figura 11: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e fortificados com 0,5% de isolado protéico de soja.

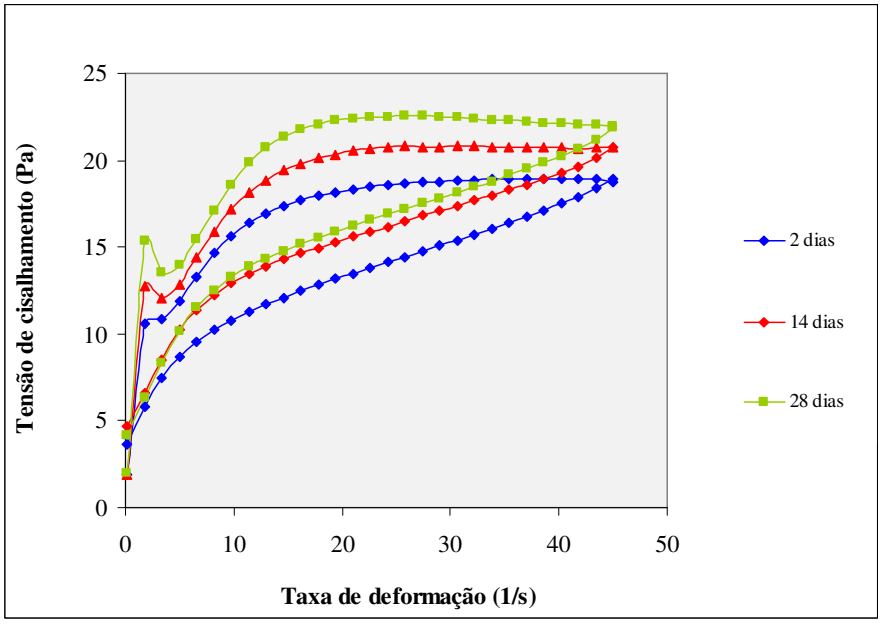


Figura 12: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e fortificados com 1,0% de isolado protéico de soja.

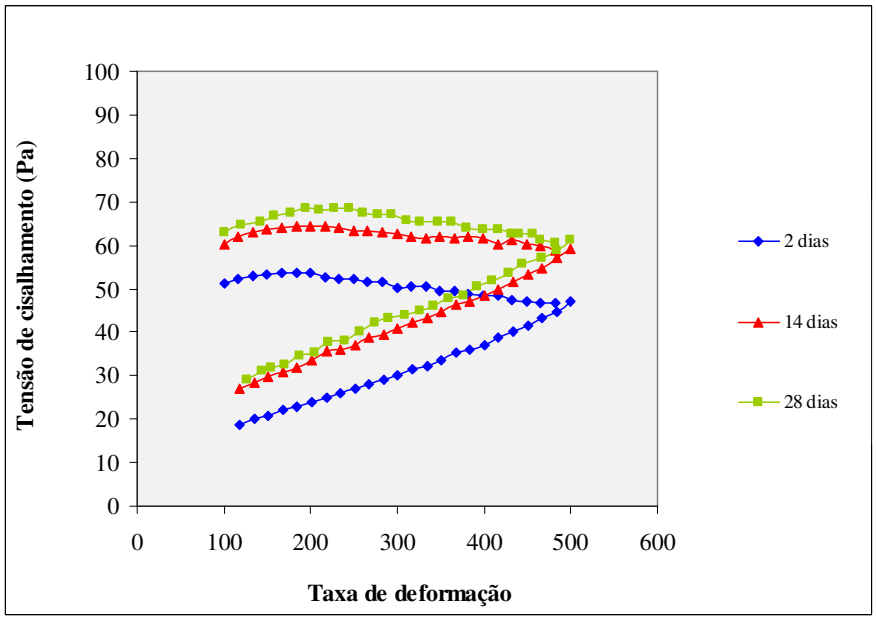


Figura 13: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e fortificados com 0,5% de fibra natural de colágeno.

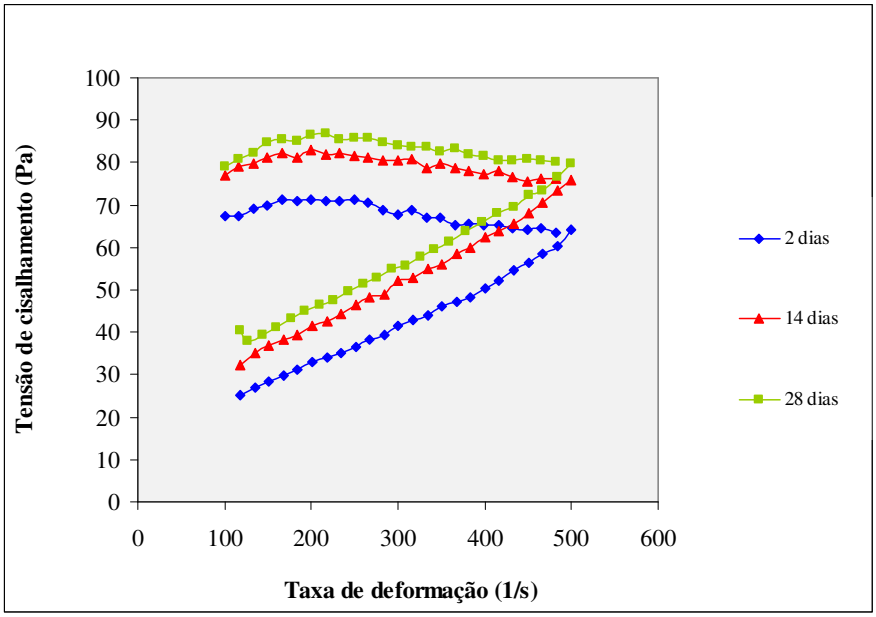


Figura 14: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e fortificados com 1,0% de fibra natural de colágeno.

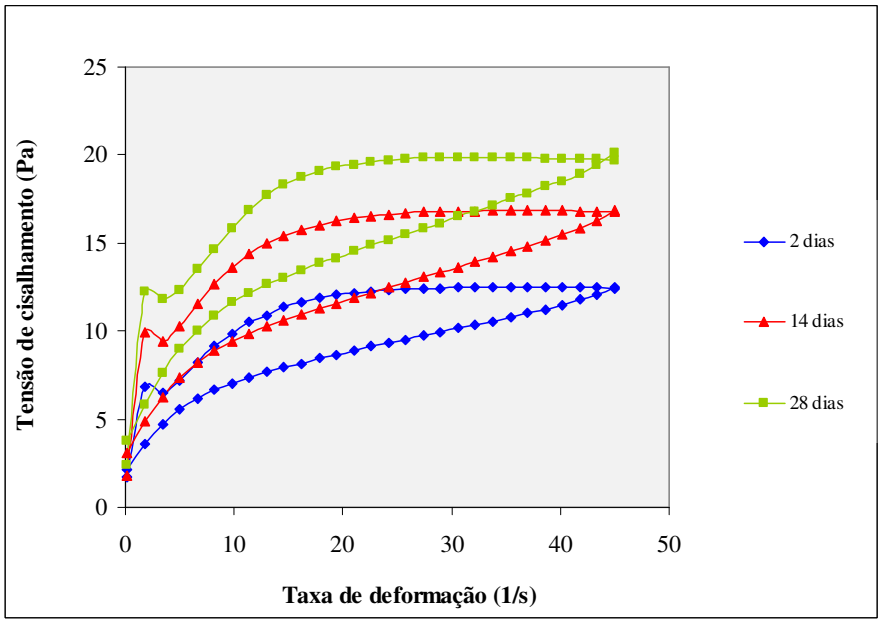


Figura 15: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes controle fermentados com cultura Rich.

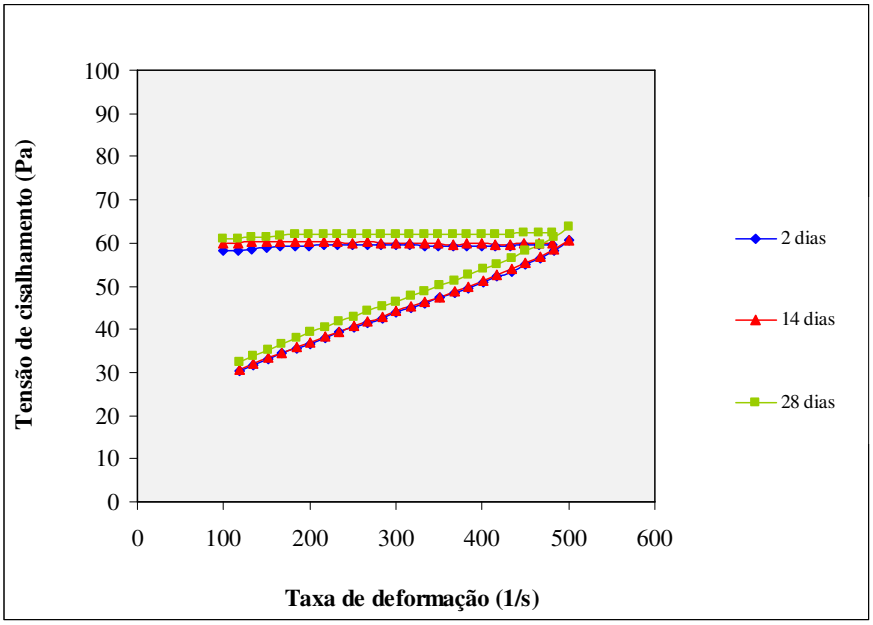


Figura 16: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e La-5 e fortificados com 0,5% de isolado protéico de soro.

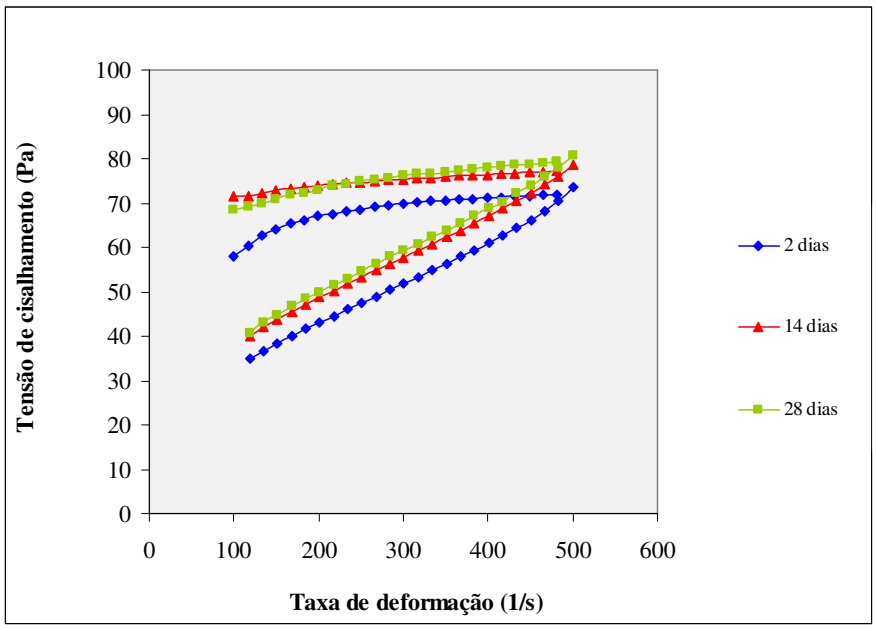


Figura 17: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e La-5 e fortificados com 1,0% de isolado protéico de soro.

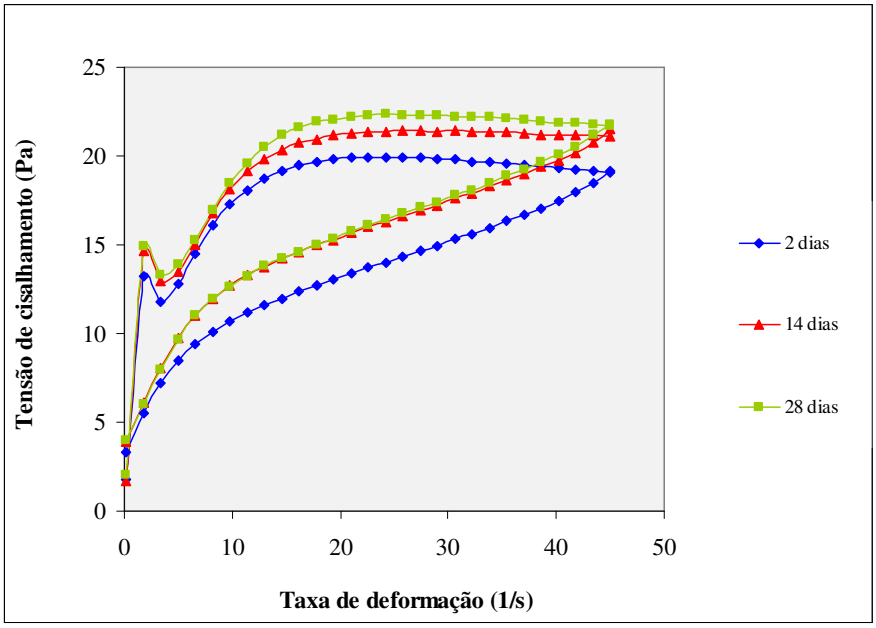


Figura 18: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e La-5 e fortificados com 0,5% de isolado protéico de soja.

