

ANA CLÁUDIA LOPES FONTES

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE BEBIDA LÁCTEA
TRATADA TERMICAMENTE APÓS FERMENTAÇÃO**

Dissertação apresentada
à Universidade Federal de
Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2007

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

F677d
2007

Fontes, Ana Cláudia Lopes, 1980-

Desenvolvimento e avaliação de bebida láctea tratada termicamente após fermentação / Ana Cláudia Lopes Fontes. – Viçosa, MG, 2007.
viii, 40f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Sebastião Cesar Cardoso Brandão.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 36-40.

1. Soro de leite. 2. Bebidas - Conservação. 3. Bebidas - Vida de prateleira. 4. Bebidas - Análise. 5. Bebidas - Indústria. 6. Alimentos - Microbiologia. 7. Iogurte. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 637.1

ANA CLÁUDIA LOPES FONTES

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE BEBIDA LÁCTEA
TRATADA TERMICAMENTE APÓS FERMENTAÇÃO**

Dissertação apresentada
à Universidade Federal de
Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

APROVADA: 11 de dezembro de 2007.

Prof. Antônio Fernandes de Carvalho
(Co-Orientador)

Prof^a. Maria Cristina Dantas Vanetti
(Co-Orientador)

Pesq. Cláudia Lúcia de Oliveira Pinto

Prof. José Benício Paes Chaves

Prof. Sebastião Cesar Cardoso Brandão
(Orientador)

“Nada te perturbe,
nada te amedronte.
Tudo passa.
Só Deus nunca muda.
A paciência tudo alcança;
A quem tem Deus, nada falta.
Só Deus basta.”

Teresa d'Ávila

Aos meus preciosos pais (in memória),
pelo amor, dedicação, orações,
por me ensinarem os melhores valores;
Ao meu querido irmão Antônio Carlos
e querida cunhada Sílvia, pela amizade e amor;
Às queridas tias Lucy, tia Carmem e à avó mais linda por todo amor;
A Marcos e Simone, e filhos, pelo cuidado, amor e exemplo de família;
dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me conceder a vida, por me educar, pela sua graça e bondade.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realizar este curso.

À FAPEMIG, pela bolsa de estudo.

Agradeço ao meu orientador: professor Brandão, pela orientação, pela compreensão, pelo exemplo profissional, ético e humano, por todas as oportunidades de aprendizado em minha vida acadêmica.

Aos professores e co-orientadores Antônio e Cristina pelas sugestões, apoio, disponibilidade e interesse demonstrado.

Ao professor Benício e à pesquisadora da EPAMIG Cláudia Lúcia, pela atenção, disponibilidade e contribuições.

Aos queridos funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos e do Laticínios Funarbe pela amizade e pela ajuda imprescindível neste trabalho.

Aos estagiários: Francilene, Lorenlay, Marília, Renata, Jordânia e Liliane, pela imensa ajuda na realização deste trabalho.

Aos amigos do laboratório: Maurício, Balta, Adenilson, Lívia, Patrícia, Cláudia, Veridiana, Nívio, Luana, Giana, Alexandre, Geruza, Tiago e Bruno.

Aos queridos amigos da Fraternidade Pequena Via, pela acolhida e por aprendermos juntos a importância do outro, do amor e de Deus.

Às minhas amigas maravilhosas: Lindayane, Fatinha, Milene, Gilcimara, Meliza, Janaína, Guaraciaba, Fabiana, Ritinha, Margarete, Ana Maria, Luciana, Geovania e Fernanda pelo carinho, atenção e amizade.

Às amigas de república pela convivência e tantos bons momentos.

A todos os meus amigos, de perto e de longe, de curta e de longa data, pela companhia, pelas palavras de ânimo e apoio, pelo afeto e pela alegria constante. Vocês serão sempre especiais.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram,

Meus sinceros agradecimentos!

BIOGRAFIA

Ana Cláudia Lopes Fontes, filha de Abigail Lopes Fontes e Antônio Santana Fontes, nasceu em Porto Firme, Minas Gerais, em 09 de maio de 1980. Morou com a família em Porto Firme até concluir a oitava série na Escola Estadual Imaculada Conceição .

Em 1996 mudou-se para Viçosa para continuar seus estudos.

De 1996 a 1998 cursou o segundo grau no COLUNI, Colégio Universitário - UFV.

Em 1999, iniciou o curso superior em Ciência e Tecnologia de Laticínios pela Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em agosto de 2003.

Em fevereiro de 2005, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos desta mesma instituição.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Deterioração e conservação de alimentos	3
2.2. Tecnologia de barreiras	3
2.2.1. O conceito de barreiras	3
2.2.2. Efeito de barreira	3
2.2.3. Aspectos básicos da tecnologia de barreiras	4
2.2.4. Tecnologia de barreiras em produtos lácteos	7
2.2.5. Processamento térmico de alimentos	9
2.3. Soro de leite	12
2.4. Bebidas lácteas	14
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1. Pesquisa de mercado	16
3.2. Plano de amostragem	16
3.3. Testes preliminares	18
3.4. Elaboração do produto	19
3.4.1. Composição dos ingredientes usados no produto	19
3.4.2. Preparo do iogurte	20
3.4.3. Preparo do soro	20
3.4.4. Fabricação da bebida láctea tratada termicamente após fermentação	20
3.5. Caracterização do soro de leite, do iogurte e da bebida láctea tratada termicamente após fermentação	22
3.6. Acompanhamento das características físico-químicas e microbiológicas do produto durante o período de estocagem	22
3.6.1. Determinação de pH e acidez titulável	22
3.6.2. Análises microbiológicas	23
3.7. Teste de aceitação sensorial	24
3.8. Análises estatísticas	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1. Pesquisa de mercado	25

4.2. Testes preliminares	28
4.3. Aspecto da bebida	29
4.4. Caracterização do soro de leite, do iogurte e da bebida láctea tratada termicamente após fermentação	29
4.5. Acompanhamento do produto durante a estocagem	30
4.5.1. Análises físico-químicas de pH e acidez titulável	30
4.5.2. Análises microbiológicas	32
4.5.3. Aceitação sensorial	33
5. CONCLUSÕES	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

RESUMO

FONTES, Ana Cláudia Lopes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2007. **Desenvolvimento e avaliação de bebida láctea tratada termicamente após fermentação.** Orientador: Sebastião Cesar Cardoso Brandão. Co-Orientadores: Antônio Fernandes de Carvalho e Maria Cristina Dantas Vanetti.

Foi desenvolvida uma tecnologia para fabricação de bebida láctea tratada termicamente após fermentação, estável a temperatura ambiente por 35 dias, sem utilizar tratamentos térmicos extremos. Para avaliar a estabilidade do produto durante os 35 dias de estocagem à temperatura ambiente, foram realizadas periodicamente análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. Os resultados não evidenciaram ($P > 0,05$) variação significativa no pH e na acidez titulável da bebida láctea ao longo do período de estocagem. A bebida apresentou contagem inicial de mesófilos aeróbios baixa, sendo de $2,9 \times 10^2$ UFC.mL⁻¹ na primeira repetição, $3,0 \times 10^1$ UFC.mL⁻¹ na segunda repetição e $4,8 \times 10^1$ UFC.mL⁻¹ na terceira repetição. A partir da segunda semana observou-se que esta contagem diminuiu e permaneceu inferior a 10 UFC.mL⁻¹ até o fim do tempo de estocagem. Não houve contaminação por coliformes, fungos filamentosos ou leveduras, indicando condições adequadas de processamento, pasteurização e higiene. A bebida láctea desenvolvida apresentou boa aceitação sensorial durante período analisado apresentando média de 7,17, situando-se entre os termos hedônicos gostei moderadamente e gostei muito. O tratamento térmico aplicado (65 °C/15min) aliado ao pH baixo do produto (3,4) e conservantes foi suficiente para a estabilidade físico-química e microbiológica do produto. A bebida láctea tratada termicamente após fermentação é uma forma potencial para utilização do soro de leite líquido e seu processo de fabricação pode ser facilmente adaptado por uma indústria de laticínios.

ABSTRACT

FONTES, Ana Cláudia Lopes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2007. **Development and evaluation of dairy beverage thermal treated after fermentation.** Adviser: Sebastião Cesar Cardoso Brandão. Co-Advisers: Antônio Fernandes de Carvalho and Maria Cristina Dantas Vanetti.

It was studied a technology for the production of a dairy beverage heat treated after fermentation, stable at room temperature for 35 days, without extreme heat treatments. To evaluate product stability during 35 days of storage at room temperature, periodical physicochemical, microbiologic and sensorial analysis were done. Results did not show ($P > 0,05$) significant variation on pH or titratable acidity along the storage time. The beverage presented a low initial standard plate count, $2,9 \times 10^2$ UFC.mL⁻¹ at the first repetition, $3,0 \times 10^1$ UFC.mL⁻¹ at the second repetition and $4,8 \times 10^1$ UFC.mL⁻¹ at the third repetition. After the second week it was observed that this count lowered and remained below 10 UFC.mL⁻¹. There was no contamination by coliform, filamentous molds or yeasts, indicating appropriate conditions of processing, pasteurization and hygiene. The developed dairy beverage presented good sensorial acceptance during storage, presenting acceptance of 7,17 in a 9 point hedonic scale, being among the hedonics terms liked it moderately and liked it a lot. The applied heat treatment (65 °C/15min) combined to the low pH of the product (3,4) and the use of preservatives was enough for the physicochemical and microbiological stability of the product. The dairy beverage heat treated after fermentation has a potential for the use of the liquid whey. The process can be easily adapted to the dairy industry.

1. INTRODUÇÃO

O soro de leite é um importante produto da indústria alimentícia. As proteínas do soro possuem grande valor nutricional, uma vez que apresentam alta digestibilidade e todos os aminoácidos essenciais. O soro possui diversas vitaminas hidrossolúveis e sais minerais. Apesar do seu alto valor nutricional, segundo SANTANA e colaboradores (2005), no Brasil cerca de 50% do soro produzido na fabricação de queijos não é aproveitado, sendo descartado sem tratamento nos rios e mananciais. Em razão de sua composição rica em nutrientes, o soro é altamente poluente por possuir uma alta demanda bioquímica de oxigênio.

A produção de bebidas lácteas utilizando soro de leite vem ganhando um grande mercado em função de seus benefícios nutricionais, menor custo de produção para o fabricante e redução do preço final para o consumidor. Além de atender as necessidades dos consumidores, um novo produto deve também gerar lucro para a empresa que o fabrica.

Os consumidores buscam cada vez mais produtos saudáveis, seguros e mais próximos ao natural sem receber tratamentos drásticos que afetem sua composição nutricional e sensorial. A tecnologia de barreiras permite elaboração de produtos com estas características, uma vez que combina vários obstáculos que possam inibir o desenvolvimento de microrganismos, ou qualquer outra propriedade importante que faça parte da definição da sua qualidade.

Esta tecnologia vem sendo utilizada pelas indústrias com o objetivo de minimizar o uso da refrigeração na estocagem dos produtos, como uma medida de economizar energia. Neste contexto, desenvolveram-se alimentos estáveis estocados sem refrigeração.

Em muitos casos, a inativação dos microrganismos não é necessária para a preservação dos alimentos e o seu crescimento pode ser inibido controlando fatores ambientais que afetam a sua viabilidade. Neste caso, os microrganismos não serão inativados, mas também não serão capazes de crescer e as técnicas de preservação combinadas afetarão bem menos a qualidade dos alimentos. Segundo PALOP e MARTÍNEZ (2006), a acidificação

de alimentos permite a redução da intensidade do tratamento térmico e é um dos mais freqüentes procedimentos usados.

Uma forma de agregar valor ao soro de leite é a elaboração de novos produtos, colocando à disposição do mercado uma bebida láctea nutritiva, com custo reduzido, de forma a atender aos anseios do consumidor e contribuir na geração de receita nas indústrias de laticínios. Assim, o presente trabalho propôs desenvolver uma forma fácil de esterilização comercial de bebida láctea tratada termicamente após fermentação, sem utilizar tratamentos térmicos extremos como no sistema UHT.