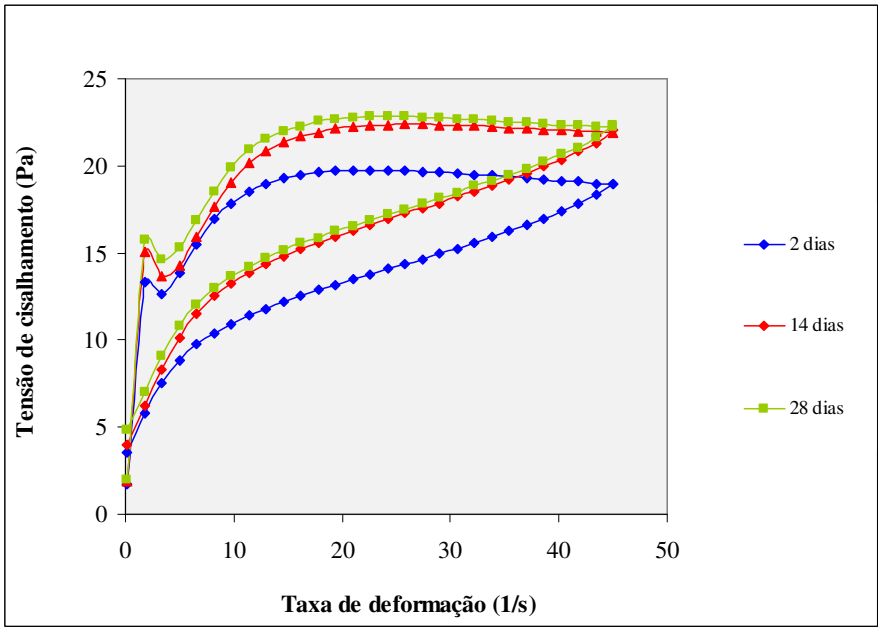


Figura 19: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e La-5 e fortificados com 1,0% de isolado protéico de soja.

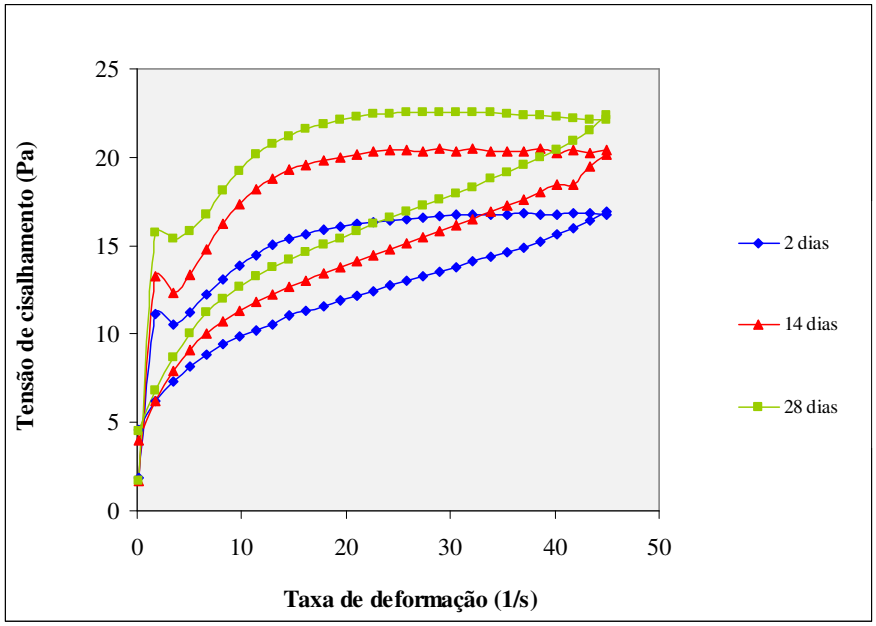


Figura 20: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e La-5 e fortificados com 0,5% de fibra natural de colágeno.

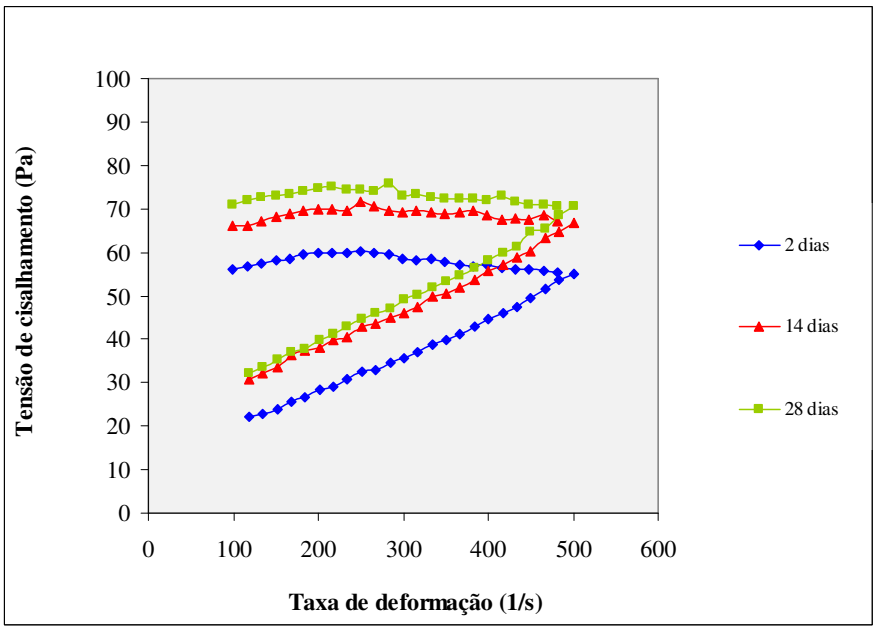


Figura 21: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes fermentados com cultura Rich e La-5 e fortificados com 1,0% de fibra natural de colágeno.

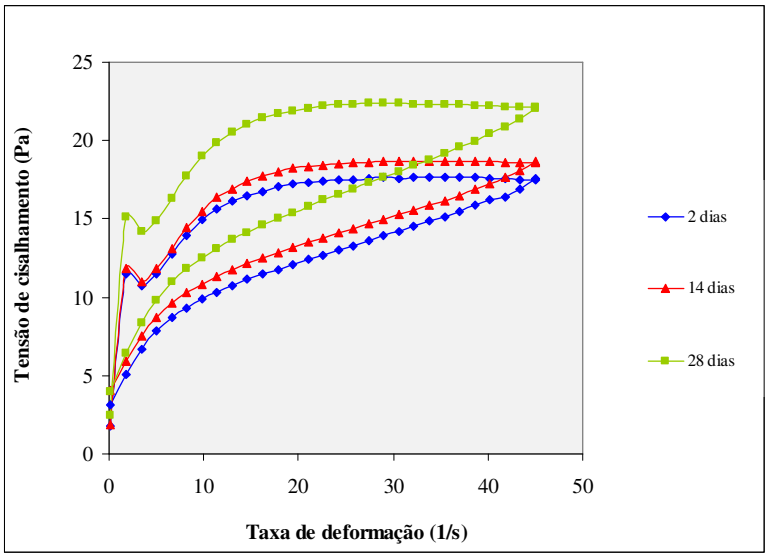


Figura 22: Relação entre taxa de deformação e tensão de cisalhamento para os iogurtes controle fermentados com cultura Rich e La-5.

Os reogramas com o comportamento reológico dos iogurtes apresentaram um aumento acentuado da tensão de cisalhamento até um valor máximo, seguido de uma redução para um nível em que permaneceu constante, mesmo com o aumento da taxa de deformação. Os iogurtes suplementados com IPSoja, controle e o fortificado com FNColágeno apresentaram oscilação nas tensões de cisalhamento com o aumento da taxa de deformação. Este comportamento também foi observado por Teggatz e Morris (1990) na análise de iogurte elaborado com cultura encapsulada e foi atribuído a uma quebra das interações entre as proteínas que compõem a estrutura do gel do iogurte durante o período inicial de cisalhamento.

Devido a diferenças significativas na textura dos produtos, não foi possível aplicar um único programa de aumento da taxa de deformação para a obtenção dos parâmetros reológicos dos iogurtes. Para a maioria dos testes, a faixa de aumento da tensão de cisalhamento corresponde a taxas de deformação entre 0,20 e 19,40 s^{-1} (0,10 a 9,70 rpm) e entre 100,000 e 199,60 s^{-1} (50,00 a 99,80 rpm) para os iogurtes analisados com os cones CPE-41 e CPE-51, respectivamente. Assim, os parâmetros reológicos foram obtidos nas curvas ascendentes com aumento crescente da tensão de cisalhamento nas faixas citadas. Os dados foram ajustados ao modelo da Lei da Potência ($\tau = k \times \gamma^n$), obtendo-se coeficientes de determinação (R^2) superiores a 0,87 (Tabela 51). Para as curvas descendentes, os resultados foram ajustados ao modelo da Lei da Potência, obtendo-se coeficientes de determinação (R^2) superiores a 0,98 (Tabela 52).

Tabela 51: Parâmetros reológicos dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas, ajustados ao Modelo da Lei da Potência – Curvas Ascendentes.

Suplemento Protéico	%	Dias de Armazenamento	Rich *			Rich + La-5 *		
			k (Pa.s^n) ***	n****	R^2 *****	k (Pa.s^n)	n	R^2
IPSoro **	0,5	2	40,99 ± 7,95	0,06 ± 0,06	0,90 ± 0,08	49,11 ± 1,45	0,04 ± 0,00	0,98 ± 0,00
		14	50,34 ± 2,36	0,04 ± 0,02	0,94 ± 0,02	56,39 ± 3,21	0,01 ± 0,00	0,89 ± 0,04
		28	47,76 ± 3,90	0,05 ± 0,01	0,88 ± 0,05	53,27 ± 9,22	0,03 ± 0,04	0,97 ± 0,00
	1,0	2	28,44 ± 4,62	0,18 ± 0,04	0,99 ± 0,01	23,04 ± 7,48	0,21 ± 0,06	0,98 ± 0,02
		14	34,36 ± 3,31	0,16 ± 0,03	1,00 ± 0,00	23,71 ± 8,17	0,06 ± 0,06	0,98 ± 0,02
		28	39,86 ± 0,31	0,13 ± 0,01	0,99 ± 0,00	43,44 ±7,99	0,10 ± 0,04	0,98 ± 0,01
IPSoja **	0,5	2	8,85 ± 1,34	0,27 ± 0,02	0,93 ± 0,03	8,17 ± 0,32	0,31 ± 0,02	0,92 ± 0,01
		14	7,60 ± 1,16	0,33 ± 0,01	0,95 ± 0,02	8,11 ± 0,14	0,34 ± 0,01	0,94 ± 0,03
		28	7,78 ± 1,32	0,36 ± 0,05	0,95 ± 0,03	8,26 ± 0,01	0,34 ± 0,01	0,94 ± 0,03
	1,0	2	7,25 ± 0,69	0,32 ± 0,01	0,96 ± 0,00	8,80 ± 0,24	0,29 ± 0,00	0,91 ± 0,01
		14	8,02 ± 0,59	0,33 ± 0,00	0,94 ± 0,01	8,62 ± 0,13	0,33 ± 0,01	0,94 ± 0,02
		28	9,07 ± 0,30	0,31 ± 0,00	0,90 ± 0,00	9,21 ± 1,13	0,32 ± 0,04	0,93 ± 0,03
FNColágeno **	0,5	2	38,87 ± 5,35	0,06 ± 0,02	0,87 ± 0,02	6,76 ± 0,59	0,31 ± 0,04	0,95 ± 0,03
		14	40,24 ± 2,09	0,08 ± 0,06	0,88 ± 0,06	7,98 ± 1,07	0,33 ± 0,01	0,94 ± 0,04
		28	38,68 ± 7,99	0,12 ± 0,06	0,96 ± 0,00	9,51 ± 1,27	0,30 ± 0,03	0,92 ± 0,04
	1,0	2	41,75 ± 6,24	0,10 ± 0,07	0,96 ± 0,02	35,20 ± 12,29	0,11 ± 0,06	0,95 ± 0,07
		14	49,74 ± 9,95	0,10 ± 0,07	0,92 ± 0,09	52,63 ± 11,31	0,06 ± 0,03	0,94 ± 0,03
		28	43,23 ± 5,05	0,13 ± 0,06	0,93 ± 0,01	43,82 ± 9,72	0,11 ± 0,09	0,96 ± 0,02
Controle **	—	2	4,46 ± 1,98	0,34 ± 0,03	0,97 ± 0,01	6,78 ± 0,55	0,33 ± 0,02	0,96 ± 0,02
		14	6,40 ± 1,68	0,32 ± 0,01	0,95 ± 0,04	6,95 ± 0,02	0,34 ± 0,04	0,96 ± 0,02
		28	6,77 ± 1,01	0,35 ± 0,05	0,98 ± 0,01	8,94 ± 0,89	0,32 ± 0,05	0,95 ± 0,03

* Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*. ** IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno. *** K = índice de consistência. **** n = índice de comportamento de fluxo. ***** R^2 = coeficiente de determinação.