Os objetivos específicos foram:

- Determinar os conhecimentos do consumidor quanto aos diversos tipos de bebidas lácteas;
- Determinar a formulação e o processamento de bebida láctea tratada termicamente após fermentação;
- Determinar o efeito da estocagem nas propriedades físico-químicas, microbiológicas e sensoriais da bebida láctea.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Deterioração e conservação de alimentos

A deterioração de alimentos é um processo complexo caracterizado por várias alterações no produto tornando-o não aceito pelo consumidor. A deterioração dos alimentos pode ser química, física ou microbiológica. A conservação ou preservação de alimentos implica em colocá-los em condições desfavoráveis à deterioração, de maneira a interromper reações químicas e bioquímicas indesejáveis e o crescimento de microrganismos, ou até mesmo, inativá-los. O emprego de técnicas de conservação contribui para a redução de deterioração de alimentos (GRAM et al., 2002).

2.2. Tecnologia de barreiras

2.2.1. O conceito de barreiras

A estabilidade e a segurança microbiológica como também a qualidade nutricional e sensorial da maioria dos alimentos fundamenta-se na aplicação de fatores combinados de conservação. Estes fatores de conservação são chamados barreiras ou obstáculos. Ao contrário do que se pensa, a aplicação de barreiras ou obstáculos como método de conservação é um conceito antigo, utilizado desde o Egito antigo, no processo de mumificação, onde eram combinados a redução da atividade de água, aumento do pH e uso de conservantes obtidos de plantas aromáticas e especiarias. A aplicação de barreiras consiste na criação de diversos obstáculos que possam inibir o desenvolvimento de microrganismos (LEISTNER e GOULD, 2002).

2.2.2. Efeito de barreira

O efeito de barreira foi introduzido e amplamente aceito como uma ilustração das complexas interações de vários fatores de inibição na conservação de alimentos. As técnicas de conservação têm como alvo os fatores que influenciam o crescimento e a sobrevivência microbiana, incluindo tratamento térmico, redução na temperatura incluindo o resfriamento e congelamento, redução do pH, redução da atividade de água (a_w), redução do

oxigênio, aumento do dióxido de carbono, restrição dos nutrientes disponíveis, uso de conservantes, fermentação controlada, embalagem a vácuo, embalagem sob atmosfera modificada, descontaminação, processamento asséptico, irradiação, pressão ultra-alta, pulsos elétricos entre outros (LEISTNER e GOULD, 2002).

A pasteurização e a esterilização pelo calor inativam os microrganismos, enquanto alguns processos adicionais, como a embalagem, restringem o acesso dos microrganismos ao produto. Essas e outras técnicas são cada vez mais usadas simultaneamente em combinação, consistindo na “tecnologia de barreira” (LEISTNER e GOULD, 2002).

O uso de diferentes barreiras é mais efetivo do que o emprego de apenas um método de conservação, aplicado em grande intensidade. A conservação sugerida pelo método de barreiras é baseada na seleção inteligente e combinação de obstáculos com diferentes objetivos no controle da deterioração dos alimentos (LEISTNER, 2000). A Figura 1 adaptada por LEISTNER e GOULD (2002), ilustra exemplos de como as barreiras podem funcionar. A tecnologia de barreiras pode também utilizar outros métodos não convencionais de conservação, como irradiação de alimentos, pressão ultra-alta, pulsos elétricos e ultra-som.

2.2.3. Aspectos básicos da tecnologia de barreiras

A conservação de alimentos implica em colocar os microrganismos em condições desfavoráveis, de maneira a interromper seu crescimento ou reduzir sua sobrevivência, evitando que eles causem modificações indesejáveis. As possíveis respostas dos microrganismos para este ambiente hostil determinam se eles podem crescer ou morrer (LEISTNER, 2000). Entendendo e controlando tais mecanismos de adaptação, pode ser possível prevenir crescimento dos principais microrganismos em alimentos (BEALES, 2004).

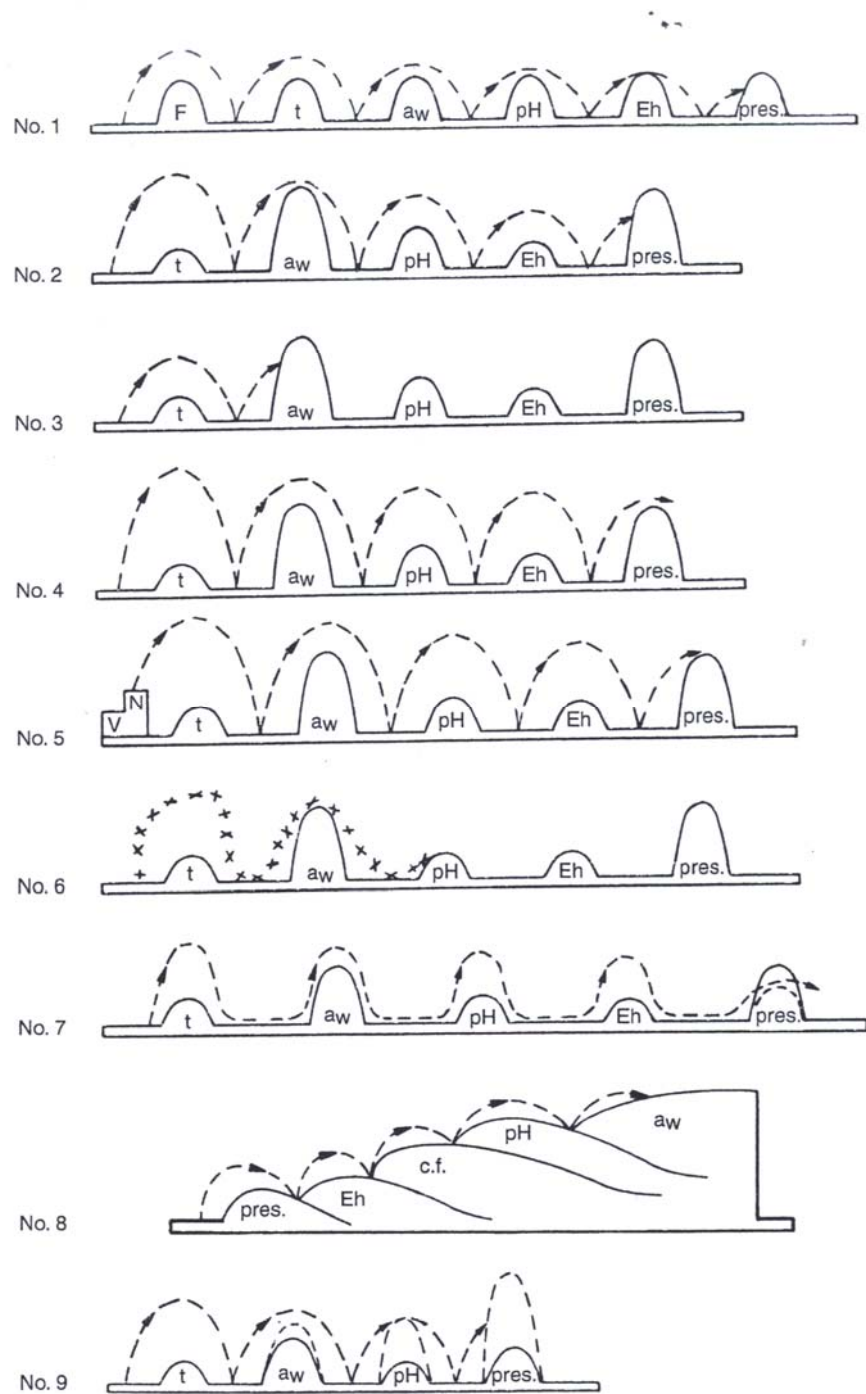


Figura 1 - Ilustração do efeito de barreira, usando nove exemplos. Os símbolos têm o seguinte significado: F: aquecimento; t: resfriamento; a_w : atividade de água; pH: acidez; Eh: potencial redox; pres.: conservantes; V: vitaminas; N: nutrientes; c.f.: microbiota competidora (LEISTNER e GOULD 2002).

A homeostase, a exaustão metabólica, as reações de estresse dos microrganismos e a conservação “multi-alvo” são consideradas como pontos fundamentais da aplicação de barreiras como método de conservação. A homeostase, ou propriedade auto-reguladora de um sistema ou microrganismo que permite manter o estado de equilíbrio de suas variáveis essenciais ou de seu meio ambiente, é a tendência que o organismo tem de se manter estável e em desenvolvimento. A manutenção de um ambiente com pH favorável é um pré-requisito para as células vivas, tanto para organismos superiores quanto para microrganismos. Esta característica é um fenômeno chave na conservação de alimentos. Se a homeostase do microrganismo é afetada pelos obstáculos, este não irá se multiplicar, ou seja, os microrganismos irão permanecer na fase lag ou mesmo morrerem antes que a homeostase seja restabelecida (LEISTNER, 2000).

Outro fenômeno de importância prática é a exaustão metabólica dos microrganismos, que pode causar a “autoesterilização” do alimento. A aplicação de várias barreiras induz mudanças na célula microbiana para a manutenção da viabilidade, o que irá provocar uma exaustão no metabolismo, impedindo crescimento e levando-o à morte. As células vegetativas que não podem crescer irão morrer e elas morrerão mais rapidamente se a estabilidade estiver mais próxima do limite de crescimento, ou seja, com temperatura mais elevada, presença de agente antimicrobiano, e se o microrganismo estiver injuriado. A exaustão metabólica é mais acelerada quanto mais barreiras estiverem presentes, devido provavelmente, ao aumento na demanda de energia para manter a homeostase interna sob condição de estresse (LEISTNER, 2000).

Os microrganismos desenvolveram mecanismos fisiológicos para tolerância a algumas condições físicas extremas (BEALES, 2004). Algumas bactérias tornam-se mais resistentes sob condições de estresse, já que elas sintetizam proteínas de “choque” que têm efeito protetor ao estresse. Essas proteínas são ativadas pela temperatura, baixo pH, a_w (estresse osmótico), etanol, combinações oxidativas, entre outros, bem como falta de nutrientes. As reações de estresse são outro meio de ação da tecnologia de barreiras. A exposição a diferentes estresses simultaneamente requer energia e síntese de várias ou pelo menos uma proteína “choque”, que pode ser a causa de os

microrganismos tornarem-se metabolicamente exaustos (LEISTNER, 2000; BEALES, 2004).

Então, a conservação “multi-alvo” de alimentos poderia ser a chave para evitar a síntese de proteínas de “choque”, em alimentos especialmente desenvolvidos para garantir sua segurança durante sua vida de prateleira. Ela baseia-se no efeito sinérgico que as barreiras podem ter. Este efeito pode ser alcançado se obstáculos com diferentes alvos forem aplicados ao mesmo tempo, o que torna a reparação da homeostase e a ativação das proteínas anti-estresse mais difíceis (LEISTNER, 2000).

A teoria dos obstáculos é utilizada em países industrializados visando minimizar o uso da refrigeração na estocagem dos produtos, como uma medida de economizar energia. Tem-se observado o desenvolvimento de alimentos estáveis estocados sem refrigeração (*shelf stable products* - SSP) (LEISTNER e GOULD, 2002).

2.2.4. Tecnologia de barreiras em produtos lácteos

Barreiras combinadas são freqüentemente usadas pelas indústrias para a conservação de alimentos, incluindo a indústria de laticínios. EGLI (1980) patenteou um método para produção de iogurte esterilizado com vida de prateleira estável que foi estocado sem refrigeração e não apresentou degradação por seis meses.

GULDAS e ATAMER (1995) estudaram a vida de prateleira de iogurte pasteurizado a 70°C resfriado imediatamente, 70°C/15 min e 70°C/30 min estocados a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ e a $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Não houve mudanças significativas no pH e na acidez titulável. O produto estocado a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ apresentou vida de prateleira de 60 dias e o estocado a $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 30 dias.

DAVIES et al. (1997) estudaram a eficácia de nisina no controle do patógeno em alimentos *Listeria monocytogenes* em queijos tipo ricota estocados por longo tempo (70 dias) a 6 - 8 °C. Os queijos foram preparados com leite não pasteurizado por acidificação direta com ácido acético (pH final de 5,9) e adição de sorbato de potássio (500 mg/L). Em cada produção de queijo foi inoculada 10^2 a 10^3 UFC/g de uma mistura de cinco cepas de *L. monocytogenes* antes da estocagem. A incorporação de nisina na

concentração de 2,5 mg/L pôde inibir, efetivamente o crescimento deste microrganismo patogênico por um período de oito semanas. Queijos fabricados sem a adição de nisina apresentaram níveis não seguros de microrganismos com uma a duas semanas de incubação.

AL-KADAMANYA et al. (2003) avaliaram a vida de prateleira de um produto denominado Labneh, elaborado a partir de iogurte de leite desnatado, tratado termicamente a 60 °C por 15 min, resfriado até 15 °C, concentrado, misturado a creme maturado e estocado a 5 °C, 15 °C e 25 °C. O Labneh estocado a 5 °C apresentou um aumento de acidez de 0,2 a 0,4 g de ácido láctico/100 g e uma queda de pH de 0,15 a 0,25 unidades. A vida de prateleira deste produto foi estimada em aproximadamente 18 dias a 5 °C, mostrando-se superior ao Labneh produzido pelo método tradicional. A vida útil dos produtos estocados a 15 °C e 25 °C foram estimadas em, aproximadamente, 9 e 3 dias, respectivamente.

NORIEGA et al. (2003) desenvolveram um leite bifidus fermentado com *Bifidobacterium infantis* ATCC 15702. O leite tratado termicamente foi carbonatado antes da adição da bifidobactéria. Uma cepa de *Bacillus cereus* foi usada para avaliar a carbonatação de leite desnatado tratado termicamente como um método para inibir o crescimento de *B. cereus* neste leite bifidus. O produto foi estocado por 35 dias a 4 °C A carbonatação de leite tratado termicamente antes da adição da bifidobactéria contribuiu para reduzir o risco de contaminação do leite bifidus por *B. cereus*.

PAULA (2005) elaborou uma bebida à base de soro de leite que foi acidificada com ácido cítrico 50% (m/v) até pH 3,2, pasteurizada a 82 °C por 15 min, aromatizada e carbonatada. O produto obteve boa aceitação e apresentou-se estável por 94 dias de estocagem a temperatura ambiente.

MUCCHETTI et al. (2008) avaliaram o efeito da tecnologia de lavagem com um jato de água de alta pressão na redução de *Listeria* em casca de queijo Gorgonzola sem usar agentes oxidantes. A superfície de queijo Gorgonzola foi contaminada (até 10⁷ UFC/g de casca raspada) com uma mistura de quatro cepas de *Listeria innocua*. A contagem de *Listeria* foi feita raspando a casca do queijo a 2mm de profundidade. Os queijos contaminados foram lavados então a pressões diferentes, variando de 1 a 5 MPa por 1 min. Uma redução de até 99,89% foi alcançada lavando o queijo a 5 MPa. Os

autores concluíram que a lavagem do queijo Gorgonzola com jato de água pressurizada, sem somar qualquer conservante à água, pode ser considerada uma barreira física adicional importante no controle de bactérias patogênicas e melhorar a segurança do queijo.

DAVIES et al. (1997) estudaram a eficácia de nisina no controle do patógeno em alimentos *Listeria monocytogenes* em queijos tipo ricota estocados por longo tempo (70 dias) a 6-8 °C. Os queijos foram preparados com leite não pasteurizado por acidificação direta com ácido acético (pH final de 5,9) e adição de sorbato de potássio (500 mg/L). Em cada produção de queijo foi inoculada 10^2 a 10^3 UFC/g de uma mistura de cinco cepas de *L. monocytogenes* antes da estocagem. A incorporação de nisina na concentração de 2,5 mg/L pôde inibir, efetivamente o crescimento deste microrganismo patogênico por um período de oito semanas. Queijos fabricados sem a adição de nisina apresentaram níveis não seguros de microrganismos com uma a duas semanas de incubação.

Vários estudos têm sido elaborados utilizando a combinação de barreira para conservação de frutas (AZEREDO e JARDINE, 2000; MESQUITA et al., 2003), polpa de frutas (ALEXANDRE et al., 2004), vegetais (PERIAGO e MOEZELAAR, 2001; VALERO et al., 2002), massas alimentares (CRUZ e SOARES, 2002; CRUZ et al., 2006) e bebidas lácteas (PAULA, 2005).

2.2.5. Processamento térmico de alimentos

Um dos métodos mais importantes utilizados no processamento de alimentos é o tratamento térmico. Esse processo promove efeitos desejáveis na qualidade sensorial de alimentos cozidos e assados e conserva os alimentos por meio da inativação de enzimas e microrganismos. No entanto, o calor também destrói alguns componentes do alimento responsáveis por seu sabor, cor, gosto ou textura (FELLOWS, 2006).

O efeito da conservação pelo calor ocorre em função da desnaturação de DNA e de proteínas que afetam a atividade enzimática e, conseqüentemente, o metabolismo dos microrganismos. O valor D ou tempo de redução decimal é definido pelo intervalo de tempo, em minutos, a uma temperatura constante, necessário para redução de 90% da população

microbiana inicial. Valores de D variam para diferentes espécies microbianas e, um maior valor de D, indica maior resistência ao calor. Outro parâmetro de resistência térmica dos microrganismos é representado pelo valor Z que corresponde à variação de temperatura necessária para reduzir o valor de D em um ciclo logarítmico (FELLOWS, 2006).

Em 1864 o cientista francês Louis Paster descobriu que a deterioração do vinho pode ser prevenida pelo aquecimento em torno de 60 °C por vários minutos. Em reconhecimento a este importante trabalho, o processo térmico moderado aplicado ao leite ficou conhecido como pasteurização (KELLY et. al., 2006) e tem por objetivo a inativação parcial dos microrganismos deterioradores e a inativação total dos patógenos presentes no alimento, além de inativar enzimas indesejáveis. É aplicado a alimentos que serão posteriormente submetidos a outras condições de conservação como, por exemplo, a baixas temperaturas, desidratação, concentração entre outros (FELLOWS, 2006).

O processo pelo qual o leite é aquecido a 65 °C por 30 minutos denomina-se pasteurização LTLT, baixa temperatura por longo tempo. Na pasteurização a altas temperaturas por pouco tempo, HTST, o leite é aquecido entre 72 °C a 74 °C por 15 a 30 segundos utilizando uma planta de processamento de fluxo contínuo (KELLY et al., 2006).

A partir de 1940, avanços no processamento térmico do leite promoveram a introdução do processo UHT, ultra alta temperatura, onde o leite é aquecido entre 135 °C a 140 °C por 2 a 5 segundos. Este produto envasado em plantas de empacotamento asséptico tem uma vida de prateleira à temperatura ambiente de até seis meses (KELLY et al., 2006).

A esterilização pelo calor garante a segurança e a preservação dos alimentos através da inativação de microrganismos, mas isso também pode envolver perda adicional de qualidade nos alimentos (PALOP e MARTÍNEZ, 2006).

A resistência térmica dos microrganismos não depende somente de fatores genéticos mas também de fatores ambientais envolvidos durante o tratamento térmico como pH, atividade de água e conservantes (CAMERON et al., 1980; CASADEI, et al., 2001).

2.2.5.1. Efeito do pH na resistência térmica de microrganismos

O efeito inibitório do pH baixo no crescimento microbiano tem sido usado há muito tempo para preservar os alimentos da deterioração. O pH baixo apresenta também uma grande vantagem sobre outros fatores ambientais que afetam a viabilidade microbiana, que é a diminuição da resistência ao calor. Por isso, alimentos ácidos podem ser tratados a temperaturas mais baixas para inativação microbiana. Além deste fato, o pH baixo impede a recuperação e o crescimento de sobreviventes do tratamento térmico. Microrganismos mostram sua máxima resistência ao calor em pH neutro, diminuindo com o aumento da acidez (ou abaixamento do pH). A extensão dos efeitos do pH baixo na resistência térmica depende do microrganismo que está sendo analisado e da temperatura. Isto também é influenciado pelo tipo de ácido e de sua concentração (PALOP e MARTÍNEZ, 2006).

A relação entre o pH do alimento e a resistência térmica de microrganismos tem sido estudada. A acidificação do meio de aquecimento é acompanhada por uma diminuição da termorresistência (LÓPEZ, 1996). CAMERON et al. (1980) estudaram o efeito do pH na inativação térmica de esporos de *Clostridium sporogenes* e verificaram um aumento na resistência térmica deste microrganismo em pH 7,0 e um decréscimo da mesma em pH 5,0, tanto em meio tampão fosfato quanto em purê de ervilha.

MALLIDIS et al. (1990) verificaram que houve redução significativa da resistência térmica de esporos de *Bacillus coagulans* (NRRL B-1103) quando o pH foi reduzido de 7,0 para 4,5. O efeito do pH do meio de aquecimento na resistência térmica de esporos de *Bacillus stearothermophilus* foi observado por LÓPEZ et al. (1996) evidenciando um máximo de termoresistência em pH 7,0, diminuindo com o decréscimo do pH. Os valores de D decresceram quando o pH diminuiu de 7,0 para 4,0.

MAZA et al. (1998) avaliaram a influência do pH do meio de aquecimento na resistência térmica de esporos de *Bacillus cereus*. A acidificação, após redução do pH de 7,0 para 4,0, provocou um decréscimo no valor D em 5 vezes. JAGANNATH et al. (2005) compararam a inativação térmica de esporos de *Bacillus subtilis* em alimentos usando equações de Weibull e Bigelow modificadas. A associação destas equações permitiram a

construção de um modelo para a inativação térmica, levando em conta o pH e a atividade de água. As cinéticas de inativação demonstraram que o pH baixo aumentou a eficiência do tratamento térmico. Por outro lado, quanto menor o valor de atividade de água, menor era a eficiência do tratamento térmico.

Hoje em dia os consumidores demandam produtos seguros e de boa qualidade. Para atender essa demanda a indústria tem desenvolvido produtos minimamente processados usando a combinação de diferentes tecnologias no sentido de diminuir o impacto de tratamentos severos, que garantem a segurança dos alimentos, mas produzem um efeito negativo nas propriedades sensoriais e nutricionais dos produtos. A acidificação de alimentos permite a redução da intensidade do tratamento térmico e é um dos mais freqüentes procedimentos usados (PALOP e MARTÍNEZ, 2006).

2.3. Soro de leite

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea define soro de leite como o líquido residual obtido a partir da coagulação do leite destinado à fabricação de queijos ou de caseína (BRASIL, 2005). O soro de leite é composto de, aproximadamente, 93% de água, 5% de lactose, 0,7 a 0,9% de proteínas, 0,3 a 0,5% de gordura, 0,2% de ácido láctico, e pequenas quantidades de vitaminas. Em relação às suas vantagens nutricionais, pode-se citar a presença de aminoácidos essenciais, cálcio e lactose (TEXEIRA et al., 2005).

As proteínas de soro apresentam quase todos os aminoácidos essenciais em excesso às recomendações, exceto os aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina) que atendem às recomendações para todas as idades. Apresentam elevadas concentrações dos aminoácidos triptofano, cisteína, leucina, isoleucina e lisina. As proteínas do soro de leite são altamente digeríveis e rapidamente absorvidas pelo organismo, estimulando a síntese de proteínas sanguíneas e teciduais (SGARBIERI, 2004).

A Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação, FAO, estabelece um valor padrão para as proteínas que o ser humano deve ingerir diariamente e o soro de leite ultrapassa esse valor. Os teores de aminoácidos

essenciais da proteína de soro e da caseína encontram-se no Quadro 1 (MARCHIORI, 2006a).

Quadro 1 – Teor de aminoácidos essenciais de proteína do soro e de caseína.