Tabela 52: Parâmetros reológicos dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas, ajustados ao Modelo da Lei da Potência – Curvas Descendentes.

Suplemento Protéico	%	Dias de Armazenamento	Rich *			Rich + La-5 *		
			K ***	n ****	R^2 *****	k	n	R^2
IPSoro **	0,5	2	1,56 ± 0,45	0,57 ± 0,03	0,98 ± 0,00	2,70 ± 0,26	0,49 ± 0,01	0,98 ± 0,00
		14	2,62 ± 0,44	0,51 ± 0,01	0,98 ± 0,00	3,04 ± 0,18	0,48 ± 0,01	0,98 ± 0,00
		28	2,69 ± 0,65	0,50 ± 0,01	0,98 ± 0,00	3,11 ± 0,08	0,48 ± 0,01	0,98 ± 0,00
	1,0	2	2,85 ± 0,06	0,52 ± 0,00	0,99 ± 0,01	2,62 ± 0,20	0,53 ± 0,01	0,98 ± 0,00
		14	3,51 ± 0,23	0,50 ± 0,00	0,99 ± 0,00	3,87 ± 0,47	0,48 ± 0,01	0,99 ± 0,00
		28	4,05 ± 0,67	0,49 ± 0,01	0,99 ± 0,00	3,92 ± 0,67	0,48 ± 0,02	0,99 ± 0,00
IPSoja **	0,5	2	4,87 ± 0,01	0,33 ± 0,07	0,98 ± 0,01	4,62 ± 0,27	0,36 ± 0,00	0,99 ± 0,00
		14	5,28 ± 0,54	0,34 ± 0,01	0,99 ± 0,00	5,64 ± 0,43	0,34 ± 0,00	0,99 ± 0,00
		28	5,72 ± 0,29	0,33 ± 0,00	0,99 ± 0,00	5,52 ± 0,12	0,35 ± 0,02	0,99 ± 0,00
	1,0	2	4,86 ± 0,57	0,34 ± 0,00	0,99 ± 0,00	4,98 ± 0,49	0,33 ± 0,01	0,99 ± 0,00
		14	6,10 ± 0,03	0,32 ± 0,01	0,99 ± 0,00	5,95 ± 0,03	0,33 ± 0,01	0,99 ± 0,00
		28	6,22 ± 0,32	0,31 ± 0,02	0,99 ± 0,00	6,53 ± 0,78	0,31 ± 0,02	0,99 ± 0,00
FNColágeno **	0,5	2	0,69 ± 0,46	0,69 ± 0,07	0,98 ± 0,01	4,95 ± 0,52	0,31 ± 0,04	0,98 ± 0,00
		14	1,67 ± 0,93	0,57 ± 0,04	0,98 ± 0,00	5,10 ± 1,14	0,35 ± 0,02	0,99 ± 0,00
		28	1,92 ± 0,94	0,56 ± 0,03	0,99 ± 0,01	5,71 ± 0,31	0,34 ± 0,00	0,99 ± 0,00
	1,0	2	0,90 ± 0,29	0,68 ± 0,02	0,98 ± 0,01	0,72 ± 0,03	0,69 ± 0,01	0,98 ± 0,00
		14	1,62 ± 0,55	0,61 ± 0,03	0,98 ± 0,00	1,88 ± 0,04	0,57 ± 0,01	0,98 ± 0,00
		28	2,30 ± 0,47	0,56 ± 0,00	0,98 ± 0,00	1,94 ± 0,09	0,57 ± 0,02	0,98 ± 0,00
Controle **	—	2	3,05 ± 1,29	0,35 ± 0,01	0,99 ± 0,00	4,29 ± 0,83	0,36 ± 0,03	0,99 ± 0,00
		14	4,07 ± 1,19	0,36 ± 0,01	0,99 ± 0,00	5,06 ± 0,37	0,33 ± 0,01	0,99 ± 0,01
		28	5,11 ± 0,56	0,35 ± 0,01	0,99 ± 0,00	5,46 ± 0,33	0,35 ± 0,02	0,99 ± 0,00

* Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*. ** IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno. *** K = índice de consistência. **** n = índice de comportamento de fluxo. ***** R^2 = coeficiente de determinação.

Como não foi possível realizar a análise de todos os iogurtes com o mesmo cone e na mesma rotação, devido às grandes diferenças observadas na consistência dos iogurtes, a comparação dos resultados é aplicável somente entre os iogurtes que foram submetidos ao mesmo tipo de análise.

Para os iogurtes suplementados com IPSoja, 0,5% de FNColágeno fermentados com a cultura Rich + La-5 e controles, que foram submetidos a cisalhamento com rotação entre 0,1 e 22,5 rpm (cone CPE-41), o índice de consistência (k) variou entre 4,46 e 9,21 $Pa.s^n$ e entre 0,69 e 5,95 $Pa.s^n$, e o índice de comportamento de fluxo (n) variou entre 0,27 e 0,36 e entre 0,31 e 0,69, para as curvas ascendentes e descendentes, respectivamente (Tabelas 51 e 52).

Para os iogurtes suplementados com IPSoro e FNColágeno (com exceção do citado anteriormente), que foram submetidos a cisalhamento com rotação entre 50,0 e 240,9 rpm (cone CPE-52), o índice de consistência (k) variou entre 23,04 e 49,74 $Pa.s^n$ e entre 0,90 e 4,05 $Pa.s^n$, e o índice de comportamento de fluxo (n) variou entre 0,01 e 0,21 e entre 0,48 e 2,09 para as curvas ascendentes e descendentes, respectivamente (Tabelas 51 e 52).

Houve diferença significativa do índice de consistência (k) para os fatores concentração de suplemento protéico e tempo de armazenamento para as curvas ascendentes e descendentes dos iogurtes fortificados com IPSoro. Analisando os reogramas apresentados nas Figuras 11 a 24, as curvas dos iogurtes aos 2 dias de armazenamento são sempre inferiores e as curvas dos iogurtes aos 28 dias são sempre superiores no gráfico, indicando que a consistência dos iogurte aumenta com a estocagem refrigerada.

Nas curvas ascendentes, o índice de consistência (k) foi menor para os iogurtes fortificados com 1,0% de IPSoro do que para os iogurtes fortificados com 0,5% de IPSoro (Tabela 53). Entretanto, nas curvas descendentes, o índice de consistência foi maior para os iogurtes fortificados com 1,0% de IPSoro (Tabela 54).

Tabela 53: Médias de índice de consistência ($Pa.s^n$) obtidos na curva descendente dos iogurtes com isolado protéico de soro para o fator concentração de suplemento protéico.

Concentração	Média do fator
0,5%	49,65 [a]
1,0%	32,14 [b]

[a, b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Tabela 54: Médias de índice de consistência ($Pa.s^n$) obtidos nas curvas descendentes dos iogurtes com isolado protéico de soro para o fator concentração de suplemento protéico.

Concentração	Média do fator
0,5%	2,62 [b]
1,0%	3,47 [a]

[a, b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Nas curvas descendentes, o índice de consistência (k) aumentou ao longo do período de armazenamento refrigerado (Tabela 55).

Tabela 55: Médias de índice de consistência ($Pa.s^n$) obtidos nas curvas descendentes dos iogurtes com isolado protéico de soro para o fator tempo de armazenamento.

Dias de Armazenamento	Média do fator
2	2,43 [b]
14	3,26 [a]
28	3,44 [a]

[a, b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

O índice de comportamento de fluxo (n) das curvas descendentes dos iogurtes com IPSoro diminuiu ao longo do período de armazenamento (Tabela 56).

Tabela 56: Médias de índice de comportamento de fluxo obtidos nas curvas descendentes dos iogurtes com isolado protéico de soro para o fator tempo de armazenamento.

Dias de Armazenamento	Média do fator
2	0,53 [a]
14	0,49 [b]
28	0,48 [b]

[a, b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Para os iogurtes adicionados de IPSoja, houve diferença significativa do índice de consistência (k) para o fator concentração de suplemento protéico nas curvas descendentes. O índice de consistência (k) foi maior para os iogurtes fortificados com 1,0% de IPSoja do que para os iogurtes fortificados com 0,5% de IPSoja (Tabela 57).

Tabela 57: Médias de índice de consistência ($Pa.s^n$) obtidos na curva descendente dos iogurtes com isolado protéico de soja para o fator concentração de suplemento protéico.

Concentração	Média do fator
0,5%	5,28 [b]
1,0%	5,78 [a]

[a, b] As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Não foi possível comparar estatisticamente os iogurtes suplementados com FNColágeno, pois as análises dos iogurtes elaborados com a cultura Rich foram feitas com o cone CPE-52, enquanto que as análises dos iogurtes elaborados com a cultura Rich + La-5 foram realizadas com o cone CPE-41 para os iogurtes com 0,5% de FNColágeno e com o cone CPE-52 para os iogurtes com 1,0% de FNColágeno. Comparando somente os iogurtes elaborados com a cultura Rich, não foi observada diferença significativa quanto à concentração de suplemento protéico ou ao tempo de armazenamento.

Fiszman, Lluch e Salvador (1999) estudaram o efeito da adição de gelatina na microestrutura de géis ácidos de leite e no iogurte em suas propriedades reológicas e relataram que a fortificação do leite com 5% de sólidos ocasionou na formação de um gel com cadeias mais interconectadas e aglomerados menores de micelas de caseína unidas por fibras mais finas do que nas amostras de iogurte natural. Isto fez com que a rede formada fosse mais densa, com maior resistência às tensões aplicadas e menor tendência à sinérese (FISZMAN; LLUCH; SALVADOR, 1999). Assim, o aumento na quantidade de suplemento protéico dos iogurtes, teoricamente, deveria aumentar o índice de consistência, no entanto, este comportamento foi observado somente nos iogurtes adicionados de IPSoro e IPSoja nas curvas descendentes.

Em todos os casos, os índices de consistência (k) foram maiores para as curvas ascendentes em comparação com as curvas descendentes. Os iogurtes adicionados de 0,5% de FNColágeno elaborados com a cultura tradicional e probiótica apresentaram características de consistência muito distintas, não permitindo a sua análise reológica nas mesmas condições. Para os outros iogurtes, não foi detectada nenhuma diferença significativa no índice de consistência dos iogurtes elaborados com os diferentes tipos de cultura. Quanto ao tipo de suplemento protéico adicionado, os iogurtes adicionados com IPSoja apresentaram menor consistência quando comparados aos iogurtes adicionados de IPSoro ou FNColágeno, entretanto, com consistência superiores aos iogurtes controle.

Não houve diferença significativa para o índice de comportamento de fluxo (n) entre os tipos de cultura lática, concentração de suplemento protéico e tempo de armazenamento das curvas ascendentes e descendentes (analisadas separadamente). Entretanto, podemos observar que o índice de comportamento de fluxo das curvas descendentes é sempre maior do que o índice das curvas ascendentes, demonstrando que após o cisalhamento os iogurtes apresentaram comportamento mais próximo aos dos fluidos Newtonianos (n = 1).