Aminoácido	Proteína de Soro Total (mg/L)	Caseína (mg/L)	Padrão provisório pontuação de aminoácidos da FAO (mg/L)
Isoleucina	76	54	40
Leucina	118	95	70
Lisina	113	81	55
Metionina + Cisteína	52	32	35
Fenilalanina + Tirosina	70	111	60
Treonina	84	47	40
Triptofano	24	16	10
Valina	72	75	50
Total	609	511	360

Fonte: United State Dairy Export Council - Usdec

Segundo BIANCHI (2005), os produtos lácteos são as principais fontes de cálcio. O soro possui 430 mg/L deste mineral (FOX, 1997). O consumo de alimentos ricos em cálcio é um dos pilares para prevenção e tratamento da osteoporose do adulto (ANTUNES, 2006).

Segundo MELLO (1989), o soro constitui uma fonte de diversos macrominerais, dos quais os mais abundantes são o cálcio, sódio, magnésio, potássio e fósforo, além de conter a maior parte das vitaminas do complexo B, pois corresponde a uma quantidade apreciável das necessidades humanas, de B₂, B₅ e B₆.

Cerca de 50% de todo o soro produzido no Brasil não é aproveitado, sendo descartado sem nenhum tratamento (SANTANA et al., 2005). Quando ele é lançado em cursos de água provoca efeito poluidor devido ao consumo do oxigênio da água pelo desenvolvimento de bactérias e outros organismos que utilizam seus componentes. O soro, do ponto de vista biológico, é um dos resíduos mais poluentes, tendo uma demanda bioquímica de oxigênio entre 30.000 e 60.000 ppm (MACHADO et al., 2002). Uma fábrica com uma eliminação diária média de 10.000 litros de soro polui diariamente o equivalente a uma população de 5.000 habitantes (SANTOS e FERREIRA, 2001).

Dentre as opções para o aproveitamento do soro pode-se citar o seu uso em bebidas para alimentação humana, fabricação de ricota, concentração e

produção de soro em pó e soro desmineralizado em pó, separação das proteínas e de lactose com posterior secagem (GIROTO e PAWLOWSKY, 2001). O soro também é encontrado em produtos de panificação, confeitos, chocolates, molhos, sopas, produtos desidratados, barras de cereais, bebidas lácteas, biscoitos, isotônicos e até mesmo em produtos cárneos, como presuntos e hambúrgueres (MARCHIORI, 2006a).

O conhecimento de alternativas para um aproveitamento apropriado do soro é importante em função de sua qualidade nutricional, do volume produzido e poder poluente (GIROTO e PAWLOWSKY, 2001).

2.4. Bebidas lácteas

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea define Bebida Láctea como “o produto lácteo resultante da mistura do leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado e em pó) adicionado ou não de produto(s) ou substância(s) alimentícia(s), gordura vegetal, leite(s) fermentado(s), fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. Este mesmo regulamento define Bebida Láctea tratada termicamente após fermentação como o produto descrito como “Bebida Láctea, adicionado de cultivo de microrganismos ou de produtos lácteos fermentados e posteriormente submetido a tratamento térmico adequado” (BRASIL, 2005).

O mercado de bebidas lácteas é importante para a cadeia do leite porque disponibiliza um produto com boas qualidades nutricionais e de aceitação, para concorrer com outros alimentos como os refrigerantes. É grande o número de empresas que desenvolvem aditivos aplicáveis nessas bebidas, tais como fermentos, acidificantes, aromatizantes, edulcorantes, estabilizantes, agentes de corpo e textura, corantes e preparados de frutas (MARCHIORI, 2006b).

Uma bebida fermentada à base de soro de leite suplementado com 10% de leite em pó desnatado e tratado termicamente a 85 °C/11,5 min foi desenvolvida por SEVERO (1995). A bebida foi fermentada com cultura de

iogurte e adicionada de cultura probiótica de *Lactobacillus acidophilus* e apresentou estabilidade química e microbiológica por 28 dias a 6 °C.

Bebidas lácteas fermentadas com cultura de iogurte foram elaboradas por TEIXEIRA (2002) utilizando soro de ricota nas proporções de 50, 60 e 70% misturados ao leite e estocadas sob refrigeração a 7 ± 1 °C. A formulação contendo 50% de soro foi a que apresentou melhor aceitação, com média de 7,27 pontos na escala hedônica de nove pontos. A bebida foi estável por 28 dias.

MIGLIORANZA et al. (2003) elaboraram uma bebida de soro contendo 15% de polpa de morango fortificada com ferro aminoácido quelato e vitaminas A e D e avaliou seu efeito nos valores de hemoglobina de crianças e adolescentes de famílias com condições sócio-econômicas precárias. A bebida continha 8% de carboidratos, 0,2% de gordura, 0,9% de proteína, 0,5% de minerais, 0,012% de ferro, 0,0004% de vitamina A e 0,000005% de vitamina D. A prevalência de anemia decresceu significativamente de 41,9% no início do estudo, para 26,4% aos seis meses e para 9,6% após um ano.

MILAGRES et al. (2007) desenvolveu uma bebida a base de soro elaborada em duas formulações, sendo uma com açúcar e outra sem açúcar usando edulcorantes. O produto foi tratado termicamente a 82 °C/15min. As duas formulações obtiveram boa aceitação sensorial.

A produção de bebida láctea adicionada de soro de leite em sua formulação vem ganhando uma importante fatia do mercado de produtos lácteos em razão de seu valor nutritivo sendo uma importante fonte de cálcio e proteínas, do baixo custo de produção e do preço final para o consumidor (THAMER e PENNA, 2006).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado nos laboratórios e dependências do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

3.1. Pesquisa de mercado

Foi realizada uma pesquisa de mercado junto aos consumidores potenciais do produto em quatro supermercados de Viçosa-MG por meio de um questionário, Figura 2, que avaliou o potencial de mercado para o conceito da bebida láctea fermentada tratada termicamente. O objetivo também era obter informações úteis para fortalecer o conceito e chegar ao produto adequado. Os resultados da aplicação dos formulários foram analisados descritivamente utilizando-se o SPSS 15.0 (*Statistical Package for Social Sciences*).

A Figura 2 mostra o questionário que foi aplicado na pesquisa de mercado para a bebida láctea tratada termicamente após fermentação.

3.2. Plano de amostragem

Foram entrevistados 385 consumidores de produtos lácteos em quatro supermercados centrais de Viçosa -MG. Antes de iniciar o questionário a pessoa a ser entrevistada era questionada se consumia produtos lácteos. Somente as pessoas que responderam que consumiam produtos lácteos foram entrevistadas.

Para determinar o tamanho da amostra a ser entrevistada foi utilizada a fórmula abaixo (SAMARA e BARROS, 2002):

$$n = \frac{(t_0)^2 * p * q}{d^2}$$

Sexo:	<input type="checkbox"/> Masculino	<input type="checkbox"/> Feminino				
Faixa Etária:	<input type="checkbox"/> 12 a 19	<input type="checkbox"/> 20 a 29	<input type="checkbox"/> 30 a 39	<input type="checkbox"/> 40 a 49	<input type="checkbox"/> 50 a 59	<input type="checkbox"/> acima de 60
Grau de Escolaridade:	<input type="checkbox"/> Primeiro Grau incompleto	<input type="checkbox"/> Primeiro Grau completo	<input type="checkbox"/> Segundo Grau incompleto	<input type="checkbox"/> Segundo Grau completo	<input type="checkbox"/> Superior incompleto	<input type="checkbox"/> Superior completo
	<input type="checkbox"/> Pós-Graduação incompleta	<input type="checkbox"/> Pós-Graduação completa				
1- Você sabe a diferença entre iogurte e bebida láctea?						
<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não						

2- Você compraria uma bebida láctea tratada termicamente após fermentação que fosse comercializada à temperatura ambiente?						
<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não						
3- Cite em ordem de preferência os atributos que você deseja neste produto:						
<input type="checkbox"/> Que seja saboroso						
<input type="checkbox"/> Que seja nutritivo <input type="checkbox"/> outro atributo. Qual? _____						
<input type="checkbox"/> Que seja barato						
<input type="checkbox"/> Que seja de boa qualidade						
4- Em quais sabores você desejaria esta bebida?						
<input type="checkbox"/> morango <input type="checkbox"/> limão <input type="checkbox"/> ameixa <input type="checkbox"/> outro sabor: _____						
<input type="checkbox"/> pêssego <input type="checkbox"/> maracujá <input type="checkbox"/> abacaxi						
5- Em quais embalagens?						
<input type="checkbox"/> embalagem tipo do yakult <input type="checkbox"/> garrafa 500 mL <input type="checkbox"/> saquinho						
<input type="checkbox"/> garrafa 200 mL <input type="checkbox"/> garrafa 1 L <input type="checkbox"/> outra: _____						
6- Qual produto você substituiria por esta bebida?						
<input type="checkbox"/> iogurte <input type="checkbox"/> bebida láctea <input type="checkbox"/> outro: _____						
<input type="checkbox"/> leite pasteurizado <input type="checkbox"/> refrigerante						
<input type="checkbox"/> leite UHT (de caixinha) <input type="checkbox"/> café						

Figura 2 - Questionário aplicado na pesquisa de mercado para a bebida láctea tratada termicamente após fermentação.

em que:

n = tamanho da amostra (número de pessoas a serem entrevistadas);

p = porcentagem da população que consome bebida láctea;

q = considerando a característica apresentada por “p”, este é parte complementar ($p = 1 - q$);

d = margem de erro 5% (0,05);

t_0 = valor encontrado na tabela própria, em função do nível de significância $\alpha = 5\%$.

Estabeleceu-se um intervalo de confiança de 95%, sendo o valor de t_0 neste intervalo, de 1,96.

Como o valor de “p” não era conhecido, o mesmo foi considerado igual a 50% ($p=0,5$), assumindo que 50% da população consome bebida láctea.

O tamanho da amostra foi determinado a partir do seguinte cálculo:

$$n = \frac{(1,96)^2 * 0,5 * 0,5}{(0,05)^2}$$

$$n = 384,16$$

Este tamanho foi arredondado para 385 entrevistas.

3.3. Testes preliminares

A concentração de estabilizante para evitar separação de fases, o agente acidificante usado para reduzir o pH, a fermentação do leite com as bactérias do iogurte, a proporção de iogurte em relação à quantidade de soro, o aroma, o tratamento térmico e o processamento foram definidos por meio de testes preliminares realizados no Laboratório de Pesquisa de Leite do Departamento de tecnologia de Alimentos da UFV.

Para estabelecer a concentração mais adequada de estabilizante a ser adicionado na bebida láctea foram testados os seguintes tratamentos: A - bebida sem estabilizante e não homogeneizada (controle); B - bebida sem

estabilizante e homogeneizada; C – bebida com 0,1% de estabilizante e homogeneizada e D – bebida com 0,3% de estabilizante e homogeneizada.

Para redução de pH da bebida foram testados o ácido láctico e o ácido cítrico. A fermentação do leite para produção do iogurte foi conduzida até que o pH do mesmo atingisse 4,0.

A proporção iogurte em relação à quantidade de soro foi definida de forma que a quantidade de proteína nesta mistura fosse em torno de 1,3%. Foram testados os seguintes aromas: morango, pêssego, abacaxi, limão, e maracujá.

O binômio tempo temperatura do tratamento térmico aplicado à bebida foi escolhido com base em experiência do laboratório de pesquisa de leite - UFV sob coordenação do professor Sebastião César Cardoso Brandão.

3.4. Elaboração do produto

O produto foi elaborado na usina piloto do Laticínios Escola (DTA/UFV).

O experimento foi conduzido no Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) com três repetições. Foi feita uma só formulação para o produto e este foi analisado periodicamente em seis tempos de estocagem (0, 7, 14, 21, 28 e 35 dias).

3.4.1. Composição dos ingredientes usados no produto

A bebida foi constituída pelos seguintes componentes: soro de leite fresco, iogurte, açúcar, ácido cítrico 46% m/v, estabilizante, citrato de sódio, aroma natural de limão comercial, sorbato de potássio e ácido fumárico (Quadro 2).