Teoricamente, a área de histerese entre as curvas ascendentes e descendentes representam a quebra da estrutura do iogurte batido durante o cisalhamento (HASSAN et al., 1996). Para os iogurtes submetidos a cisalhamento com rotação entre 0,1 e 22,5 rpm (cone CPE-41) as áreas de histerese dos reogramas variaram entre 102,81 e 215,06 mm^2 e para os iogurtes submetidos a cisalhamento com rotação entre 50,0 e 240,9 rpm (cone CPE-52) as áreas de histerese dos reogramas variaram entre 5.610,55 e 10.225,43 mm^2 (Tabela 58).

Comparando as áreas de histerese em relação ao tipo de cultura utilizada, os iogurtes suplementados com IPSoja e controles (que foram submetidos a baixas taxas de cisalhamento) elaborados com a cultura tradicional apresentaram menor área (menor histerese) do que os iogurtes elaborados com a cultura probiótica. Efeito contrário foi observado nos iogurtes suplementados com IPSoro e FNColágeno (que foram submetidos a altas taxas de cisalhamento), nos quais os iogurtes elaborados com a cultura tradicional apresentaram maior área do que os iogurtes elaborados com a cultura probiótica.

Quanto ao tipo de suplemento protéico utilizado, os iogurtes suplementados com IPSoro apresentaram menor área de histerese do que os iogurtes com FNColágeno e os iogurtes suplementados com IPSoja apresentaram maior área de histerese do que os iogurtes controle. Os resultados indicam que os iogurtes fortificados com IPSoro apresentaram maior resistência ao cisalhamento do que os iogurtes fortificados com FNColágeno e que todos os suplementos resultaram em maior viscosidade dos iogurtes quando comparados ao controle, sendo que os iogurtes adicionados de IPSoro e FNColágeno foram mais viscosos.

Tabela 58: Áreas de histerese (mm^2) das curvas de tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Suplemento Protéico	Concentração (%)	Dias de Armazenamento	Rich	Rich + La-5
IPSoro	0,5	2	5855,82	5610,55
		14	5803,36	5787,76
		28	6139,76	5583,08
	1,0	2	6587,30	5885,45
		14	6881,20	6191,72
		28	6336,30	5716,96
IPSoja	0,5	2	201,64	215,06
		14	164,34	184,74
		28	182,94	210,69
	1,0	2	158,73	213,79
		14	155,26	199,39
		28	201,37	207,88
FNColágeno	0,5	2	7367,66	134,40
		14	7810,05	201,90
		28	8389,49	222,10
	1,0	2	9685,35	7942,77
		14	10225,43	8064,94
		28	10111,14	8765,46
Controle	—	2	102,81	166,46
		14	146,64	158,14
		28	158,39	214,99

* Rich = cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* e La-5 = cultura de *L. acidophilus*. ** IPSoro = isolado protéico de soro; IPSoja = isolado protéico de soja; FNColágeno = fibra natural de colágeno.

6. CONCLUSÕES

A suplementação protéica do leite utilizado na fabricação dos iogurtes alterou a sua composição físico-química e suas propriedades tecnológicas. O aumento da concentração do suplemento adicionado resultou em aumento do teor de sólidos totais, do teor de proteínas e da capacidade da retenção de água e em redução da sinérese dos iogurtes. Além disso, a suplementação com isolado protéico de soro e com isolado protéico de soja favoreceu o desenvolvimento do *L. bulgaricus* e nos iogurtes fortificados com estes suplementos, quanto maior a quantidade adicionada, maior foi a população deste microrganismo.

Os iogurtes fermentados com IPSoja apresentaram menor tempo de fermentação e o tempo para atingir a velocidade máxima de acidificação quando comparados aos outros tipos de suplementos protéicos, indicando um melhor enriquecimento do meio e favorecimento do desenvolvimento da cultura lática mais eficiente. A adição de fibra natural de colágeno aos iogurtes resultou em produtos com maior capacidade de retenção de água, sinérese e consistência, que são propriedades importantes na determinação da qualidade do iogurte. A suplementação com isolado protéico de soja apresentou os piores resultados nas propriedades tecnológicas analisadas, embora tenha obtido melhores resultados no favorecimento do desenvolvimento das culturas durante a fermentação.

A utilização de diferentes culturas láticas afetou as propriedades tecnológicas dos iogurtes. Os iogurtes fermentados com a cultura tradicional (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) apresentaram maior acidez titulável, maior capacidade de retenção de água e menor sinérese do que os iogurtes fermentados com a cultura probiótica (*S. thermophilus*, *L. bulgaricus* e *L. acidophilus*), possivelmente devido às diferenças na acidificação e formação da estrutura do coágulo durante a fermentação, visto que o *L. acidophilus* apresenta características distintas das bactérias da cultura tradicional.

Durante o armazenamento refrigerado, os iogurtes apresentaram pós-acidificação, devido à atividade metabólica da cultura lática durante o armazenamento refrigerado, e aumento da capacidade de retenção de água, possivelmente devido à hidratação dos suplementos protéicos no período analisado. Todos os iogurtes apresentaram redução das populações dos microrganismos da cultura lática durante o armazenamento refrigerado, mas com população final sempre superior ao recomendado na legislação brasileira.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. R. **Tecnologia de leite e derivados**. Curso de pós-graduação Lato Sensu em Controle de Qualidade em Carne, Leite, Ovos e Pescado, Lavras: FAEPE, 2000. 205 p.

ACHANTA, K.; ARYANA, K.; BOENEKE, C. A. Fat free plain set yogurts fortified with various minerals. **Food Science and Technology**, Londres, v. 40, n. 3, p. 424-429, 2007.

AMIOT, J. **Ciência y tecnologia de la leche**. Zaragoza: Acribia, 1991. 547p.

ANDRADE, C. T.; NASSER, R. O. Estudo reológico da gelificação induzida pelo calor de proteínas do soro do leite e dos géis resultantes sob condições variadas de pH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 315-321, 2005.

ANTUNES, A.J. **Funcionalidade de Proteínas do Soro de Leite Bovino**. Barueri: Manole, 2003. 135 p.

ANTUNES, A. E. C.; CAZETTO, T. F.; BOLINI, H. M. A. Viability of probiotic microorganisms during storage, postacidification and sensory analysis of fat-free yogurts with added whey protein concentrate. **International Journal of Dairy Technology**, Oxford, v. 58, n. 3, p. 169-173, 2005.

ANTUNES, A. E. C.; MOTTA, E. M. P.; ANTUNES, A. J. Perfil de textura e capacidade de retenção de água de géis ácidos de concentrado protéico de soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23 (Supl), p. 183-189, 2003.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Dairy Products. In: **Official Methods of Analysis**. 16 ed. Washington, 1997.

ARVANITOYANNIS, I. Departament of Agricultura. Crop and animal production, School of Techological Science, University of Thessalia, Nea Ioni, Magnesia, Greece, 1999.

BARBOSA, I. N., PINTO, M. S., CUNHA, L. R., MARTINS, J. M., FERREIRA, C. L. L. F. O aproveitamento do soro na elaboração de bebidas fermentadas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 58, n. 333, p. 194-198, 2003.

BARRETO, G. P. M.; SILVA, N.; SILVA, E. N.; BOTELHO, L.; YIM, D. K.; ALMEIDA, C. G.; SABA, G. L. Quantificação de *Lactobacillus acidophilus*, bifidobactérias e bactérias totais em produtos probióticos comercializados no Brasil. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 6, n. 1, p. 119-126, 2003.

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

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. **Química de los Alimentos**. Zaragoza (Espanha): Editorial Acribia, 1985. 813p.

BELLENGIER, P.; RICHARD, J.; FOUCAUD, C. Associative growth of *Lactococcus lactis* and *Leuconostoc mesenteroids* strains in milk. **Journal of Dairy Science**, Champaing, v. 80, n. 8, p. 1520-1527, 1997.

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

BRANDÃO, S. C. C. Produtos lácteos probióticos, prebióticos, simbióticos e o mercado nacional e internacional. I Simpósio Internacional: prebióticos e probióticos em produtos lácteos, Campinas. **Anais**, 2008.

BRASIL Ministério da Agricultura e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Oficializar os "Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados". Resolução nº 5, de 13 de Novembro

de 2000. **Diário Oficial da União**, de 27 de novembro 2000, Seção 1 , p. 9. Disponível em: < http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=3285>. Acesso em: 30/01/2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde. Resolução RDC n° 2, de 07 de janeiro de 2002. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, de 09 de janeiro de 2002. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=1567&word=>. Acesso em: 21/02/2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova o Regulamento Técnico para Produtos Protéicos de Origem Vegetal. Resolução RDC n° 268, de 22 de setembro de 2005. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, de 23 de setembro de 2005. Disponível em: < http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=18827&word=>. Acesso em: 15/12/2008.

BRASIL. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos: **Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas**. Atualizado em julho, 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 04/04/09.

BUNGE ALIMENTOS. **Proteína isolada de soja**. Disponível em: <www.bungealimentos.com.br.> Acesso em: 30/03/2007.

CAMPBELL, M. K. **Bioquímica**. Porto Alegre: Artmed, 2000. 751 p.

CARDOSO, E. E.; GOMES, A.; LÍRIO, V. S.; LEITE, E. R.; TEIXEIRA NETO, J. F.; COUTINHO, M. E.; CRUZ, G. M.; PACHECO, M. A.; VELLY, M. L. M. Análise da cadeia produtiva de peles e couros no Brasil. **Comunicado Técnico da Embrapa Gado de Corte**, n. 68, 2001. Disponível em: <http://www.cnpgc.embrapa.br/publicacoes/cot/COT68.html>.

CARN, F.; DJABOUROV, M.; CORADIN, T.; LIVAGE, J.; STEUNOU, N. Influence of decavanadate clusters on the rheological properties of gelatin. **Journal of Physical Chemistry**, Washington, v, 112, n. 40, p. 12596-12605, 2008.

CASE, R. A.; BRADLEY JR., R. L.; WILLIAMS, R. R. Chemical and physical methods. In: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. 15. ed. Washington, 1985. p. 327-404.

DAMIN, M. R. **Efeito da suplementação do leite com hidrolisado de caseína e com proteína concentrada de soro na obtenção de leites fermentados contendo probióticos**. 2003. 116 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

DAMIN, M. R.; MINOWA, E.; ALCÂNTARA, M. R.; OLIVEIRA, M. N. Effect of cold storage on culture viability and some rheological properties of fermented milk prepared with yogurt and probiotic bacteria. **Journal of Texture Studies**, Malden, v. 39, n. 1, p. 40-55, 2008

DAMODARAN, S. Functional properties. In: NAKAI, S.; MODLER, H.W. (Ed). **Food proteins**: properties and characterization. New York: VCH Publishers, Inc., 1996. p. 167-234.

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

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

DOERSCHER, D. R.; BRIGGS, J. L.; LONERGAN, S. M. Effects of pork collagen on thermal and viscoelastic properties of purified porcine myofibrillar protein gels. **Meat Science**, Oxford, v. 66, n. 1, p. 181-188, 2003.

DRAKE, M. A.; CHEN, X. Q.; TAMARAPU, S.; LEENANON, B. Soy protein fortification affects sensory, chemical, and microbiological properties of dairy yogurts. **Journal of Food Science**, Oxford, v. 65, n. 7, p. 1244-1247, 2000.

DRAKE, M. A.; GERARD, P. D. Consumer attitudes and acceptability of soy-fortified yogurts. **Journal of Food Science**, Oxford, v. 68, n. 3, p. 1118-1122, 2003.

ESTEVES, E. A.; MONTEIRO, J. B. R. Efeitos benéficos das isoflavonas de soja em doenças crônicas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 43-52, 2001.

FAO/WHO. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ont., Canada. 2002.

FISZMAN, S. M.; LLUCH, M. A.; SALVADOR, A. Effect of addition of gelatin on microstructure of acidic milk gels and yoghurt and on their rheological properties. **International Dairy Journal**, Barking, v. 9, n. 12, p. 895-901, 1999.

FUCHS, R. H. B.; BORSATO, D.; BONA, E.; HAULY, M. C. O. “Iogurte” de soja suplementado com oligofrutose e inulina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 175-181, 2005.