Quadro 2 - Composição em porcentagem (m/m) dos ingredientes usados na fabricação da bebida.

Componentes	(g/100 g)
Soro de queijo	59,07
Iogurte	20,87
Açúcar	17,50
Ácido cítrico 46% m/v	2,10
Estabilizante	0,30
Citrato de sódio	0,07
Aroma natural de limão comercial	0,05
Sorbato de potássio	0,03
Ácido fumárico	0,01

3.4.2. Preparo do iogurte

Foi elaborado um iogurte a partir de leite desnatado tratado termicamente, adicionado de cultivo de cultura DVS mista composta por *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. A fermentação foi conduzida até o produto atingir pH 4,0. Este iogurte, posteriormente, foi adicionado o soro acidificado com ácido cítrico.

3.4.3. Preparo do soro

O soro de leite proveniente de queijo Mussarela ou de queijo Minas Frescal do Laticínios Escola (DTA/UFV) foi acidificado com ácido cítrico 46% (m/v) até pH 3,15. Foram também adicionados açúcar, estabilizante, citrato de sódio, ácido fumárico e sorbato de potássio. Esta mistura foi aquecida até 60 °C por 5 minutos em banho maria industrial.

3.4.4. Fabricação da bebida láctea tratada termicamente após fermentação

Ao soro já acrescido dos demais ingredientes, foi adicionado o iogurte. O pH da bebida foi acertado para 3,4 com ácido cítrico 46% (m/v), e em seguida aquecida a 60 °C, procedendo-se, então, à homogeneização a 140,62 Kgf/cm² no primeiro estágio e 35,15 Kgf/cm² no segundo estágio do homogeneizador.

Em seguida adicionou-se o aroma natural de limão comercial, e a bebida foi envasada em garrafas de diluição de 100 mL para posteriores análises físico-químicas e microbiológicas. O envase foi feito também em Erlenmeyers de 2 L para a realização do teste de aceitação sensorial. Após o envase, o produto foi submetido a um tratamento térmico de 65 °C por 15 min em banho-maria. Logo após foi resfriado para 25 °C em banho de gelo e estocado a temperatura ambiente (Figura 3).

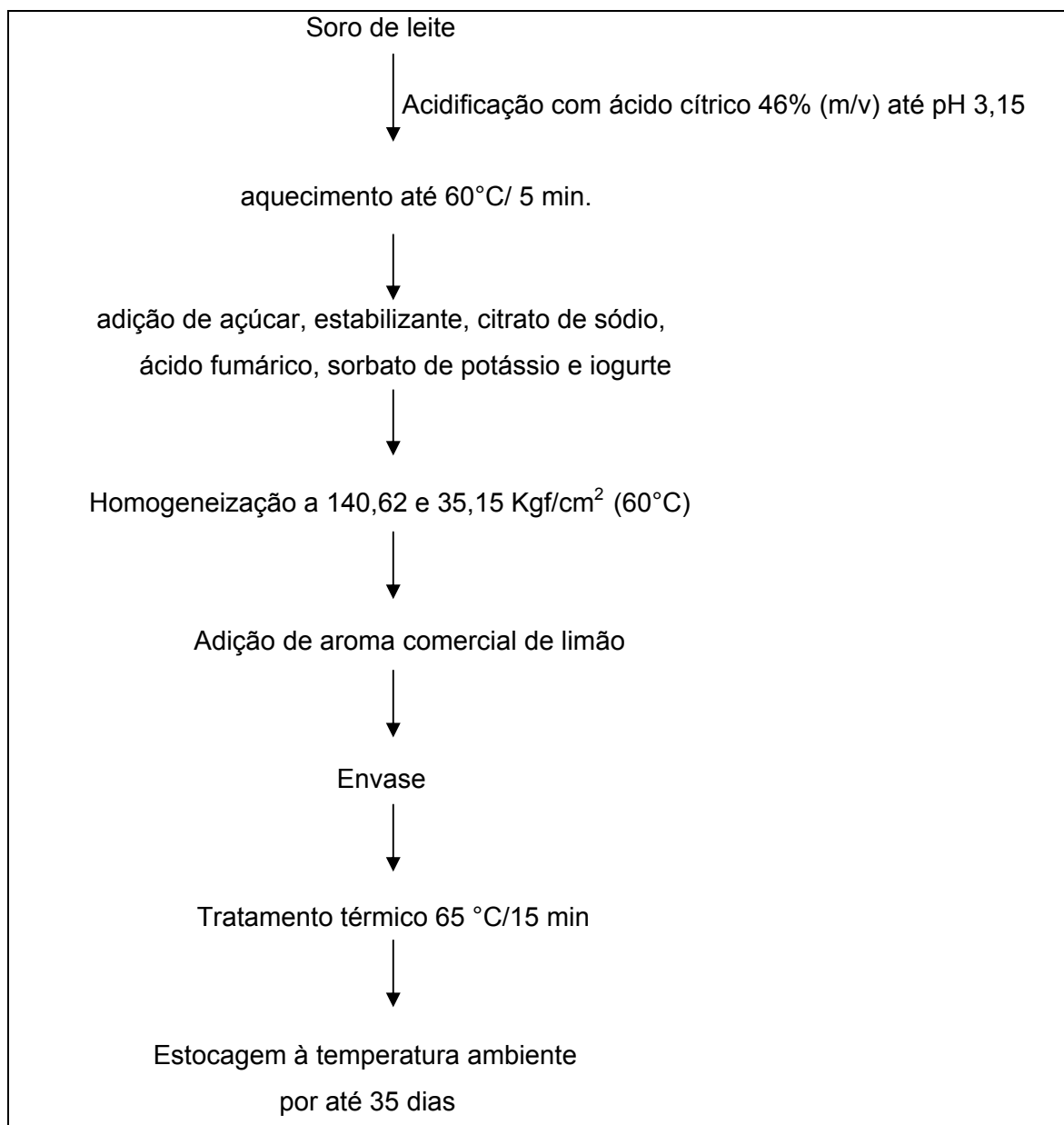


Figura 3 – Fluxograma de fabricação da bebida láctea tratada termicamente após fermentação.

3.5. Caracterização do soro de leite, do iogurte e da bebida láctea tratada termicamente após fermentação

O soro de leite e o iogurte foram caracterizados quanto ao teor de proteína e gordura. A bebida foi caracterizada quanto o teor de proteína, gordura, umidade, resíduo mineral fixo (cinzas) e pH. A determinação do teor de proteínas nas amostras foi realizada pelo método Kjeldahl (Brasil, 2006). A conversão do teor de nitrogênio total para percentual de proteína foi feita usando-se o fator 6,38. O teor de gordura foi determinado empregando-se o método de Gerber (BRASIL, 2006). O pH foi determinado em pHmetro (BRASIL, 2006).

3.6. Acompanhamento das características físico-químicas e microbiológicas do produto durante o período de estocagem

A determinação da vida útil do produto foi realizada por meio de análises físico-químicas e microbiológicas. A bebida láctea foi armazenada à temperatura ambiente, em torno de 25 °C. Foram retiradas amostras para as análises físico-químicas e microbiológicas, nos tempos de 0, 7, 14, 21, 28 e 35 dias de estocagem.

3.6.1. Determinação de pH e acidez titulável

3.6.1.1. pH

A determinação do pH foi realizada em medidor de pH digital da marca DENVER INSTRUMENT UB-10 pH/mV meter Ultra Basic, aferido com as soluções tampões pH 4,0 e 7,0 (BRASIL, 2006).

3.6.1.2. Acidez titulável

A determinação da acidez titulável foi realizada por titulometria com solução de NaOH 0,1 Mol/L, utilizando-se como indicador a fenolftaleína

(BRASIL, 2006). Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido cítrico presente na amostra.

3.6.2. Análises microbiológicas

3.6.2.1. Contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis

Para a contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis foi utilizada a metodologia descrita na Instrução Normativa N° 62/2003 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. Baseou-se na sementeira da amostra ou de suas diluições em ágar padrão PCA (Plate Count Agar), seguido de incubação em temperatura de 36 ± 1 °C por 48 horas. Os resultados obtidos foram expressos em UFC/mL (BRASIL, 2003).

3.6.2.2. Número mais provável de coliformes (NMP)

Para determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais, foi utilizada a metodologia descrita pela Instrução Normativa N° 62/2003 do MAPA. Alíquotas da amostra (10, 1 e 0,1 mL) foram inoculadas em três séries de três tubos, contendo caldo verde brilhante bile 2% e tubos de fermentação (Durhan), seguida de incubação a 35 °C por 24 a 48 horas. Após incubação foi observado se houve produção de gás. O NMP de coliformes foi estimado com uso de tabela apropriada (BRASIL, 2003).

3.6.2.3. Contagem de fungos filamentosos e leveduras

Para a determinação da contagem de fungos filamentosos e leveduras, foi utilizada a metodologia descrita pela Instrução Normativa N° 62/2003 do MAPA. Baseou-se na verificação da capacidade desses microrganismos se desenvolverem em meio de cultura BDA (Agar Batata Dextrose) que foi acidificado com ácido tartárico 10% até um pH de $3,5 \pm 1$. Seguiu-se a

incubação à temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 5 a 7 dias. Os resultados obtidos foram expressos em UFC/mL (BRASIL, 2003).

3.7. Teste de aceitação sensorial

Foi realizado um teste de aceitação sensorial da bebida láctea tratada termicamente após fermentação aos 1, 14 e 28 dias de estocagem a temperatura ambiente, para estudar a sua aceitação.

Utilizou-se a escala hedônica de nove pontos segundo CHAVES e SPROESSER (2002), variando de “desgostei extremamente” (1) a “gostei extremamente” (9). Os testes de aceitação foram realizados por 55 consumidores em condições laboratoriais, em cabines individuais sob luz branca. As amostras foram apresentadas refrigeradas (5°C), em copos descartáveis de 50 mL. Foi servida aos provadores em torno de 30 mL da bebida.

3.8. Análises estatísticas

Para avaliar se o tempo de estocagem apresentou efeito significativo sobre as características físico-químicas e sobre os escores da aceitação sensorial da bebida, os dados foram submetidos à análise de regressão linear, com o auxílio do pacote estatístico SAS (SAS Institute Inc. North Califórnia. USA.) versão 9,1 licenciado para a Universidade Federal de Viçosa.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Pesquisa de mercado

Foram entrevistadas 385 pessoas, sendo 50,6% do sexo masculino. A faixa etária predominante dos consumidores situou-se entre 20 a 29 anos, o que representou 42,1% dos entrevistados (Figura 4). O grau de escolaridade que mais predominou foi o superior incompleto com 34,8% (Figura 4).

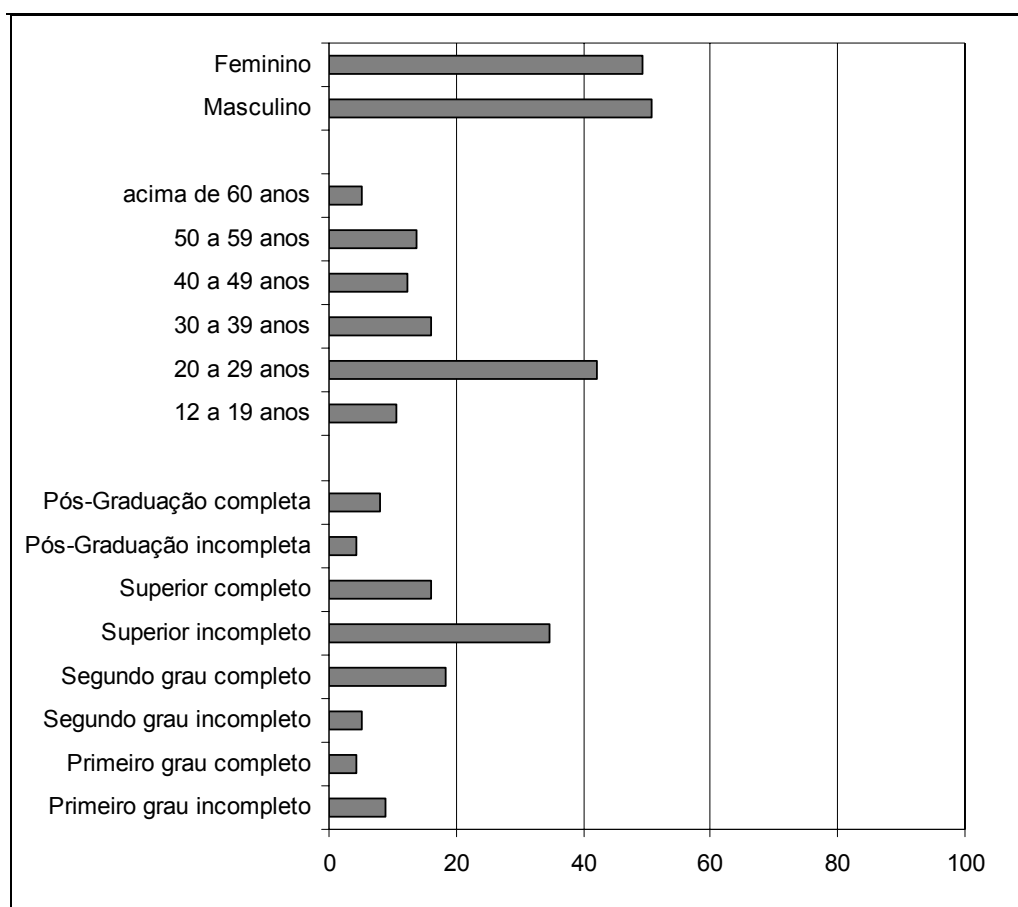


Figura 4 – Perfil dos entrevistados: sexo, idade e escolaridade. Resultados apresentados em porcentagem.

Quando os entrevistados foram questionados sobre a diferença entre iogurte e bebida láctea, 85% deles não sabiam explicar esta diferença. A falta de informação do consumidor sobre temas relacionados a este também foi verificada por BARBOSA et al. (2007) que verificaram que, aproximadamente, 71,5% dos entrevistados sabiam o que é soro, porém quando questionados em

relação ao que é feito com este soro, 58% não tem a mínima noção da destinação deste subproduto e acreditam não ter nenhuma utilidade.

Após uma explicação aos entrevistados do processo de fabricação da bebida láctea tratada termicamente após fermentação que seria comercializada à temperatura ambiente, foi perguntado se eles comprariam este produto. Observou-se que 77% dos entrevistados responderam que sim.

Quanto aos atributos desejados na bebida pelos consumidores, constatou-se que, em primeiro lugar, eles esperam uma bebida de boa qualidade, em segundo lugar que seja nutritiva, em terceiro lugar que seja saborosa e em quarto lugar que apresente baixo custo.

Os entrevistados foram questionados quanto aos sabores de sua preferência. O sabor morango apresentou 35% de preferência, seguido do sabor pêssego com 23%. Outros sabores que se destacaram foram o abacaxi com 13% e o limão com 12% (Figura 5). PAULA (2005) realizou uma pesquisa também em Viçosa-MG e entrevistou 170 consumidores de sucos ou bebidas naturais não alcoólicas. Os entrevistados apresentaram maior preferência pelos sabores laranja e maracujá com 47,6%, seguidos dos sabores de pêssego e morango com 28,56%. Outro sabor que destacou-se foi o sabor limão com 27,37% de preferência.

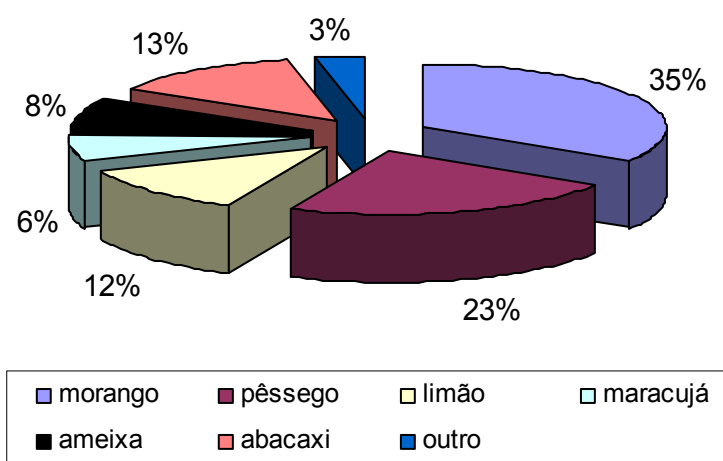


Figura 5 – Sabores de preferência dos consumidores para a bebida láctea tratada termicamente após fermentação

Com relação às embalagens de preferência, foi observada uma diversidade de respostas, destacando-se a embalagem de garrafa com volume de 200 mL (Figura 6).

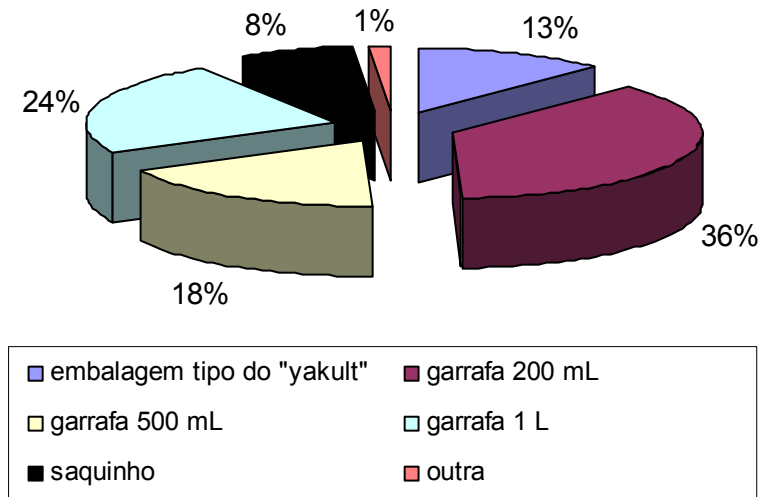


Figura 6 - Embalagens de preferência dos consumidores para a bebida láctea tratada termicamente após fermentação

Quando perguntado aos consumidores qual produto eles substituiriam pela nova bebida, 28% dos entrevistados responderam que substituiriam o iogurte, enquanto 20% substituiriam o refrigerante (Figura 7). Este percentual de pessoas que substituiriam o refrigerante pela bebida mostra a busca do consumidor por produtos mais nutritivos.

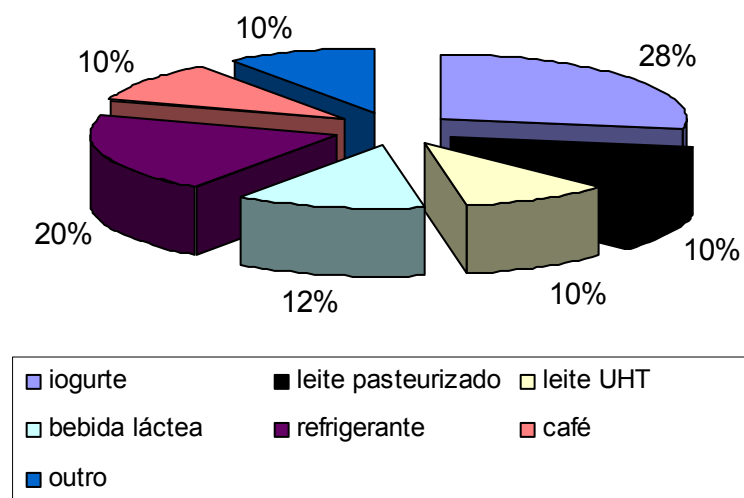


Figura 7 - Produtos que os consumidores substituiriam pela nova bebida

4.2. Testes preliminares

Os tratamentos testados para estabelecer a concentração mais adequada de estabilizante a ser adicionado na bebida láctea mostraram que o controle, bebida sem estabilizante e não homogeneizada, apresentou separação de fases apresentando sedimentos de 50% na altura dos sedimentos, em relação à altura total da bebida láctea (Figura 8). Os tratamentos B e C, apesar de apresentarem menor volume de sedimentos, apresentaram também separação de fases. Já o tratamento D apresentou melhor estabilidade pois a homogeneização e o estabilizante na concentração de 0,3% preveniram a separação de fases (Figura 8). Portanto, foi escolhido o tratamento D para o processamento da bebida.



Figura 8 - Aspectos visuais das formulações da bebida láctea fabricadas com diferentes concentrações de estabilizantes e homogeneização. Em que: A - bebida sem estabilizante e não homogeneizada (controle); B - bebida sem estabilizante e homogeneizada; C - bebida com 0,1% de estabilizante e homogeneizada e D - bebida com 0,3% de estabilizante e homogeneizada.

O ácido cítrico proporcionou melhores características sensoriais do que o ácido láctico quando adicionado na bebida. Utilizou-se 59,07% de soro e 20,87% de iogurte para a fabricação da bebida.

O aroma escolhido foi o de limão por proporcionar melhores características sensoriais à bebida, uma vez que é um aroma cítrico e a bebida apresenta pH baixo. Além disso, a coloração amarelo esverdeada do soro, que prevalece na bebida láctea, ficou mais semelhante à coloração esperada da bebida sabor limão.

O binômio tempo temperatura do tratamento térmico aplicado à bebida foi 65 °C/15min, escolhido com base em experiência do laboratório de pesquisa de leite - UFV sob coordenação do professor Sebastião César Cardoso Brandão.

4.3. Aspecto da bebida

Obteve-se uma bebida de coloração amarelada, moderadamente opaca, de aspecto líquido, homogêneo, sem apresentar grumos ou coágulos, com um gosto ácido e sensação refrescante ao ser consumida.

4.4. Caracterização do soro de leite, do iogurte e da bebida láctea tratada termicamente após fermentação

O resultado das análises físico-químicas para caracterização do soro, iogurte e da bebida são apresentados no Quadro 3.

Quadro 3 – Características físico-químicas do soro, iogurte e da bebida láctea desenvolvida.

Componentes	Soro	logurte	Bebida
	Composição*	Composição*	Composição*
Proteína (%)	0,87 + 0,06 **	3,30 + 0,04 **	1,28 + 0,04 **
Gordura (%)	0,33 ± 0,06 **	0,47 ± 0,06 **	0,33 ± 0,06 **
Umidade (%)	***	***	78,10 ± 0,61 **
Cinzas (%)	***	***	0,48 ± 0,01 **
pH	6,27 ± 0,15	4,07 ± 0,06	3,39 ± 0,02 **

* média±DP ** média de três repetições *** não foi avaliado

Os resultados encontrados para caracterização do soro foram semelhantes aos valores obtidos por MILAGRES et al. (2007), que encontraram um teor médio de 0,30% de gordura e 0,98% de proteína. O valor médio de pH do soro obtido por Milagres, 6,05 com desvio padrão de 0,05, foi menor que o pH de soro obtido no presente trabalho que foi de 6,27 com desvio padrão de 0,15.

O valor médio de proteína obtido para bebida foi de 1,28% (Quadro 3). O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea contido na Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005 do MAPA, estabelece que a bebida láctea tratada termicamente após fermentação deve conter no mínimo 1,2 % de proteínas de origem láctea (g/100 g) (BRASIL, 2005). Portanto o produto elaborado atendeu a essa especificação.

4.5. Acompanhamento do produto durante a estocagem

4.5.1. Análises físico-químicas de pH e acidez titulável

Durante o período de estocagem de 35 dias à temperatura ambiente foram verificados os resultados da variação do pH e da acidez (Figuras 9 e 10).