GARCÍA, M. C.; MARINA, M. L.; LABORDA, F.; TORRE, M. Chemical characterization of commercial soybean products. **Food Chemistry**, Oxford, v. 62, n. 3, p. 325-331, 1998.

GARDINI, F.; LANCIOTTI, R; GUERZONI; M. E.; TORRIANI, S. Evaluation of aroma production and survival of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* in fermented milks. **International Dairy Journal**, Barking, v. 9, n. 2, p. 125–134, 1999.

GASTALDI, E.; LAGAUDE, A.; MARCHESSEAU, S.; FUENTE, T. Acid milk gel formation as affected by total solids content. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 62, n. 4, p. 671-675, 1997.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus:* biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science & Technology**, Guildford, v. 10, n. 4-5, p. 139-157, 1999.

GUEIMONDE, M.; DELGADO S.; BALTASAR, M.; MADIEDO-RUAS, P.; MARGOLLES A.; REYES-GAVILÁN, C. G. Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks. **Food Research International**, Barking, v. 37, n. 9, p. 839-850, 2004.

HARTE, F.; LUEDECKE, L.; SWANSON, B.; BARBOSA-CANOVAS, G.V. Low-fat set yogurt made from milk subjected to combinations of high hydrostatic pressure and thermal processing. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, n. 4, p. 1074-1082, 2003.

HASSAN, A. N.; FRANK, J. F.; SCHMIDT, K. A.; SHALABI, S. I. Textural properties of yogurt made with encapsulated nonropy lactic cultures. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, n. 12, p. 2098-2103, 1996.

HASSAN, A. N.; FRANK, J. F.; SCHMIDT, K. A.; SHALABI, S. I. Rheological properties of yogurt made with encapsulated nonropy lactic cultures. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, n. 12, p. 2091-2097, 1996b.

HAULY, M. C. O.; FUCHS, R. H. B.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H. Suplementação de iogurte de soja com frutooligossacarídeos: características probióticas e aceitabilidade. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 18, n. 5, p. 613-622, 2005.

HELLER, K. J. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. **American Journal of Clinical Nutrition,** New York, v. 73, n. 2, p.374-379, 2001.

HOLDSWORTH, S. D. Rheological models used for the prediction of the flow properties of food products: a literature review. **Transactions of the Institution of Chemical Enginners**, London, v. 71, part C, p. 139-179, 1993.

HUGUNIN, A. O uso de produtos de soro em iogurte e produtos lácteos fermentados. **Leite e Derivados**, São Paulo, v. 5, n. 49, p. 22-33, 1999.

HUSSAIN, I.; RAHMAN. A.; ATKINSON, N. Quality comparison of probiotic and natural yogurt. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 8, n. 1, p. 9-12, 2009.

IDF – International Dairy Federation. Detection and enumeration of L. acidophilus. **Bulletin of the IDF nº 306**, p. 23-33, 1995.

IDF – International Dairy Federation. Yogurt: enumeration of characteristic microorganisms. **International IDF Standard 117/B**, 1997. 5 p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1976. 371 p.

ITSARANUWAT, P.; HAL-HADDAD, K. S.; ROBINSON, R. K. The potential therapeutic benefits of consuming health promoting fermented dairy products: a brief update. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 56, n. 4, p. 203-210, 2003.

JAROS, D.; ROHM, H. The rheology and textural properties of yoghurt. In.: **Texture in Food**. Volume I: Semi-solid foods, (B.M. McKenna, ed.). Cambridge: Woodhead Publishing, 2003. p. 321-349.

KAILASAPATHY, K.; RYBKA, S. L. *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp.: their therapeutic potencial and survival in yogurt. **Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v. 52, n. 1, p. 241-245, 1997.

KAPITULA, M. M.; KLEBUKOWSKA, L.; KORNACKI, K. Evaluation of the possible use of potentially probiotic *Lactobacillus* strains in diary products. **International Journal of Dairy Technology,** Huntingdon, v. 61, n. 2, p. 165-169, 2008.

LAI, G. L.; LI, Y.; LI, G. Effect of concentration and temperature on the rheological behavior of collagen solution. **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 42, n. 3, p. 285-291, 2008.

LAN, Y. H.; NOVAKOFSKI, J.; McCUSKER, R. H.; BREWER, M. S.; CARR, T. R.; McKEITH, F. K. Thermal gelation properties of protein fractions from pork and chicken breast muscles. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 60, n. 40, p. 742-747, 1995.

LIMA, S. C. G.; ALMEIDA, T. C. A.; GIGANTE, M. L. Efeito da adição de diferentes tipos e concentrações de sólidos nas características sensoriais do iogurte tipo firme. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 8, n. 2, p. 147-156, 2006.

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

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

LUCEY, J. A.; MUNRO, P. A.; SINGH, H. Effects of heat treatment and whey protein addition on the rheological properties and structure of acid skim milk gels. **International Dairy Journal**, Barking, v. 9, n. 3-6, p. 275-279, 1999.

LUCEY, J. A.; SINGH, H. Formation and physical properties of acid milk gels: a review. **Food Research International**, Barking, v. 30, n. 7, p. 529-539, 1998.

MEULLENET, J. F.; CHANG, H. C.; CARPENTER, J. A.; RESURRECCION, A. V. A. Textural properties of chicken frankfurters with added collagen fibers. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, n. 4, p. 729-733, 1994.

NEKLYUDOV, A. D. Nutritive fibers of animal origin: collagen and its fractions as essential components of new and useful food products. **Applied Biochemistry and Microbiology**, New York, v. 39, n. 3, p. 229-238, 2003.

NICKERSON, M. T.; PAULSON, A. T.; WAGAR, E.; FARNWORTH, R.; HODGE, S. M.; ROUSSEAU, D. Some physical properties of crosslinked gelatin-maltodextrin hydrogels. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 20, n. 7, p. 1072-1079, 2006.

NIGHSWONGER; BRASHEARS, M. M.; GILLILAND, S. E. Viability of *L. acidophilus* and *L. casei* in fermented milk products during refrigerated storage. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 79, n. 2, p.212-219, 1996.

OCKERMAN, H. W.; HANSEN, C. L. **Industrialización de Subproductos de Origen Animal**. Zaragoza: Acribia, 1994. 387 p.

OLIVEIRA, M. N.; DAMIN, M. R. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, supl 0, p. 172-176, 2003.

ORDÓÑEZ, J. A.; RODRÍGUEZ, M. S. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MIGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnologia de alimentos**: componentes dos alimentos e processos. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005. 294 p.

PARVEZ, S.; MALIK, K. A.; AH KANG, S.; KIM, H. Y. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 100, n. 6, p. 1171-1185, 2006.

PAZ, J. C. S. N.; NETTO, F. M. Caracterização estrutural e funcional de géis simples e mistos de isolados protéicos de soja e de soro de leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, III JIPCA, p. 8-14, 2006.

PENNA, A. L. B. Probióticos e Saúde. XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. **Anais**, p. 4045-4047, 2002.

PENNA, A. L. B.; GURRAM, S.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Effect of milk treatment on acidification, physicochemical characteristics, and probiotic cell counts in low fat yogurt. **Milchwissenschaft**, Munchen, v. 62, n. 1, p. 48-52, 2007.

PINHEIRO, M. V. S. **Caracterização de iogurtes fabricados com edulcorantes, fermentados por culturas lácticas probióticas**. 2003. 196p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2003.

PINHEIRO, M. V. S.; PENNA, A. L. B. Aspectos tecnológicos da fabricação de iogurtes. **Milkbizz Tecnologia Temático Laticínios**, São Paulo, v. 1, n. 2; p. 4-18, 2002.

ROMAN, J. A.; SGARBIERI, V. C. Caracterização físico-química do isolado protéico de soro de leite e gelatina de origem bovina. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 10, n. 2, p. 137-143, 2007.

SAINT-EVE, A.; JUTEAU, A.; ATLAN, S.; MARTIN, N.; SOUCHON, I. Complex viscosity induced by protein composition variation influences the aroma release of flavored stirred yogurt. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Thiverval-Grignon, v. 54, n. 11, p. 3997-4004, 2006.

SALMINEN, S.; OUWEHAND, A. C.; ISOLAURI, E. Clinical applications of probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, Barking, v. 8, n. 5-6, p. 563-572, 1998.

SANTANA, L. R. R.; SANTOS, L. C. S. NATALICION, M. A.; MONDRAGON-BERNAL, O. L.; ELIAS, E. M.; SILVA, C. B.; ZEPKA, L. Q.; MARTINS, I. S. L.; VERNAZA, M. G.; CASTILLO-PIZARRO, C.; BOLINI, H. M. A. Perfil sensorial de iogurte light, sabor pêssego. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 619-625, 2006.

SCHRAMM, G. **Reologia e Reometria**: fundamentos teóricos e práticos. São Paulo: Artliber Editora, 2006. 232 p.

SGARBIERI, V. C. Propriedades estruturais e físico-químicas das proteínas do leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 8, n. 1, p. 43-56, 2005.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 397-409, 2004.

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

SHAH, N. P.; LANKAPUTHRA, W. E. V.; BRITZ, M. L.; KYLE, W. S. A. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidumi* in commercial yoghurt during refrigerated storage. **International Dairy Journal**, Barking, v. 5, n. 5, p. 515-521, 1995.

SHAH, N. P.; LANKAPUTHRA, W. E. V. Improving viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidopacterium* spp. in yogurt. **International Dairy Journal**, Barking, v. 7, n. 5, p. 349-356, 1997.

SILVA, M. H. L. **Desenvolvimento e caracterização de um isolado protéico de soja modificado com perfil de solubilidade da caseína do leite humano**. 2007. 128 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

SILVA, S. V. **Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico**. 2007. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007 b.

SODINI, I.; LUCAS, A.; OLIVEIRA, M. N.; REMEUF, F. T.; CORRIEU, G. Effect of milk base and starter culture on acidification, texture and probiotic cell counts in fermented Milk processing. **Journal of Dairy Science,** Champaign, v. 85, n. 10, p.2479-2488, 2002.

SOUKOULIS, C.; PANAGIOTIDIS, P.; KOURELI, R.; TZIA, C. Industrial yogurt manufacture: monitoring of fermentation process and improvement of final product quality. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 6, 2641-2654, 2007.

SPREER, E. **Milk and Dairy Produtc Technology**. New York: Marcel Dekker, 1998. 483 p.

STAFF, M. C. Cultured milk and fresh cheeses. In: EARLY, R. **The Technology of Dairy Products**. 2nd ed. London: Thomson Science, 1998. p. 122-157.

STEFANSSON, G.; HULTIN, H. O. On the solubility of cod muscle proteins in water. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Thiverval-Grignon, v. 42, n. 12, p. 2656-2664, 1994.

STILES, M. E.; HOLZAPFEL, W. H. Lactic acid bactéria of foods and their current taxonomy. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 36, n. 1, p. 1-29, 1997.

STRADULIS, N. G. P.; LEMOS, A. L. S. C. Efeitos de vários métodos de processamento (sal, pH e calor) sobre o colágeno. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v. 29, n. 343, p. 36-38, 2005.

TAILLANDIER, P.; GILIS, F.; RAMON PORTUGAL, F.; LAFORCE, P.; STREHAIANO, P. Influence of medium composition, pH and temperature on the growth and viability of *Lactobacillus acidophilus*. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v. 18, n. 7, p. 775-780, 1996.

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

TAMINE, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yogur: ciencia y tecnologia**. Zaragoza: Acribia, 1991. 368p.

TEGGATZ, J. A.; MORRIS, H. A. Changes in the rheology and microstructure of ropy yogurt during shearing. **Food Structure**, Chicago, v. 9, n. 1, p. 133-138, 1990.

THOMOPOULOS, C.; TZIA, C.; MILKAS, D. Influence of processing of solids-fortified milk on coagulation time and quality properties of yoghurt. **Milchwissenschaft,** Munchen, v. 48, n. 8, p. 426-430, 1993.

UMBELINO, D. C.; CARDELLO, H. M. A. B; ROSSI, E. A. Efeito de diferentes sais de ferro sobre as características sensoriais do “iogurte” de soja. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas v. 51, n. 2, p. 199-203, 2001.

UMBELINO, D. C.; ROSSI, E. A.; CARDELLO, H. M. A. B.; LEPERA, J. S. Aspectos tecnológicos e sensoriais do “iogurte” de soja enriquecido com cálcio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 3, p. 276-280, 2001.

US DAIRY EXPORT COUNCIL SOUTH AMERICA. Tendências em proteínas de soro de leite. **Leite & Derivados**, São Paulo, Anuário 2008, edição 103, p. 10-14, 2008.

USDEC – United States Dairy Export Council. **Manual de referência para produtos de soro dos E.U.A.** Arlington: USDEC, 1997.

VASILJEVIC, T. SHAH, N. P. Probiotics: from Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, Barking, v. 18, n. 7, p. 714-728, 2008.

VARNAM; A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Leche y Productos Lácteos**: tecnologia, química e microbiologia. Zaragoza: Acribia, 1994. 476 p.

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

VINDEROLA, G. C.; MOCCHUITTI, P.; REINHEIMER, A. J. Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 4, p. 721-729, 2002.

WALSTRA, P.; GEURTS, T. J. NOOMEN, A.; JELLEMA, A.; VAN BOEKEL, M. A. J. S. **Dairy Technology**: principles of milk properties and processes. New York: Marcel Dekker, 1999. 727 p.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. **Dairy Science and Technology**. New York: CRC Press, 2006. 782 p.

WOLF, K. L. **Propriedades físico-químicas e mecânicas de biofilmes elaborados a partir de fibra e pó de colágeno**. 2007. 104 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", São José do Rio Preto, 2007.

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

ANEXO 1 – ANÁLISES DE VARIÂNCIA DOS RESULTADOS

Anova 1: Gordura (%) do leite em pó reconstituído dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	12	0,5344	0,0445	22,8241 **
Resíduo	26	0,0507	0,0019	
Total	38	0,5852		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 2: Proteína (%) do leite em pó reconstituído dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	12	0,2762	0,0230	390,2971 **
Resíduo	26	0,0015	0,0001	
Total	38	0,2777		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 3: Sólidos Não Gordurosos (%) do leite em pó reconstituído dos iogurtes com diferentes concentrações de suplemento protéico.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	12	1,9054	0,1588	324,2216 **
Resíduo	26	0,0127	0,0005	
Total	38	1,9182		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 4: Sólidos totais (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de isolado protéico de soro.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	2,3041	0,7668	10,1299 **
Dias de armazenamento (F2)	2	2,8530	1,4265	18,8449 **
Interação F1 × F2	6	8,2115	1,3686	18,0798 **
Fatores × Controle	1	635,3740	635,3740	8393,6855 **
Tratamentos	12	17,6701	1,4725	19,4528 **
Resíduo	26	1,9681	0,0757	
Total	38	19,6383		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 5: Sólidos totais (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de isolado protéico de soja.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	32,0874	10,6958	130,4647 **
Dias de armazenamento (F2)	2	0,7096	0,3548	4,3280 **
Interação F1 × F2	6	0,7092	0,1182	1,4417 ns
Fatores × Controle	1	693,3449	693,3449	8457,2404 **
Tratamentos	12	43,7445	3,6454	44,4653 **
Resíduo	26	2,1315	0,08200	
Total	38	45,8760		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

ns não significativo (p≥0,05).

Anova 6: Sólidos totais (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de fibra natural de colágeno.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	7,7716	2,5905	33,7273 **
Dias de armazenamento (F2)	2	0,9313	0,4656	6,0624 **
Interação F1 × F2	6	1,4338	0,2390	3,1112 *
Fatores × Controle	1	604,8535	604,8535	7874,8670 **
Tratamentos	12	12,2743	1,0229	13,3170 **
Resíduo	26	1,9970	0,0768	
Total	38	14,2713		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 7: Proteína (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de isolado protéico de soro..

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	7,9263	2,6421	329,0775 **
Dias de armazenamento (F2)	2	0,5467	0,2733	34,0450 **
Interação F1 × F2	6	0,1565	0,0261	3,2498 **
Fatores × Controle	1	59,9841	59,9841	7471,0640 **
Tratamentos	12	10,9611	0,9134	113,7674 **
Resíduo	26	0,2087	0,0080	
Total	38	11,1698		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 8: Proteína (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de isolado protéico de soja.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	31,0681	10,3560	1080,7045 **
Dias de armazenamento (F2)	2	1,0063	0,5031	52,5052 **
Interação F1 × F2	6	0,3978	0,0663	6,9183 **
Fatores × Controle	1	74,7972	74,7972	7805,4725 **
Tratamentos	12	38,3795	3,1983	333,7585 **
Resíduo	26	0,2491	0,0096	
Total	38	38,6287		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

Anova 9: Proteína (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de fibra natural de colágeno.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	8,4354	2,8118	540,4709 **
Dias de armazenamento (F2)	2	0,1791	0,0895	17,2103 **
Interação F1 × F2	6	0,2014	0,0336	6,4522 **
Fatores × Controle	1	51,7317	51,7317	9943,6009 **
Tratamentos	12	9,7655	0,8138	156,4222 **
Resíduo	26	0,1353	0,0052	
Total	38	9,9007		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

Anova 10: Gordura (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de isolado protéico de soro.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	0,0111	0,0037	2,8889 ns
Dias de armazenamento (F2)	2	0,0039	0,0019	1,5167 ns
Interação F1 × F2	6	0,0872	0,0145	11,3389 **
Fatores × Controle	1	45,5470	45,5470	35526,6667 **
Tratamentos	12	0,1036	0,0086	6,7333 **
Resíduo	26	0,0333	0,0013	
Total	38	0,1369		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

ns não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 11: Gordura (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de isolado protéico de soja.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	0,1186	0,0395	17,1327 **
Dias de armazenamento (F2)	2	0,0622	0,0311	13,4815 **
Interação F1 × F2	6	0,1089	0,0181	7,8642 **
Fatores × Controle	1	45,7344	45,7344	19818,2315 **
Tratamentos	12	0,2923	0,0244	10,5556 **
Resíduo	26	0,0600	0,0023	
Total	38	0,3523		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 12: Gordura (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de fibra natural de colágeno.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	0,0275	0,0092	5,9583 **
Dias de armazenamento (F2)	2	0,0039	0,0019	1,2639 ns
Interação F1 × F2	6	0,2117	0,3528	22,9306 **
Fatores × Controle	1	46,1103	46,1103	29971,6806 **
Tratamentos	12	0,2492	0,0208	13,5000 **
Resíduo	26	0,0400	0,0015	
Total	38	0,2892		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

ns não significativo (p ≥ 0,05).

Anova 13: Acidez titulável (% de ácido láctico) dos iogurtes com diferentes concentrações de isolado protéico de soro.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	0,0236	0,0079	10,0485 **
Dias de armazenamento (F2)	2	0,2519	0,1259	160,5297 **
Interação F1 × F2	6	0,0361	0,0060	7,6751 **
Fatores × Controle	1	3,3476	3,3476	4267,2008**
Tratamentos	12	0,3381	0,0282	35,9154 **
Resíduo	26	0,0204	0,0008	
Total	38	0,3585		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 14: Acidez titulável (% de ácido láctico) dos iogurtes com diferentes concentrações de isolado protéico de soja.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	0,7026	0,2342	299,2307 **
Dias de armazenamento (F2)	2	0,2199	0,1100	140,5143 **
Interação F1 × F2	6	0,0629	0,0104	13,3956 **
Fatores × Controle	1	3,6553	3,6553	4670,3589 **
Tratamentos	12	1,0454	0,0871	111,3100 **
Resíduo	26	0,0235	0,0008	
Total	38	1,0657		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 15: Acidez titulável (% de ácido láctico) dos iogurtes com diferentes concentrações de fibra natural de colágeno.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	0,3211	0,1070	87,9802 **
Dias de armazenamento (F2)	2	0,1756	0,0878	72,1883 **
Interação F1 × F2	6	0,0629	0,0105	8,6202 **
Fatores × Controle	1	3,3213	3,3213	2730,3743 **
Tratamentos	12	0,5838	0,0486	39,9923 **
Resíduo	26	0,0316	0,0012	
Total	38	0,6154		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 16: Capacidade de retenção de água (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de isolado protéico de soro.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	603,6845	201,2282	299,6707 **
Dias de armazenamento (F2)	2	127,0590	63,5295	94,6087 **
Interação F1 × F2	6	70,8559	11,8093	17,5865 **
Fatores × Controle	1	4640,4199	4640,4199	6910,5540**
Tratamentos	12	991,8772	82,6564	123,0927 **
Resíduo	26	17,4589	0,6715	
Total	38	1009,3361		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 17: Capacidade de retenção de água (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de isolado protéico de soja.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	553,5979	184,5326	391,3166 **
Dias de armazenamento (F2)	2	39,6401	19,8200	42,0300 **
Interação F1 × F2	6	66,6502	11,1084	23,5562 **
Fatores × Controle	1	3431,7742	3431,7742	7277,3593 **
Tratamentos	12	677,9919	56,4993	119,8115 **
Resíduo	26	12,2608	0,4716	
Total	38	690,2527		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

Anova 18: Capacidade de retenção de água (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de fibra natural de colágeno.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	639,6466	213,2155	208,1163 **
Dias de armazenamento (F2)	2	41,9424	20,9712	20,4697 **
Interação F1 × F2	6	114,2041	19,0340	18,5788 **
Fatores × Controle	1	4241,4435	4241,4435	4140,0052 **
Tratamentos	12	912,4302	76,0358	74,2174 **
Resíduo	26	26,6370	1,0245	
Total	38	939,0673		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

Anova 19: Sinérese (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de isolado protéico de soro.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	331,4097	110,4699	599,5778 **
Dias de armazenamento (F2)	2	0,7917	0,3958	2,1484 ns
Interação F1 × F2	6	11,4861	1,9143	10,3902 **
Fatores × Controle	1	447,2356	447,2356	2427,3808 **
Tratamentos	12	689,9235	57,4936	312,0479 **
Resíduo	26	4,7904	0,1842	
Total	38	694,7139		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

ns não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 20: Sinérese (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de isolado protéico de soja.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	480,0764	160,0255	491,9746 **
Dias de armazenamento (F2)	2	32,9306	16,4653	50,6201 **
Interação F1 × F2	6	29,7361	4,9560	15,2365 **
Fatores × Controle	1	1063,5262	1063,5262	3269,6538 **
Tratamentos	12	593,7743	49,4812	152,1226 **
Resíduo	26	8,4571	0,3253	
Total	38	602,2313		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 21: Sinérese (%) dos iogurtes com diferentes concentrações de fibra natural de colágeno.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	2341,1667	780,3889	3810,6835 **
Dias de armazenamento (F2)	2	11,2739	5,6369	27,5255 **
Interação F1 × F2	6	23,4550	3,9092	19,0887 **
Fatores × Controle	1	395,0855	395,0855	1929,2249 **
Tratamentos	12	2771,0545	230,9212	1127,6014 **
Resíduo	26	5,3245	0,2048	
Total	38	2776,3791		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 22: População de *S. thermophilus* (logUFC/mL) dos iogurtes com diferentes concentrações de isolado protéico de soro.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	26,4505	8,8168	2188,3794 **
Dias de armazenamento (F2)	2	11,0568	5,5284	1372,1744 **
Interação F1 × F2	6	4,3422	0,7237	179,6239 **
Fatores × Controle	1	237,6599	237,6599	58988,2695 **
Tratamentos	12	41,9081	3,4923	866,8140 **
Resíduo	26	0,0524	0,0040	
Total	38	41,9604		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 23: População de *S. thermophilus* (logUFC/mL) dos iogurtes com diferentes concentrações de isolado protéico de soja.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	0,5946	0,1982	65,5775 **
Dias de armazenamento (F2)	2	27,3820	13,6910	4529,8036 **
Interação F1 × F2	6	0,4947	0,0824	27,2801 **
Fatores × Controle	1	217,6940	217,6940	72026,1121 **
Tratamentos	12	29,2882	2,4407	807,5226 **
Resíduo	26	0,0393	0,0030	
Total	38	29,3275		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 24: População de *S. thermophilus* (logUFC/mL) dos iogurtes com diferentes concentrações de fibra natural de colágeno.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	2,9056	0,9685	370,5998 **
Dias de armazenamento (F2)	2	2,7070	1,3535	517,9160 **
Interação F1 × F2	6	17,0763	2,8460	1089,0251 **
Fatores × Controle	1	185,1639	185,1639	70852,1185 **
Tratamentos	12	26,8944	2,2412	857,5842 **
Resíduo	26	0,0340	0,0026	
Total	38	26,9284		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 25: População de *L. bulgaricus* (logUFC/mL) dos iogurtes com diferentes concentrações de isolado protéico de soro.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	34,8966	11,6322	885,3000 **
Dias de armazenamento (F2)	2	24,0506	12,0253	915,2196 **
Interação F1 × F2	6	15,1459	2,5243	192,1198 **
Fatores × Controle	1	126,8941	126,8941	9657,6314 **
Tratamentos	12	77,2401	6,4367	489,8809 **
Resíduo	26	0,1708	0,0131	
Total	38	77,4109		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 26: População de *L. bulgaricus* (logUFC/mL) dos iogurtes com diferentes concentrações de isolado protéico de soja.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	45,6865	15,2288	106,9516 **
Dias de armazenamento (F2)	2	15,2496	7,6248	53,5488 **
Interação F1 × F2	6	45,6466	7,6078	53,4291 **
Fatores × Controle	1	173,6319	173,6319	1219,4108 **
Tratamentos	12	120,1709	10,0142	70,3296 **
Resíduo	26	1,8511	0,1424	
Total	38	122,0220		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 27: População de *L. bulgaricus* (logUFC/mL) dos iogurtes com diferentes concentrações de fibra natural de colágeno.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	3	54,1148	18,0383	5906,9115 **
Dias de armazenamento (F2)	2	10,5008	5,2504	1719,3258 **
Interação F1 × F2	6	30,4297	5,0716	1660,7796 **
Fatores × Controle	1	176,5401	176,5401	57810,8019 **
Tratamentos	12	109,4557	9,1213	2986,9126 **
Resíduo	26	0,0397	0,0030	
Total	38	109,4954		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

Anova 28: Gordura (%) das amostras de leite em pó reconstituído dos testes sobre efeito da cultura lática.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	13	0,9807	0,0754	6,0800 **
Resíduo	70	0,8685	0,0124	
Total	83	1,8492		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

ns não significativo (p ≥ 0,05).