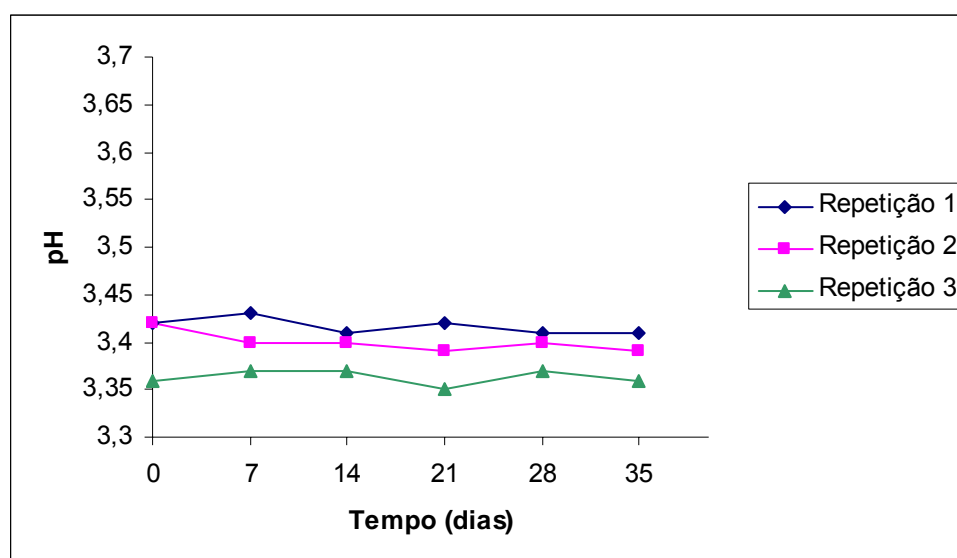


Figura 9 – Valores de pH observados durante o tempo de estocagem à temperatura ambiente da bebida tratada termicamente após fermentação, durante 35 dias à temperatura ambiente.

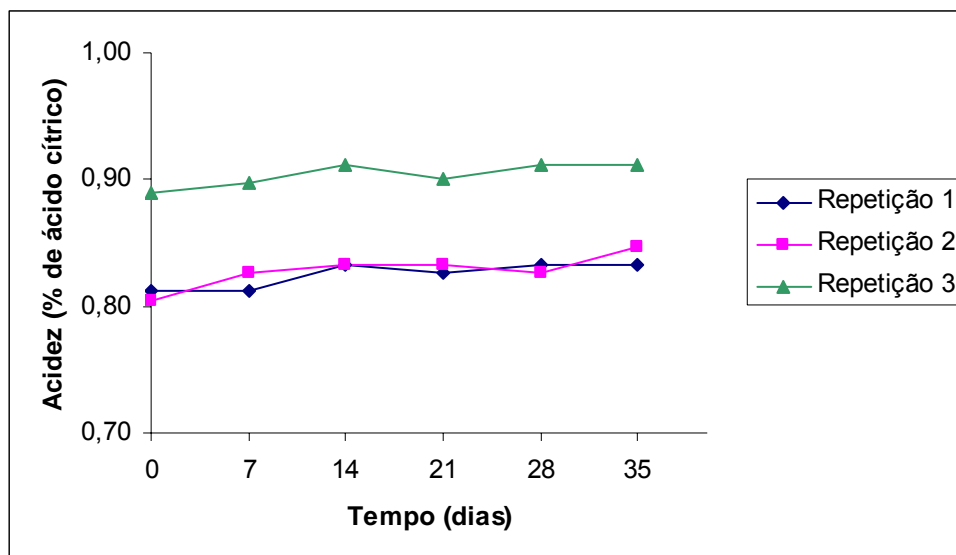


Figura 10 – Valores de acidez titulável, % de ácido cítrico, durante o tempo de estocagem à temperatura ambiente da bebida tratada termicamente após fermentação, durante 35 dias à temperatura ambiente.

Os valores de pH variaram entre 3,36 a 3,42 e os valores de acidez titulável expressos em % de ácido cítrico (m/v) variaram entre 0,80 a 0,91 durante o período avaliado (Figuras 9 e 10). PAULA (2005) elaborou uma bebida à base de soro de leite que foi pasteurizada a 82 °C/15 min, aromatizada, carbonatada e estocada a temperatura ambiente. Os resultados encontrados por Paula mostram que os valores de pH variaram na faixa de 3,14 a 3,40 e os valores de acidez expressos em % de ácido láctico variaram de 0,94 a 1,13% durante o período de estocagem da bebida.

No presente trabalho, as análises de pH e acidez da bebida láctea não evidenciaram ($P > 0,05$) variação significativa ao longo do período de estocagem, à temperatura ambiente, mostrando que as barreiras adotadas como baixo pH, tratamento térmico e conservantes foram eficientes na estabilidade e conservação da bebida láctea tratada termicamente após fermentação.

4.5.2. Análises microbiológicas

Os resultados da contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios, expressos em UFC/mL nas amostras estocadas à temperatura ambiente por até 35 dias encontram-se no Quadro 4.

Quadro 4 – Contagem de bactérias aeróbias mesófilas (UFC/mL) durante o tempo de estocagem da bebida láctea.

Tempo (dias)	Repetição 1 (UFC/mL)	Repetição 2 (UFC/mL)	Repetição 3 (UFC/mL)
0	$2,9 \times 10^2$	$3,0 \times 10^1$	$4,8 \times 10^1$
7	$3,5 \times 10^1$ *	< 10 *	$1,2 \times 10^1$ *
14	< 10 *	< 10 *	< 10 *
21	< 10 *	< 10 *	< 10 *
28	< 10 *	< 10 *	< 10 *
35	< 10 *	< 10 *	< 10 *

* = estimado.

A bebida apresentou contagem inicial de mesófilos aeróbios baixa e a partir da segunda semana observou-se que esta contagem diminuiu na bebida láctea fabricada (Quadro 4). Após esse período o número de células viáveis permaneceu inferior a 10 UFC/mL até o fim do tempo de estocagem. A redução do número de UFC/mL de aeróbios mesófilos, contado a partir da segunda semana de estocagem da bebida láctea a temperatura ambiente pode ser em razão do pH baixo do produto, de 3,4. Segundo BEALES (2004), a redução do pH pela acidificação é frequentemente efetiva no controle do crescimento microbiano. Em geral, as bactérias requerem valores de pH entre 4,0 e 8,0 para o crescimento e a sobrevivência, assim valores de pH fora desta faixa, abaixo ou acima, contribuem para perda de viabilidade desses microrganismos.

Não existe uma norma com padrões microbiológicos estabelecidos para bebida láctea tratada termicamente após fermentação. No entanto, os valores de mesófilos aeróbios encontrados neste trabalho foram inferiores aos estabelecidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea para bebida láctea pasteurizada, que estabelece o máximo de duas amostras em cinco amostras analisadas, contendo contagens entre $7,5 \times 10^4$ UFC/mL a $1,5 \times 10^5$ UFC/mL de mesófilos aeróbios ($n=5$ $c=2$ $m=7,5 \times 10^4$ $M=1,5 \times 10^5$) (BRASIL, 2005).

O índice de coliformes totais avalia as condições higiênicas e o índice de coliformes termotolerantes é empregado como indicador de contaminação de origem fecal e avalia as condições higiênico-sanitárias, considerando que a população deste grupo é constituída de uma alta proporção de *E. coli* (JAY, 1994).

Na análise do número mais provável (NMP) de coliformes totais não foi evidenciada a formação de gás nos tubos de Durhan, e portanto, estimou-se uma contaminação de coliformes inferior a 0,03 NMP/mL na bebida láctea preparada. O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea para bebida láctea pasteurizada permite o máximo de duas amostras em cinco amostras analisadas, contendo NMP entre 5 a 10 coliformes totais/mL ($n=5$ $c=2$ $m=5$ $M=10$) (BRASIL, 2005).

A contaminação por fungos filamentosos e leveduras foi estimada ser menor do que 10 UFC/mL durante todo o tempo de estocagem. Os resultados encontrados para coliformes, fungos filamentosos e leveduras indicaram que o produto foi elaborado sob condições adequadas de processamento, pasteurização e higiene e não houve contaminação após o processamento do mesmo.

Os resultados das análises microbiológicas mostram que a bebida tratada termicamente após fermentação apresentou baixa contaminação inicial e estabilidade microbiológica no decorrer do período de estocagem à temperatura ambiente o que demonstrou que as barreiras impostas aos microrganismos como pH baixo, tratamento térmico e conservantes foram eficientes.

4.5.3. Aceitação sensorial

A equação linear explica significativamente a variação da aceitação em função dos tempos de estocagem, pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade. A equação obtida foi: $y = -0,0215x + 7,4808$, em que y = escore sensorial e x = tempo de estocagem, apresentando coeficiente de determinação $R^2 = 0,9963$. Porém esta variação nos escores sensoriais durante o tempo de estocagem é pequena.

Os escores sensoriais médios obtidos para a bebida láctea foram os seguintes: 7,47 para o primeiro dia de estocagem, 7,16 para o décimo quarto dia e 6,89 para o vigésimo oitavo dia de estocagem. No primeiro dia a bebida apresentou média entre os termos hedônicos gostei moderadamente e gostei muito e no vigésimo oitavo dia reduziu para gostei ligeiramente e gostei moderadamente. O decréscimo na aceitação sensorial do produto com o tempo de estocagem pode ser devido a mudanças no sabor do produto. Tal fato pode estar associado à liberação de peptídeos pela ação de enzimas citoplasmáticas proteolíticas após a lise das células de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. MARTIN *et al.* (2002) constataram alteração do sabor em iogurtes batidos após 21 dias de armazenamento devido à proteólise. O *Lactobacillus bulgaricus* possui atividade proteolítica (KROGER, 1975). Segundo LEITE (2005), a proteólise em leite UHT adicionado de células inativadas de *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20, pode ser explicada pela ação de enzimas endógenas deste microrganismo liberadas após a morte das células.

TORRES (1988) também utilizou a escala hedônica de nove pontos para avaliar a aceitação de bebidas à base de soro de mussarela, pasteurizado, mantido à temperatura de refrigeração por 21 dias de estocagem. As bebidas obtiveram os seguintes escores médios: sabor morango: 7,18 pontos, sabor limão: 6,96 pontos, sabor abacaxi: 6,8 pontos e sabor pêra: 6,63 pontos.

Bebidas lácteas fermentadas com cultura de iogurte foram elaboradas por TEIXEIRA (2002) a partir de soro de ricota nas proporções de 50, 60, e 70% misturados ao leite e estocadas sob refrigeração a 7 °C. No teste de aceitação realizado com 66 provadores utilizando a escala hedônica de nove pontos a formulação contendo 50% de soro apresentou média de 7,27 pontos, a formulação contendo 60% de soro obteve média de 6,22 pontos e a formulação contendo 70% de soro obteve média de 6,63 pontos.

5. CONCLUSÕES

A pesquisa de mercado revelou que existe um mercado potencial para bebida láctea tratada termicamente após fermentação, uma vez que 77% dos entrevistados afirmaram que comprariam este produto. Entretanto, foi observado grande falta de informação entre os consumidores sobre bebidas lácteas e sobre a utilização do soro de leite. Os consumidores necessitam de maior orientação sobre este assunto.

No desenvolvimento e avaliação da bebida láctea tratada termicamente após fermentação pôde-se concluir que o tratamento térmico aplicado (65 °C/15min) aliado ao pH baixo do produto (pH 3,4) e conservantes, foi suficiente para a estabilidade físico-química e microbiológica da mesma, por 35 dias de estocagem. A bebida láctea desenvolvida apresentou boa aceitação sensorial durante o período de 28 dias apresentando média de 7,17, situando-se entre os termos hedônicos gostei moderadamente e gostei muito. Embora não exista uma norma com padrões microbiológicos estabelecidos para bebida láctea tratada termicamente após fermentação, os valores encontrados das análises microbiológicas foram inferiores aos estabelecidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea para bebida láctea pasteurizada.

O produto desenvolvido constitui uma alternativa para aproveitamento do soro de leite líquido e apresenta uma forma simples de processamento para as indústrias de laticínios, não havendo necessidade de grandes investimentos em equipamentos, uma vez que não utiliza tratamentos térmicos drásticos como no sistema UHT, e nem envase asséptico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTUNES, V. C. **Visão de estudantes do ensino fundamental sobre nutrição e higiene dos alimentos e consumo de produtos lácteos.** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa - MG. 70 p. 2006.

ALEXANDRE, D., CUNHA, R. L., HUBINGER, M. D. Conservação do açaí pela tecnologia de obstáculos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** v. 24, n.1, p. 114-119, 2004.

AL-KADAMANYA, E., KHATTARB, M., HADDADC, T., TOUFEILI, I. Estimation of shelf-life of concentrated yogurt by monitoring selected microbiological and physicochemical changes during storage. **Lebensmittel - Wissenschaft und -Technologie.** v. 36, p. 407-414, 2003.

AZEREDO, H. M. C., JARDINE, J. A. Desidratação osmótica de abacaxi aplicada à tecnologia de métodos combinados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** v. 20, n.1, p. 78-82, 2000.

BARBOSA, C. S., MENDONÇA, R. C. S., FREITAS, M. E., CHAGAS, R. C. A produção de queijo e a consciência ambiental do consumidor. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes.** Juiz de Fora, n. 357, v. 62, p. 316-321, 2007.

BEALES, N. Adaptation of microorganisms to cold temperatures, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.** v. 3, p.1-20, 2004.

BIANCHI, M.L. How to manage osteoporosis in children. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology.** v. 19, n. 6, p. 991-1005, 2005.

BRASIL, 2003. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. **Métodos Analíticos Oficiais Microbiológicos para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de origem Animal e Água.** Diário Oficial da União - DOU 18 de setembro de 2003.

BRASIL, 2005. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea.** Diário Oficial da União - DOU 24 de agosto de 2005.

BRASIL, 2006. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. **Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos.** Diário Oficial da União - DOU 14 de dezembro de 2006.

- CAMERON, M. S., LEONARD, S. J., BARRETT, E. L. Effect of moderately acidic pH on heat resistance of *Clostridium sporogenes* spores in phosphate buffer and in buffered pea puree. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 39, n. 5, p. 943-949, 1980.
- CASADEI, M. A., INGRAM, R., HITCHINGS, E., ARCHER, J., GAZE, J. E. Heat resistance of *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium* and *Lactobacillus delbrueckii* in relation to pH and ethanol. **International Journal of Food Microbiology**. v. 63, p. 125-134, 2001.
- CHAVES, J. B. P., SPROESSER, R. L. **Práticas de laboratório de análise de alimentos e bebidas**. Imprensa Universitária: Viçosa. 81p. 2002.
- COSTA, E. G. F. **Desenvolvimento de uma bebida a base de proteína de soja, enriquecida com vitaminas A e D**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa. 75 p. 2003.
- CRUZ, R. S., SOARES, N. F. F. Efeito da adição de CO₂ sobre o crescimento microbiano em macarrão tipo massa fresca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 22, n. 2, p.147-150, 2002.
- CRUZ, R. S., SOARES, N. F. F., Andrade, N. J. Evaluation of oxygen absorber on antimicrobial preservation of lasagna-type fresh pasta under vacuum packed. **Ciência e Agrotecnologia**. v.30, n.6, p.1135-1138, 2006.
- DAVIES, E.A., BEVIS, H.E., DELVES-BROUGHTON, J. The use of the bacteriocin, nisin, as a preservative in ricotta-type cheeses to control the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes*. **Letters in Applied Microbiology**. v.24, p. 343-346, 1997.
- EGLI, F. Production of shelf stable and sterile yoghurt. **U. S. Patent n° 4235934**. 1980.
- FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e práticas**. 2ª edição. Porto Alegre: Artmed. 2006. 602p.
- FERNÁNDEZ, P. S., OCIO, M. J., RODRIGO, F., RODRIGO, M., MARTÍNEZ, A. Mathematical model for the combined effect of temperature and pH on the thermal resistance of *Bacillus stearothermophilus* and *Clostridium sporogenes* spores. **International Journal of Food Microbiology**. v.32, p. 225-233, 1996.
- FOX, P. F. **Advanced dairy chemistry**. Ed. Chapman & Hall. v. 3, 519p. 1997.
- GIROTO, J.M., PAWLOWSKY, U. O soro de leite e as alternativas para seu beneficiamento. **Revista Brasil Alimentos**, n.10, Set/Out. 2001.
- GIROTO, J.M., PAWLOWSKY, U. Assimetria Tecnológica para uso do soro de Leite. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**. Juiz de Fora, n. 339, v. 59, p. 441-444, 2004.

- GOULD, G. W. Methods for preservation and extension of shelf life. **International Journal of Food Microbiology**. v.33, p 51-64, 1996.
- GRAM, L., RAVN, L., RASCH, M., BRUHN, J. B., CHRISTENSEN, A. B., GIVSKOV, M. Food spoilage-interactions between food spoilage bacteria. **International Journal of Food Microbiology**. v.78, p 79-97, 2002.
- GULDAS, M., ATAMER. M. Effect of pasteurization norm and storage temperature on the quality of long-life yoghurt. **CAB Abstracts**. v.20, n.5, p. 313-319, 1995.
- JAGANNATH, A., TSUCHIDO, T., MEMBRE, J. M. Comparison of the thermal inactivation of *Bacillus subtilis* spores in foods using the modified Weibull and Bigelow equations. **Food Microbiology**. v.22, p. 233-239, 2005.
- JAY, J. M. **Microbiologia moderna de los alimentos**. 3º ed. Tradução: Manuel Ramis Vergés. Acribia. Zaragoza. 804 p. 1994.
- KELLY, A. L., DATTA, N., DEETH, H. C. Thermal processing of dairy products. In: **Thermal food processing: new technologies and quality issues**. Edited by Da-Wen Sun, CRC Press, 2006. p. 265-298.
- KROGER, M. Quality of yogurt. **Journal Dairy Science**. v. 59. n. 2, p. 344-350, 1975.
- LEISTNER, L. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. **International Journal of Food Microbiology**. v. 55, p. 181-186, 2000.
- LEISTNER, L., GOULD, G. W. Hurdle technologies: combination treatment for food stability, safety and quality. **Food Engineering Series**. Kluwer Academic/ Plenum Publishers: New York. 194 p. 2002.
- LEITE, M. O. **Desenvolvimento de processos para a produção de probióticos com *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Universidade Federal de Viçosa. 76 p. 2005.
- LÓPEZ, M., GONZÁLEZ, I., CONDÓN, S., BERNARDO, A. Effect of pH heating medium on the thermal resistance of *Bacillus stearothermophilus* spores. **International Journal of Food Microbiology**. v.28, p. 405-410, 1996.
- MACHADO, R. M. G., FREIRE, V. H., SILVA. P. C., FIGUERÊDO, D. V., FERREEIRA, P. E. **Controle Ambiental nas pequenas e médias indústrias de laticínios**. Projeto Minas Ambiente. Belo Horizonte: SEGRAC Editora e Gráfica Ltda, 223p., 2002.
- MARCHIORI, E. Alto valor agregado. **Revista indústria de laticínios**. n.63, São Paulo. S.P. MAI/JUN, 2006a.

- MARCHIORI, E. Multi-uso. **Revista indústria de laticínios**. n.65. São Paulo. S.P. SET/OUT, 2006b.
- MARTIN, N. C., SKOKANOVA, J., LATRILLE, E., BEAL, C., CORRIEU, G. Influence of fermentation and storage conditions on the sensory properties of plain low fat stirred yogurts. **Journal of Sensory Studies**. v. 14, p.139-160, 1999.
- MALLIDIS, C. G., FRANTZESKAKIS, P., BALATSOURAS, G., KATSABOXAKIS, C. Thermal treatment of aseptically processed tomato paste. **International Journal of Food Microbiology**. v.25, p. 442-448, 1990.
- MAZA, M., LÓPEZ, M., GONZÁLEZ, I., GONZÁLEZ, J., BERNARDO, A., MARTÍN, R. Effects of the heating medium pH on heat resistance of *Bacillus cereus* spores. **Journal of Food Safety**. V. 18, p. 25-36. 1998 1998.
- MELLO, E. M. **Obtenção e caracterização de concentrado protéico de soro, por ultrafiltração**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas. 1989.
- MESQUITA, P. C., MAIA, G. A., SOUZA FILHO, M. S. M., NASSU, R. T. Estabilidade microbiológica, físico-química e sensorial de pedúnculos de caju (*Anacardium occidentale L.*) processados por métodos combinados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.23, n.3, p. 366-369, 2003.
- MIGLIORANZA, L. H. S., MATSUO, T., CABALLERO-CÓRDOBA, G. M., DICHI, J. B., CYRINO, E. S., OLIVEIRA, I. B. N., MARTINS, M. S., POLEZER, N. M., DICHI, I. Effect of long-term fortification of whey drink with ferrous bisglycinate on anemia prevalence in children and adolescents from deprived areas in Londrina, Paraná, Brazil. **Nutrition**. v.19, n. 5, p. 419–421, 2003.
- MILAGRES, M. P., ABRANCHES, A., DIAS, G., ARAUJO, M. M., SILVA, M. °, BRANDÃO, S. C. C. Estudo da viabilidade e desenvolvimento de uma bebida a base de soro de leite prebiótica nas versões com açúcar e sem açúcar. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**. Juiz de Fora, n. 357, v. 62, p. 230-236, 2007.
- MUCCHETTI, G., BONVINI B., FRANCOLINO S., NEVIANI E., CARMINATI D. Effect of washing with a high pressure water spray on removal of *Listeria innocua* from Gorgonzola cheese rind. **Food Control**. v.19, p.521–525, 2008.
- NORIEGA, L., GUEIMONDE M., ALONSO L., REYES-GAVILÁN, C. G. Inhibition of *Bacillus cereus* growth in carbonated fermented bifidus milk. **Food Microbiology**. v.20, p. 519–526, 2003.
- PALOP, A., MARTÍNEZ, A. pH-Assisted Thermal Processing. In: **Thermal Food Processing: new technologies and quality issues**. Edited by Da-Wen Sun. Boca Raton: CRC Press, 2006. p. 567-596.

- PAULA, J. C. J. **Elaboração e estabilidade de bebida carbonatada aromatizada à base de soro de leite**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa. 57 p. 2005.
- PERIAGO, P. M., MOEZELAAR, R. Combined effect of nisin and carvacrol at different pH and temperature levels on the viability of different strains of *Bacillus cereus*. **International Journal of Food Microbiology**. v. 68, p. 141-184, 2001.
- SAMARA, B. S., BARROS, J. C. **Pesquisa de Marketing: conceitos e metodologia**. Terceira edição. Prentice Hall: São Paulo. 2002.
- SANTANA, R. S., COSTA, S. A., ABREU, C. A. M., ALBUQUERQUE, S. S. M. C. Separação das proteínas do soro de queijo por adsorção utilizando hidroxiapatita e carvão ativado como adsorventes. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**. Juiz de Fora, n. 345, v. 60, p. 239-242, 2005.
- SANTOS, J. P. V., FERREIRA, C. L. L. F. Alternativa para o aproveitamento de soro de queijo nos pequenos e médios laticínios. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**. Juiz de Fora, n. 321, v. 56, p. 44-50, 2001.
- SEVERO, L. M. B. **Desenvolvimento de uma bebida láctea a base de soro de leite fermentado**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Londrina. 74 p. 1995.
- SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**. Campinas. v.17, n.4, p. 397-409, 2004.
- TEIXEIRA, S. M. B. **Elaboração de bebida láctea fermentada utilizando soro de ricota**. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras. 63 p. 2002.
- TEIXEIRA, V.Q., CORTEZ, M.A.S., SILVA, C., PLATTE, C. S., SILVA, A.C.O. Soro de queijo: percepção do mercado consumidor em relação a sua utilização. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**. Juiz de Fora, n. 345, v. 60, p. 418-421, 2005.
- THAMER, K. G., PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas. v.26, n.3, p. 589-595, 2006.
- TORRES, C. C. **Bebidas a base de soro de queijo: caracterização físico-química, microbiológica e sensorial**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa. 117 p. 1988.
- VALERO, M., FERNANDEZ, P. S., SALMERON, M. C. Influence of pH and temperature on growth of *Bacillus cereus* in vegetable substrates. **International Journal of Food Microbiology**. v. 82, p.71-79, 2003.