Anova 29: Proteína (%) das amostras de leite em pó reconstituído dos testes sobre efeito da cultura lática.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	13	0,5263	0,0405	4,8314 **
Resíduo	70	0,5866	0,0084	
Total	83			

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

ns não significativo (p ≥ 0,05).

Anova 30: Sólidos Não Gordurosos (%) das amostras de leite em pó reconstituído dos testes sobre efeito da cultura lática.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	13	3,78022	0,2908	4,8225 **
Resíduo	70	4,22085	0,0603	
Total	83	8,00107		

Anova 31: Tempo de fermentação (min) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	308,1667	308,1667	1,5772 ns
Tipo de proteína (F2)	2	1329,3333	664,6667	3,4018 ns
Concentração de proteína (F3)	1	73,5000	73,5000	0,3762 ns
Interação F1 × F2	2	377,3333	188,6667	0,9656 ns
Interação F1 × F3	1	121,5000	121,5000	0,6219 ns
Interação F2 × F3	2	100,0000	50,0000	0,2559 ns
Interação F1 × F2 × F3	2	28,0000	14,0000	0,0717 ns
Fatores × Controle	1	120910,7820	120910,7820	618,8347 ns
Tratamentos	12	2382,4615	198,5385	1,0161 ns
Resíduo	13	2540,0000	195,3846	
Total	25	4922,4615		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

ns não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 32: Tempo para atingir a velocidade máxima de acidificação (min) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	73,5000	73,5000	0,8794 ns
Tipo de proteína (F2)	2	1339,0000	669,5000	8,0106 **
Concentração de proteína (F3)	1	160,1667	160,1667	1,9164 ns
Interação F1 × F2	2	57,0000	28,5000	0,3410 ns
Interação F1 × F3	1	0,1667	0,1667	0,0020 ns
Interação F2 × F3	2	12,3333	6,1667	0,0738 ns
Interação F1 × F2 × F3	2	66,3333	33,1667	0,3968 ns
Fatores × Controle	1	28730,8846	28730,8846	343,7658 **
Tratamentos	12	1884,0000	157,0000	1,8785 ns
Resíduo	13	1086,5000	83,5769	
Total	25	2970,5000		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

ns não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 33: Sólidos totais (%) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	3,6219	3,6219	16,8277 **
Tipo de proteína (F2)	2	7,0570	3,5285	16,3940 **
Concentração de proteína (F3)	1	9,9803	9,9803	46,3700 **
Dias de armazenamento (F4)	2	0,8370	0,4185	1,9445 ^{ns}
Interação F1 × F2	2	11,4813	5,7406	26,6719 **
Interação F1 × F3	1	0,0063	0,0063	0,0294 ^{ns}
Interação F1 × F4	2	0,2225	0,1113	0,5169 ^{ns}
Interação F2 × F3	2	0,2308	0,1154	0,5362 ^{ns}
Interação F2 × F4	4	0,2661	0,0665	0,3091 ^{ns}
Interação F3 × F4	2	0,0203	0,0102	0,0472 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3	2	0,0550	0,0275	0,1278 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F4	4	0,6990	0,1748	0,8120 ^{ns}
Interação F1 × F3 × F4	2	0,0858	0,0429	0,1994 ^{ns}
Interação F2 × F3 × F4	4	0,4002	0,1000	0,4648 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3 × F4	4	0,4442	0,1110	0,5160 ^{ns}
Fatores × Controle	1	1365,6781	1365,6781	6345,1504 **
Tratamentos	36	40,84375	1,1345	5,2713 **
Resíduo	185	39,8179	0,2152	
Total	221	80,6616		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 34: Proteína (%) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	0,5241	0,5241	27,0217 **
Tipo de proteína (F2)	2	2,4005	1,2002	61,8796 **
Concentração de proteína (F3)	1	11,9662	11,9662	616,9363 **
Dias de armazenamento (F4)	2	0,2336	0,1168	6,0207 **
Interação F1 × F2	2	1,0102	0,5051	26,0425 **
Interação F1 × F3	1	0,0016	0,0016	0,0803 ^{ns}
Interação F1 × F4	2	0,1073	0,0537	2,7664 ^{ns}
Interação F2 × F3	2	0,2027	0,1014	5,2261 **
Interação F2 × F4	4	0,3401	0,0850	4,3840 **
Interação F3 × F4	2	0,0003	0,0002	0,0087 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3	2	0,0742	0,0371	1,9133 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F4	4	0,1673	0,0418	2,1562 ^{ns}
Interação F1 × F3 × F4	2	0,0466	0,0233	1,2022 ^{ns}
Interação F2 × F3 × F4	4	0,0160	0,0040	0,2065 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3 × F4	4	0,0792	0,0198	1,0211 ^{ns}
Fatores × Controle	1	107,6954	107,6954	5552,3914 **
Tratamentos	36	19,3788	0,5383	27,7528 **
Resíduo	185	3,5883	0,0194	
Total	221	22,9671		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 35: Gordura (%) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	0,0856	0,0856	23,9945 **
Tipo de proteína (F2)	2	0,0673	0,0337	9,4343 **
Concentração de proteína (F3)	1	0,0778	0,0778	21,8143 **
Dias de armazenamento (F4)	2	0,0093	0,0046	1,2977 ^{ns}
Interação F1 × F2	2	0,0679	0,0339	9,5121 **
Interação F1 × F3	1	0,0389	0,0389	10,9137 **
Interação F1 × F4	2	0,0015	0,0007	0,2076 ^{ns}
Interação F2 × F3	2	0,0590	0,0295	8,2663 **
Interação F2 × F4	4	0,0027	0,0007	0,1882 ^{ns}
Interação F3 × F4	2	0,0248	0,0124	3,4778 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3	2	0,0451	0,2255	6,3198 **
Interação F1 × F2 × F4	4	0,0171	0,0043	1,2004 ^{ns}
Interação F1 × F3 × F4	2	0,0059	0,0030	0,8305 ^{ns}
Interação F2 × F3 × F4	4	0,0221	0,0055	1,5508 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3 × F4	4	0,0088	0,0022	0,6164 ^{ns}
Fatores × Controle	1	104,0949	104,0949	29,178,1148 **
Tratamentos	36	0,5647	0,0157	4,3967 **
Resíduo	185	0,6600	0,0036	
Total	221	1,2247		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 36: Acidez titulável (%) dos iogurtes com diferentes culturas láticas.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	0,1998	0,1998	93,7530 **
Tipo de proteína (F2)	2	0,0057	0,0029	1,3484 ^{ns}
Concentração de proteína (F3)	1	0,0644	0,0644	30,2184 **
Dias de armazenamento (F4)	2	4,1790	2,0895	980,2787 **
Interação F1 × F2	2	0,0530	0,0265	12,4350 **
Interação F1 × F3	1	0,0055	0,0055	2,5805 ^{ns}
Interação F1 × F4	2	0,0470	0,0235	11,0178 **
Interação F2 × F3	2	0,0087	0,0044	2,0469 ^{ns}
Interação F2 × F4	4	0,0391	0,0098	4,5819 **
Interação F3 × F4	2	0,0020	0,0010	0,4628 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3	2	0,0017	0,0009	0,4075 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F4	4	0,0039	0,0010	0,4617 ^{ns}
Interação F1 × F3 × F4	2	0,0022	0,0011	0,5215 ^{ns}
Interação F2 × F3 × F4	4	0,0038	0,0010	0,4508 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3 × F4	4	0,0049	0,0012	0,5798 ^{ns}
Fatores × Controle	1	9,3672	9,3672	4394,5731 **
Tratamentos	36	4,6328	0,1287	60,3734 **
Resíduo	185	0,3943	0,0021	
Total	221	5,0271		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 37: Capacidade de retenção de água (%) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	78,5420	78,5420	6,0417 *
Tipo de proteína (F2)	2	2063,6284	1031,8142	79,3708 **
Concentração de proteína (F3)	1	968,1210	968,1210	74,4713 **
Dias de armazenamento (F4)	2	202,2096	101,1048	7,7773 **
Interação F1 × F2	2	141,7524	70,8762	5,4521 **
Interação F1 × F3	1	63,1045	63,1045	4,8542 *
Interação F1 × F4	2	51,5862	25,7931	1,9841 ^{ns}
Interação F2 × F3	2	454,2432	227,1216	17,4710 **
Interação F2 × F4	4	132,5976	33,1494	2,5500 *
Interação F3 × F4	2	1,5215	0,7607	0,0585 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3	2	60,7488	30,3744	2,3365 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F4	4	184,9268	46,2317	3,5563 **
Interação F1 × F3 × F4	2	5,0855	2,5427	0,1956 ^{ns}
Interação F2 × F3 × F4	4	2,5299	0,6325	0,0487 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3 × F4	4	4,1234	1,0308	0,0793 ^{ns}
Fatores × Controle	1	8960,8049	8960,8049	689,2972 **
Tratamentos	36	4532,1573	125,8933	9,6842 **
Resíduo	185	2404,9843	12,9999	
Total	221	6937,1416		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

* significativo ao nível de 5% e probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$).

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 38: Sinérese (%) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	59,7452	59,7452	20,5205 **
Tipo de proteína (F2)	2	3275,8533	1637,9267	562,5740**
Concentração de proteína (F3)	1	1298,5007	1298,5007	445,9924**
Dias de armazenamento (F4)	2	6,0219	3,0110	1,0342 ^{ns}
Interação F1 × F2	2	113,9570	56,9785	19,5703**
Interação F1 × F3	1	0,1350	0,1350	0,0464 ^{ns}
Interação F1 × F4	2	1,7312	0,8656	0,2973 ^{ns}
Interação F2 × F3	2	1044,3181	522,1591	179,3445 **
Interação F2 × F4	4	64,3564	16,0891	5,5261 **
Interação F3 × F4	2	64,5756	32,2878	11,0898 **
Interação F1 × F2 × F3	2	26,7144	13,3572	4,5878 *
Interação F1 × F2 × F4	4	2,6249	0,6562	0,2254 ^{ns}
Interação F1 × F3 × F4	2	16,3219	8,1610	2,8030 ^{ns}
Interação F2 × F3 × F4	4	35,6471	8,9118	3,0609 *
Interação F1 × F2 × F3 × F4	4	54,5453	13,6363	4,6836 **
Fatores × Controle	1	1347,2955	1347,2955	462,7518 **
Tratamentos	36	6321,2747	175,5910	60,3097 **
Resíduo	185	538,6250	2,9115	
Total	221	6859,8997		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

* significativo ao nível de 5% e probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$).

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 39: População de *S. thermophilus* (UFC/mL) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	1,7113	1,7113	4,0379 *
Tipo de proteína (F2)	2	0,6905	0,3453	0,8147 ^{ns}
Concentração de proteína (F3)	1	1,4678	1,4678	3,4634 ^{ns}
Dias de armazenamento (F4)	2	53,5445	26,7723	63,1712 **
Interação F1 × F2	2	1,1553	0,5776	1,3630 ^{ns}
Interação F1 × F3	1	0,1215	0,1215	0,2866 ^{ns}
Interação F1 × F4	2	3,2388	1,6194	3,8211 *
Interação F2 × F3	2	0,5123	0,2561	0,6044 ^{ns}
Interação F2 × F4	4	4,5655	1,1414	2,6931 *
Interação F3 × F4	2	0,4147	0,2073	0,4892 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3	2	2,1633	1,0816	2,5522 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F4	4	1,9430	0,4857	1,1461 ^{ns}
Interação F1 × F3 × F4	2	0,3406	0,1703	0,4019 ^{ns}
Interação F2 × F3 × F4	4	0,9075	0,2269	0,5353 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3 × F4	4	1,3645	0,3411	0,8049 ^{ns}
Fatores × Controle	1	535,3398	535,3398	1263,1754 **
Tratamentos	36	74,3174	2,0644	4,8710 **
Resíduo	185	47,0423	0,4238	
Total	221	121,3597		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

* significativo ao nível de 5% e probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$).

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 40: População de *L. bulgaricus* (UFC/mL) dos iogurtes fermentados com diferentes culturas láticas.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	1,9592	1,9592	7,4250 **
Tipo de proteína (F2)	2	0,7763	0,3881	1,4711 ^{ns}
Concentração de proteína (F3)	1	0,6687	0,6687	2,5344 ^{ns}
Dias de armazenamento (F4)	2	87,7494	43,8747	166,2805 **
Interação F1 × F2	2	0,8448	0,4224	1,6008 ^{ns}
Interação F1 × F3	1	1,1795	1,1795	4,4701 *
Interação F1 × F4	2	2,3503	1,1751	4,4537 *
Interação F2 × F3	2	6,3048	3,1524	11,9474 **
Interação F2 × F4	4	0,9542	0,2385	0,9041 ^{ns}
Interação F3 × F4	2	0,3722	0,1861	0,7053 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3	2	0,5326	0,2663	1,0093 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F4	4	0,5052	0,1263	0,4786 ^{ns}
Interação F1 × F3 × F4	2	0,2653	0,1327	0,5028 ^{ns}
Interação F2 × F3 × F4	4	8,5707	2,1427	8,1205 **
Interação F1 × F2 × F3 × F4	4	2,3012	0,5753	2,1804 ^{ns}
Fatores × Controle	1	531,1176	531,1176	2012,8812 **
Tratamentos	36	116,9416	3,2484	12,3110 **
Resíduo	185	29,2884	0,2639	
Total	221	146,2298		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

* significativo ao nível de 5% e probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$).

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 41: População de *L. acidophilus* (UFC/mL) dos iogurtes fermentados com cultura Rich + La-05.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de proteína (F1)	2	0,1102	0,0551	0,1440 ^{ns}
Concentração de proteína (F2)	1	1,7586	1,7586	4,5945 *
Dias de armazenamento (F3)	2	49,4423	24,7212	64,5869 **
Interação F1 × F2	2	3,3802	1,6901	4,4156 *
Interação F1 × F3	4	9,4698	2,3675	6,1853 **
Interação F2 × F3	2	0,7956	0,3978	1,0393 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3	4	7,7330	1,9333	5,0509 **
Fatores × Controle	1	659,9292	659,9292	1724,1424 **
Tratamentos	18	72,9457	4,0525	10,5877 **
Resíduo	57	21,8172	0,3828	
Total	75	94,7629		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

* significativo ao nível de 5% e probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$).

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 42: Índice de consistência (Pa.s^n) obtidos nas curvas ascendentes dos iogurtes com isolado protéico de soro.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	8,6490	8,6490	0,1139 ^{ns}
Concentração de proteína (F2)	1	1838,5529	1838,5529	24,2097 **
Dias de armazenamento (F3)	2	458,0569	229,02843	3,0158 ^{ns}
Interação F1 × F2	1	172,0919	172,0919	2,2661 ^{ns}
Interação F1 × F3	2	46,9199	23,4599	0,3089 ^{ns}
Interação F2 × F3	2	249,1320	124,5660	1,6403 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3	2	60,4744	30,2372	0,3982 ^{ns}
Tratamentos	11	2833,8770	257,6252	3,3924 **
Resíduo	12	911,3149	75,9429	
Total	23	3745,1919		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$). ^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 43: Índice de consistência (Pa.s^n) obtidos nas curvas descendentes dos iogurtes com isolado protéico de soro.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	0,6501	0,6501	3,6659 ^{ns}
Concentração de proteína (F2)	1	4,3458	4,3458	24,5072 **
Dias de armazenamento (F3)	2	4,6272	2,3136	13,0468 **
Interação F1 × F2	1	0,6472	0,6472	3,6498 ^{ns}
Interação F1 × F3	2	0,1089	0,0544	0,3071 ^{ns}
Interação F2 × F3	2	0,2325	0,1162	0,6555 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3	2	0,4382	0,2191	1,2356 ^{ns}
Tratamentos	11	11,0499	1,0045	5,6648 **
Resíduo	12	2,1279	0,1773	
Total	23	13,1778		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 44: Índice de consistência (Pa.s^n) obtidos na curva ascendente dos iogurtes com isolado protéico de soja.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	1,1201	1,1201	1,8584 ^{ns}
Concentração de proteína (F2)	1	0,8063	0,8063	1,3377 ^{ns}
Dias de armazenamento (F3)	2	0,9893	0,4946	0,8206 ^{ns}
Interação F1 × F2	1	0,6441	0,6441	1,0687 ^{ns}
Interação F1 × F3	2	0,0616	0,0308	0,0511 ^{ns}
Interação F2 × F3	2	2,6102	1,3051	2,1653 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3	2	1,88741	0,9437	1,5657 ^{ns}
Tratamentos	11	8,1174	0,7381	1,2246 ^{ns}
Resíduo	12	7,2328	0,6027	
Total	23	15,3518		

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 45: Índice de consistência (Pa.s^n) obtidos na curva descendente dos iogurtes com isolado protéico de soja.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	0,0060	0,0060	0,0371 ^{ns}
Concentração de proteína (F2)	1	1,4977	1,4977	9,2901 ^{ns}
Dias de armazenamento (F3)	2	5,9905	2,9953	18,5794 **
Interação F1 × F2	1	0,0222	0,0222	0,1377 ^{ns}
Interação F1 × F3	2	0,0291	0,0145	0,0902 ^{ns}
Interação F2 × F3	2	0,3480	0,1740	1,0793 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3	2	0,3004	0,1502	0,9318 ^{ns}
Tratamentos	11	8,1940	0,7449	4,6206 **
Resíduo	12	1,9346	0,1612	
Total	23	10,1286		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 46: Índice de consistência (Pa.s^n) obtidos na curva ascendente dos iogurtes com 1,0% de fibra natural de colágeno.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	1	95,4060	95,4060	0,6988 ^{ns}
Dias de armazenamento (F2)	2	51,4076	25,7038	0,1883 ^{ns}
Interação F1 × F2	2	23,7147	11,8573	0,0868 ^{ns}
Tratamentos	5	170,5283	34,1057	0,2498 ^{ns}
Resíduo	6	819,2271	136,5379	
Total	11	989,7554		

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 47: Índice de consistência (Pa.s^n) obtidos na curva descendente dos iogurtes com 1,0% de fibra natural de colágeno.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	1	0,0661	0,0994	0,2333 ^{ns}
Dias de armazenamento (F2)	2	3,5427	1,7713	4,1556 ^{ns}
Interação F1 × F2	2	0,0950	0,0751	0,1115 ^{ns}
Tratamentos	5	3,7371	0,7474	1,7535 ^{ns}
Resíduo	6	2,5575	0,4263	
Total	11	6,2947		

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 48: Índices de comportamento de fluxo obtidos na curva ascendente dos iogurtes com isolado protéico de soro.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	0,0045	0,0045	3,2100 ^{ns}
Concentração de proteína (F2)	1	0,0610	0,0610	43,5242 ^{ns}
Dias de armazenamento (F3)	2	0,0128	0,0064	4,5655 ^{ns}
Interação F1 × F2	1	0,0002	0,0002	0,1356 ^{ns}
Interação F1 × F3	2	0,0042	0,0021	1,5117 ^{ns}
Interação F2 × F3	2	0,0064	0,0032	2,3001 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3	2	0,0041	0,0020	1,4543 ^{ns}
Tratamentos	11	0,0933	0,0085	6,0484 ^{ns}
Resíduo	12	0,0168	0,0014	
Total	23	0,1101		

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 49: Índices de comportamento de fluxo obtidos na curva descendente dos iogurtes com isolado protéico de soro.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	0,0036	0,0036	8,60321 ^{ns}
Concentração de proteína (F2)	1	0,0001	0,0001	0,5311 ^{ns}
Dias de armazenamento (F3)	2	0,0087	0,0044	22,6531 **
Interação F1 × F2	1	0,0014	0,0014	7,5347 ^{ns}
Interação F1 × F3	2	0,0006	0,0003	1,6809 ^{ns}
Interação F2 × F3	2	0,0000	0,0000	0,0067 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3	2	0,0019	0,0009	4,9024 ^{ns}
Tratamentos	11	0,0164	0,0015	7,7414 ^{ns}
Resíduo	12	0,0023	0,0002	
Total	23	0,0187		

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p<0,01$).

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 50: Índices de comportamento de fluxo obtidos na curva ascendente dos iogurtes com isolado protéico de soja.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	0,0001	0,0001	0,2932 ^{ns}
Concentração de proteína (F2)	1	0,0003	0,0003	0,6259 ^{ns}
Dias de armazenamento (F3)	2	0,0058	0,0029	3,1836 ^{ns}
Interação F1 × F2	1	0,0005	0,0005	0,9909 ^{ns}
Interação F1 × F3	2	0,0001	0,0000	0,0914 ^{ns}
Interação F2 × F3	2	0,0023	0,0012	2,4512 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3	2	0,0027	0,0013	2,8261 ^{ns}
Tratamentos	11	0,0118	0,0011	2,2741 ^{ns}
Resíduo	12	0,0057	0,0005	
Total	23	0,0175		

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 51: Índices de comportamento de fluxo obtidos na curva descendente dos iogurtes com isolado protéico de soja.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Tipo de cultura (F1)	1	0,0005	0,0005	1,0321 ^{ns}
Concentração de proteína (F2)	1	0,0013	0,0013	2,5933 ^{ns}
Dias de armazenamento (F3)	2	0,0012	0,0006	1,1656 ^{ns}
Interação F1 × F2	1	0,0003	0,0003	0,6174 ^{ns}
Interação F1 × F3	2	0,0000	0,0000	0,0334 ^{ns}
Interação F2 × F3	2	0,0006	0,0003	0,6389 ^{ns}
Interação F1 × F2 × F3	2	0,0005	0,0003	0,5417 ^{ns}
Tratamentos	11	0,0045	0,0004	0,8183 ^{ns}
Resíduo	12	0,0060	0,0005	
Total	23	0,0105		

Anova 52: Índices de comportamento de fluxo obtidos na curva ascendente dos iogurtes com fibra natural de colágeno.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	1	0,0013	0,0013	0,3701 ^{ns}
Dias de armazenamento (F2)	2	0,0048	0,0024	0,6871 ^{ns}
Interação F1 × F2	2	0,0006	0,0003	0,0907 ^{ns}
Tratamentos	5	0,0067	0,0013	0,3851 ^{ns}
Resíduo	6	0,0208	0,0035	
Total	11	0,0275		

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Anova 53: Índices de comportamento de fluxo obtidos na curva descendente dos iogurtes com fibra natural de colágeno.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Concentração de proteína (F1)	1	0,0005	0,0005	0,3231 ^{ns}
Dias de armazenamento (F2)	2	0,0323	0,0161	0,5831 ^{ns}
Interação F1 × F2	2	0,0013	0,0006	0,44158 ^{ns}
Tratamentos	5	0,03404	0,0068	0,7146 ^{ns}
Resíduo	6	0,0087	0,0014	
Total	11	0,0427		

^{ns} não significativo ($p \geq 0,05$).

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo