



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**  
**FACULDADE DE NUTRIÇÃO**  
**MESTRADO EM NUTRIÇÃO**



***CARACTERIZAÇÃO DE IOGURTES ENRIQUECIDOS COM***  
***PRÓPOLIS VERMELHA***

**JOSICLEIDE DO NASCIMENTO OLIVEIRA SILVINO**

**MACEIÓ-2014**

**JOSICLEIDE DO NASCIMENTO OLIVEIRA SILVINO**

***CARACTERIZAÇÃO DE IOGURTES ENRIQUECIDOS COM  
PRÓPOLIS VERMELHA***

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Nutrição da Universidade Federal de Alagoas, como requisito à obtenção do grau de Mestre em Nutrição.

Orientador: **Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento**  
Escola de Enfermagem e Farmácia/Faculdade de Nutrição  
Universidade Federal de Alagoas

Co-Orientadora: **Profa. Dra. Maria Cristina Delgado da Silva**  
Faculdade de Nutrição  
Universidade Federal de Alagoas

**MACEIÓ-2014**



**MESTRADO EM NUTRIÇÃO  
FACULDADE DE NUTRIÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**



Câmpus A. C. Simões  
BR 104, km 14, Tabuleiro dos Martins  
Maceió-AL 57072-970  
Fone/fax: 81 3214-1160

---

**PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE  
DISSERTAÇÃO**

**“CARACTERIZAÇÃO DE IOGURTES ENRIQUECIDOS COM  
PRÓPOLIS VERMELHA”**

Por

***Josicleide do Nascimento Oliveira Silvino***

A Banca Examinadora, reunida aos 29 dias do mês de agosto do ano de 2014, considera a candidata:\_\_\_\_\_.

---

Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento  
Escola de Enfermagem e Farmácia/Faculdade de Nutrição  
Universidade Federal de Alagoas  
(Orientador)

---

Prof. Dr. Pierre Barnabé Escodro  
Universidade Federal de Alagoas/Viçosa  
(Examinador)

---

Profa. Dra. Ana Flávia Oliveira Santos  
Centro Universitário CESMAC/Maceió  
(Examinadora)

## AGRADECIMENTOS

À Deus, sempre em primeiro lugar, minha gratidão e meu louvor. Obrigada Senhor, por ter me acolhido e me cuidado em momentos em que pensei que não suportaria e foram nesses momentos que aprendi que Tu me amas.

Agradeço-te pela aprovação no mestrado da UFAL naquele ano difícil e assim me mostrou um caminho a seguir, um recomeço.

Por falar nisso, quero agradecer à UFAL pela oportunidade de qualificação profissional e à Capes pela bolsa concedida.

Ao Instituto Federal de Alagoas por continuar com as portas abertas, sempre que preciso.

Ao meu querido orientador Ticiano Gomes, que me iluminou em muitos momentos de dúvidas e me mostrou que, na simplicidade as coisas vão ganhando forma e aqui está o resultado deste trabalho. Quando crescer, quero ser igual a você, obrigada.

À professora Maria Cristina Delgado por ter-me abertos as portas do laboratório de microbiologia, sem restrições.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Nutrição pelos ensinamentos.

Aos professores Pierre Barnabé e Ana Flávia Oliveira que aceitaram compor a banca, contribuindo com este trabalho.

Aos colegas do laboratório que muito colaboraram, em especial ao Cantídio, muito obrigada pela dedicação.

Meu sincero agradecimento a todos os participantes voluntários das análises sensoriais, que contribuíram com este estudo.

Aos colegas Girleide, Aparecido, Paulo e Rafael que contribuíram para elaboração dos experimentos e execução das análises sensoriais.

E por falar em análises sensoriais, meu abraço carinhoso a professora Maria Aparecida que me guiou nessa jornada, graças a você querida, esse trabalho foi possível, muito obrigada.

Não conseguiria sem a ajuda de uma amiga especial como Adriana que foi muito importante nessa jornada com suas palavras de incentivo, com broncas, risos e estudos, obrigada.

À Allana, sempre prestativa, você me deu muito apoio, valeu!

À minha família sempre, pois é pra ela que volto pra descansar quando estou fatigada.

À minha mãe maravilhosa Josefa Maria, sem ela eu não conseguiria, obrigada mãe.

À meu pai José Oliveira (Em memória), tudo começou por você, saudades de mais.

Meus irmãos Jadson Oliveira e Jair Oliveira, que cuidam sempre de mim. Também as minhas cunhadas Joquebede e Andressa, amo todos vocês.

Ao Jair Ferreira por partilhar dos momentos mais difíceis dessa caminhada e pela paciência durante esse tempo.

Ao meu querido sobrinho Miguel Fernando, lindo da titia. E ao meu bebezinho Davi Michel que encheu novamente meu coração de esperança e amor, me trouxe VIDA! Me ensinou a sorrir novamente e a querer estar aqui outra vez. Te amo, filhotinho.

Ao meu querido Fernando Silvino (Em memória) que deu início a minha carreira acadêmica e tornou todo esse sonho possível, você estará sempre em meu coração. A saudade foi o nome que deram a agonia da sua ausência, mas espero encontrá-lo um dia... Espero.

À todos que contribuíram indiretamente para realização deste trabalho, muito obrigada.

Com amor,  
à todos, agradeço!

## RESUMO GERAL

O iogurte é um leite fermentado obtido por coagulação e diminuição do pH do leite, pela ação de cultivos de micro-organismos específicos e muitos são seus benefícios à saúde humana devido a suas propriedades gastroentérico reguladoras. O uso de aditivos ao iogurte visa melhorar suas características físico-químicas e nutricionais e, nesse sentido, o soro de leite tem sido aplicado. A fortificação de iogurtes com extratos de própolis vem agregar valor a esse alimento devido a presença de seus compostos bioativos com diversas atividades de biológicas. Com isto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar iogurtes estabilizados com leite (YA) ou soro de leite em pó (YB), fortificados com própolis vermelha. Obteve-se o extrato bruto e a tintura de própolis vermelha a partir da própolis vermelha *in natura*, a qual foi coletada na cidade de Marechal Deodoro-AL. Os iogurtes YA e YB receberam mesmos percentuais (0,1% a 0,3%) de tintura de própolis vermelha. Após processamento, os iogurtes foram armazenados a 5°C até o dia seguinte em que se realizou a quebra da coalhada, adicionou-se a calda com o sabor desejado, “flavorizante”, e a tintura de própolis vermelha. As análises sensoriais foram conduzidas no Laboratório de Análise Sensorial do IFAL (Câmpus Satuba). Os tratamentos foram servidos em delineamento de blocos completos balanceados. Avaliados por 50 julgadores não treinados, através do método analítico subjetivo, em cabines individuais. Os julgadores receberam 25g da amostra e ficha para avaliação com a escala hedônica de nove pontos por meio da qual expressaram sua aceitação. Os testes sensoriais mostraram que o iogurte sabor morango foi a melhor combinação flavorizante/tintura de própolis vermelha. Um percentual de 0,3% de tintura de própolis vermelha conferiu aos iogurtes características físico-químicas e microbiológicas semelhantes a iogurtes não fortificados. Avaliou-se o perfil físico-químico, microbiológico e cromatográfico dos iogurtes. O iogurte YB manteve os valores de pH mais baixos durante toda a fermentação, acelerando em 20 minutos o processo fermentativo. Os resultados cromatográficos demonstram a presença de isoflavonas nos iogurtes fortificados. Os iogurtes foram submetidos a estudo de estabilidade microbiológica e apresentaram uma contagem de bactérias lácteas de  $(1,0 \times 10^7 \text{ UFC})$  ao final de 28 dias dentro das especificações da legislação vigente. Os dados sensoriais, físico-químicos e microbiológicos demonstram o desenvolvimento padronizado de iogurtes fortificados com própolis vermelha.

## PALAVRAS-CHAVE

Iogurte fortificado. Análise Sensorial. Própolis vermelha. Soro de leite. Estabilidade microbiológica. CLAE-UV.

## **ABSTRACT**

Yogurt is fermented milk obtained by coagulation and decreasing of the pH of milk. This process occurs by the action of cultures of specific micro-organisms and they are many benefits to human health due to their gastrointestinal regulatory properties. The use of additives to yogurt aims to improve its physical-chemical and functional and nutritional characteristics and, accordingly, the milk whey has been applied. Fortification of yogurt with extracts of propolis has improved the value to the food due to the presence of their bioactive compounds with diverse biological activities. The aim of this study was to characterize yogurt stabilized with whole milk (YA) or milk whey (YB) both fortified with red propolis. The crude extract and the tincture of red propolis was obtained from propolis in natura, which was collected in the Marechal Deodoro city at the Alagoas State-Brazil. The YA and YB yogurts received the same percentage (0.1% to 0.3%) of tincture of red propolis. After processing, yogurts were stored at 5 °C until the time of break of the curd and then it was added red propolis tincture with the desired flavor. Sensory analyzes were conducted at the Laboratory for Sensory Analysis of IFAL (Câmpus Satuba-Alagoas). Yogurts were served in balanced complete blocks and then evaluated by 50 untrained judges using subjective analytical method in individual booths. The judges received 25g sample form for evaluating and with the nine-point hedonic scale by which they expressed their acceptance. Sensory tests showed that yogurt strawberry flavor was the best combination flavor and red propolis tincture. A percentage of 0.3% tincture of propolis given to yogurt physico-chemical and microbiological characteristics similar to non-fortified yogurts. Yogurts prepared with whole milk were able to mask the bitter taste of propolis in relation to yogurt containing milk whey. Evaluated the physico-chemical, microbiological and chromatographic profile of yoghurts. The YB yogurt remained lower pH values throughout the fermentation within 20 minutes accelerating the fermentation process. The chromatographic results showed the presence of isoflavones in the fortified yogurts. The yogurts were subjected to microbiological stability study and had a count of lactic acid bacteria ( $1.0 \times 10^7$  CFU) at the end of 28 days within the specifications of the current legislation. Sensory, physical-chemical and microbiological data demonstrate the standardized development of yogurts fortified with propolis.

## **KEYWORDS**

Yogurts fortified. Sensory analysis. Red propolis. Milk whey. Microbiological stability. HPLC-UV.

## NOMENCLATURA

ACP	Análise do Componente Principal
AHC	Análise Hierárquica de Clusters
$\alpha$ -La	$\alpha$ -Lactoalbumina
$\beta$ -Lb	$\beta$ -Lactoglobulina
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
BDA	Ágar Batata Dextrose
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CPS	Concentrado Proteico do Soro
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
EC	<i>Escherichia coli</i>
IFAL	Instituto Federal de Alagoas
IN	Instrução Normativa
LPD	Leite em pó desnatado
LST	Lauril Sulfato Triptose
$\mu$ L	Microlitro
MRS	Man, Rogosa e Sharpe
NMP	Número Mais Provável
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UHT	Ultra Alta Temperatura



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Revisão de literatura

Figura 1 – Modelo esquemático da micela de caseína.....	21
Figura 2 - Bactérias lácticas fermentadoras do iogurte. a) e b) <i>Lactobacillus bulgaricus</i> e <i>Streptococcus thermophilus</i> ; c) <i>Streptococcus thermophilus</i> .....	28
Figura 3 - Própolis vermelha Alagoana. ....	35

### Artigo I

Figura 4 - Fluxograma do preparo dos iogurtes com diferentes sabores, fortificados com tintura de própolis vermelha.....	45
Figura 5 - Julgadores nas cabines individuais avaliando iogurtes. ....	46
Figura 6 - Bandeja contendo iogurtes com diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha.....	47
Figura 7 - Ficha de avaliação contendo a escala hedônica utilizada nas análises sensoriais. ....	47
Figura 8 - Histograma de aceitabilidade de iogurte de goiaba fortificados com tintura de própolis vermelha em diferentes concentrações (YGA – 0,1%, YGB – 0,2% e YGC -0,3%).	50
Figura 9 - Histograma de aceitabilidade de iogurte de morango fortificados com tintura de própolis vermelha em diferentes concentrações (YMA – 0,1%, YMB – 0,2% e YMC – 0,3%). ....	50
Figura 10 - Histograma de aceitabilidade de iogurte sem sabor, fortificados com tintura de própolis vermelha em diferentes concentrações. (YNA – 0,1%, YNB – 0,2% e YNC – 0,3%). Escala hedônica 1 = desgostei muitíssimo e 9 = gostei muitíssimo. ....	51
Figura 11 - Histograma de aceitabilidade de iogurte sabor mel fortificados com tintura de própolis vermelha em diferentes concentrações (YMEL (A) – 0,1%, YMEL(B) – 0,2% e YMEL(C) – 0,3%).....	51
Figura 12 - Histograma de aceitação, indiferença e rejeição para iogurtes de goiaba, morango, sem sabor e mel, fortificados com diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha.....	52
Figura 13 - Médias de aceitabilidade dos iogurtes fortificados com própolis vermelha.....	53

Figura 14 - Médias de aceitabilidade dos iogurtes fortificados com própolis vermelha. ....	54
Figura 15 - Gráfico de empilhamento para os iogurtes fortificados com própolis vermelha. .	54
Figura 16 - Análise dos Componentes Principais dos iogurtes elaborados com leite em pó fortificados com diferentes percentuais de própolis vermelha. LGoi: iogurte sabor goiaba; LMor: iogurte sabor morango; LNat: iogurte sem sabor “natural”; LMel: iogurte sabor mel. .	55
Figura 17 - Diagrama de árvore dos tratamentos de iogurtes elaborados com leite e diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha. ....	56
Figura 18 - Histograma de aceitabilidade de iogurte de morango elaborado com soro de leite e fortificado com própolis vermelha em diferentes concentrações (YMA – 0,1%, YMB – 0,2% e YMC – 0,3%). ....	63
Figura 19 - Histograma de aceitabilidade de iogurte de goiaba elaborado com soro de leite e fortificado com própolis vermelha em diferentes concentrações (YGA – 0,1%, YGB – 0,2% e YGC – 0,3%). ....	63
Figura 20 - Aceitação, indiferença e rejeição para iogurtes de goiaba e morango adicionado de soro de leite em pó e diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha. ....	64
Figura 21 - Médias dos iogurtes elaborados com soro e fortificados com própolis vermelha. ....	65
Figura 22 - Análise do Componente Principal dos iogurtes elaborados com soro de leite em pó fortificados com diferentes percentuais de própolis vermelha. ....	66
Figura 23 - Diagrama de árvore dos tratamentos de iogurtes elaborados com diferentes percentuais de soro de leite e tintura de própolis vermelha.....	67
<b>Artigo II</b>	
Figura 24 - Quebra da coalhada, adição do sabor e tintura de tintura de própolis vermelha de iogurte de morango.....	82
Figura 25 - Fluxograma de obtenção de iogurtes com soro de leite e leite em pó e própolis vermelha.....	83
Figura 26 - Monitoramento do pH dos iogurtes elaborados com soro de leite e leite em pó. YSL = iogurte com soro de leite em pó; YLP= iogurte com leite em pó. ....	88

Figura 27 - Monitoramento do percentual de ácido láctico durante a fermentação dos iogurtes estabilizados com leite em pó e soro de leite em pó. YSL = iogurte com soro de leite em pó; YLP= iogurte com leite em pó.....	89
Figura 28 - Perfil cromatográfico dos flavonoides presentes na tintura própolis vermelha. (A)265nm, (B) 280nm, (C) 320nm e (D) 370nm. Padrões dos flavonoides: a) Ácido caféico, 2) Ácido p-cumárico, 3) Ácido ferúlico, 4) Daidzeína, 5) Liquiritigenina, 6) Pinobanks, 7) Genisteína, 8) Quercetina, 9)Luteonina, 10)Isoliquiritigenina, 11) Formononetina, 12) Biochanina A, 13) Dalbergina, 14) Pinocembina, 15) Crisina.....	94
Figura 29 - Perfil cromatográfico dos ácidos fenólicos presentes na polpa de morango. (A)265nm, (B) 280nm, (C) 320nm e (D) 370nm. ....	95
Figura 30- Perfil cromatográfico dos iogurtes elaborado com soro de leite. (A) 265nm, (B) 280nm, (C) 320nm e (D) 370nm. ....	96
Figura 31 - Perfil cromatográfico dos iogurtes elaborado com soro de leite e polpa de morango. (A) 265nm, (B) 280nm, (C) 320nm e (D) 370nm. ....	97
Figura 32 - Perfil cromatográfico dos flavonoides presentes no iogurte de morango elaborado com soro de leite e tintura de própolis vermelha 0,3%. (A)265nm, (B) 280nm, (C) 320nm e (D) 370nm. Padrões dos flavonoides: 1) Ácido caféico, 2) Ácido p-cumárico, 3) Ácido ferúlico, 4) Daidzeína, 5) Liquiritigenina, 7) Genisteína, 8) Quercetina, 10)Isoliquiritigenina, 13) Dalbergina, 14) 15) Crisina.....	98
Figura 33 - Perfil cromatográfico dos flavonoides presentes no iogurte de morango elaborado com leite em pó e polpa de morango sem tintura de própolis vermelha. (A)265nm, (B) 280nm, (C) 320nm e (D) 370nm.....	99
Figura 34 - Perfil cromatográfico dos flavonoides presentes no iogurte de morango elaborado com leite em pó e tintura de própolis vermelha 0,3%. (A)265nm, (B) 280nm, (C) 320nm e (D) 370nm.....	99

## LISTA DE TABELAS

### Revisão de Literatura

Tabela 1 - Composição bioquímica do leite de vaca. ....	20
Tabela 2 - Composição do soro do leite. ....	24
Tabela 3- Classificação da própolis brasileira. ....	34

### Artigo I

Tabela 4- Valores médios do teste de aceitação dos iogurtes formulados com diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha. ....	49
Tabela 5- Valores médios do teste de aceitação dos iogurtes formulados com diferentes percentuais de soro de leite em pó. ....	58
Tabela 6 - Frequência de notas atribuídas aos tratamentos de iogurte batido adoçado acrescido de diferentes percentuais de soro de leite em pó. ....	59
Tabela 7 - Perfil dos iogurtes de morango adicionados de soro de leite ....	61
Tabela 8 - Valores médios do teste de aceitação dos iogurtes formulados com diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha acrescidos de soro de leite em pó. ....	62

### Artigo II

Tabela 9 - Proporção dos solventes utilizados no sistema gradiente de eluição da fase móvel. ....	87
Tabela 10 - Perfil da matéria-prima para preparo dos iogurtes. ....	90
Tabela 11 - Perfil físico-químicos dos iogurtes de morango elaborados com soro de leite e leite em pó fortificados com própolis vermelha. ....	91
Tabela 12 - Pós-acidificação dos iogurtes de morango elaborados com soro de leite e com leite em pó integrais adicionados de própolis vermelha durante estocagem. ....	93
Tabela 13 - Resultados das análises microbiológicas durante estocagem dos iogurtes de morango estabilizados com leite em pó integral ou soro de leite em pó integral e própolis vermelha. ....	101

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	15
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	18
2.1	Objetivo geral .....	18
2.2	Objetivos específicos .....	18
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	19
<b>4</b>	<b>LEITE</b> .....	20
4.1	A qualidade do leite .....	22
<b>5</b>	<b>SORO DE LEITE</b> .....	22
5.1	O soro de leite como ingrediente em alimentos .....	24
<b>6</b>	<b>IOGURTE</b> .....	25
6.1	Classificação de iogurtes .....	26
6.2	Processamento de iogurtes .....	26
6.3	A fermentação no processamento do iogurte .....	27
6.4	O iogurte como alimento funcional .....	30
<b>7</b>	<b>PRÓPOLIS</b> .....	32
7.1	Própolis vermelha .....	34
<b>8</b>	<b>COLETÂNEA DE ARTIGOS</b> .....	37
	<b>Artigo I: artigo de resultados</b> .....	38
	<b>RESUMO</b> .....	39
	<b>ABSTRACT</b> .....	40
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	41
<b>2</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	44
2.1	Preparo do extrato bruto da própolis vermelha .....	44
2.2	Processamento dos iogurtes .....	44
2.3	Análises sensoriais .....	46
2.3	Análises dos iogurtes .....	48

2.4	Delineamento experimental .....	48
2.5	Análise estatística.....	48
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>49</b>
3.1	Análise sensorial dos iogurtes fortificados com própolis vermelha.....	49
3.2	Análise sensorial dos iogurtes elaborados com soro de leite .....	58
3.3	Análise de pH, acidez titulável e sólidos solúveis dos iogurtes elaborados com soro de leite em pó.....	60
3.4	Análise sensorial de iogurtes de goiaba e morango elaborados com soro de leite e própolis vermelha.....	62
	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>68</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>69</b>
	<b>Artigo II: artigo de resultados .....</b>	<b>74</b>
	<b>RESUMO.....</b>	<b>75</b>
	<b>ABSTRACT .....</b>	<b>76</b>
	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>77</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>79</b>
4.1	Preparo do extrato bruto da própolis vermelha .....	79
4.2	Caracterização do leite para preparo dos iogurtes.....	80
4.2.1	Acidez titulável.....	80
4.2.2	pH.....	80
4.2.3	Densidade .....	80
4.2.4	Lipídios .....	80
4.2.5	Extrato seco total.....	81
4.2.6	Umidade .....	81
4.2.7	Lactose.....	81
4.2.8	Cinzas .....	82
4.3	Elaboração dos iogurtes .....	82
4.4	Delineamento experimental .....	83

4.5	<b>AVALIAÇÕES MICROBIOLÓGICAS DOS IOGURTES</b>	84
4.5.1	Coliformes a 45°C	84
4.5.2	Bolores e leveduras	84
4.5.3	Contagem de bactérias lácticas totais	85
4.5.4	Testes de confirmação dos cultivos	85
4.6	<b>AVALIAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DOS IOGURTES</b>	85
4.6.1	Acidez titulável	85
4.6.2	Sólidos totais	86
4.6.3	Lipídios	86
4.7	<b>ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS (CLAE-UV)</b>	86
4.7.1	Preparo das amostras	86
4.7.2	Condições do HPLC-DAD	86
4.8	Análise estatística	87
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	88
5.1	Curva de fermentação dos iogurtes elaborados com leite em pó e soro de leite em pó	88
5.2	<b>RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS E CROMATOGRÁFICOS</b>	90
5.2.1	Perfil físico-químico dos iogurtes de morango elaborados com leite em pó e soro de leite em pó e fortificados com própolis vermelha	91
5.2.2	Pós-acidificação dos iogurtes durante vida útil	92
5.2.3	Perfil cromatográfico dos iogurtes em relação à própolis vermelha	94
5.3	<b>RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS</b>	100
5.3.1	Caracterização microbiológica dos iogurtes durante estocagem	100
6	<b>CONCLUSÃO</b>	103
	<b>REFERÊNCIAS</b>	104
	<b>REFERÊNCIAS</b>	108





A origem do iogurte situa-se no Oriente Médio ou na Índia, onde os pastores nômades, ao armazenar o leite sempre nos mesmos recipientes, foram selecionando uma microbiota que o fermentava produzindo sabor agradável (ORDÓÑEZ, 2005).

O iogurte é um leite fermentado obtido por coagulação e diminuição do pH do leite, pela ação de cultivos de micro-organismos específicos *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, que devem estar viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade. A atividade destes cultivos contribui para a determinação das características do produto final (FORSYTHE, 2002; CODEX ALIMENTARIUS, 2003; BRASIL, 2007).

A produção de leites fermentados, em particular o iogurte, domina o mercado mundial (ORDÓÑEZ, 2005). Entre todos os leites fermentados, é o mais popular e o mais consumido no Brasil, principalmente por suas características organolépticas e não por suas qualidades nutritivas e possíveis propriedades terapêuticas (AQUARONE et al. 2001).

Apesar disto, muitos são os benefícios do iogurte (HUERTAS, 2012). Entre estes, estão a prevenção de câncer de cólon, diminuição de colesterol, melhoramento da flora intestinal, efeitos no sistema imune, redução de diarreia em crianças, além da síntese e biodisponibilidade de nutrientes, melhorando tanto em quantidade quanto em disponibilidade de nutrientes na dieta. Pesquisas realizadas pelo Instituto Nacional do Conselho Superior de Investigações Científicas da Espanha (CSIC) relatam sobre os benefícios do iogurte, afirmando que o indivíduo que o consome habitualmente segrega substâncias que beneficiam o sistema imunológico, que se mantém posteriormente, mesmo que o consumo seja suspenso (MILKPOINT, 2001).

A tecnologia de elaboração do iogurte está bem definida, mesmo assim, visando atender as exigências dos consumidores por alimentos mais nutritivos e com alegações de saúde, pesquisas vêm sendo desenvolvidas observando à incorporação de novos ingredientes à formulação. Nesse contexto, diversos autores, a exemplo de Santos (2012), Bastiane (2009) e Espírito Santo et al. (2012) realizaram estudos que estão relacionados a qualidade, processamento e inovações tecnológicas de iogurtes, demonstrando interesse da comunidade científica por esse alimento. Nestes e em outros estudos são pesquisados o efeito da adição de outras substâncias alimentícias ao iogurte como fibras de frutas, antioxidantes a partir de outros produtos como extratos de sementes de uva, bagaço de uva, e fortificados com polifenóis obtidos de groselha negra (ESPÍRITO SANTO et al. 2012; CHOUCOULI, et al. 2013; TSENG; ZHAO, 2013; SUN-WATERHOUSE et al. 2013).

A adição de reconstituintes ao iogurte visa melhorar suas características reológicas, uma delas é a textura. Pesquisa utilizando soro de leite ou concentrado proteico do soro na fabricação de iogurte tem sido desenvolvida para verificação de seus efeitos sobre as características sensoriais, nutricionais e reológicas (LIMA et al. 2006; BASTIANI, 2009).

Assim, no preparo de iogurtes podem ser adicionadas substâncias alimentícias de origem animal e vegetal (BRASIL, 2007). Um produto de origem vegetal que possui muitos compostos bioativos e tem potencial para ser um aditivo alimentar natural, atuando como antioxidante e por sua atividade antimicrobiana bem como sob a forma de ingrediente funcional é a própolis. Os compostos presentes na própolis podem trazer muitos benefícios à saúde, dentre estes compostos, destacam-se os flavonoides com potencial ação antioxidante (ACKERMAN, 1991; COSTA; ROSA, 2011).

A própolis vermelha, de origem botânica *Dalbergia ecastophillum* da família Fabaceae da região nordeste do Brasil, especificamente do estado de Alagoas, apresenta maiores quantidades percentual de fenóis totais e o terceiro maior teor de flavonoides totais em relação à própolis obtidas de outros estados. Na própolis vermelha, foram identificados dois isoflavonóides, o pterocarpano medicarpina e a isoflavana isosativana. Esta é considerada uma fonte promissora de novos compostos bioativos (ALENCAR et al. 2007; RIGHI, 2008).

Portanto, neste estudo, buscou-se elaborar iogurtes estabilizados com soro de leite em pó integral adicionados de própolis vermelha, submetendo-os a testes de aceitabilidade. A combinação de um produto fermentado enriquecido com as substâncias presentes na própolis vermelha pode contribuir com as necessidades atuais e exigência do mercado consumidor na busca por alimentos com alegações de saúde.

Assim, a pesquisa foi composta por dois experimentos conduzidos em cascata, com os seguintes objetivos:

1. Elaborar iogurtes com leite/soro de leite em pó integrais e diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha e verificar a aceitabilidade global dos experimentos mediante três sabores distintos: goiaba, morango, mel bem como iogurte sem adição de sabor, visando à obtenção da melhor formulação sabor/própolis vermelha;
2. Através da escolha dos melhores tratamentos de iogurtes obtidos no primeiro estudo por meio dos testes de aceitabilidade, objetivou-se elaborar e caracterizar os iogurtes mediante análises físico-químicas, cromatográficas e microbiológicas.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver iogurtes estabilizados com soro de leite e leite em pó integral fortificados com extrato própolis vermelha.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Processar e monitorar a fermentação dos iogurtes estabilizados com soro de leite e leite em pó integral por meio da acidez titulável e pH;

Realizar Análise Sensorial para escolha da melhor composição de iogurtes fortificados com extratos de própolis vermelha;

Estabelecer a melhor combinação sensorial iogurte/concentração de extrato de própolis/flavorizante;

Estabelecer o melhor flavorizante compatível sensorialmente com os iogurtes fortificados com extratos de própolis vermelha;

Determinar o perfil químico e físico-químico da melhor formulação de iogurte com soro de leite em pó e leite em pó integral acrescido de própolis vermelha;

Identificar a presença dos isoflavonóides nos iogurtes fortificados com própolis vermelha através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-UV);

Determinar o perfil microbiológico da melhor formulação do iogurte com soro de leite em pó e leite em pó integral fortificados com própolis vermelha durante estocagem.



## 4 LEITE

Para mamíferos jovens, incluindo os seres humanos, o leite é o primeiro e, sobretudo, o único alimento ingerido por um período de tempo considerável e é composto por uma mistura complexa de lipídios, proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais (FENNEMA et al. 2010). É um produto importante para todos os povos e desde sempre tem sido utilizado na alimentação humana, pois oferece uma equilibrada composição de nutrientes resultando em elevado valor biológico. Poucos alimentos, dentre os que comumente formam a dieta cotidiana, são tão ricos como o leite (VALSECHI, 2001; SALINAS, 2002). Nos humanos, a necessidade do produto varia conforme a faixa etária do indivíduo. Uma vida saudável depende deste alimento que, pela potencialidade da pecuária de leite nacional, pode se tornar acessível à totalidade da população (EMBRAPA, 2010). A tabela 1 ilustra a composição bioquímica do leite de vaca.

Tabela 1 - Composição bioquímica do leite de vaca.

Composição média	Leite de vaca
Água (g/L)	870
Proteínas (g/L)	35
Caseína (g/L)	27
Lipídios (g/L)	35 a 40
Ác. Graxos essenciais (g/L)	1
Carboidratos (g/L)	51
Lactose (g/L)	49
Sais minerais	7
Vitaminas	
C (mg/100mL)	2,1
B1 (µg/ 100mL)	40
B2 (µg/ 100mL)	150
B12 (µg/ 100mL)	0,5
A (UI/100mL)	160
D (UI/100mL)	0,3 a 4,0
E (µg/ 100mL)	60 a 150

Fonte: BYLUND, 1995; FERNANDES et al. (2004).

Entre os vários componentes presentes no leite, o de maior proporção é a água (TRONCO, 2003), o que influencia sensivelmente na densidade. Sua principal função é atuar como solvente dos demais componentes. A maior parte encontra-se como água livre,

embora haja água ligada às proteínas, à lactose e aos minerais (BEHMER, 1979; SPREER, 1991; SILVA et al. 1997). No leite, também existem substâncias hidrossolúveis transferidas diretamente do plasma sanguíneo, proteínas específicas do sangue e traços de enzimas. Esses componentes se apresentam em diferentes formas. Alguns minerais se encontram na forma de solução iônica; a lactose e a albumina aparecem como solução verdadeira; as caseínas e os fosfatos no estado de dispersão coloidal. A gordura do leite encontra-se na forma de pequenos glóbulos dispersos constituindo uma emulsão. Alguns fatores podem interferir nessa composição e modificar suas características, entre estes estão a espécie, a raça, o estágio de lactação, a estação do ano, o estado sanitário e a alimentação do animal (TRONCO, 2003; MAHAUT et al. 2003).

As proteínas, dentre os componentes do leite são os de maior valor para industrialização. A lucratividade das indústrias depende do rendimento representado pelo extrato seco total e eficiência da transformação do leite em co-produtos e leite fluido, que por sua vez dependem da qualidade da matéria-prima, baseada nos parâmetros de sanidade e higiene do rebanho (BRASIL, 2013).

Cerca de 95% da caseína no leite está presente na forma de partículas coloidais, conhecidas como micelas (Figura 1), que é a responsável pela estabilidade térmica do leite (FOX; BRODKORB, 2008). A estrutura interna da micela de caseína é constituída predominantemente por ligações  $\alpha$ 1-,  $\alpha$ 2-,  $\beta$ -caseína e de nanopartículas de fosfato de cálcio coloidal, enquanto que a  $\kappa$ -caseína está localizada preferencialmente na superfície da micela (DALGLEISH, 2011).

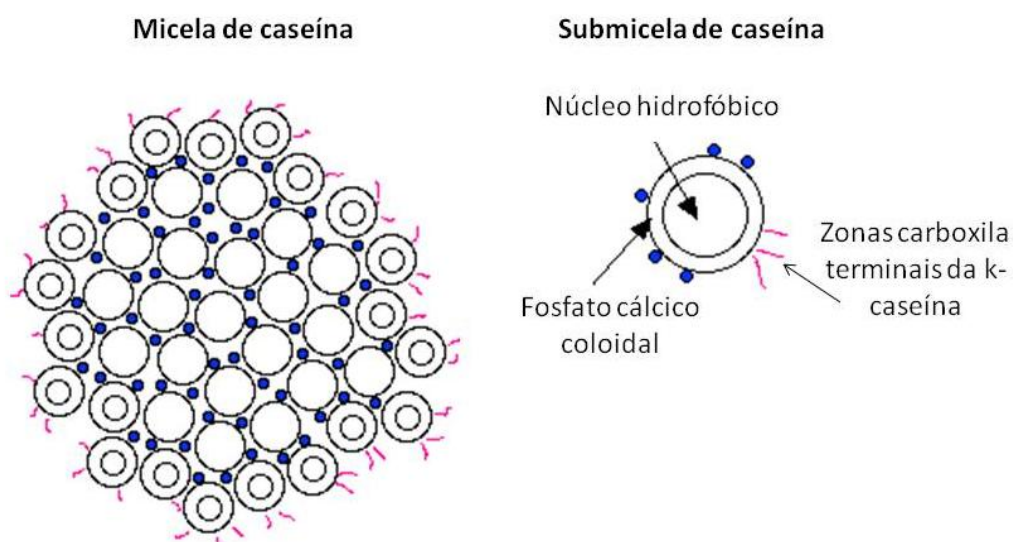


Figura 1 – Modelo esquemático da micela de caseína.

FONTE: ORDÓÑEZ, 2005; <http://drpaulomaciel.com.br/wpcontent/uploads/2009/09/casein.jpg>

#### 4.1 A QUALIDADE DO LEITE

A qualidade do leite é fator fundamental para seu consumo fluido ou para seu processamento, bem como de seus derivados. Esta é avaliada em termos de parâmetros químicos, físico-químicos, microbiológicos e sensoriais (SANTOS, 2005). O leite deve apresentar cor, sabor e odor típicos, ser isento de antibióticos e possuir qualidade microbiológica adequada, sem microrganismos patogênicos e produtores de gás (AQUARONE et al. 2001).

Para Tronco (2003) a qualidade microbiológica do leite possui dois enfoques: a qualidade industrial e os riscos à saúde do consumidor. Este parâmetro está relacionado com a sanidade animal, especificamente a saúde da glândula mamária, a higiene da ordenha, as condições dos equipamentos e utensílios de ordenha e a limpeza e desinfecção da superfície dos tetos. A qualidade microbiológica da água utilizada no estábulo para ordenha e higienização dos equipamentos é de fundamental importância, assim como o seu resfriamento imediato logo após a ordenha.

Somente leite de boa qualidade deve ser consumido e/ou processado tanto pasteurizados quanto para obtenção de seus derivados. Para o preparo de qualquer derivado lácteo as práticas de higiene deverão estar em acordo com o Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos (BRASIL, 2007).

Uma preocupação das indústrias beneficiadoras de produtos lácteos é com a fraude do leite por adição de água, pois compromete as características do produto. Nesse sentido, Robim (2011) estudou o efeito da aguagem em leite para fabricação de iogurtes, acrescentando diferentes percentuais de água destilada (0, 10, 20 e 40%). Constatou-se que esse efeito altera suas características físico-químicas para os seguintes parâmetros: acidez titulável, crioscopia, densidade e gordura. A fraude por aguagem em leites para processamento de iogurtes pode promover, ainda contaminações por micro-organismos.

Para produção de iogurtes, um leite agüado prejudica sua elaboração, aumentando o tempo de fabricação e acarretando em um produto com diferenças de qualidade e sensoriais (ROBIM, 2011).

## 5 SORO DE LEITE

O soro de leite é obtido através do processamento do queijo, no qual a caseína é insolubilizada no seu ponto isoelétrico pela ação da renina, sendo o líquido remanescente chamado de soro doce. Pode também ser obtido por precipitação ácida, denominado soro ácido. Os tipos de soro obtidos por esses dois processos diferem em sua composição. É um

sobproduto da indústria de queijo ou caseína, e pode ser definido como um líquido amarelo-esverdeado, resultante da coagulação de leite por ácido ou enzimas proteolíticas (PELEGRINE; CARRASQUEIRA, 2008; PENNA; ALMEIDA; OLIVEIRA, 2009).

Culturalmente, o soro é descartado no meio ambiente. No Brasil, cerca da metade do soro produzido é descartado, tornando-se uma potente fonte poluente, devido a sua alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO). Esta é definida como a quantidade de oxigênio consumido na degradação da matéria orgânica, por processos biológicos. Portanto, o soro é considerado um problema para as indústrias de laticínios, sobretudo para os de pequeno e médio porte (SCOTT, 1991).

A composição do soro depende da fonte do leite e do sistema de processamento usado. Geralmente os produtos de soro são ingredientes naturais co-produtos da fabricação de queijo e são muito nutricionais, contendo uma mistura de proteínas, lactose, minerais, e gorduras (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2006).

Sgarbieri (2004) destaca as propriedades multifuncionais destas proteínas para prevenção de algumas doenças podendo atuar como imunomoduladora, antimicrobiana e antiviral, anticâncer, antiúlcera, proteção ao sistema cardiovascular, benefício à atividade esportiva além de outros benefícios. O autor reporta que as proteínas apresentam quase todos os aminoácidos essenciais em excesso às recomendações, exceto pelos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina) que não aparecem em excesso, mas atendem às recomendações para todas as idades, também apresentam elevadas concentrações dos aminoácidos triptofano, cisteína, leucina, isoleucina e lisina.

As principais proteínas do soro são a  $\beta$ -lactoglobulina e  $\alpha$ -lactoglobulina, que representam mais de 50% das proteínas do soro e 20% da proteína total do leite. As proteínas secundárias do soro incluem as protease-peptonas, as proteínas do sangue e a lactoferrina. Estas proteínas são de fácil digestão e seu perfil de aminoácidos essenciais atende ou supera todas as exigências qualitativas e quantitativas estabelecidas pela Organização Mundial da Saúde (HARPER, 2008; BOBBIO; BOBBIO, 2001).

A  $\alpha$ -lactoglobulina é uma proteína com 123 aminoácidos, sendo o triptofano mais abundante, representando, aproximadamente 6%, sendo apropriada para preparação de alimentos infantis (BRAMAUD et al. 1997). A proteína  $\beta$ -lactoglobulina, é a mais abundante no soro, constituindo 162 resíduos de aminoácidos. Por ser termolábil e apresentar mudanças conformacionais reversíveis a temperaturas inferiores a 70°C, é considerado um ótimo agente de gelatinização (MORR; RA, 1993).

A tabela 2 demonstra a composição do soro de leite em g/100g do produto bem como de suas proteínas.



Tabela 2 - Composição do soro do leite.

Componente	Soro de leite
Caseínas	0,0
Proteínas do soro	0,7
Gordura	0,05
Cinzas	0,7
Lactose	4,7
Proteínas do soro do leite	
$\beta$ -lactoglobulina	0,2 – 0,4
$\alpha$ -lactalbumina	0,06 – 0,17
Albuminas do soro	0,04 -0,05
Glicomacropéptido	0,10 – 0,20
Lactoferrina	0,002 – 0,02
Lactoperoxidase	0,003
Lisozima	0,00004
Protease peptona	0,06 – 0,18
Outras proteínas	0,08

Fonte: SMITHERS ET AL.(1996); TORRES (2005); CORREIA (2012), adaptado.

### 5.1 O SORO DE LEITE COMO INGREDIENTE EM ALIMENTOS

O soro de leite tem sido muito utilizado em diversas formulações alimentícias. Sua utilização ocorre em diversas formas, como em estado sólido, fluido pasteurizado ou em forma de concentrados proteicos. Objetivando verificar o aproveitamento do soro de leite, Vidigal et al., (2010) adicionaram o Concentrado Proteico do Soro (CPS) em iogurtes, em diferentes concentrações em substituição à gordura, tal adição resultou na alteração das propriedades reológicas do iogurte, conferindo a este maior elasticidade. Os autores concluíram que a adição de CPS em níveis de 3,0% e 4,5% foram efetivos como substituto de gordura. Silva K. et al. (2004), destacaram seu uso como ingrediente em sorvete e concluíram que houve melhorias nas características físicas, químicas e sensoriais destes. Viotto et al. (2010) estudou o efeito da adição do concentrado proteico do soro, no processamento de requeijão cremoso e constatou aumento do valor nutricional e do rendimento. Onde a adição de 0,5% de CPS ao requeijão cremoso foi aceito pelos consumidores.

Ao utilizar soro de leite pasteurizado (65°C/30 min.) em bebida, Silva T. et al. (2010) observou que o sabor do soro foi mascarado pelos concentrados de frutas, obtendo viscosidade satisfatória e elevada aceitação do produto. O mesmo ocorreu nas pesquisas de

Ferrari et al. (2010) que obteve boa aceitação para todos os produtos elaborados (bolo, bebida láctea achocolatada e com doce de fruta (frapê de goiaba).

Bastiani, (2009) e Lima et al. (2006) desenvolveram iogurtes adicionados de concentrado proteico do soro de leite para verificação de seus efeitos sobre as características sensoriais e nutricionais deste alimento.

O soro pode, devido as suas propriedades tecnológicas anteriormente mencionadas, ser aproveitado em outros alimentos não lácteos promovendo características desejáveis ao produto. No estudo conduzido por Alves et al. (2010) e Correia et al. (2009) utilizou-se o soro de leite no processamento de gelatina. No primeiro estudo, os autores reaproveitaram o soro proveniente da fabricação de ricota, o soro ácido, que geralmente, é descartado por sua elevada acidez. Constatou-se que fatores como acidez e pH do soro e da polpa de fruta utilizada interferem na formação do gel de gelatina, assim a utilização do soro de leite conferiu a gelatina brilho, sabor e aroma agradáveis. No segundo estudo, o soro utilizado foi proveniente da fabricação de queijo de coalho e as formulações tiveram boa aceitação após análise sensorial.

## 6 IOGURTE

Os leites fermentados, especificamente o iogurte, teve sua origem há muitos anos no Oriente Médio ou na Índia. Os nômades, ao armazenar o leite sempre nos mesmos recipientes, foram selecionando uma microbiota que fermentava o leite e produzia um alimento de sabor agradável, daí a origem dos leites fermentados. Por definição, os leites fermentados são preparados lácteos em que o leite de diferentes espécies sofre um processo fermentativo, modificando suas propriedades sensoriais (ORDÓÑEZ, 2005).

Para a legislação brasileira, os leite fermentados são produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do pH do leite, ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de microrganismos específicos (BRASIL, 2007). Assim, o iogurte é um leite fermentado obtido pela ação de cultivos de microrganismos *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, leite fermentado com bactérias lácticas termófilas, por coagulação e diminuição do pH do leite, que devem estar viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade. A atividade destes cultivos contribui para a determinação das características do produto final (FORSYTHE, 2002; CODEX ALIMENTARIUS, 2003; BRASIL, 2007).

O leite é o maior constituinte do iogurte, no entanto a adição de alguns ingredientes é permitida, com a finalidade de atender as exigências dos diversos seguimentos no mercado (MONTEIRO, et al. 2011). Nesse sentido, leite concentrado pasteurizado, leite

integral ou parcialmente desnatado pasteurizado, leite concentrado pasteurizado integral ou parcialmente desnatado, com ou sem adição de nata pasteurizada, leite em pó integral, semidesnatado ou desnatado, soro em pó, proteínas do leite e/ou outros procedentes do fracionamento do leite podem ser utilizado para sua produção (ORDÓÑEZ, 2005).

De acordo com Brasil (2007) o iogurte pode apresentar consistência firme, pastosa, semissólida ou líquida, cor branca ou de acordo com a substância alimentícia e/ou corante adicionado. Seu odor e sabor devem ser característicos ou de acordo com a substância alimentícia e/ou substância aromatizante/flavorizante adicionada. É um alimento altamente nutritivo, rico em proteínas, cálcio e fósforo, recomendado para gestantes e lactantes, além de pessoas idosas que necessitam da reposição de cálcio. Seu valor nutritivo é semelhante ao do leite utilizado em seu preparo, adicionados dos nutrientes metabolizados pelos microrganismos envolvidos no processo de fermentação (TAMIME; DEET, 1980 apud MARTIN, 2002).

A produção de leites fermentados, em particular o iogurte, domina o mercado mundial (ORDÓÑEZ, 2005). Entre todos os leites fermentados, o iogurte é o mais popular e o mais consumido no Brasil. É consumido principalmente por suas características organolépticas, e não por suas qualidades nutritivas e possíveis propriedades terapêuticas (AQUARONE et al. 2001).

## 6.1 CLASSIFICAÇÃO DE IOGURTES

Existem no mundo muitos tipos de iogurte que podem ser classificados segundo diversos critérios. Podem ser classificados: quanto a porcentagem de gordura em integral, semidesnatado ou desnatado; quanto aos métodos de produção do gel (sem bater, batido, líquido); quanto ao aroma e sabor (natural, com frutas, aromatizado ou flavorizado); aos tratamentos pós-incubação (tratados termicamente, congelados, desidratados ou concentrados); de acordo com a viscosidade podendo ter baixa ou alta viscosidade (escorre facilmente do copo, escoia com dificuldade do copo), respectivamente e geleificado (não escorre do copo). Podem ser classificados, ainda, quanto ao processo de fabricação em tradicional, quando fermentado dentro das embalagens e batido quando fermentado em dornas e depois embalados (DAVIS, 1976 apud AQUARONE et al. 2001, ORDÓÑEZ, 2005).

## 6.2 PROCESSAMENTO DE IOGURTES

O processamento de iogurtes batidos compreendem as seguintes etapas: obtenção da matéria-prima, adição de ingredientes, pré-aquecimento/homogeneização, tratamento

térmico/pasteurização, fermentação, quebra da coalhada, adição de flavorizantes e armazenamento (ORDÓÑEZ, 2005). No tratamento térmico, o leite deverá ser homogeneizado por meios mecânicos adequados e submetido à pasteurização, ou tratamento térmico equivalente, para assegurar fosfatase residual negativa (BRASIL, 2007). O tratamento térmico indicado para fabricação do iogurte é o de 83°C durante 20 minutos, pois esse tratamento modifica a estrutura físico-química das proteínas, que são de importância tanto para atuação das bactérias quanto para a formação da textura dos produtos e saúde do consumidor (FERREIRA, 1999).

A formação do gel, ocasionada pela ação dos cultivos durante a fermentação, ocorre em duas etapas. A primeira consiste no desdobramento da cadeia proteica e na exposição dos aminoácidos capazes de formar ligações de hidrogênio. Na segunda fase, ocorrem ligações hidrogeniônicas com absorção de água e, conseqüentemente, a formação do gel (MONTEIRO et al. 2011).

Após a formação do sabor e do aroma bem como da textura característica, deve-se então proceder ao resfriamento, realizado gradualmente até atingir valores em torno de 10°C com o propósito de preservar a textura. Após alcançar a temperatura de resfriamento, a massa é quebrada e homogeneizada, segue-se a adição dos flavorizantes. Os iogurtes deverão ser envasados em materiais adequados para as condições de armazenamento previstas de forma a conferir ao produto uma proteção adequada e deve permanecer por 24 horas em temperatura de refrigeração, para adquirir sabor e aroma mais pronunciados. Em todas as formas de processamento é essencial a utilização de matéria-prima de boa qualidade e aplicação das normas de higiene (BRASIL, 2007; MONTEIRO et al. 2011).

### 6.3 A FERMENTAÇÃO NO PROCESSAMENTO DO IOGURTE

A fermentação é um dos meios mais antigos no processamento de alimentos. Os fatores mais importantes que resultam na segurança de alimentos fermentados são: acidez que é gerada a partir da produção de ácido láctico, presença de bacteriocinas, altas concentrações de sais e ambiente anaeróbio, o que contribui para inibir o desenvolvimento de bactérias deterioradoras (FORSYTHE, 2002; RODAS et al. 2001). Além de serem mais estáveis, todos os alimentos fermentados possuem aroma e sabor característicos que resultam direta ou indiretamente dos organismos fermentadores. A palavra fermentação já teve muitos significados no passado (JAY, 2005). Por definição, é a transformação química provocada por fermento vivo ou por princípio extraído de fermento (AURÉLIO, 2004). Bioquimicamente, é um processo metabólico no qual carboidratos e compostos relacionados são parcialmente oxidados, resultando em liberação de energia, sem qualquer aceptor de elétrons externo (JAY, 2005).

Durante o processo de fermentação ocorre a produção de ácido láctico como produto principal e a produção de pequenas quantidades de outros subprodutos que influenciam profundamente nas características sensoriais do iogurte. O acetaldeído é produzido em maiores quantidades seguido por acetona, 2 - butanona, diacetil e acetoína. O ácido láctico resultante da fermentação contribui para a desestabilização da micela de caseína, provocando sua coagulação no ponto isoelétrico (pH 4,6 - 4,7) e conduzindo à formação de um gel, o iogurte. Além disso, a fermentação láctica beneficia o valor nutricional do produto final (TAMIME; ROBINSON, 1991).

As bactérias lácticas são as culturas microbianas empregadas na fabricação do iogurte em uma proporção de 1:1 de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (*L. bulgaricus*) e *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* (*S. thermophilus*) (JAY, 2005; DUALDO et al. 2010; FORSYTHE, 2002), representada na figura 2 (a, b e c). A norma brasileira preconiza que, o número mínimo viável dessas bactérias dispostas no produto, deve ser superior a  $1,0 \times 10^7$  UFC.g<sup>-1</sup> (BRASIL, 2007; CODEX ALIMENTARIUS, 2003). Porém, a disponibilidade de bactérias lácticas em iogurtes comerciais até o fim da vida útil nem sempre alcança os valores preconizados pela legislação.

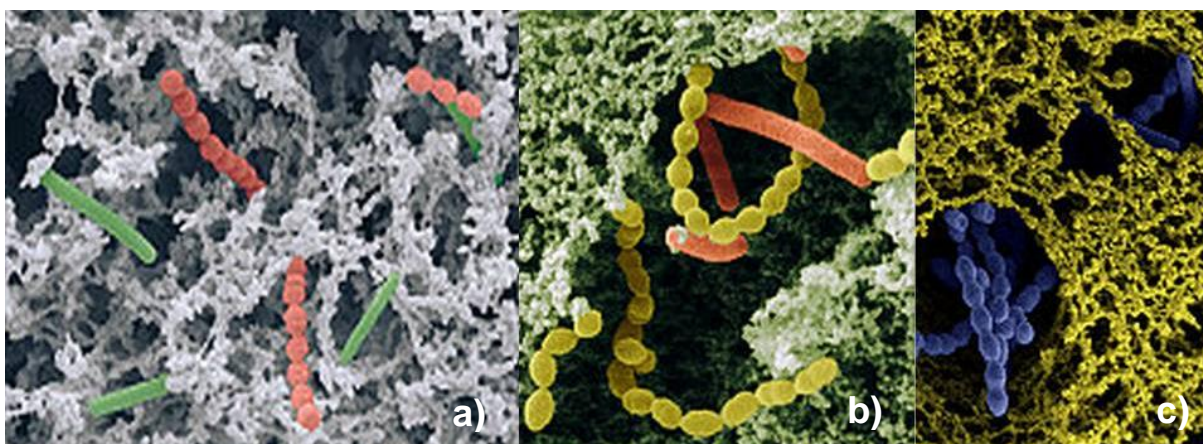


Figura 2 - Bactérias lácticas fermentadoras do iogurte. a) e b) *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*; c) *Streptococcus thermophilus*.

Fonte: Getty images (2014).

No estudo realizado por Dualdo et al. (2010) que avaliaram amostras de iogurte sabor morango durante a vida útil, coletados imediatamente após a produção em uma fábrica de laticínios, detectou-se a presença destas bactérias, no primeiro dia de fabricação do iogurte, em apenas 10% das amostras. Constatou-se diminuição do número de bactérias lácticas viáveis após 21 dias de armazenamento em condições de refrigeração. Após 42 dias de armazenamento nenhuma das amostras apresentaram valores considerados

satisfatórios. Tais resultados mostraram que estas amostras encontravam-se fora dos padrões estabelecidos pela legislação para bactérias lácticas viáveis.

A diminuição no número viável de bactérias lácticas durante a vida útil do iogurte deve-se a vários fatores. Ezkauriatza et al. (2008) citaram a utilização inadequada da cultura, deficiência na fabricação do produto ou na sua manipulação, temperatura de armazenamento, permeabilidade do oxigênio através da embalagem, presença de microrganismos competidores e de conservantes.

Na manufatura de iogurtes, durante a atividade metabólica complementar dos microrganismos envolvidos, os lactobacilos requerem um crescimento inicial dos *Streptococcus* para produzirem ácido fólico, essencial para crescimento de *Lactobacillus*. Em seguida, *Lactobacillus bulgaricus*, produz diacetil e acetaldeído, os quais acrescentam o sabor e o aroma ao produto (FORSYTHE, 2002), sendo o acetaldeído e o diacetil os mais destacados entre os componentes (ORDÓÑEZ, 2005). Há uma maior produção de acetaldeído quando as culturas crescem em associação (JAY, 2005). Portanto, é a ação simbiótica dessas culturas que produz diversos compostos, dentre os já mencionados, compostos como o ácido láctico, acetona, acetoína e ácido acético, responsáveis pelo sabor característico do iogurte (MORAES P., 2004).

De acordo com a tecnologia de fabricação, o pH do iogurte depende do tipo de cultura utilizada para a fermentação e pode variar de 4,5 a 4,8 em produtos recém elaborados (TAMIME; DEETH, 1980; CHR HANSEN, 2003 apud Dualdo et al. 2010). Para Moraes P. (2004) o pH do produto final deve estar entre 4,2 e 4,4 uma vez que a produção exagerada de ácidos causa super acidificação a partir da incubação até o armazenamento do produto nas prateleiras, promovendo características indesejáveis ao produto.

Dualdo et al. (2010) constataram a diminuição nos valores de pH durante armazenamento de iogurtes comerciais, mesmo em condições de refrigeração e afirmaram que tal efeito está relacionado ao efeito de pós-acidificação dos iogurtes.

Martin e Hohrii (2002) avaliaram o efeito na proporção das bactérias lácticas durante o armazenamento por trinta dias de iogurtes comerciais do tipo natural, integral. Detectou-se, durante a estocagem, inicialmente que a proporção das culturas era de, aproximadamente 2:1 (cocos:bacilos) da ordem de  $10^7$  UFC/ml, passando para, aproximadamente 1:1 devido as variações sofridas nos valores de pH e acidez titulável. Observou-se que os valores de pH decresceu enquanto a acidez titulável foi aumentada. Oscilações na temperatura de comercialização do produto pode ter sido a causa da diferença de viabilidade das culturas, uma vez que o gênero *Lactobacillus* manteve-se, apresentando maior estabilidade mediante condições encontradas de armazenamento enquanto o *Streptococcus* foi reduzido. Um bom iogurte se mantém em boas condições de consumo a 5°C por uma a duas semanas (JAY, 2005).

#### 6.4 O IOGURTE COMO ALIMENTO FUNCIONAL

Os vários fatores que têm contribuído para o desenvolvimento dos alimentos funcionais são inúmeros, sendo um deles o aumento da consciência dos consumidores, que desejando melhorar a qualidade de suas vidas, optam por hábitos saudáveis (MORAES F.; COLLA, 2006). Os atributos dos alimentos funcionais incluem entre outros benefícios à saúde, a redução do risco de doenças cardiovasculares, câncer, diabetes, obesidade, osteoporose e outras doenças crônicas não transmissíveis. O interesse pelos alimentos funcionais é crescente e tem atraído atenção dos consumidores e da indústria de alimentos, pois muitos alimentos contêm ingredientes bioativos que, além das suas funções de nutrir, trazem benefícios à saúde (COSTA, ROSA, 2010).

Um alimento pode ser considerado funcional se for demonstrado que o mesmo pode afetar benéficamente uma ou mais funções alvo no corpo, além de possuir os adequados efeitos nutricionais, de maneira que seja tanto relevante para o bem-estar e a saúde quanto para a redução do risco de uma doença (ROBERFROID, 2002).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), não são aprovadas alegações para ingredientes ou componentes dos alimentos, e sim para o produto final que tenha esse ingrediente ou componentes, ou seja, as alegações são para o produto como um todo.

O iogurte se destaca entre os alimentos amplamente divulgados por alegações de saúde. Vários estudos reconhecem suas características nutricionais e a presença de uma série de fatores que implicam na promoção da saúde humana (MORAES M., 2011). Apesar disso, somente iogurtes elaborados com bactérias probióticas podem ser chamados de iogurtes funcionais (ANTUNES et al. 2004).

Dentre os micro-organismos probióticos aprovados pela Anvisa que contribui para o equilíbrio da flora intestinal, encontram-se: *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei variedade rhamnosus*, *Lactobacillus casei variedade defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. Lactis*), *Bifidobacterium longum* e *Enterococcus faecium*. Como observado, os microrganismos fermentadores do iogurte *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* não estão inclusos nesta lista, pois não possuem efeitos probióticos cientificamente comprovados e são necessários ao seu processamento (ANVISA, 2013).

No entanto, a literatura disponibiliza alguns estudos que fortificam iogurtes com compostos ou compostos bioativos a partir de outros alimentos, conferindo característica de

“alimento funcional” ou simplesmente com alegações de saúde ou ainda, com superior valor nutritivo em relação a outros iogurtes sem a fortificação.

No estudo de Espírito Santo et al., (2012) avaliou-se o efeito da suplementação de iogurtes com fibras de frutas. Os autores monitoraram pH, acidez titulável, pós-acidificação, contagem de bactérias lácticas e o perfil de ácidos graxos em iogurtes elaborados com leites desnatados e fermentados por cepas de bactérias probióticas. Verificou-se que as fibras de frutas melhoraram o perfil de ácidos graxos dos iogurtes probióticos, obtendo assim um produto de alto valor agregado. Nesse estudo, os autores aliaram as fibras de frutas a iogurtes probióticos, obtendo, portanto, iogurte com função de probiótico e prebiótico.

Probiótico é o termo usado para micro-organismos vivos que podem ser agregados como suplementos na dieta, afetando de forma benéfica o desenvolvimento da flora microbiana no intestino. São também conhecidos como bioterapêuticos, bioprotetores e bioprofiláticos e são utilizados para prevenir as infecções entéricas e gastrointestinais (REIG; ANESTO, 2002).

Enquanto os prebióticos são oligossacarídeos não digeríveis, porém fermentáveis cuja função é mudar a atividade e a composição da microbiota intestinal com a perspectiva de promover a saúde do hospedeiro. As fibras dietéticas e os oligossacarídeos não digeríveis são os principais substratos de crescimento dos microrganismos dos intestinos. Os prebióticos estimulam o crescimento dos grupos endógenos de população microbiana, tais como as *Bifidobactérias* e os *Lactobacillos*, que são ditos como benéficos para a saúde humana (BLAUT, 2002). Para que uma substância (ou grupo de substâncias) possa ser definida como tal, deve cumprir os seguintes requisitos: ser de origem vegetal; formar parte de um conjunto heterogêneo de moléculas complexas; não ser digerida por enzimas digestivas; ser parcialmente fermentada por uma colônia de bactérias e ser osmoticamente ativa (RODRÍGUEZ, et al. 2003).

Chouchouli et al. (2013) fortificaram iogurtes com extratos de semente de uva (*Vitis vinífera*) objetivando conferir ação antioxidante aos iogurtes integrais e desnatados. Os autores avaliaram cor, viabilidade de *Lactobacillus ssp.*, pH e compostos da semente de uva como a epicatequina e polifenóis totais. Os extratos foram adicionados a iogurtes adquiridos no comércio local e após adição dos extratos, as amostras foram acompanhadas durante 32 dias de armazenamento. Os extratos foram obtidos a partir de duas variedades de uvas da região da Grécia Central, na Ática, e essas variedades eram utilizadas na produção de vinho tinto e vinho branco. Compostos simples de polifenóis e ácido oleanólico foram identificados nas amostras de iogurte. Compostos fenólicos totais, epicatequina, atividade sequestradora de radicais, redução do poder íon férrico, foram detectados ao longo de três semanas. A adição de 5-10mg de extrato de semente de uva ao iogurte não interferiu no crescimento de *Lactobacilluse ssp.* e não descaracterizou o produto.



No estudo de Bastiane (2009) além de concentrado proteico de soro de leite adicionou-se farinha de linhaça em iogurtes. Através destes ingredientes os iogurtes adquiriram maior qualidade proteica e excelente fonte de ácido graxo  $\alpha$ -linolênico, contendo fibra alimentar e de baixo teor de sódio. As sementes de linhaça são ricas em proteínas, fibras, cinzas e minerais, além de aminoácidos com altas taxas de ácido aspártico, ácido glutâmico, leucina e arginina, caracterizando uma proteína completa e com efeitos sobre as funções imunológicas do organismo. É a principal fonte vegetal de ácido graxo  $\alpha$ -linolênico (OOMA, 2001). Nesse estudo, as formulações de iogurte contendo 2% e 3% de farinha de linhaça, foram classificadas como excelente fonte de ácido graxo  $\alpha$ -linolênico, enquanto os iogurtes adicionados com 1% foram classificados como boa fonte. As formulações foram bem aceitas pelos consumidores. No entanto, a aceitabilidade do produto foi menor à medida que aumentava o percentual de farinha de linhaça ao iogurte.

Sun-Waterhouse; Zhou; Wadhwa (2013) estudaram o efeito da adição de polifenóis purificados e a partir do extrato de groselhas negras em iogurtes, antes e após a fermentação. Os iogurtes foram estabilizados com leite em pó e pectina de alto e baixo grau de metoxilação. Estudaram-se as propriedades químicas, reológicas e microbiológicas dos iogurtes. A adição de pectinas modificou as propriedades reológicas, obtendo gel mais firmes os iogurtes formulados com pectinas de alto grau de metoxilação. Groselhas negras tem um alto teor de antocianinas e seu uso em iogurtes objetivou agregar valor pela ação antioxidante bem como atribuir sabor. Os resultados cromatográficos detectaram antocianinas típicas de groselha com comprovadas propriedades benéficas à saúde.

## 7 PRÓPOLIS

É uma denominação genérica utilizada para descrever uma mistura complexa de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas colhidas por abelhas melíferas (*Apis mellifera*) de brotos, flores e exsudados de plantas, às quais na colmeia, as abelhas acrescentam secreções salivares, cera, pólen e enzimas para a elaboração do produto final (BRASIL, 2001; FRANCO et al. 2000; PEREIRA et al. 2002). É um dos muitos produtos naturais que vem sendo utilizados durante séculos pela humanidade (VARGAS et al. 2004). O uso de extratos de própolis na medicina popular data de 300 a.C. (SILVA J. et al. 2006). Este é o produto proveniente da extração dos componentes solúveis da própolis em álcool neutro (grau alimentício) por processo tecnológico adequado e sua cor varia conforme a origem botânica da própolis obtida (BRASIL, 2001).

A própolis tem potencial para ser um aditivo alimentar natural, atuando como antioxidante e por sua atividade antimicrobiana bem como sob a forma de ingrediente funcional. Atualmente, vem sendo largamente empregada na medicina popular, em

cosméticos e dermocosméticos, porém sua utilização em alimentos é uma prática ainda limitada por sua solubilidade em álcool, sabor e aroma fortes (ACKERMAN, 1991; NORI et al. 2010). O sabor amargo da própolis pode está relacionado à presença de um grande grupo de compostos que se descobriu serem à base de pigmentos (flavonoides) como as antocianinas (PROUDLOVE, 1996). Uma alternativa para uso da própolis em alimentos é seu encapsulamento que pode ser liberado no alimento de forma controlada, alterando seu estado físico para um pó sem perder suas propriedades biológicas (NORI *et al.* 2010).

Basicamente a própolis é composta por 50% de resina e bálsamo, 30% de cera, 10% de óleos essenciais e aromáticos, 5% de pólen e 5% de várias outras substâncias (BURDOK, 1998). Porém sua característica físico-química depende da região de coleta e da espécie vegetal utilizada pelas abelhas na sua confecção. Alguns componentes estão presentes em todas as amostras, enquanto outros variam em própolis colhidas de outras regiões em que predominam outras espécies particulares de plantas (VARGAS et al. 2004). Baseando-se nesse aspecto, de seus extratos e da região de origem, Park et al. (2000) sugeriram a distribuição da própolis brasileira em 12 tipos, alguns com potencial atividade biológica e terapêutica e altas concentrações de substâncias químicas (Tabela 3).

Recentemente foi identificado um novo tipo de própolis oriunda do estado de Alagoas, a própolis vermelha, na qual dois isoflavonóides foram identificados, o pterocarpano medicarpina e a isoflavana isosativana (TRUSHEVA, et al. 2006 apud RIGHI, 2008). A tabela 3 expõe a classificação da própolis brasileira e de acordo com esta, observa-se a própolis vermelha no 13º grupo dentre as demais.

Tabela 3 - Classificação da própolis brasileira.

Própolis	Cor	Origem geográfica	Origem Botânica	Composição Química	Referência
<b>Grupo 1</b>	Amarelo	Sul (RS)	-	-	PARK et al. 2002
<b>Grupo 2</b>	Castanho claro	Sul (RS)	-	-	PARK et al. 2002; SILVA, 2008
<b>Grupo 3</b>	Castanho escuro	Sul (PR)	<i>Populus alba</i>	Éster do ácido dimetil dialil caféico; flavonoides: crisina e galangina;	PARK et al. 2000 e 2002; SILVA, 2008
<b>Grupo 4</b>	Castanho claro	Sul (PR)	-	-	PARK et al. 2000 e 2002; SILVA, 2008
<b>Grupo 5</b>	Marrom esverdeado	Sul (PR)	-	-	PARK et al. 2000 e 2002; SILVA, 2008
<b>Grupo 6</b>	Marrom avermelhado	Nordeste (BA)	<i>Hyptis divaricata</i>	Ésteres de ácidos graxos, compostos aromáticos, Terpenos, Flavonóides	PARK et al. 2000 e 2002; SILVA, 2008; Castro et al. 2007.
<b>Grupo 7</b>	Marrom esverdeado	Nordeste (BA)	-	-	PARK et al. 2000 e 2002; SILVA, 2008
<b>Grupo 8</b>	Castanho escuro	Nordeste (PE)	-	-	PARK et al. 2000; SILVA, 2008
<b>Grupo 9</b>	Amarelo	Nordeste (PE)	-	-	PARK et al. 2000 e 2002; SILVA, 2008
<b>Grupo 10</b>	Amarelo escuro	Nordeste (CE)	-	-	PARK et al. 2002
<b>Grupo 11</b>	Amarelo	Nordeste (PI)	-	-	PARK et al. 2002
<b>Grupo 12</b>	Verde ou Marrom esverdeado	Sudeste (SP, MG)	<i>Baccharis dracunculifolia</i>	Flavonóides, ácidos fenólicos, cetonas, aldeídos aromáticos, Alcoóis, terpenos, ácidos graxos, aminoácidos, oligoelementos, vitaminas B1, B2, B6, E, C e hidrocarbonetos.	PARK, 2004 e 2002; FUNARI e FERRO, 2006; MARCUCCI, 2007; BANKOVA, 2000; SOUSA, 2007; SIQUEIRA, 2008a.
<b>Grupo 13</b>	Vermelha	Nordeste (AL, BA, PB)	<i>Dalbergia ecastophyllum</i>	Flavonóides: pinocembrina, Formononetina, rutina, quercetina, dalbergina entre outros); Ácido: fenólico (ácido felúrico)	SILVA et al. 2007; Dausch et al. 2007; SIQUEIRA, 2008a.

FONTE: MENDONÇA, (2011), adaptado.

## 7.1 PRÓPOLIS VERMELHA

A própolis vermelha (Figura 3, a e b), de origem botânica *Dalbergia ecastophyllum* da família Fabaceae (Leguminosae), da região nordeste do Brasil, especificamente do

estado de Alagoas, oriunda de um local de vegetação litorânea, apresenta maiores quantidades percentual de fenóis totais e o terceiro maior teor de flavonoides totais. Apresenta a menor quantidade relativa de cera, em relação à própolis oriunda de outros estados brasileiros como: Goiás, Bahia, São Paulo, Paraná, Minas Gerais e Piauí, que produzem própolis de outras colorações. Possui características físicas e químicas bastante distintas de quaisquer outras amostras de própolis estudadas atualmente (ALENCAR et al. 2007; RIGHI, 2008).

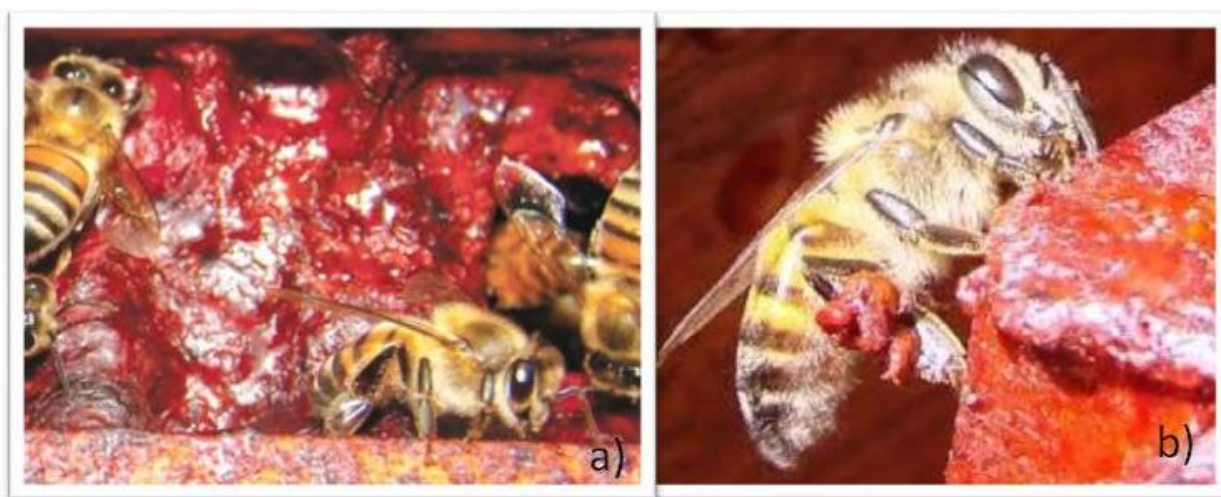


Figura 3 - Própolis vermelha Alagoana.

Fonte: <http://casa-vivanaturall.blogspot.com.br/>

Na própolis vermelha, há substâncias glicosiladas como o ácido caféico-O-hexosídeo, nunca relatado anteriormente para outro tipo de própolis, além de um biflavonóide, volkensinflavona. Além destas, estão presentes os isoflavonóides gliridicina, formomonetina, vestitol, metilvestitol, biochanina A e o pterocarpano medicarpina (RIGHI, 2008; ALENCAR et al. 2007 e LI et al. 2008).

Nas condições do estudo de Silva B. et al. (2007) apenas dois flavonoides, quercetina e crisina, e um ácido fenólico, ácido ferúlico, foram encontrados na própolis vermelha. Esse estudo foi o que comprovou a origem dos isoflavonóides em relação a espécie vegetal. Estas substâncias foram identificadas como padrão nos 12 tipos de própolis classificadas por Park et al. (2000).

Os flavonóides são compostos heterocíclicos com oxigênio na molécula, consistindo em uma classe de pigmentos encontrados somente em vegetais. São divididos em antocianinas - *anthos* (flores) e *kyanos* (azul) que estão presentes em quase todas as plantas superiores e são pigmentos dominantes em muitas frutas e flores, podem apresentar cores que variam de vermelho intenso ao violeta e azul (RIBEIRO E.; SERAVALLI, 2007). A

ação antioxidante dos flavonoides foi relatada por Brunoro; Rosa (2011) através de diversos autores que comprovaram tal ação em estudos *in vitro* e *in vivo*.

Na própolis vermelha há outros flavonoides como as antoxantinas, que são pigmentos derivados do núcleo flavonoides, flavonas, chalconas, auronas, isoflavonas e dehidrochalconas que estão quimicamente relacionados com o núcleo flavonoide (RIBEIRO E.; SERAVALLI, 2007).



**Artigo I: artigo de resultados**

OLIVEIRA, JNO; NASCIMENTO, TG; DELGADO, MC. Elaboração e aceitabilidade de iogurtes fortificados com própolis vermelha.

Revista que será submetido:

## RESUMO

Iogurtes são leites fermentados por bactérias lácticas e muito apreciado pelos consumidores. Estudos mostram a aceitabilidade de iogurtes acrescidos de frutos, porém iogurtes fortificado com própolis ainda não foi relatado na literatura. A própolis vermelha possui muitos compostos bioativos como os isoflavonóides, além de outros compostos como gatiferonas, terpenóides, proteínas, vitaminas B1, B2, B6, C, E, e diversos minerais. Por meio dos testes afetivos, os consumidores expressam a aceitabilidade demonstrando se determinado produto pode chegar ao mercado através de ensaios de análise sensorial. Portanto, a aceitação de um produto é desejo de uma pessoa em adquiri-lo e, nesse sentido buscou-se estudar a aceitabilidade de iogurtes fortificados com própolis vermelha. A própolis *in natura* foi coletada na cidade de Marechal Deodoro-AL. A tintura de própolis vermelha foi obtida a partir do extrato bruto. Elaboraram-se iogurtes acrescidos de três flavorizantes: morango, goiaba e mel e um sem adição de flavorizante. Todos os iogurtes receberam percentuais de tintura de própolis vermelha entre (0,1% a 0,3%). As análises sensoriais foram conduzidas em cabines individuais, no Laboratório de Análise Sensorial do IFAL – Câmpus Satuba-AL. Os iogurtes foram submetidos a testes de aceitabilidade por um grupo de 50 julgadores não treinados, alunos e servidores do Campus, consumidores habituais de iogurtes. Os tratamentos foram servidos em delineamento de blocos completos balanceados. Os julgadores receberam aproximadamente, 25g da amostra e ficha de avaliação com a escala hedônica de nove pontos, ancorada nos extremos em “desgostei muitíssimo” e “gostei muitíssimo”. Os resultados analisados através da comparação das médias dos tratamentos, com a utilização do teste de Tukey estabelecendo-se  $p \leq 0,05$  como nível de significância. Verificou-se boa aceitação (60%) para o iogurte sem adição do flavorizante com 0,3% de própolis e aceitação acima de 70% para os demais iogurtes contendo flavorizante. A combinação de iogurte de mel fortificado com própolis foi menos aceito em relação aos outros sabores e estudos adicionais são necessários. Através desse estudo percebeu-se que o sabor forte da própolis pode ser mascarado pela adição do flavorizante escolhido e os sabores morango e goiaba foram as melhores opções em relação aos demais sabores.

## PALAVRAS-CHAVE

Análise Sensorial. Leite fermentado. Iogurte fortificado. Própolis vermelha.



## ABSTRACT

Yogurt is a fermented milk by lactic acid bacteria and much appreciated by consumers. Studies show the sensory acceptability of yogurt containing fruit like flavoring, but fortified yogurts with propolis has not been reported in the literature. The propolis possesses many bioactive compounds such as isoflavones, and other compounds such as guttiferones, terpenoids, proteins, vitamins B1, B2, B6, C, E, and various minerals. The judges express the acceptability demonstrating whether a product can reach the market by sensory analysis assay. Therefore, the acceptance of a product is the desire of a person in acquiring it, and accordingly we sought to study the acceptability of yogurt fortified with propolis using sensory analysis. The *in natura* propolis was collected at the city of Marechal Deodoro-Alagoas-Brazil. The tincture of propolis was obtained from the crude extract. Yogurts were elaborated using three flavors for yogurt: strawberry, guava and honey and fourth without flavoring. All yogurt received propolis tincture percentage between (0.1% and 0.3%). Sensory analyzes were conducted in individual booths at the Laboratory of Sensory Analysis of IFAL - Câmpus Satuba-AL. The yogurts were subjected to acceptance tests for a group of 50 untrained judges, which are usual yogurt consumers. Treatments were served in balanced complete blocks. The judges received approximately 25 g of the sample and the evaluation sheet with nine points hedonic scale, anchored at the extremes in "extremely dislike" and "like very much". The results were analyzed through the comparison of the treatment means, using the Tukey test settling  $p \leq 0.05$  level of significance. There was good acceptance (60%) for the yogurt free of flavoring containing 0.3% of propolis and good acceptance above 70% for the other yogurts containing flavors. The combination of yogurt fortified with honey and propolis was less accepted in relation to the other flavors but additional studies are necessary. Through this study it was noted that the bitter strong taste of propolis can be masked by adding the chosen flavoring and strawberry and guava flavors were the best options in relation to the other flavors.

## PALAVRAS-CHAVE

Sensory analysis. Fermented Milk. Yogurts fortified. Red propolis.

# 1 INTRODUÇÃO

O iogurte é um leite fermentado muito popular, consumido principalmente por suas características organolépticas (AQUARONE et al. 2001). É obtido pela fermentação láctica do leite, através da ação de cultivos de micro-organismos específicos *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*. A atividade destes cultivos contribui para a determinação das suas características (FORSYTHE, 2002; CODEX ALIMENTARIUS, 2012). É o leite fermentado mais conhecido e consumido no Brasil e constitui uma rica fonte de proteínas, cálcio, vitaminas e carboidratos (AQUARONE et al. 2001; FORSYTHE, 2002; BRASIL, 2007). Seu sabor delicado é obtido por meio da reação simbiótica das culturas lácteas uma vez que a atividade das culturas empregadas na fermentação do iogurte leva à produção de ácido láctico além de compostos como acetaldeído, diacetil, ácido acético e outras substâncias voláteis, que são fundamentais para a qualidade sensorial do produto (TAMINE; ROBINSON, 1991).

Muitos estudos estão voltados para o desenvolvimento tecnológico de iogurtes, buscando melhorar suas características e seu valor nutritivo. A tecnologia para produção de iogurte é bastante antiga e por isso tem-se hoje uma variedade grande de produtos (TAMINE & ROBINSON, 1999 apud SANTOS, 2012). E, de acordo com as substâncias adicionadas ou do tipo de micro-organismos utilizados, melhoram seu valor nutritivo e podem ser classificados como alimento funcional.

Iogurtes de diferentes sabores tem sido estudados sensorialmente, geralmente à base de frutos como pêssego (BARBOSA, et al., 2013), açaí (OLIVEIRA et al., 2011), jenipapo (SANTOS et al., 2012) e à base de pitaita (SANTANA et al. 2012) obtendo boa aceitação mediante os julgadores. Outras substâncias como extratos de sementes de uva tem sido adicionadas à iogurtes a fim de conferir-lhe atributos funcionais, como ação antioxidante, por exemplo (CHOUCHOULI et al. 2013). Porém, é a análise sensorial quem determina a aceitação destes produtos.

Diferente do iogurte, a própolis possui sabor forte, em função da sua composição química (PROUDLOVE, 1996). Contudo, esses compostos possuem elevado valor biológico e funcional que podem trazer muitos benefícios à saúde (COSTA; ROSA, 2010). É considerada uma fonte promissora de novos compostos bioativos (ALENCAR et al. 2007). Os principais compostos químicos isolados da própolis podem ser organizados em alguns grupos principais como: ácidos e ésteres alifáticos, ácidos e ésteres aromáticos, açúcares, álcoois, aldeídos, ácidos graxos, aminoácidos, esteróides, cetonas, chalconas e di-hidrochalconas, flavonoides (flavonas, flavonóis e flavononas), Terpenóides, Proteínas, vitaminas B1, B2, B6, C, E, bem como diversos minerais (MENEZES, 2005).

A própolis é uma mistura complexa de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas colhidas por abelhas melíferas (*Apis mellifera*) de brotos, flores e exsudados de plantas, às quais na colmeia, as abelhas acrescentam secreções salivares, cera, pólen e enzimas para a elaboração do produto final (BRASIL, 2001; FRANCO et al. 2000; PEREIRA et al. 2002). A própolis tem potencial para ser um aditivo alimentar natural, atuando como antioxidante e por sua atividade antimicrobiana bem como sob a forma de ingrediente funcional. A própolis vermelha, da região de Alagoas possui características físicas e químicas bastante distintas de quaisquer outras amostras de própolis estudadas atualmente (ACKERMAN, 1991; RIGHI, 2008).

O soro de leite, subproduto da fabricação de queijos é geralmente tratado como resíduo pelas indústrias de laticínios e queijarias sendo descartado inadequadamente, em esgotos e mananciais, tornando-se agressivo ao meio ambiente devido a sua alta demanda biológica de oxigênio. Para sua utilização, o soro vem sendo destinado à alimentação de animais, ou transformado em commodities de valor relativamente baixo, tais como soro em pó e vários tipos de concentrado ou isolado proteico de soro. Sua composição depende da fonte do leite e do sistema de processamento usado. São muito nutricionais, contendo uma mistura de proteínas, lactose, minerais, e gorduras (ANTUNES et al. 2003; CHATTERTON et al. 2006; INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2006).

As proteínas presentes no soro de leite bovino desempenham papéis importantes na formulação de alimentos e por isso a utilização do soro integral ou em forma de concentrados proteicos (CPS) tem sido estudado, com diferentes objetivos: modificar as propriedades multifuncionais do alimento como capacidade de gelatinização, elasticidade, aumento da viscosidade e estabilização de emulsões ou espumas, podendo ser utilizados na elaboração de diversos produtos dietéticos. Pode conferir propriedades de interesse em iogurtes, cremes de leite, manteigas, requeijões, entre outros, que nas versões *light* apresentam custo diferenciado. A utilização do CPS na elaboração de produtos alimentícios como iogurte, favorece o aumento de sua consistência (ANTUNES, et al. 2003; ANTUNES, 2004; RIBEIRO, 2008).

Nesse sentido, o efeito que o soro pode promover às características químicas, físicas, nutricionais e sensoriais dos alimentos tem sido estudado em alguns produtos como gelatina (CORREIA et al. 2009; ALVES et al. 2010), substituto de gordura em iogurtes (VIDIGAL et al. 2010), processamento de requeijão (Viotto et al. 2010) e diversos produtos como bolo, bebida láctea achocolatada e com doce de fruta (frapê de goiaba) (FERRARI et al. 2010).

Um dos métodos utilizados em análise sensorial é o método afetivo ou teste afetivo ou ainda, teste de consumidores. Por meio deste método, os avaliadores manifestam a aceitabilidade de produtos que são geralmente utilizados para o mercado consumidor. Em

geral, os testes afetivos são aplicados para verificação do posicionamento do produto no mercado, otimização da formulação do produto, desenvolvimento de novos produtos e avaliação do potencial do mercado (MEILGAARD et al. 2006; TEIXEIRA, 2009; FARIA; YOTSUYANAGI, 2008).

As provas afetivas consistem na manifestação subjetiva do juiz sobre o produto testado, demonstrando se tal produto agrada ou desagrade se é aceito ou não, se é preferido a outro. Para aplicar estes testes, é necessária uma equipe grande. Um mínimo usual para avaliar um produto no laboratório por provas afetivas é de 30 juízes. Os juízes eleitos para essas provas devem ser consumidores habituais ou potenciais do produto testado (TEIXEIRA et al, 1987; MORAES, 1988; PEDRERO; PANGBORN, 1989; ANZALDÁUA-MORALES)

A aceitação de um produto refere-se ao desejo de uma pessoa em adquiri-lo (TEIXEIRA et al, 1987). E nesse sentido, buscou-se estudar a aceitabilidade de iogurtes elaborados com soro de leite/leite integral, fortificados com tintura de própolis vermelha.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os seguintes materiais foram utilizados para este estudo:

- Leite cru refrigerado obtido do setor de bovinocultura do Instituto Federal de Alagoas (IFAL) – Campus Satuba-AL.
- Cultura termofílica, de cepas mistas liofilizadas contendo: *S. thermophilus* e *L. delbruekii ssp bulgaricu*, obtidas da Chr Hansen sob a denominação comercial YF-L812 YoFlex®, adquirida através da empresa Milk localizada em Garanhuns, Pernambuco.
- Própolis vermelha oriunda do apiário Primavera, localizado no município de Marechal Deodoro no Estado de Alagoas (armazenada a -20°C para posterior utilização).
- Álcool de cereal, Mel (Nutrimel), açúcar cristal (Coruripe), leite em pó integral (Itambé), e caldas de frutas de sabores morango e goiaba (Selecta top), adquiridos no comércio local de Maceió, Alagoas.

### 2.1 PREPARO DO EXTRATO BRUTO DA PRÓPOLIS VERMELHA

O extrato bruto da própolis vermelha foi obtido por trituração seguido de maceração à temperatura ambiente com adição de álcool de cereal a 85% como solvente extrator. A maceração ocorreu em três ciclos de extração e para cada ciclo, adicionou-se solvente extrator à amostra na proporção de 3:1, aproximadamente.

Posteriormente, o material resultante foi concentrado em rotaevaporador (Fisatom®) com velocidade de rotação de 80rpm, acoplado a uma bomba de vácuo (Tecnal®) a 600mmHg e banho-maria (Fisatom®) a 50°C para obtenção do extrato bruto da própolis vermelha que em seguida, foi mantido em temperatura de congelamento para posterior utilização. Obteve-se a tintura a 10% pesando-se uma quantidade de 5 gramas em balão de 50mL do extrato bruto e adicionando-se o solvente extrator para solubilização.

### 2.2 PROCESSAMENTO DOS IOGURTES

O preparo dos iogurtes ocorreu segundo metodologia de Aquarone et al. (2001) com adaptações. Sua produção ocorreu de acordo com o que rege as Boas Práticas de Fabricação (BPFs) e ocorreu conforme descrito a seguir:

Após a ordenha, o leite cru foi resfriado a 4°C, transportando para o Laboratório de Análise Sensorial do IFAL – Câmpus Satuba. Ao leite cru foi acrescido 1% de leite em pó integral e açúcar, em seguida, pré-aquecido e homogeneizado. Seguiu-se a pasteurização a 85°C por 15 minutos. Posteriormente os leites foram esfriados a 42°C e inoculados com fermento láctico em quantidade conforme fabricante. Procedeu-se a fermentação por, aproximadamente 4 horas, estabelecendo-se como término da fermentação pH 4,6 e em seguida, armazenados em câmara fria a temperatura de aproximadamente, 5°C até o dia seguinte. Realizou-se a quebra da coalhada, adicionou-se a calda com o sabor desejado seguido de homogeneização, a tintura de própolis vermelha seguido de homogeneização e procederam-se as análises sensoriais, figura 4.

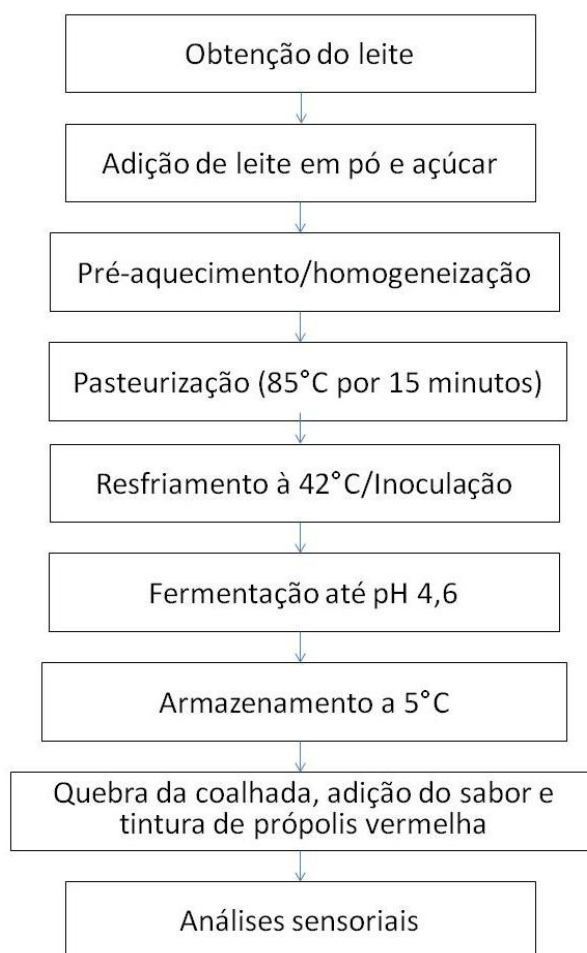


Figura 4 - Fluxograma do preparo dos iogurtes com diferentes sabores, fortificados com tintura de própolis vermelha.

### 2.3 ANÁLISES SENSORIAIS

Os testes de aceitabilidade dos iogurtes foram conduzidos no Laboratório de Análise Sensorial do Instituto Federal de Alagoas (IFAL), Campus Satuba-AL. Os tratamentos foram avaliados individualmente em quatro dias distintos, um dia para cada sabor e sempre por um grupo de 50 julgadores não treinados compostos por alunos e servidores do Campus, consumidores habituais de iogurte. Utilizou-se o método analítico subjetivo. Os julgadores avaliaram as amostras em cabines individuais sob luz branca conforme ilustrado na figura 5.



Figura 5 - Julgadores nas cabines individuais avaliando iogurtes.

Em cada análise sensorial, os julgadores receberam uma bandeja com três tratamentos de iogurtes do mesmo sabor, com diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha, servidos em copos descartáveis de 50mL, codificados com números aleatórios de três dígitos contendo, aproximadamente, 25g da amostra (Figura 6). Os julgadores receberam, ainda, biscoito do tipo água e sal, além de 200mL de água para lavar o palato bem como a ficha para avaliação contendo a escala hedônica estruturada de nove pontos ancorada nos extremos de “desgostei muitíssimo” (nota 1), menor nota a “gostei muitíssimo” (nota 9), maior nota, por meio da qual expressaram a aceitação global (Figura 7).



Figura 6 - Bandeja contendo iogurtes com diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha.

ACEITABILIDADE PARA IOGURTE	
Nome: _____	Data: __/__/2013 Julgador: 01
Você está recebendo três amostras de iogurte. Por favor, avalie cada uma, de forma global e use a escala para indicar o quanto você gostou ou desgostou.	
9 - Gostei muitíssimo	
8 - Gostei muito	
7 - Gostei moderadamente	
6 - Gostei ligeiramente	
5 - Nem gostei/nem desgostei	
4 - Desgostei ligeiramente	
3 - Desgostei moderadamente	
2 - Desgostei muito	
1 - Desgostei muitíssimo	
Comentários: _____	
_____	
_____	

Figura 7 - Ficha de avaliação contendo a escala hedônica utilizada nas análises sensoriais.



### 2.3 ANÁLISES DOS IOGURTES

Avaliou-se o percentual de sólidos solúveis, obtido por leitura direta em refratômetro digital da marca Instrutherm, modelo RTDS 28. O pH foi determinado por introdução direta do eletrodo à amostra em potenciômetro digital previamente calibrado da marca Gehaka, modelo PG 1800. A acidez titulável por titulação com hidróxido de sódio 0,1N conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

### 2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Obtiveram-se os seguintes tratamentos: iogurte sabor morango, iogurte sabor goiaba, iogurte sabor mel e iogurte sem sabor (sem adição de calda de fruta). Para cada sabor adicionou-se tintura de própolis vermelha em diferentes concentrações, estabelecidas após pré-testes sensoriais, sendo elas: YA) 0,1%; YB) 0,2% e YC) 0,3%.

Testou-se sensorialmente, iogurte batido adoçado com soro de leite em pó em diferentes percentuais, sendo: YA) 0,5%; YB) 1,0%; YC) 1,5% e YD) 2,0%. Os percentuais de açúcar adicionados foram os mesmos para todos os tratamentos, 13%.

Os iogurtes de morango e goiaba receberam 1% de soro de leite em pó, e diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha, obtendo os seguintes tratamentos: YA) 0,1%; YB) 0,2% e YC) 0,3%. Os tratamentos foram servidos em delineamento em blocos completos balanceados conforme (FERREIRA et al. 2000; FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K., 2008).

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Análise Sensorial do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas - Campus Satuba.

### 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados através da comparação das médias dos tratamentos, com a utilização do teste de Tukey estabelecendo-se  $p \leq 0,05$  como nível de significância do programa estatístico utilizado foi o SAS<sup>®</sup> versão 9.0. Análise multivariada (Análise do componente principal e Análise Hierárquica de clusters) foram obtidas usando o programa Statistica 12.0 Trial version.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 ANÁLISE SENSORIAL DOS IOGURTES FORTIFICADOS COM PRÓPOLIS VERMELHA

A tabela 4 expressa às médias obtidas a partir do teste de aceitação dos iogurtes com tintura de própolis vermelha. De acordo com o teste estatístico realizado, observou-se que houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) em relação aos diferentes percentuais de tintura para alguns tratamentos dos iogurtes sabor goiaba assim como para o iogurte sem sabor. Porém, para os iogurtes de morango e mel não houve diferença significativa, sendo igualmente aceitos pelos julgadores obtendo médias entre 6,0 e 7,0 equivalendo a gostei ligeiramente e gostei moderadamente de acordo com a escala hedônica. Contudo, o iogurte sabor mel foi o que obteve menores as médias em relação aos demais flavorizantes, com 70% de aceitação para o tratamento com maior percentual de própolis.

Tabela 4- Valores médios do teste de aceitação dos iogurtes formulados com diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha.

Tintura de própolis vermelha (%)	logurte sabor goiaba	logurte sabor morango	logurte sem sabor	logurte sabor mel
YA - 0,1	7,16 <sup>a</sup>	7,06 <sup>a</sup>	7,12 <sup>a</sup>	6,56 <sup>a</sup>
YB - 0,2	6,9 <sup>ab</sup>	6,94 <sup>a</sup>	6,9 <sup>ab</sup>	6,40 <sup>a</sup>
YC - 0,3	6,32 <sup>b</sup>	6,88 <sup>a</sup>	6,36 <sup>b</sup>	6,3 <sup>a</sup>
DMS <sup>1</sup>	0,7295	0,6142	0,7154	0,7201

Médias com letras em comum na mesma coluna não difere entre si a  $p \leq 0,05$  pelo teste de Tukey. <sup>1</sup>DMS = Diferença Mínima Significativa.

Sabe-se que a própolis possui sabor forte e amargo, e essa característica está relacionada à presença de um grande número de compostos que se descobriu serem à base de pigmentos, os flavonoides (PROUDLOVE, 1996). Porém, para a produção de iogurte a presença desse sabor forte pode ser mascarada pela adição de determinado flavorizante, característica observada através das figuras 8, 9, 10 e 11.

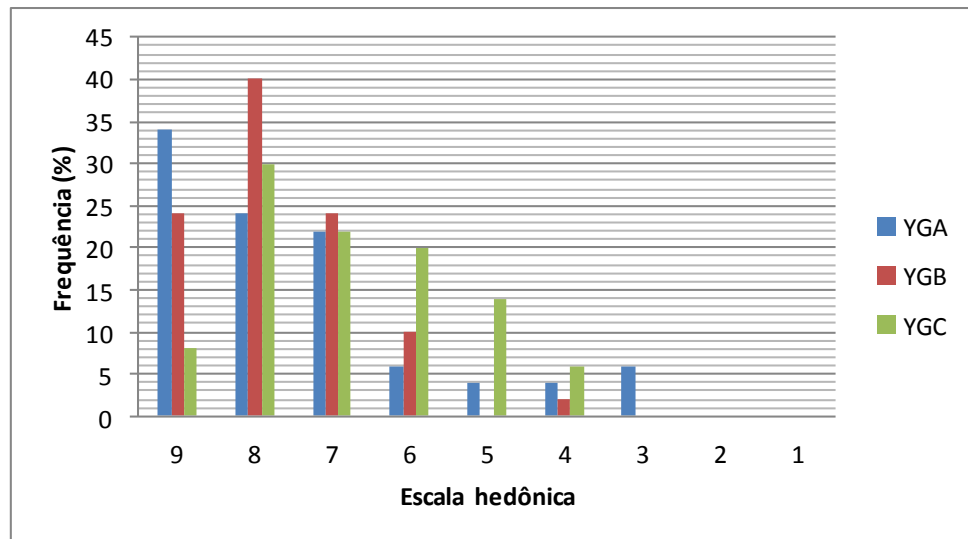


Figura 8 - Histograma de aceitabilidade de iogurte de goiaba fortificados com tintura de própolis vermelha em diferentes concentrações (YGA – 0,1%, YGB – 0,2% e YGC – 0,3%).

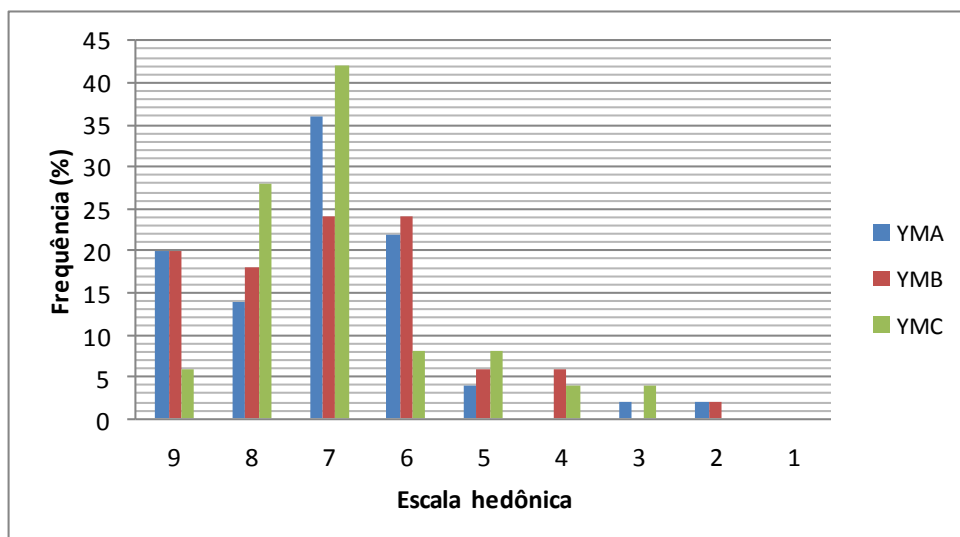


Figura 9 - Histograma de aceitabilidade de iogurte de morango fortificados com tintura de própolis vermelha em diferentes concentrações (YMA – 0,1%, YMB – 0,2% e YMC – 0,3%).

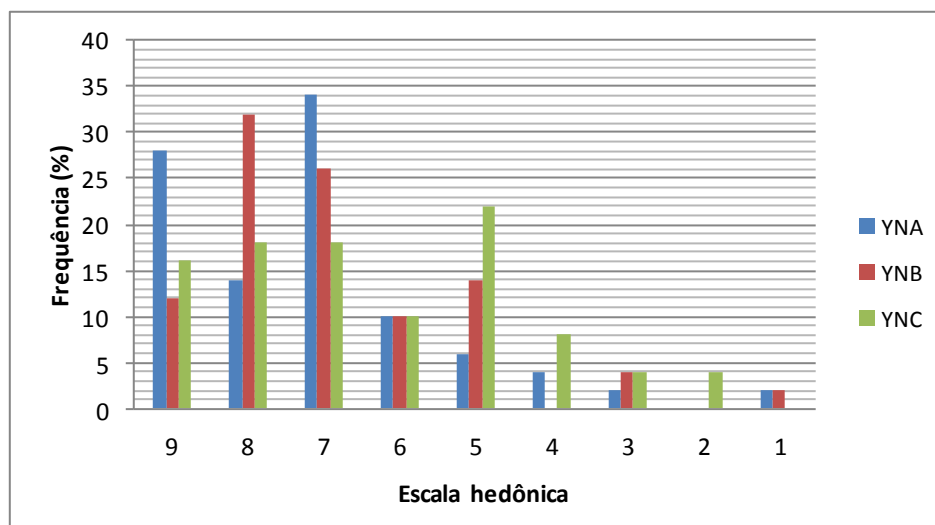


Figura 10 - Histograma de aceitabilidade de iogurte sem sabor, fortificados com tintura de própolis vermelha em diferentes concentrações. (YNA – 0,1%, YNB – 0,2% e YNC – 0,3%). Escala hedônica 1 = desgostei muitíssimo e 9 = gostei muitíssimo.

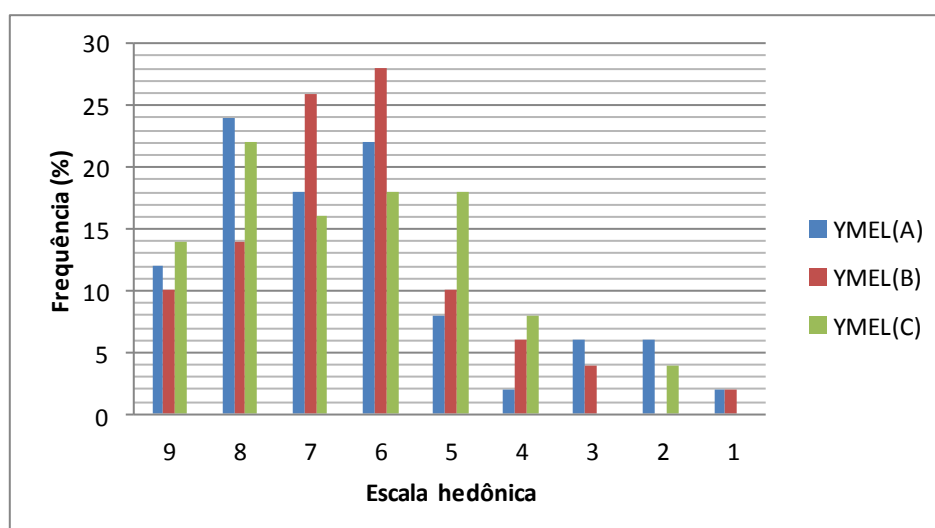


Figura 11 - Histograma de aceitabilidade de iogurte sabor mel fortificados com tintura de própolis vermelha em diferentes concentrações (YMEL (A) – 0,1%, YMEL(B) – 0,2% e YMEL(C) – 0,3%).

Os resultados demonstram que os iogurtes de sabores mais marcantes ou habitualmente mais consumidos (Ribeiro M., 2008), como iogurte de morango, mascarou o sabor forte da própolis. Comportamento semelhante para o iogurte sabor goiaba, de modo que os maiores percentuais de tintura adicionados também obtiveram boa aceitação. Por outro lado, apenas 0,1% de tintura de própolis vermelha no iogurte sem sabor (iogurte natural), somente adoçado com açúcar, em quantidade igual aos demais iogurtes,

demonstrou menor aceitabilidade em comparação ao iogurte de goiaba e morango, obtendo uma frequência de 34% de notas 7,0.

Observando a figura 11, o iogurte de mel foi o que obteve maior distribuição de notas, tendo maiores frequências na região de rejeição, entre 1 e 4 (desgostei muitíssimo a desgostei ligeiramente). O tratamento que recebeu maior nota foi o que obteve 0,2% de própolis vermelha, com médias entre 6,0 e 7,0 equivalente à “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”, respectivamente, na escala hedônica.

Outro tratamento que se destacou para o sabor mel foi com 0,1% de própolis vermelha, obtendo 24% de notas 8,0 equivalente à “gostei muito”. Essa avaliação permite verificar que, para esse sabor, os iogurtes que receberam as maiores notas da escala foram os adicionados de menores percentuais de tintura de própolis (0,1 e 0,2%), indicando que a combinação de iogurte de mel fortificado com própolis vermelha é menos aceita pelos julgadores em relação aos outros sabores avaliados.

A figura 12 mostra as frequências de aceitação, indiferença e rejeição para todos os tratamentos. Verifica-se boa aceitação, acima de 60% para todos os sabores de iogurtes. Em análise sensorial, 70% é um requisito mínimo para que se possa considerar que o alimento apresente significativo potencial para consumo (FERREIRA et al. 2000). Desta forma, pode-se considerar que, exceto o iogurte sem sabor adicionado de com 0,3% de tintura de própolis vermelha (62%), todos os tratamentos apresentaram aceitabilidade superior a 70% e grande potencial mercadológico.

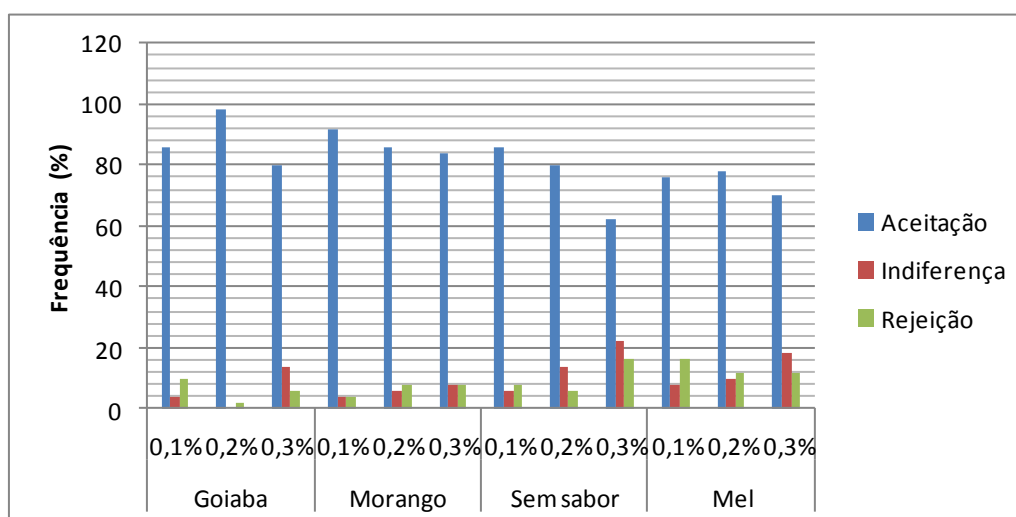


Figura 12 - Histograma de aceitação, indiferença e rejeição para iogurtes de goiaba, morango, sem sabor e mel, fortificados com diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha.

As figuras 13 e 14 representam gráficos Box plot das médias dos julgadores para todos os iogurtes elaborados com leite e fortificados com própolis. Através dos gráficos gerados observa-se que alguns iogurtes tiveram maior variabilidade de notas para um mesmo sabor. Na figura 14, as notas variaram entre 1,0 (iogurte natural e mel 0,1% e 0,2%) e 9,0 para todos os sabores.

O gráfico de empilhamento (figura 15) mostra as notas de cada julgador para todos os iogurtes elaborados com leite, fortificados com tintura de própolis. Observa-se melhor homogeneidade das notas para os iogurtes na base do gráfico, iogurtes flavorizado com morango e goiaba, respectivamente. Os iogurtes sem sabor (LNat) e mel (LMel) foram os que apresentaram maior variabilidade nas notas para todos os percentuais de tintura adicionados.

De modo geral, os iogurtes tiveram bons percentuais de aceitabilidade, sendo o maior percentual atribuído ao iogurte de goiaba (88%) apesar de este ter recebido maior variabilidade de notas em relação ao iogurte de morango (87,3%). O iogurte de mel obteve 74,6% de aceitação enquanto o sem sabor “natural” recebeu 76% de aceitabilidade.

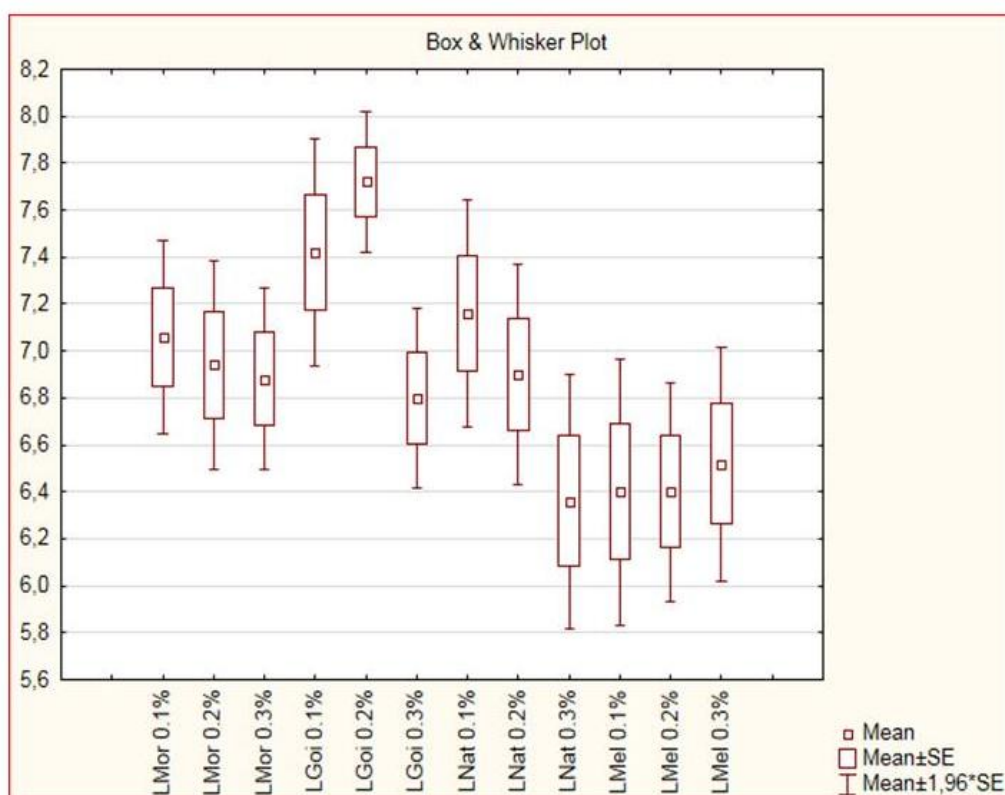


Figura 13 - Médias de aceitabilidade dos iogurtes fortificados com própolis vermelha.

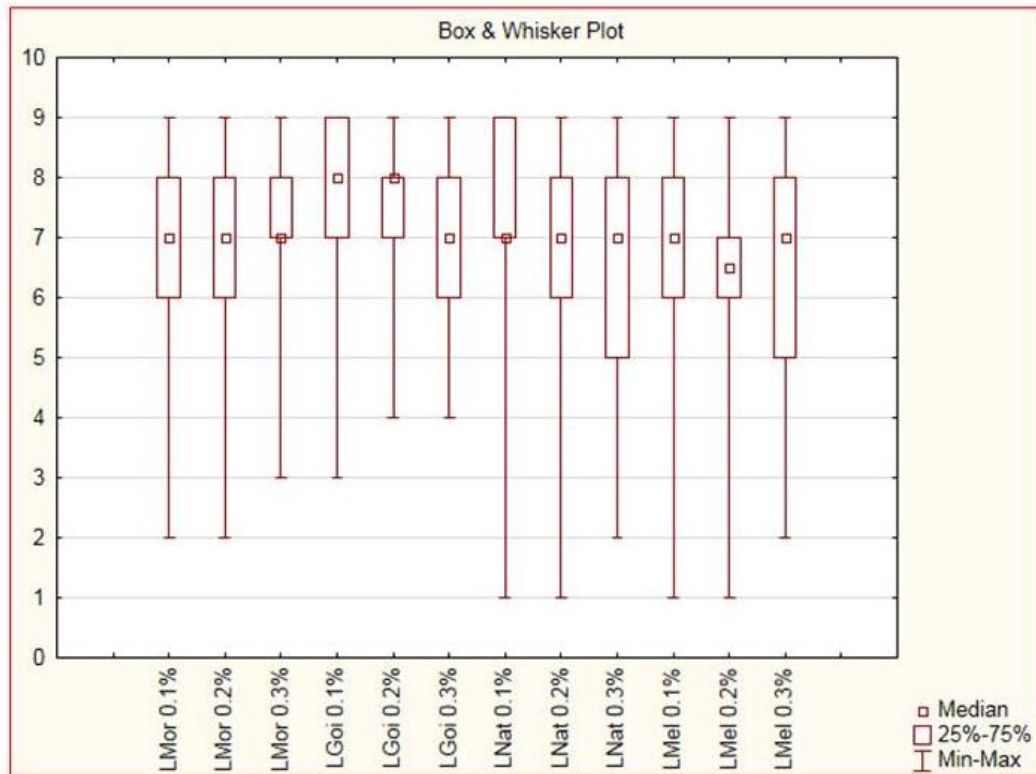


Figura 14 - Médias de aceitabilidade dos iogurtes fortificados com própolis vermelha.

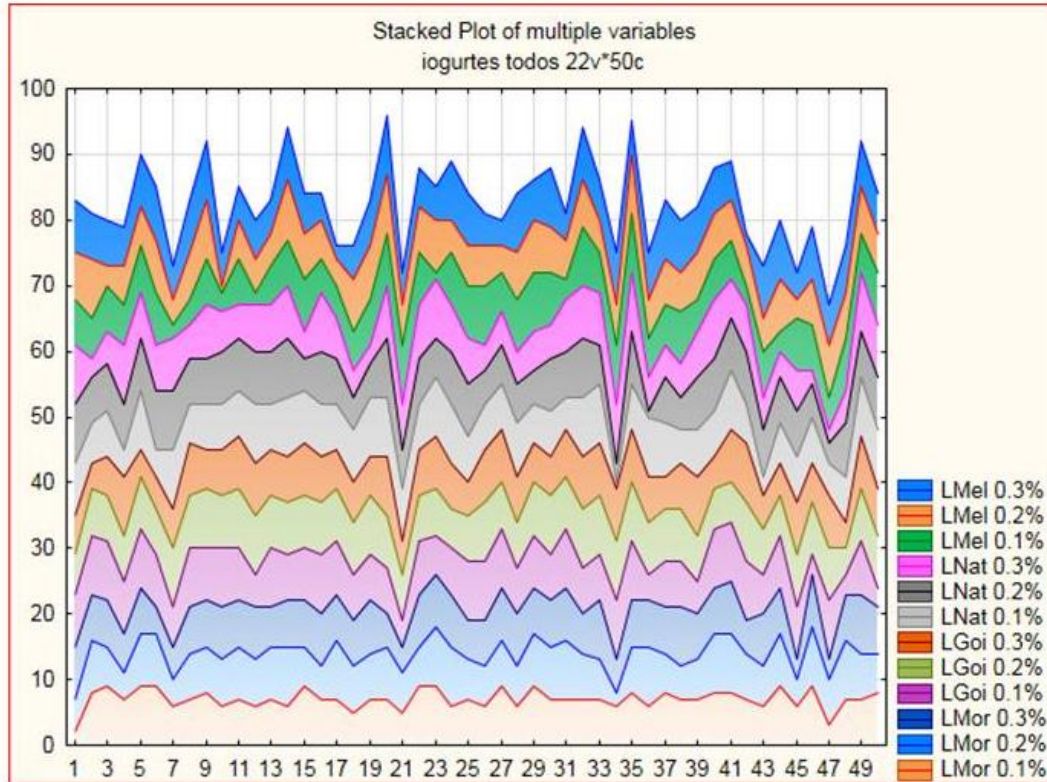


Figura 15 - Gráfico de empilhamento para os iogurtes fortificados com própolis vermelha.

Os iogurtes foram submetidos à Análise dos Componentes Principais (ACP), na figura 16 observa-se o gráfico gerado. Apesar dos iogurtes conterem diferentes flavorizantes e diferentes proporções de tintura de própolis, observou-se uma certa semelhança nas notas atribuídas pelos 50 julgadores (tabela 4). Desta forma, utilizou-se análise multivariada para tentar auxiliar os dados de aceitabilidade demonstrados na figura 12. Observando os escores das diferentes formulações de iogurtes contendo própolis vermelha, foi possível diferenciá-las por agrupamentos de formulações testadas por análise do componente principal (ACP). Todas as notas atribuídas pelos julgadores foram alocadas numa matriz 12 colunas x 50 linhas. Pode-se observar diferenças expressivas nos escores entre os iogurtes de goiaba (agrupamento localizado no primeiro quadrante) em relação ao iogurte de morango (agrupamento localizado no segundo quadrante) e iogurte de mel (agrupamento localizado no terceiro quadrante). Porém, o iogurte natural (sem flavorizante) apresentou escores próximo ao iogurte de goiaba e ao iogurte de morango (agrupamento localizado entre o primeiro e o segundo quadrante). Foi observado uma proximidade entre os escores do LNat 0,1% como LMor 0,3% e certa proximidade do LNat 0,3% com o LGoi 0,3%. Que estas proximidades serão melhores discutidas no gráfico de diagrama de árvore, figura 17.

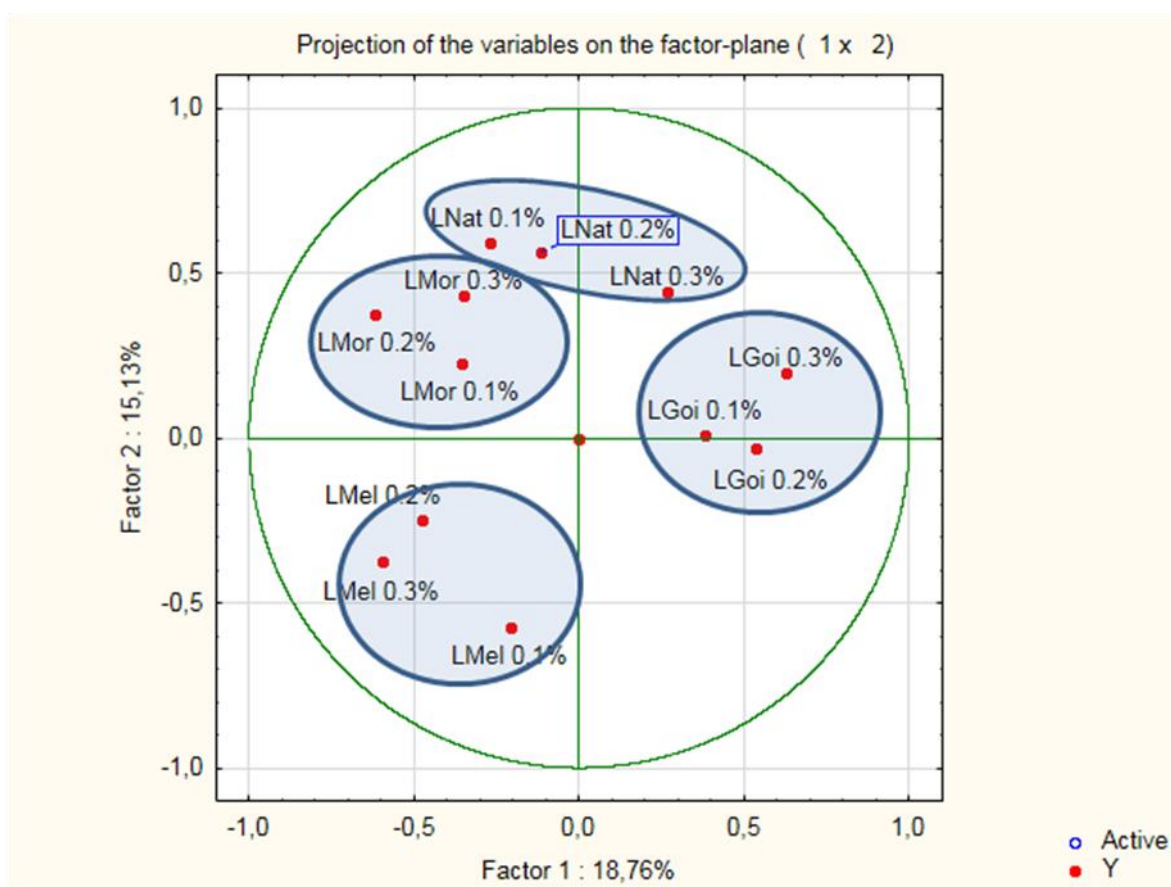


Figura 16 - Análise dos Componentes Principais dos iogurtes elaborados com leite em pó fortificados com diferentes percentuais de própolis vermelha. LGoi: iogurte sabor goiaba; LMor: iogurte sabor morango; LNat: iogurte sem sabor “natural”; LMel: iogurte sabor mel.



A figura 17 ilustra a análise hierárquica de Clusters (AHC) das formulações de iogurtes elaborados com leite em pó para todos os sabores avaliados: goiaba, morango, mel e iogurte sem adição do flavorizante (sem sabor), contendo tintura de própolis vermelha.

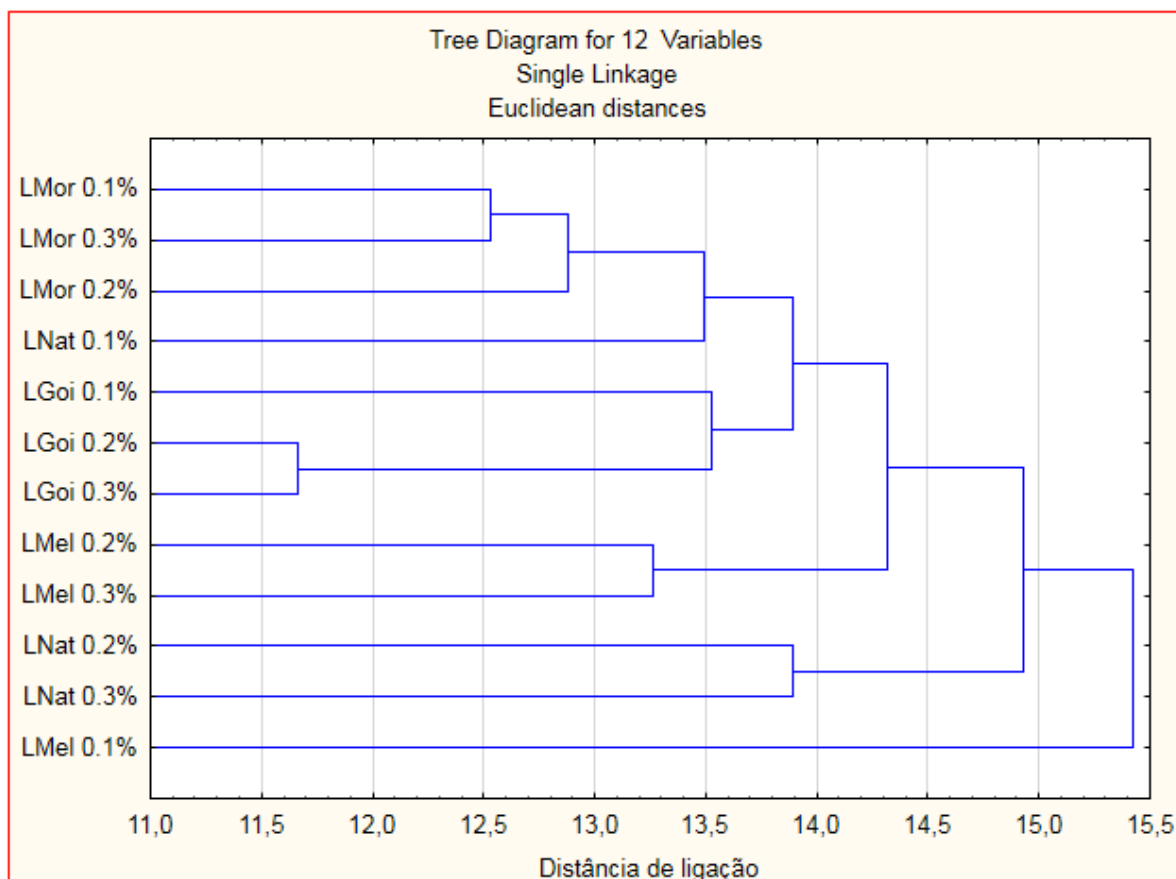


Figura 17 - Diagrama de árvore dos tratamentos de iogurtes elaborados com leite e diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha.

De acordo com a análise de Clusters, pode-se interpretar à AHC, principalmente usando o método da ligação completa, no qual o nível mais alto de agregação é o menos similar (a base do diagrama de árvore) e usando o método da ligação simples em que a distância entre os dois clusters (aglomerados) é determinada pela distância de dois objetos mais próximos (vizinhos mais próximos) nos diferentes grupos. Esta ferramenta hierárquica irá promover um sistema de classificação entre as amostras analisadas em que cada formulação (objeto), dependendo da sua distância Euclidiana apresentará maior ou menor similaridade em relação ao grupo.

O diagrama permitiu identificar que os iogurtes de morango (0,1 a 0,3%) apresentaram uma distância de ligação Euclidiana  $< 13$  ( $\sim 12,5$ ) e, portanto, mais similares, enquanto os iogurtes de goiaba (0,1 a 0,3%) apresentaram uma distância de ligação de

13,5. O iogurte sem sabor (0,1 a 0,3%) apresentou uma distancia de ligação de 14,9, enquanto os iogurtes de mel (0,1 a 0,3%) com uma distância de ligação Euclidiana de 15,4 foram os mais dissimilares entre si.

Podemos destacar também, pela análise AHC que os iogurtes de morango (0,1 e 0,3%), iogurtes de goiaba (0,2 e 0,3%), iogurtes de mel (0,2 e 0,3%) e iogurte sem sabor (0,2 e 0,3%) apresentaram certa similaridade entre eles.

Assim é possível observar que os diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha interferem na aceitação global dos iogurtes, contudo o sabor do flavorizante utilizado tem forte influência na aceitação.

Neste trabalho, a escolha por iogurte sabor morango foi a melhor entre os julgadores, concordando com o estudo de Ribeiro (2008) que realizou uma pesquisa de mercado em Belo Horizonte e em Viçosa – MG e revelou que iogurtes sabor morango é a primeira opção de consumo pelos entrevistados, sendo que 9,0% destes consomem iogurtes apenas desse sabor. Os principais sabores escolhidos pelos consumidores foram: coco, pêsego, ameixa, frutas vermelhas, salada de frutas, abacaxi e natural, destes 58,1% e 53,6% dos entrevistados para Belo Horizonte e Viçosa, respectivamente, deram preferência por iogurte sabor morango, apresentando grande mercado potencial.

Os estudos de aceitabilidade para iogurtes envolvem, principalmente adição de frutos, como no estudo de Oliveira et al. (2011) que enriqueceu iogurte com açaí intencionando aumentar seu valor nutricional bem como conferir propriedades funcionais ao iogurte advindo dos benefícios que o fruto açaí contém. O açaí foi adicionado ao iogurte em forma de geleia previamente preparada para essa finalidade. Além da aceitação global, os pesquisadores avaliaram alguns atributos como: firmeza, acidez, aceitação da cor e do sabor, utilizando duas escalas, a escala do ideal de 7 pontos e a escala hedônica de 9 pontos. O estudo foi realizado em Castanhal, no Pará de onde o fruto é típico da região. Os resultados para aceitação global mostraram que 50% dos julgadores atribuíram nota 8 (gostei muito), 26% atribuíram nota 9 (gostei extremamente) e 16% atribuíram nota 7 (gostei regularmente), tendo o produto uma aceitabilidade de 86,9%, que é considerada boa aceitação para um produto novo.

Jenipapo desidratado osmoticamente também foi utilizado em iogurtes por Santos et al. (2012) e os testes sensoriais demonstraram boa aceitabilidade (78%) para os iogurtes.

Iogurte sabor pêsego foi avaliado por Barbosa et al. (2013) que acrescentaram diferentes concentrações de aroma e polpa. Os autores também utilizaram a escala hedônica de 9 pontos para verificar a impressão global dos iogurtes. Os resultados demonstraram diferenças significativas entre as formulações e mostrou que a concentração de polpa influenciou na aceitação do produto e que os iogurtes com maiores concentrações de aroma e menores concentrações de polpa foram menos aceito pelos julgadores.

No estudo de Santana et al. (2012) os iogurtes foram fortificados com pitaita por suas propriedades funcionais e além desta, adicionou-se quinoa por possuir proteínas de alto valor biológico e sucralose como potencial adoçante. Diferentes formulações foram testadas e em relação à polpa de pitaita, adicionou-se, 20, 30 e 40% de polpa pasteurizada. Apenas o iogurte com 40% de polpa obteve diferença significativa a 5% de significância pelo teste de Tukey, obtendo a maior média de aceitabilidade. As médias para as formulações foram de 6,49, 6,42 e 7,08 em ordem crescente às concentrações de polpa, posicionando-se entre os termos hedônicos entre “gostei ligeiramente” e “gostei regularmente”. Os autores concluíram que, apesar da fruta pitaita não ser convencionalmente utilizada no processamento de iogurtes, o produto apresentou potencial para consumo, conforme análise sensorial.

### 3.2 ANÁLISE SENSORIAL DOS IOGURTES ELABORADOS COM SORO DE LEITE

A tabela 5, expressa os resultados médios obtidos após avaliação sensorial dos iogurtes formulados com soro de leite em pó. As quatro formulações foram bem aceitas pelos avaliadores, obtendo-se médias acima de 7,0 sendo classificadas nos termos hedônicos em “gostei moderadamente”. A análise de variância (ANOVA) não mostrou diferenças significativas entre os tratamentos. No entanto, observou-se uma maior frequência de notas 8 (oito), acima de 28%, para as quatro formulações, equivalendo a “gostei muito” na escala hedônica.

Tabela 5- Valores médios do teste de aceitação dos iogurtes formulados com diferentes percentuais de soro de leite em pó.

Tratamentos				
YA (0,5%)	YB (1,0%)	YC (1,5%)	YD (2,0%)	DMS <sup>1</sup>
7,30 <sup>a</sup>	7,48 <sup>a</sup>	7,12 <sup>a</sup>	7,24 <sup>a</sup>	0,66

Médias com letras em comum na mesma linha não difere entre si a  $p \leq 0,05$  pelo teste de Tukey. <sup>1</sup>Diferença Mínima Significativa.

Na tabela 6 encontram-se as frequências de notas atribuídas às formulações. O tratamento que obteve maior frequência de notas 9 (nove) “gostei muitíssimo” foi atribuído a formulação com 0,5% de soro (13%), seguido da formulação com 1,0% de soro (11%). A frequência de notas 9 (nove) foi decrescente para os demais tratamentos que obtiveram maiores notas em outros pontos da escala hedônica, geralmente, entre “gostei ligeiramente” e “gostei muito”.

Tabela 6 - Frequência de notas atribuídas aos tratamentos de iogurte batido adoçado acrescido de diferentes percentuais de soro de leite em pó.

Escala hedônica	Iogurte com soro de leite em pó				
	Notas	YA (0,5%)	YB (1,0%)	YC (1,5%)	YD (2,0%)
Gostei muitíssimo	9	13	11	9	8
Gostei muito	8	14	16	17	18
Gostei moderadamente	7	7	12	8	10
Gostei ligeiramente	6	10	8	8	10
Nem gostei/nem desgostei	5	4	3	3	2
Desgostei ligeiramente	4	1	0	5	0
Desgostei moderadamente	3	1	0	0	2
Desgostei muito	2	0	0	0	0
Desgostei muitíssimo	1	0	0	0	0

As notas acima de seis para estes iogurtes foram: YA (44%), YB (47%), YC (42%) e YD (46%). Aparentemente, a amostra YD, com 2% de soro de leite, teve sua textura muito afetada em função dessa quantidade, aparentando “cremosidade” excessiva. Essa observação concorda com os estudos de Antunes *et al.* (2004) que adicionaram concentrado proteico de soro de leite e, analisando a textura dos iogurtes, percebeu-se que tal adição influencia em sua textura, promovendo iogurtes mais firmes, gomosos e com maior capacidade de reter soro. No mesmo estudo, os julgadores foram capazes de identificar diferenças entre iogurtes adicionados de concentrado proteico do soro de leite e entre iogurtes elaborados sem essa adição.

Alguns estudos demonstram a utilização o soro de leite em produtos alimentícios e justificam sua utilização pelo valor biológico de suas proteínas bem como pelas modificações químicas, físicas, nutricionais e sensoriais que confere aos produtos. Alves *et al.* (2010) e Correia *et al.* (2009) utilizaram o soro de leite no processamento de gelatina. No primeiro estudo, os autores reaproveitaram o soro proveniente da fabricação de ricota, o soro ácido, que geralmente, é descartado por sua elevada acidez. Constatou-se que fatores como acidez e pH do soro e da polpa de fruta utilizada interferem na formação do gel de gelatina, assim a utilização do soro de leite conferiu à gelatina brilho, sabor e aroma agradáveis. No segundo estudo, o soro utilizado foi proveniente da fabricação de queijo de coalho e as formulações tiveram boa aceitação mediante análise sensorial.

A fim de avaliar a viscoelasticidade de iogurte, Vidigal *et al.*, (2010) adicionaram o Concentrado Proteico do Soro (CPS) em diferentes concentrações em substituição à gordura, tal adição resultou na alteração das propriedades reológicas do iogurte, conferindo

a este maior elasticidade. Os autores concluíram que a adição de CPS em níveis de 3,0% e 4,5% foram efetivos como substituto de gordura.

Viotto *et al.* (2010) estudou o efeito da adição do concentrado proteico do soro, no processamento de requeijão cremoso e constatou aumento do valor nutricional e do rendimento. Onde a adição de 0,5% de CPS ao requeijão cremoso obteve melhor aceitação pelos consumidores.

Ao utilizar soro de leite pasteurizado (65°C/30 min.) em bebida, Silva *et al.* (2010) observou que o sabor do soro foi mascarado pelos concentrados de frutas, obtendo viscosidade satisfatória e elevada aceitação do produto. O mesmo ocorreu nas pesquisas de Ferrari *et al.* (2010) que obteve boa aceitação para todos os produtos elaborados com soro (bolo, bebida láctea achocolatada e com doce de fruta (frapê de goiaba).

Bastiani (2009) desenvolveu iogurte com concentrado proteico do soro de leite para verificação de seus efeitos sobre as características sensoriais e nutricionais deste alimento. Enquanto, Lima *et al.* (2006) observou o efeito da adição de diferentes tipos e concentrações de sólidos nas características sensoriais de iogurte tipo firme e constatou que as amostras adicionadas de leite em pó desnatado obteve melhor aceitação (60%) mediante os julgadores, em comparação com amostras adicionadas de concentrado proteico do soro de leite e amostras sem adição de sólidos.

Todos os tratamentos contendo soro de leite na formulação foram bem aceitos pelos julgadores e não houve diferença significativa entre eles. No entanto, diante das maiores frequências de notas 9 (nove) atribuídas as formulações YA e YB, optou-se pela formulação YB (1,0%), que obteve a maior média, para estudar a aceitabilidade mediante adição da própolis vermelha.

### 3.3 ANÁLISE DE PH, ACIDEZ TITULÁVEL E SÓLIDOS SOLÚVEIS DOS IOGURTOS ELABORADOS COM SORO DE LEITE EM PÓ.

Os iogurtes foram avaliados sensorialmente a uma temperatura inicial média de 4,5°C ( $\pm 0,57$ ) e ao final da análise sensorial verificou-se temperatura média de 12°C ( $\pm 0,81$ ). Os valores de pH, acidez titulável e sólidos solúveis (°Brix) encontram-se na tabela 7.

Tabela 7 - Perfil dos iogurtes de morango adicionados de soro de leite

Parâmetro	Iogurte com soro de leite em pó			
	YA (0,5%)	YB (1,0%)	YC (1,5%)	YD (2,0%)
pH	4,34	4,38	4,33	4,30
Acidez titulável* (%)	0,77	0,74	0,77	0,76
Sólidos solúveis (°Brix %)	17,0	17,4	17,7	18,3

\*Acidez em % de ácido láctico.

Os resultados demonstram que o pH dos iogurtes estiveram em torno de 4,3 para todas as amostras e a acidez titulável obteve valor mínimo de 0,74 para o iogurte com 1,0% de soro de leite. De acordo com a legislação para leites fermentados a acidez titulável deve estar entre 0,6 a 1,5 g de ácido láctico/100g. O desenvolvimento do sabor característico do iogurte está associado à acidez provocada durante a fermentação, o que o torna relativamente estável, inibindo o desenvolvimento de bactérias deterioradoras (RODAS et al. 2001). O pH do iogurte deve estar entre 3,8 a 4,4 uma vez que a produção exagerada de ácidos causa super acidificação a partir da incubação até o armazenamento do produto nas prateleiras, promovendo características indesejáveis (MORAES P., 2004; ORDÓÑEZ, 2005).

No estudo de Almeida *et al.* (2001) verificou-se as características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo Minas Frescal. Observou-se que o pH das bebidas lácteas acrescidas de soro de queijo e cultura tradicional para iogurte, mantiveram-se em torno de 4,6 havendo diferença significativa em relação a bebidas também produzidas com soro de queijo e com culturas probióticas mantendo o pH, durante vida útil, entre 5,07 a 5,14.

No estudo de Leles *et al.* (2011) foi verificado o pH em amostras de iogurtes comerciais e encontrou-se valores inferiores aos obtidos nos tratamentos experimentais deste estudo. Nenhuma das sete amostras analisadas pelos autores obteve valores em torno de 4,0. O menor valor obtido foi 3,08 e o maior de 3,79 que, segundo os autores possuem elevado potencial erosivo a saúde bucal de crianças que venham a consumir este alimento em excesso. A acidez elevada pode estar associada a deficiência na manutenção da temperatura de armazenamento dos iogurtes nas prateleiras. Um bom iogurte se mantém em boas condições de consumo a 5°C por uma a duas semanas (JAY, 2005).

Na ficha de avaliação, no espaço reservado aos comentários, alguns julgadores relataram sobre a doçura dos iogurtes, percebendo diferença entre os tratamentos, expressando que alguns estavam mais doces do que outros, característica não esperada no estudo, uma vez que o percentual de açúcar adicionado às formulações não diferiu. Verificando o percentual de sólidos solúveis (°Brix) destes tratamentos, observou-se valor crescente à medida que se aumentou o percentual de soro de leite em pó adicionado ao

iogurte. Os valores variaram entre 17,0% para o tratamento com 0,5% a 18,3% para a o tratamento com 2,0% de soro. Esses valores, em conjunto com a percepção de alguns julgadores em relação à doçura podem ser justificados pela presença de lactose do soro de leite em pó.

### 3.4 ANÁLISE SENSORIAL DE IOGURTES DE GOIABA E MORANGO ELABORADOS COM SORO DE LEITE E PRÓPOLIS VERMELHA

A tabela 8, expressa os resultados obtidos após avaliação sensorial dos iogurtes sabor goiaba e morango elaborados com 1% de soro de leite e (YA) 0,1%, (YB) 0,2% e (YC) 0,3% de tintura de própolis vermelha.

Tabela 8 - Valores médios do teste de aceitação dos iogurtes formulados com diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha acrescidos de soro de leite em pó.

Tratamentos - % tintura de própolis vermelha	iogurte sabor goiaba	iogurte sabor morango
YA - 0,1	7,140 <sup>a</sup>	6,860 <sup>a</sup>
YB - 0,2	6,600 <sup>a</sup>	6,720 <sup>a</sup>
YC - 0,3	6,640 <sup>a</sup>	6,680 <sup>a</sup>
DMS <sup>1</sup>	0,65	0,62

Médias com letras em comum na mesma coluna não difere entre si a  $p \leq 0,05$  pelo teste de Tukey. <sup>1</sup>Diferença Mínima Significativa.

Através da análise de variância observou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos tanto para iogurte sabor goiaba quanto para sabor morango que obtiveram boa aceitabilidade, acima de 78% com médias entre 6 (seis) e 7 (sete), equivalendo a “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”, respectivamente.

Para o iogurte sabor morango, houve maior frequência de notas 7 (sete) (36%) para a amostra com menor percentual de tintura de própolis vermelha, conforme figura 18.

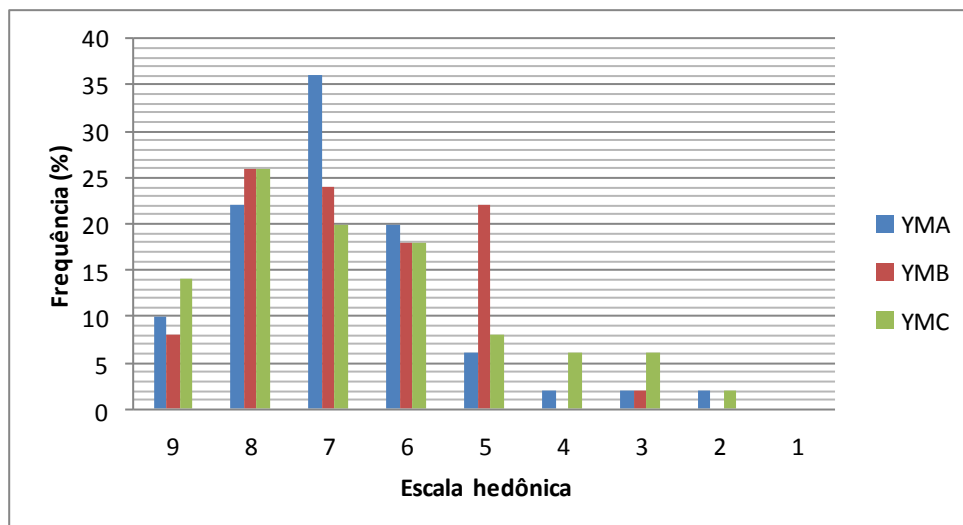


Figura 18 - Histograma de aceitabilidade de iogurte de morango elaborado com soro de leite e fortificado com própolis vermelha em diferentes concentrações (YMA – 0,1%, YMB – 0,2% e YMC – 0,3%).

Os resultados do iogurte sabor goiaba teve comportamento semelhante ao sabor morango. O tratamento com 0,3% recebeu maiores notas na região de aceitação, entre 6 (seis) a 9 (nove), semelhante ao iogurte de morango. Porém obteve maior frequência de notas 8 para os tratamentos YGA (28%) e YGC (30%) como observa-se na figura 19.

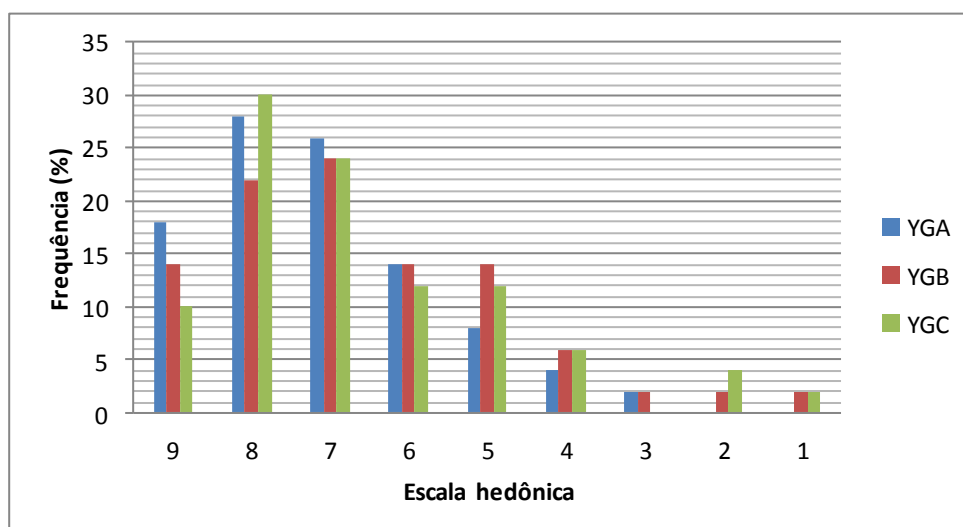


Figura 19 - Histograma de aceitabilidade de iogurte de goiaba elaborado com soro de leite e fortificado com própolis vermelha em diferentes concentrações (YGA – 0,1%, YGB – 0,2% e YGC – 0,3%).



A figura 20 representa as frequências de aceitação, indiferença e rejeição atribuídas aos iogurtes de morango e goiaba com própolis vermelha. É possível observar boa aceitabilidade, acima de 72% para todos os tratamentos deste estudo.

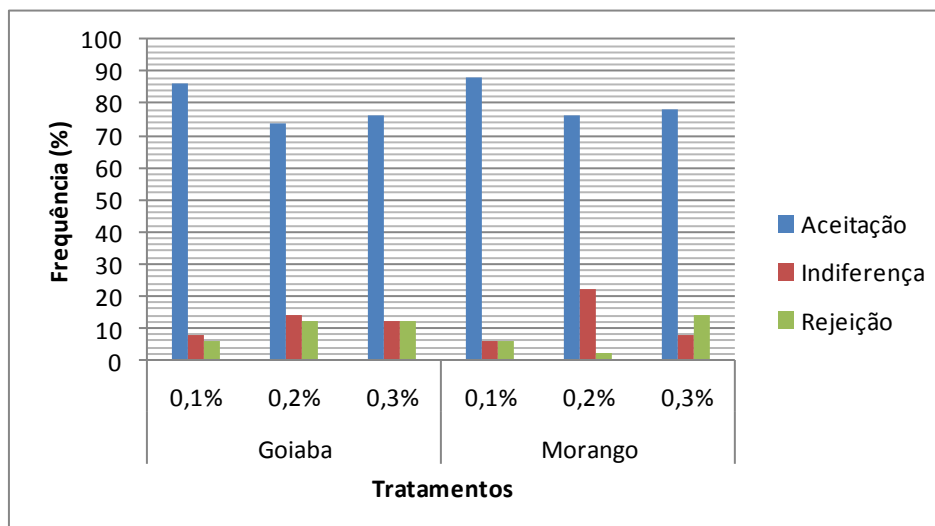


Figura 20 - Aceitação, indiferença e rejeição para iogurtes de goiaba e morango adicionado de soro de leite em pó e diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha.

Os resultados deste estudo mostraram que os iogurtes elaborados com soro de leite e própolis vermelha, sabor morango e sabor goiaba são bem aceitos pelos julgadores.

Ao elaborar néctar de goiaba com soro de leite, Correia (2012) constatou que os néctares apresentaram melhor perfil de nutrientes destacando-se o aumento do teor de açúcares, gorduras e de proteínas, e que o maior percentual total de proteínas foi obtido no néctar adicionado de soro em pó. Os produtos foram bem aceitos em relação à sensorial obtendo resultados considerados satisfatórios quanto à aceitação global. Os néctares contendo soro foram considerados aptos quanto à avaliação de consumo/intenção de compra dos provadores, apresentando boa aceitabilidade e possível potencial para o mercado consumidor.

A figura 21 mostra as médias de aceitabilidade para os iogurtes elaborados com soro e fortificados com própolis. Os iogurtes sabor morango tiveram notas bem próximas em relação aos percentuais de tintura adicionados, enquanto os de goiaba tiveram maior variabilidade de notas em relação ao de morango. Os iogurtes sem flavorizantes tiveram as maiores médias de aceitação, obtendo maior média o iogurte elaborado com 1% de soro de leite (7,8).

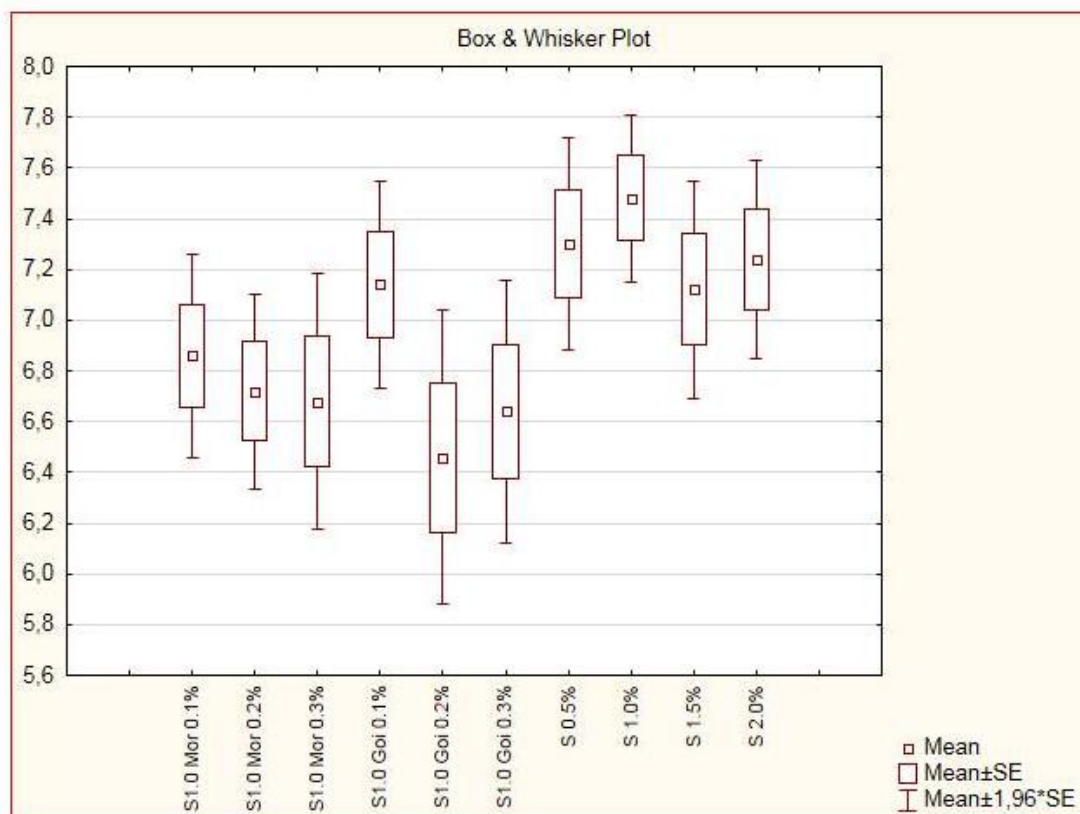


Figura 21 - Médias dos iogurtes elaborados com soro e fortificados com própolis vermelha.

A figura 22 mostra o gráfico da Análise do Componente Principal (ACP) dos iogurtes elaborados com diferentes percentuais de soro de leite (0,5, 1,0, 1,5 e 2,0%), bem como os iogurtes elaborados com 1,0% de soro de leite contendo calda de morango ou calda de goiaba, fortificados com tintura de própolis vermelha (0,1%, 0,2% e 0,3%). Observaram-se diferenças entre os escores para os iogurtes de soro de leite em diferentes percentagens citadas acima, demonstrando uma grande variabilidade nos escores entre a formulação contendo 0,5% de soro em relação às demais formulações. O iogurte de soro de leite com 1% apresentou valores de escores bem próximos ao iogurte de soro de leite com 1,5%. A análise de agrupamentos usando ACP revelou que o iogurte de soro de leite 1,0% apresentou maior proximidade nos escores com os iogurtes de soro de leite contendo calda de morango e demonstrou pouca proximidade dos iogurtes contendo soro de leite com calda de goiaba. Usando a análise do componente principal observou-se assim maior compatibilidade do ponto de vista sensorial (Figura 22).

A análise hierárquica de Cluster (Figura 23), utilizando o método da ligação completa, demonstrou pouca similaridade para as formulações contendo soro de leite. As formulações contendo calda de morango apresentaram uma distância de ligação Euclidiana de 13,2, enquanto as formulações contendo calda de goiaba apresentaram uma distância de

ligação Euclidiana de 15,9. Dessa forma, pode-se dizer que as formulações de soro de leite com calda de morango apresentaram maior similaridade. Utilizando o método da ligação simples para avaliar a similaridade dos iogurtes elaborados com soro de leite, observou-se uma maior similaridade entre as composições de 1,5 e 2,0% de soro de leite (distância Euclidiana de 11,4). As composições de 0,5 e 1,0% apresentaram a mesma similaridade às formulações de iogurte de soro de leite contendo calda de morango e fortificadas com tintura de própolis (0,1% e 0,2%) e as formulações de iogurte de soro de leite contendo calda de goiaba e fortificadas com tintura de própolis 0,1 e 0,3% as quais apresentaram uma distancia Euclidiana de 12,0, podendo ser consideradas semelhantes utilizando esta análise particular quando comparadas composições individuais.

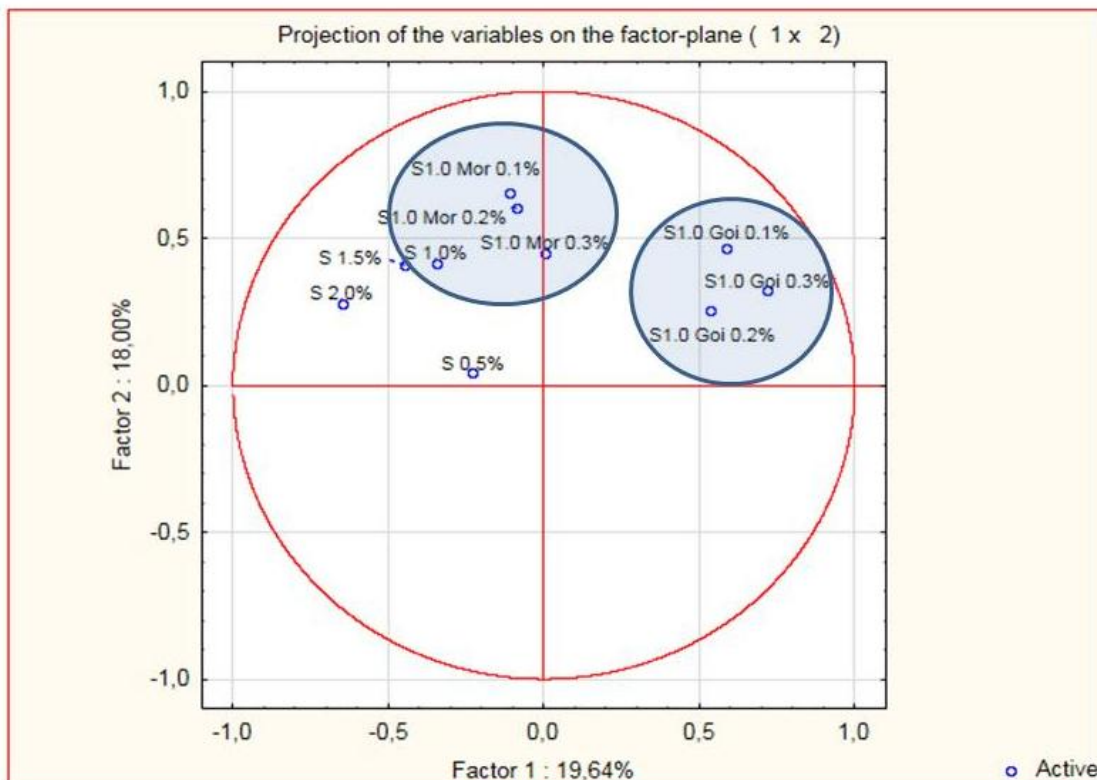


Figura 22 - Análise do Componente Principal dos iogurtes elaborados com soro de leite em pó fortificados com diferentes percentuais de própolis vermelha.

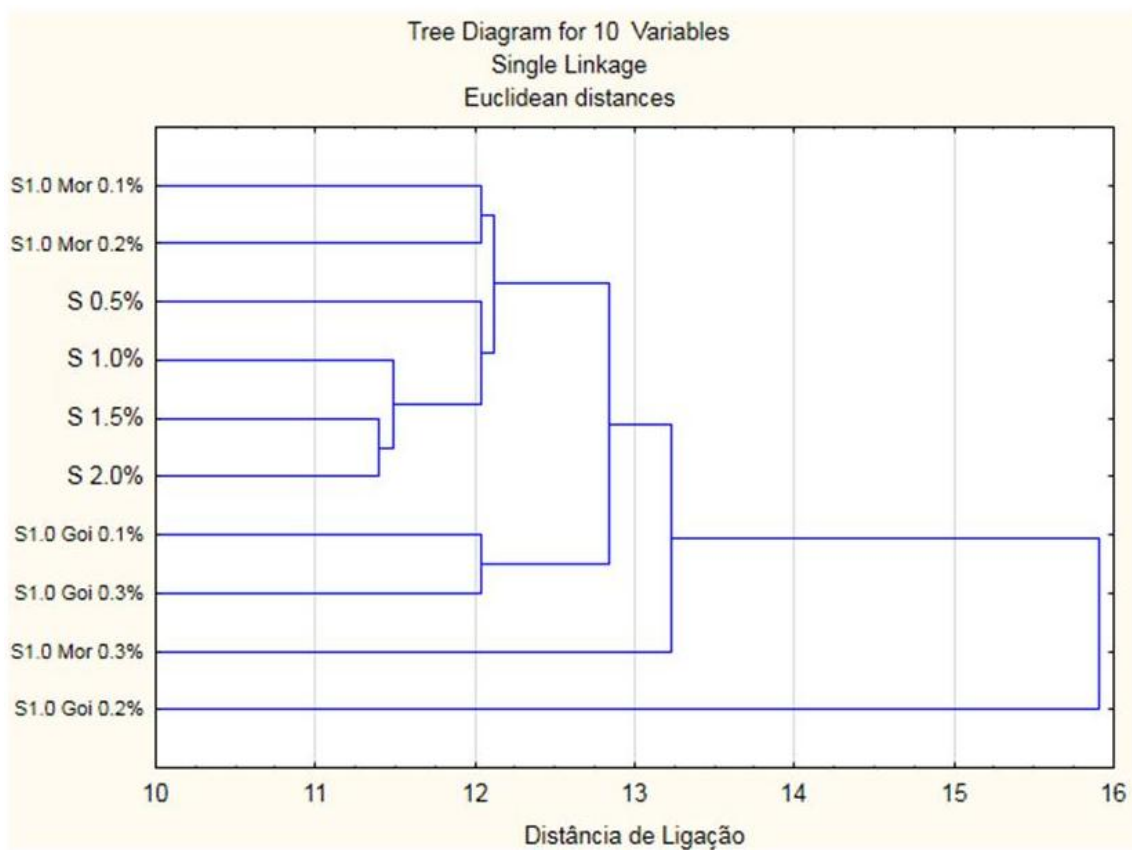


Figura 23 - Diagrama de árvore dos tratamentos de iogurtes elaborados com diferentes percentuais de soro de leite e tintura de própolis vermelha.

## CONCLUSÃO

O sabor forte da própolis pode ser mascarado pela adição do flavorizante escolhido e nesse estudo, os sabores morango e goiaba demonstraram ser as melhores opções em relação aos demais sabores, diferente do iogurte sabor mel que foi menos aceito pelos julgadores.

Os testes de aceitabilidade global para iogurtes de diferentes sabores fortificados com própolis vermelha indicaram que a produção de iogurtes com própolis é possível desde que o iogurte apresente um flavorizante adequado.

As análises multivariadas (ACP e AHC) vêm corroborando com os dados de aceitabilidade, visto que os iogurtes de morango e goiaba apresentaram forte similaridade entre si. Porém a análise foi mais sensível para diferenciar a composição de maior similaridade (morango), em relação às de similaridade intermediária (goiaba) e dissimilaridade (mel e sem sabor).

Os julgadores demonstraram índice de aceitação considerado satisfatório para os iogurtes de morango e goiaba elaborados com soro de leite em pó e própolis vermelha. Os diferentes percentuais de tintura de própolis adicionados aos iogurtes não causou diferenças significativas na aceitação das amostras, sendo igualmente aceitos pelos julgadores.

Iogurtes fortificados com própolis vermelha podem ter características de alimento funcional ou alimento com alegação para a saúde pela presença de grande quantidade de compostos bioativos presentes na própolis, porém faz-se necessários estudos adicionais que comprovem a estabilidade química, físico-química e microbiológica bem como a presença dos compostos da própolis no iogurte.

## REFERÊNCIAS

- ACKERMAN, T. Fast Chromatographic Study Propolis Crudes. **Food Chemistry**. Vol. 42. p. 135-138. Israel, 1991.
- ALENCAR, S. M. et al. Chemical composition and biological activity of a new type of brazilian propolis: Red propolis. **Journal of Ethnopharmacology**, 113, 278-283, 2007.
- ALVES, T. L. et al. Análise sensorial de gelatina com soro de leite bovino proveniente do queijo de ricota. **In Anais...** X Congresso Internacional do Leite. Maceió, 2010.
- 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 proteico de soro de leite. **Cien. Tecnol. Aliment.**, 23 (supl): 183-189. Campinas, 2003.
- ANTUNES, A. E. C.; CAZETTO, T. F.; BOLINI, H. M. A. Iogurtes desnatados probióticos adicionados de concentrado proteico do soro de leite: perfil de textura, sinérese e análise sensorial. **Alimentos Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 2, p. 107-114, 2004.
- ANTUNES, A. E. C. Influência do Concentrado proteico do soro de leite e de culturas probióticas nas propriedades de iogurtes naturais desnatados. 2004. 240 f. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, 2004.
- ANZALDÚA-MORALES, A. **La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y La práctica**. Zaragoza: Acribia SA, 1994. 198 p.
- AQUARONE, E. et al. **Biotecnologia industrial. Biotecnologia na produção de alimentos**. vol. 4. São Paulo: Edgard Blücher LTDA, 2001.
- BARBOSA, A. F. et al. Aceitação sensorial de iogurte sabor pêssego acrescido de diferentes concentrações de aroma e polpa por meio da técnica de mapa de preferência. **Instituto de Laticínios Cândido Tostes.**, Minas Gerais, Brasil. Vol. 68, nº 390, p. 52-58, 2013.
- BASTIANI, M. I. D. **Iogurte adicionado de concentrado proteico de soro de leite e farinha de linhaça: Desenvolvimento, qualidade nutricional e sensorial**. 2009. 115 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2009.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 3 – ANEXOS VI e VIII – A prova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Própolis e Extrato de Própolis. **Diário Oficial da República da União**. Brasília, 19 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de leites fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 de outubro de 2007.

CHATTERTON, D. E. W. et al. Bioactivity of b-lactoglobulin and a-lactalbumin - Technological implications for processing. **International Dairy Journal**, v.16, p. 1229–1240, 2006.

CHOUCHOULI, V. et al. Fortification of yoghurts with grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. **Food Science and Technology**, Atenas, Grécia. Vol. 53, p. 522 – 529, 2013.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex Standards for fermented milk. Codex Stan 243-2003. Adopted in 2003. Revision 2008, 2010. Available at: <[http://www.codexalimentarius.net/download/standard/400/CXS\\_243e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/standard/400/CXS_243e.pdf)> Accessed 31 jan, 2012.

CORREIA, A. G. S. et al. Avaliação Sensorial de sobremesa de gelatina elaborada com soro de leite incluída no cardápio de escolares do IFAL-Câmpus Satuba. **Anais...** 26º Congresso Nacional de Laticínios. Juiz de Fora-MG, 2009. 1-CD-ROM.

CORREIA, A. G. S. **Desenvolvimento, caracterização físico-química, avaliação sensorial e microbiológica de néctar de goiaba (*Psidium guajava*, L) adicionado de soro de leite bovino**. 2012. 72.f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) Universidade Federal de Alagoas, Alagoas.

COSTA, N. M. B; ROSA, C. O. B. **Alimentos funcionais. Componentes bioativos e efeitos fisiológicos**. Rubio. Rio de Janeiro, 2010.

FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de Análise Sensorial**. 2. Ed. 120 p. Campinas, SP, 2008.

FERRARI, A. S.; AZAREDO, E. M. C.; BALDONI, N. R.; Análise sensorial de produtos elaborados à base de soro de leite. In **Anais...** XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Salvador, 2010.

FERREIRA, V. L. P. et al. Análise Sensorial: testes discriminativos e afetivos. **Manual: Série qualidade**. Campinas, SP: SBCTA, 2000.

FORSYTHE, S. **Microbiologia da segurança alimentar**. Artmed: Porto Alegre, 2002.

FRANCO, S. L.; BRUSCH, M. L.; MOURA, L. P. P.; BUENO, J. H. P. Avaliação Farmacognóstica da própolis da região de Maringá. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 9, p.1-10, 2000.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos**. 4 ed. 2008.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Artmed: Porto Alegre, 2005.

LELES, S. B. et al. Determinação de pH e sólidos solúveis totais (°brix) em bebidas de consumos infantil. In: **Anais... XX Congresso de Iniciação Científica**. Pelotas: 2011.

LIMA, S. C. G.; GIGANTE, M. L.; ALMEIDA, T. C. A. **Efeito da adição de diferentes tipos e concentrações de sólidos nas características sensoriais de iogurte tipo firme**. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.8, n.1, p.75-84, 2006.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**, 4<sup>th</sup> edition, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL. 448 p., 2006.

MENEZES, H. Própolis: Uma revisão dos recentes estudos e suas propriedades farmacológicas. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v.72, n.3, p. 405-411, 2005.

MORAES, M. A. C. **Métodos para avaliação sensorial dos alimentos**. 6. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1988. 93 p.

MORAES, P. C. B. T. **Avaliação de iogurtes líquidos comerciais sabor morango: estudo de consumidores perfil sensorial**. 2004. f. 128. Tese (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

OLIVEIRA, P. D. et al. Avaliação sensorial de iogurte de açai (*Euterpe oleracea mart*) "tipo "Sundae". **Instituto de Laticínios Cândido Tostes.**, Minas Gerais, Brasil. Vol. 66, nº 380, p. 5-10, 2011.

ORDOÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos. Alimentos de Origem Animal**. vol. 2. Porto alegre: Artmed, 2005.

PEDRERO F., D. L; PANGBORN, R. M. **Evaluación sensorial de los alimentos: métodos analíticos**. México DF: Alhambra Mexicana. 1989. 251 p.

PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; AQUINO-NETO, F. R. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, p. 321-326, 2002.

PEREIRA, M. A. G. **Efeito do teor de lactose e do tipo de cultura na acidificação e pós-acidificação de iogurtes**. 2002. 86p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP.



PROUDLOVE, R. K. **Os alimentos em debate uma visão equilibrada**. Varela: São Paulo, 1996.

RIBEIRO, M. **Desenvolvimento e caracterização sensorial de iogurte diet sabor morango enriquecido com concentrado proteico de soro**. 2008.93 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

RIGHI, A. A. **Perfil químico de amostras de própolis brasileira**. 2008. f. 102. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade de São Paulo, São Paulo. 2008.

RODAS, M. A. B. et al. Caracterização físico-química, histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 21, n 3, p. 304-309, Campinas, 2001.

SANTANA, A. T. M. C. et al. Avaliação sensorial de iogurte à base de pitaita (*Hylocereus undatus*), enriquecido com quinoa (*Chenopodium quinoa*) e sucralose. **Instituto de Laticínios Cândido Tostes.**, Minas Gerais, Brasil. Vol. 67, nº 389, p. 21-25, 2012.

SANTOS, G. **Estudo do processo de obtenção de iogurte liofilizado “em pó” e avaliação de sua qualidade nutricional e sensorial**. 2012. 102p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão – SE.

SANTOS, G. et al. Avaliação sensorial, físico-química e microbiológica do leite fermentado probiótico desnatado adicionado de jenipapo desidratado osmoticamente. **Instituto de Laticínios Cândido Tostes.**, Minas Gerais, Brasil. Vol. 67, nº 388, p. 61-67, 2012.

SILVA, T. M. et al. Bebida a base de soro de leite. In **Anais... XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Salvador: 2010.

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

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; BARBETTA, P. A. **Análise sensorial de alimentos**. Florianópolis: Editora da UFSC, 1987. 180 p.

TEIXEIRA, L. V. Análise Sensorial na indústria de alimentos. **Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Minas Gerais, Brasil. Vol. 64, nº 366, p. 12-21, 2009.

VIDIGAL, M. C. T. R.; et al. Viscoelasticidade de iogurte contendo concentrado proteico de soro. In **Anais...XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Salvador: 2010.

VIOTTO, W. H.; LOIOLA, L. S.; GONÇALVES, M. C.; Efeito da adição de concentrado proteico de soro nas propriedades funcionais do requeijão cremoso. In **Anais...IV Congresso Brasileiro de Qualidade do leite**. Florianópolis: 2010.

**Artigo II: artigo de resultados**

OLIVEIRA, JNO; NASCIMENTO, TG; DELGADO, MC. Caracterização química, físico-química e microbiológica de iogurtes elaborados com leite e soro de leite fortificados com extrato própolis vermelha.

Revista que será submetido: Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (B2) ISSN:1983-9774

## RESUMO

O iogurte é um leite fermentado pela ação de bactérias termófilas, obtido pelo método de cultivo de microrganismos protossimbióticos, por coagulação e diminuição do pH do leite e destaca-se entre os alimentos que recebem alegações de saúde. O soro de leite é um subproduto da indústria de laticínios que vem despertando o interesse de inúmeros pesquisadores em todo o mundo devido à sua potencialidade nutricional, funcional e econômica. Atualmente, existem muitos estudos envolvendo o enriquecimento de iogurtes com outras substâncias alimentícias, agregando valor nutricional ao produto. A própolis possui muitos compostos bioativos considerados benéficos à saúde. E, nesse sentido, buscou-se caracterizar iogurtes de morango elaborados com soro de leite em pó e leite em pó integral, fortificados com tintura de própolis vermelha. Os experimentos foram conduzidos na unidade de laticínios do setor agroindustrial do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas - Campus Satuba. Os iogurtes foram elaborados com 1% de estabilizante e fortificados com 0,3% de tintura de própolis. Obtiveram-se seis formulações de iogurtes de morango: controles soro (YB0) e leite (YA0) sem adição de flavorizante (calda de morango) (YA); elaborado com leite em pó (YA1); elaborado com leite em pó e própolis (YB); elaborado com soro de leite em pó e própolis (YB1). Os iogurtes foram submetidos à caracterização usando análises físico-químicas para: pH, acidez titulável, lipídios, umidade, sólidos totais, lactose e cinzas. Foram avaliados durante estocagem nos dias 1, 15 e 28 para coliformes a 45°C, bolores/leveduras e bactérias lácticas totais. Os iogurtes fortificados apresentaram características dentro dos padrões preconizados pela legislação. Os resultados cromatográficos comprovaram a presença dos compostos da própolis vermelha nos iogurtes. Os resultados demonstraram que é possível a adição de compostos bioativos da própolis vermelha a iogurtes sem comprometer suas características físico-químicas, funcionais, nutricionais e seus parâmetros de qualidade.

## PALAVRAS-CHAVE

iogurtes fortificados. Própolis vermelha. Padronização de iogurtes. Estabilidade físico-química, Estabilidade microbiológica. CLAE-UV.

## ABSTRACT

The Yogurt is fermented milk by the action of thermophilic bacteria, obtained by the method of growing protosymbiotics microorganisms by coagulation and decreasing of the pH of milk and stands out among the foods that receive health claims. Milk whey is a bioproduct of the dairy industry that has aroused the interest of many researchers around the world due to its nutritional, functional and economic potential. Currently there are many studies involving the enrichment of yogurts with other nourishing substances, nutritional value adding to the product. Propolis has many bioactive compounds considered beneficial to health. In this sense, we sought to characterize strawberry yogurts prepared with whey powder and whole milk powder, fortified with tincture of propolis. The experiments were conducted at the dairy unit of the agroindustrial sector, Federal Institute of Education, Science and Technology of Alagoas - Campus Satuba. The yoghurts were prepared with 1% stabilizer (milk whey) and fortified with 0.3% tincture of propolis. Yielded six formulations of strawberry yogurt: milk (YB0) and whey controls (YA0) without addition of flavoring (strawberry syrup), (YA); made from milk powder (YA1); made from milk powder and propolis (YB); prepared with whey powder and propolis (YB1). The yoghurts were subjected to characterization using physicochemical analyzes for pH, titratable acidity, fat, moisture, total solids, lactose and ash. During storage were evaluated on days 1, 15 and 28 for coliforms at 45 ° C, molds / yeasts and total lactic acid bacteria. Fortified yogurts had characteristics within the standards recommended by the legislation. The chromatographic results showed the presence of compounds of propolis in yogurts. The yogurts were subjected to microbiological stability study and had a count of lactic acid bacteria ( $1.0 \times 10^7$  CFU) at the end of 28 days within the specifications of the current legislation. The results demonstrated that it is possible the addition of bioactive compounds of propolis to yogurts without compromising their physicochemical, microbiological, functional, nutritional parameters and their quality characteristics.

## KEYWORDS

Yogurts fortified. Red propolis. Standardization of yogurts. Physical and chemical stability, microbiological stability. HPLC-UV.

## INTRODUÇÃO

De acordo com a legislação, os leites fermentados são produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidos por coagulação e diminuição do pH do leite, mediante ação de cultivos de microrganismos específicos. Como exemplo de leites fermentados, pode-se citar o iogurte, leite fermentado ou cultivado, leite acidófilo ou acidofilado, kefir, kumys e coalhada.

Iogurte, Yogur ou Yoghurt é um leite fermentado pela ação de bactérias termófilas, obtido pelo método de cultivo de microrganismos protossimbióticos de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, aos quais se podem acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final (BRASIL, 2007).

Entre os alimentos cujas alegações para a saúde têm sido amplamente divulgadas, o iogurte recebe destaque. Vários estudos reconhecem suas características nutricionais e a presença de uma série de fatores que implicam na promoção da saúde humana (MORAES M., 2011). Apesar disso, hoje já se sabe que somente iogurtes elaborados com bactérias probióticas podem ser chamados de iogurtes funcionais (ANTUNES et al. 2004). No entanto, existem muitos estudos envolvendo o enriquecimento de iogurtes com outras substâncias alimentícias, agregando valor nutricional ao produto. Nesse sentido, Bastiane (2009) enriqueceu iogurtes com concentrado proteico de soro de leite e farinha de linhaça e detectou que 2% de farinha de linhaça adicionada ao iogurte constitui um produto de excelente qualidade proteica, com teor de lipídios totais reduzidos, com excelente fonte de ácido graxo  $\alpha$ -linolênico, contendo fibra alimentar e de baixo teor de sódio, diferenciando o produto.

O concentrado proteico do soro de leite adicionado a iogurtes desnatados confere iogurtes com melhor textura e menor retenção de soro, durante estocagem. O soro de leite é um subproduto da indústria de laticínios que vem despertando o interesse de inúmeros pesquisadores em todo o mundo devido à sua potencialidade nutricional, funcional e econômica (ANTUNES et al. 2004).

Outros estudos a exemplo de Barbosa et al. (2013), Oliveira et al. (2011), Santos et al. (2012), Santana et al. 2012 e Chouchouli et al. (2013) também observaram o efeito que outros produtos alimentícios, principalmente as frutas e polpas de frutas, conferem aos iogurtes, geralmente sob enfoque químico, físico-químico e microbiológico.

A própolis possui sabor forte, advindo de sua composição química (PROUDLOVE, 1996). Apesar dessa característica sensorial, possui elevado valor biológico e funcional que podem trazer muitos benefícios à saúde (COSTA; ROSA, 2010). Os componentes químicos

da própolis de maior interesse por seu potencial farmacológico são os compostos fenólicos com ênfase nos flavonoides e ácidos fenólicos (FUNARI, 2006). Os compostos fenólicos são largamente distribuídos na natureza e encontrados principalmente em alimentos de origem vegetal (JOHNSTON et al. 2003). Os flavonoides, por terem ação antioxidante, impedem a oxidação degenerativa dos alimentos (COSTA; ROSA, 2011).

Ensaio de análise sensorial foram realizados em estudos anteriores (Artigo I) para avaliar a aceitabilidade de iogurtes elaborados com diferentes percentuais de tintura de própolis vermelha. Os resultados demonstraram boa aceitabilidade para todas as amostras fortificadas com própolis com destaque para os iogurtes de goiaba e morango. Contudo, não se conhece o perfil dos iogurtes quanto as suas características físico-químicas e microbiológicas. Nesse sentido, este estudo objetivou caracterizar iogurtes de morango elaborados com soro de leite e leite em pó integral, fortificados com tintura de própolis vermelha.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

Para elaboração dos iogurtes os seguintes materiais químicos, biológicos e ingredientes alimentícios foram utilizados:

- Leite cru refrigerado obtido do setor de bovinocultura do Instituto Federal de Alagoas (IFAL) – Campus Satuba.
- Cultura termofílica, de cepas mistas liofilizadas contendo: *S. thermophilus* e *L. delbruekii ssp bulgaricus*, obtidas da Chr Hansen sob a denominação comercial YF-L812 YoFlex®, adquirida através da empresa Milk localizada em Garanhuns, Pernambuco.
- Soro de leite em pó para uso industrial, adquirido da empresa Natville, gentilmente cedido pela indústria de sorvetes Frutilla localizada em Maceió, Alagoas.
- Própolis vermelha oriunda do apiário Primavera, localizado no município de Marechal Deodoro no Estado de Alagoas. A própolis foi armazenada a -20°C para posterior utilização.
- Álcool de cereal, leite em pó integral (Itambé), calda de fruta sabor morango (Selecta top), adquiridos no comércio local de Maceió, Alagoas.

### 4.1 PREPARO DO EXTRATO BRUTO DA PRÓPOLIS VERMELHA

O extrato bruto da própolis vermelha foi obtido por trituração seguido de maceração à temperatura ambiente com adição de álcool de cereal a 85% como solvente extrator. A maceração ocorreu em três ciclos de extração e para cada ciclo, adicionou-se solvente extrator à amostra na proporção de 3:1, aproximadamente.

Posteriormente, o material resultante foi concentrado em rotaevaporador (Fisatom®) com velocidade de rotação de 80rpm, acoplado a uma bomba de vácuo (Tecnal®) a 600mmHg e banho-maria (Fisatom®) a 50°C para obtenção do extrato bruto da própolis vermelha que em seguida, foi mantido em temperatura de congelamento para posterior utilização. Obteve-se a tintura a 10% pesando-se uma quantidade de 5 gramas em balão de 50mL do extrato bruto e adicionando-se o solvente extrator para solubilização.



## 4.2 CARACTERIZAÇÃO DO LEITE PARA PREPARO DOS IOGURTES

Para realização dos experimentos utilizou-se leite cru refrigerado obtido do setor de bovinocultura do IFAL-Campus Satuba. As análises físico-químicas realizadas no leite ocorreram segundo metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) e são descritas a seguir:

### 4.2.1 Acidez titulável

Para determinação da acidez titulável em ácido láctico transferiu-se, com auxílio de uma pipeta, 10 mL de leite para um Becker de 100mL, adicionando-se 3 gotas da solução de fenolftaleína (1%). A solução foi titulada com hidróxido de sódio 0,1N até o aparecimento de uma coloração rósea. Para verificação do resultado, observou-se o volume da solução de hidróxido de sódio gasto submetendo esse valor a seguinte fórmula:

$$A = \frac{Ci \times fc \times 9 \times v}{Va} \quad (a)$$

Sendo:

A= Acidez em % ácido láctico

Ci= Concentração do hidróxido de sódio

fc = fator de correção da solução de hidróxido de sódio

v = volume do hidróxido gasto

g = gramas da amostra

### 4.2.2 pH

O pH foi determinado por introdução direta do eletrodo à amostra em potenciômetro digital previamente calibrado da marca Gehaka, modelo PG 1800.

### 4.2.3 Densidade

Para determinação da densidade, transferiu-se uma quantidade de leite previamente homogeneizado, para uma proveta de 250mL, introduzindo o termolactodensímetro. Fez-se a leitura do nível do leite, no menisco superior e procedeu-se a leitura da densidade com auxílio da tabela de correção a 15°C, expressa em g/ml.

### 4.2.4 Lipídios

O percentual de lipídios foi determinado através do butirômetro Gerber, em duplicata. Para cada butirômetro, transferiu-se 10mL de ácido sulfúrico e em seguida adicionou-se lentamente, 11ml de leite e 1ml de álcool isoamílico. Após arrolhar, pesou-se e

agitou-se vigorosamente até completa dissolução. Os butirômetros foram levados à centrífuga modelo 8BT da Cap Lab® a 1200 rpm durante 5 minutos na posição vertical com a rolha posicionada para baixo. Após centrifugação foram submetidos à banho-maria a 65°C por 3 a 5 minutos. Fez-se a leitura direta, em porcentagem, dentro da escala graduada do butirômetro Gerber.

#### 4.2.5 Extrato Seco Total (EST)

O Extrato seco total foi determinado através do disco calculador de Ackermann. Girou-se o disco até coincidir o valor da densidade (g/mL) com o valor da gordura (%) da amostra nas respectivas escalas e fez-se a leitura do ponto indicado pelo cursor, na escala de extrato seco, em % (m/m).

#### 4.2.6 Umidade

O percentual de umidade foi obtido através do método gravimétrico, por meio de secagem em balança de infravermelho para determinação de umidade, modelo MOC-120H da marca Shimadzu. Cerca de 5 gramas da amostra foi seca sob temperatura de 120°C até obter perda de umidade inferior a 0,01%.

#### 4.2.7 Lactose

A lactose foi determinada através de glicídios redutores em lactose. Transferiu-se 10mL da amostra para um balão volumétrico de 100 mL, adicionou-se 50 mL de água, 2 mL da solução de sulfato de zinco a 30% e 2 mL da solução de ferrocianeto de potássio a 15%, misturando bem após cada adição. Utilizou-se azul de metileno como indicador. Após sedimentação durante 5 minutos, completou-se o volume com água e agitou. Seguiu-se a filtração em papel filtro em Erlenmeyer de 300mL. Transferiu-se 10mL de cada uma das soluções de Fehling, adicionado de 40 mL de água para um balão de fundo chato de 300 mL aquecendo até a ebulição em chapa aquecedora. O filtrado foi transferido para uma bureta de 25 mL, e gota a gota adicionando sobre a solução do balão em ebulição, sob agitação, até mudança de coloração, azul a incolor, com presença de um resíduo vermelho tijolo no fundo do balão. O resultado foi expresso através da fórmula:

$$\frac{V \times 0,068 \times 100}{L \times v} \quad (b)$$

Sendo:

0,068 = no de g de lactose que corresponde a 10 mL da solução de Fehling

v = no de mL da solução da amostra, gasto na titulação.

L = no de mL da amostra

V = no de mL da diluição da amostra (100 mL)

#### 4.2.8 Cinzas

As cinzas foram determinadas por incineração em mufla a 550°C. Pesou-se 5 gramas da amostra em capsula de porcelana previamente aquecida em mufla por duas horas, resfriada e pesada. A amostra foi previamente seca em estufa a 105 até secagem e em seguida, incinerada por aproximadamente 4 horas. O resultado foi obtido através da fórmula:

$$\frac{100 \times P}{A} \quad (c)$$

Em que:

P = n° de g de resíduo

A = n° de mL da amostra

#### 4.3 ELABORAÇÃO DOS IOGURTES

Após a ordenha, o leite cru foi resfriado a 4°C, transportando para a unidade de Laticínios do setor agroindustrial do IFAL – Campus Satuba. Utilizou-se como reconstituente nos iogurtes leite em pó e soro de leite em pó integral. O leite cru foi acrescido dos reconstituintes em seguida, pré-aquecido e homogeneizado. Seguiu-se pasteurização a 85°C por 15 minutos. Posteriormente os leites foram imediatamente, esfriados a 42°C e inoculados com fermento láctico em quantidade conforme fabricante. Procedeu-se a fermentação até pH 4,6 que ocorreu em aproximadamente 4 horas e em seguida foram armazenados em câmara fria a temperatura de aproximadamente, 5°C até o dia seguinte. Realizou-se a quebra da coalhada, adicionou-se a calda de morango, a tintura de própolis vermelha (Figura 24, a - b e c) e procederam-se as análises.

A metodologia do preparo dos iogurtes ocorreu segundo Aquarone et al. (2001) com adaptações, o fluxograma do processo está representado na figura 25 e ocorreu de acordo com o que rege as Boas Práticas de Fabricação (BPFs).



Figura 24 - Quebra da coalhada, adição do sabor e tintura de tintura de própolis vermelha de iogurte de morango.

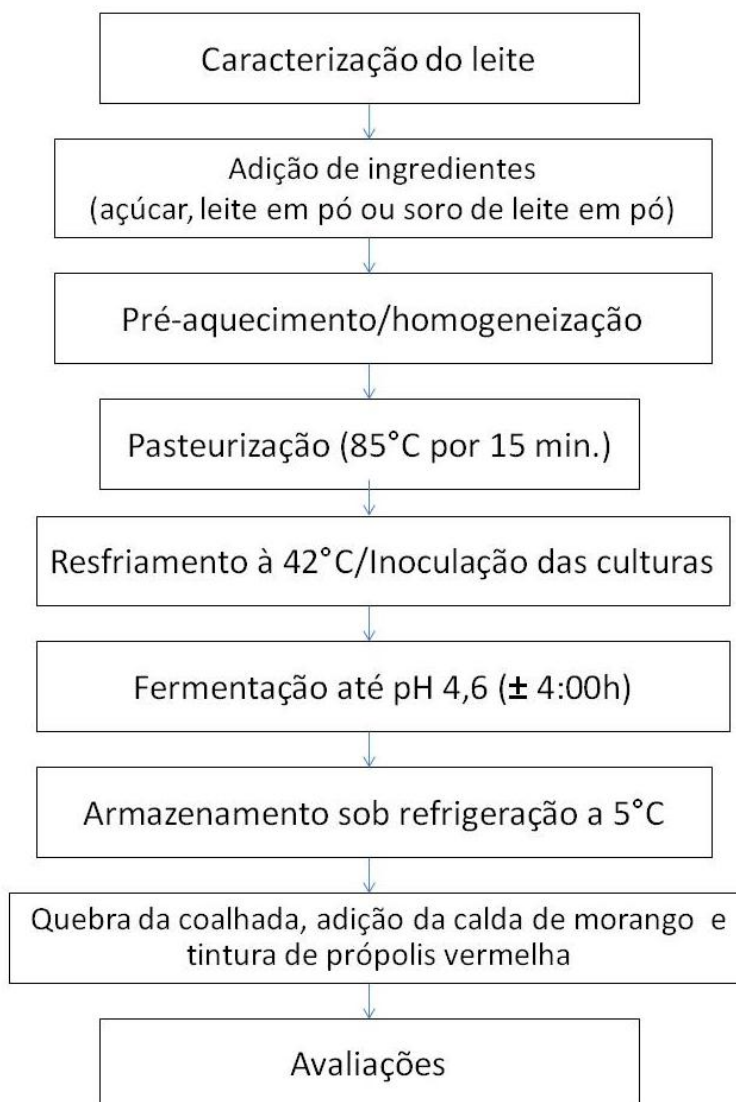


Figura 25 - Fluxograma de obtenção de iogurtes com soro de leite e leite em pó e própolis vermelha.

#### 4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo anterior demonstrou que 1% de soro de leite e 0,3% de tintura de própolis era adequado sensorialmente para elaboração de iogurtes. Nesse estudo, tanto os iogurtes elaborados com soro de leite em pó quanto os elaborados com leite em pó receberam 1% do estabilizante e 0,3% de tintura de própolis vermelha.

Foram processados seis formulações de iogurtes de morango, sendo: controle soro (YB0): iogurte elaborado com soro de leite, sem adição de flavorizante; controle leite (YA0): iogurte elaborado com leite em pó sem adição de flavorizante; (YA): iogurte elaborado com leite em pó e flavorizante (calda de morango); (YA1) iogurte elaborado com leite em pó, flavorizante (calda de morango) e própolis vermelha; (YB): iogurte elaborado com soro de

leite em pó e flavorizante (calda de morango) (YB1): iogurte elaborado com soro de leite em pó, flavorizante (calda de morango) e própolis vermelha.

Os experimentos foram conduzidos na unidade de laticínios do setor agroindustrial do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas - Campus Satuba.

#### 4.5 AVALIAÇÕES MICROBIOLÓGICAS DOS IOGURTES

Os iogurtes foram envasados e estocados em geladeira após preparo e avaliados microbiologicamente durante a vida útil bem como caracterizados por métodos químico e físico-químico. Estabeleceu-se 28 dias como prazo final de validade. Os iogurtes foram avaliados em três tempos de estocagem: 1, 15 e 28 dias. As análises microbiológicas realizadas foram: determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 45°C, contagem de bolores e leveduras por metodologia descrita em (APHA, 2001), viabilidade das bactérias lácticas totais por metodologia descrita em (IDF, 1997).

Para as análises microbiológicas, realizou-se diluições decimais seriadas com a retirada de uma alíquota de 25mL de iogurte adicionado à 225mL de água peptonada (APT) estéril, obtendo a primeira diluição  $10^{-1}$ . A partir dessa, foram feitas **cinco** diluições sucessivas retirando-se sempre alíquotas de 1mL da diluição anterior, realizando diluições até  $10^{-6}$ .

##### 4.5.1 Coliformes a 45°C

Para análise de coliformes a 45°C foi utilizada a técnica do Número Mais Provável (NMP) empregando-se séries de três tubos para cada diluição com intervalo de confiança de 95%. Transferiu-se alíquotas de 1 mL das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , para os tubos contendo o caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) que foram incubados a 35°C durante 48 horas. Decorrido o tempo de incubação, separou-se os tubos positivos, os que apresentavam turvação e produção de gás no interior do tubo de Durham. Transferiu-se uma alçada de cada tubo positivo de LST para tubos contendo caldo *Escherichia coli* (EC), incubou-se em banho-maria a 45°C durante 48 horas. Selecionaram-se os tubos positivos obtendo-se os resultados em NMP/por mL de iogurte.

##### 4.5.2 Bolores e leveduras

Para a contagem de bolores e leveduras inoculou-se 0,1mL de cada diluição, em plaqueamento em superfície em placas previamente preparadas e secadas com o meio Ágar Batata Dextrose (BDA) espalhando o inóculo com alça de Drigalski. As placas foram incubadas a 30°C durante cinco dias. Após a incubação determinou-se a contagem total de bolores e leveduras em UFC/mL de iogurte (APHA, 2001).

#### 4.5.3 Contagem de bactérias lácticas totais

A contagem de bactérias lácticas totais foi realizada em meio de cultura Ágar MRS (Difco™), composto por: peptona, extrato de carne, extrato de levedura, dextrose, polissorbato, citrato de amônio, acetato de sódio, sulfato de manganês, sulfato de magnésio e fosfato dipotássico. Para a contagem de bactérias lácticas, Inoculou-se 1mL das diluições  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$ , em profundidade (pour-plate) com sobrecamada. As placas com MRS foram incubadas a  $36\pm 1$  °C durante 72 horas em jarras de anaerobiose (Gaspak® Systems).

#### 4.5.4 Testes de confirmação dos cultivos

Para a observação de suas características bioquímicas, foram transferidas três colônias de uma placa, de cada tratamento, para uma lâmina de vidro e foi realizado esfregaço, corado pelo método de Gram, obtendo resultado de positividade. Na prova da catalase, três colônias de uma mesma placa foram submetidas ao peróxido de hidrogênio a 10%. Como a bactéria contada é catalase negativa, as amostras não apresentaram formação de efervescência. Após os testes, os cultivos apresentaram prova da catalase negativa e presença de bacilos e cocos, Gram positivos, sendo então confirmados como bactérias lácticas.

### 4.6 AVALIAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DOS IOGURTES

As análises físico-químicas para caracterização dos iogurtes foram: pH, acidez titulável em ácido láctico, umidade, sólidos totais, cinzas, lipídios, lactose e proteínas que ocorreram segundo metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), já descrito anteriormente nas análises de caracterização do leite com algumas modificações para acidez titulável, sólidos totais e lipídios. Para monitoramento da curva de fermentação o pH e percentual de ácido láctico foram monitorados a cada 20 minutos. Estabeleceu-se pH 4,6 como término da fermentação. O pH foi determinado por introdução direta do eletrodo à amostra em potenciômetro digital previamente calibrado da marca Gehaka, modelo PG 1800. A acidez titulável por titulação com NaOH 0,1N conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### 4.6.1 Acidez titulável

Antes de realizar a titulação com hidróxido de sódio 0,1N, 5 gramas de cada iogurte foi diluído em 20 mL de água destilada entre 40 e 50°C. Os procedimentos seguintes ocorreram conforme já descrito no item 2.2.1.

#### 4.6.2 Sólidos totais

Foi obtido através da perda da umidade, por meio de secagem em balança de infravermelho para determinação de umidade, modelo MOC-120H da marca Shimadzu. Cerca de 5 gramas da amostra foi seca sob temperatura de 120°C até obter perda de umidade inferior a 0,01%, obtendo-se o percentual de sólidos da amostra.

#### 4.6.3 Lipídios

Para a determinação de lipídios, pesou-se no Bécker 20g da amostra, acrescentou-se, aproximadamente, 30 mL de água destilada 40-50°C dissolvendo com auxílio de bastão de vidro. Transferiu-se, quantitativamente, para um balão volumétrico de 100mL, realizando 3 rinsagens no Bécker com pequenas porções de água destilada à temperatura ambiente. Completou-se o volume do balão com água destilada homogeneizando por inversões. Feito o preparo da solução da análise, procedeu-se conforme análise já descrita para caracterização do leite (Item 2.2.4). O resultado foi obtido multiplicando-se o percentual de lipídios lido no butirômetro por cinco, conforme a fórmula abaixo:

$$\%Gd = L \times 5\% \quad (d)$$

Sendo:

%Gd: teor de gordura da amostra, em % (m/m);

L: teor de gordura lido no butirômetro.

### 4.7 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS (CLAE-UV)

#### 4.7.1 Preparo das amostras

Amostras de iogurte contendo polpa de morango e extrato de própolis, iogurte sem polpa e extrato de própolis e polpa de morango foram pipetadas (1,0 ml) e transferidas para tubos eppendorfs de 1,5 mL e centrifugadas em minicentrífuga da eppendorf modelo mini Spin usando uma velocidade de rotação de 10.000 rpm/15 minutos. Este processo de clean-up foi utilizado para decantação das proteínas e demais interferentes de alto peso molecular no iogurte ou precipitação de lipídios/lipoproteínas e outros interferentes de alto peso molecular. Após centrifugação alíquotas do sobrenadante aquoso (0,7 mL) foram filtradas em unidades filtrantes de 0,45 µm e transferidas para os vials de autoinjeter onde foram injetados 20 µL.

#### 4.7.2 Condições do HPLC-DAD

Os cromatogramas foram obtidos num sistema cromatográfico da Shimadzu contendo bomba de alta pressão (modelo LC-20AT), autoinjeter (modelo SIL 20A), forno

para condicionamento da coluna (modelo CTO- 20A), detector de arranjo de diodo (modelo SPD-M20A) e uma controladora (CBM-20A) com interfaceamento para o computador controlado por um software LC-solution da Shimadzu.

Nas Condições do método cromatográfico, usou-se uma fase móvel constituída de H<sub>2</sub>O:acetonitrila (A:B), ambos acidificados com 0,1% de ácido fórmico. A fase móvel foi bombeada com um fluxo de 1 mL/min para a coluna Phenomenex (C18 Júptier 250 x 4,6 mm; 5µm) e pré-coluna Phenomenex (C18 4,0 x 3,0 mm; 5µm;) que estava estabilizada numa temperatura de 35°C e o Detector de arranjo de diodo foi programado para detectar em 4 comprimentos de onda 265, 280 320 e 370 nm. O volume de injeção foi de 20 µL.

A coluna cromatográfica recebeu um sistema gradiente de eluição da fase móvel que consistia da seguinte mudança proporção dos solventes (A: B), tabela 9.

Tabela 9 - Proporção dos solventes utilizados no sistema gradiente de eluição da fase móvel.

Tempo (minutos)	Solvente A (%)	Solvente B (%)
0	71	29
3	71	29
8	63	37
10	59	41
12	57.5	42.5
14	57.5	42.5
16	53	47
18	45	55
20	35	65
21	33	67
23	31	69
27	22	78
29	22	78
30	13	87
35	13	87
38	0	100
41	0	100
42	71	29
46	71	29

#### 4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados através da comparação das médias dos tratamentos, com a utilização do teste de Tukey estabelecendo-se  $p \leq 0,05$  como nível de significância. O programa estatístico utilizado foi o SAS<sup>®</sup> versão 9.0.



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CURVA DE FERMENTAÇÃO DOS IOGURTES ELABORADOS COM LEITE EM PÓ E SORO DE LEITE EM PÓ.

Nas figuras 26 e 27 é possível observar a curva de fermentação dos iogurtes elaborados com leite em pó e soro de leite em pó. O tempo final da fermentação totalizou 220 minutos. Os iogurtes iniciaram a fermentação com os mesmos valores de pH (6,6), sendo este o pH da matéria-prima obtida.

O iogurte adicionado de soro de leite em pó integral manteve os valores de pH mais baixos durante toda a fermentação, atingindo pH final 20 minutos antes em relação ao iogurte adicionados de leite em pó, portanto, o soro de leite acelerou a fermentação dos iogurtes.

As curvas de fermentação dos iogurtes experimentais de Antunes (2004) elaborados com Concentrado Proteico do Soro de leite (CPS) e/ou leite em pó desnatado (LPD) teve comportamento similar aos deste estudo. Os iogurtes elaborados com CPS apresentaram tempo de incubação menor, cerca de 15 minutos, de vantagem em relação as amostras acrescidas de LPD, ambos fermentados com combinações de culturas equivalentes.

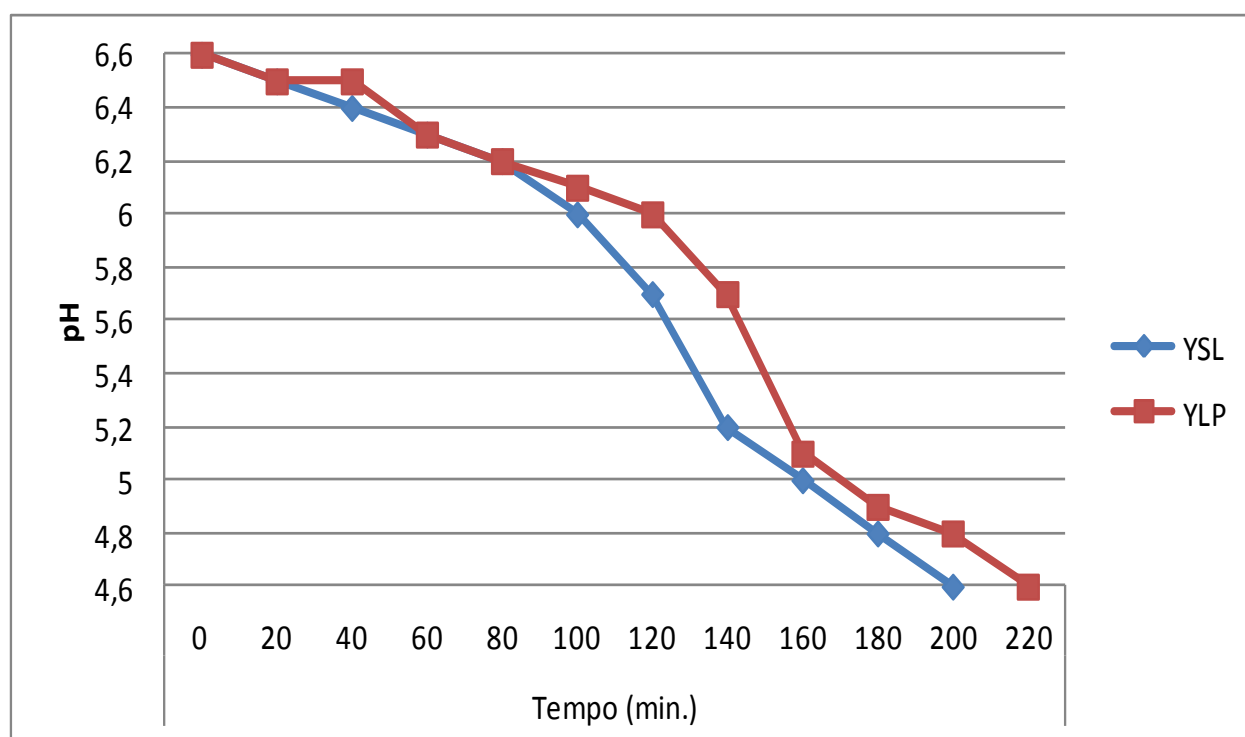


Figura 26 - Monitoramento do pH dos iogurtes elaborados com soro de leite e leite em pó. YSL = iogurte com soro de leite em pó; YLP= iogurte com leite em pó.

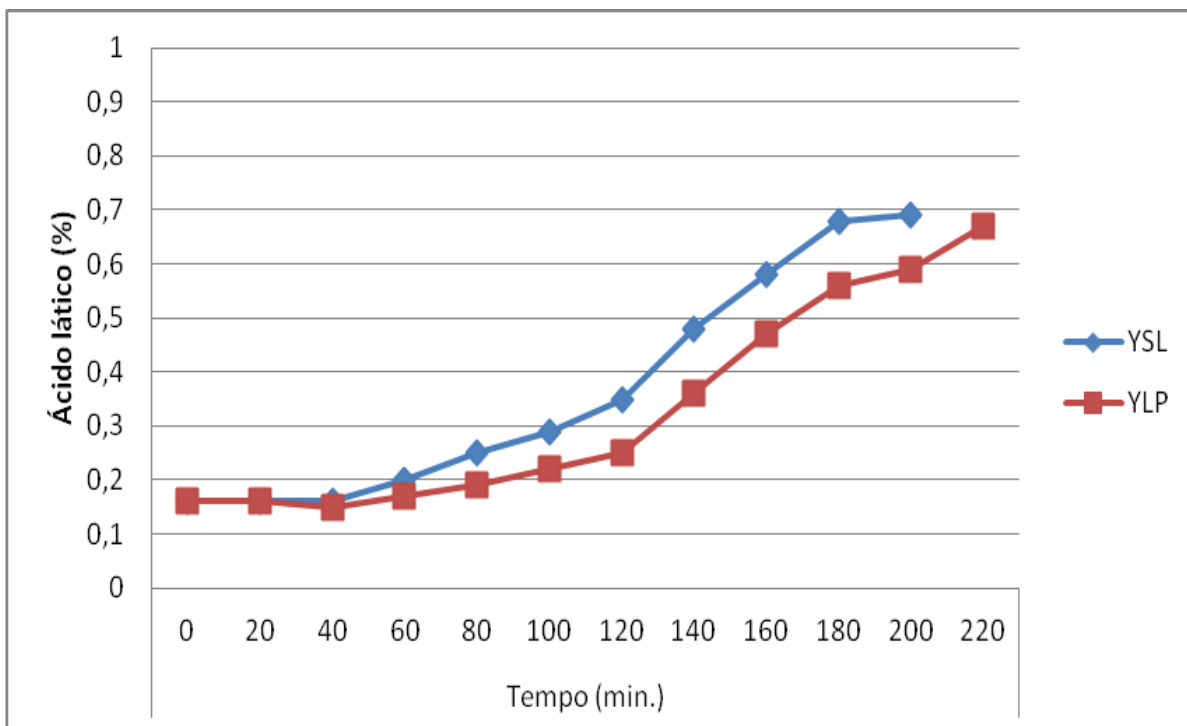


Figura 27 - Monitoramento do percentual de ácido láctico durante a fermentação dos iogurtes estabilizados com leite em pó e soro de leite em pó. YSL = logurte com soro de leite em pó; YLP= logurte com leite em pó.

Houve queda brusca do pH nos intervalos entre 6,0 e 5,2 para o iogurte elaborado com soro de leite nos tempos entre 100 e 160 minutos. Em pH em torno de 5,0 os iogurtes já aparentavam textura firme e no pH estabelecido como o ponto final da fermentação, os iogurtes aparentavam firmeza e brilho característicos. O iogurte elaborado com leite em pó teve comportamento semelhante, porém o processo fermentativo ocorreu mais pausadamente.

Os percentuais de ácido láctico presente nos iogurtes são crescente a medida que aumenta o tempo da fermentação, enquanto que o pH diminui em decorrência do consumo de ácido láctico pelas bactérias lácticas. Esse comportamento é esperado para fermentação de iogurtes (TAMIME; ROBINSON, 1991; PEREIRA, 2002).

Inicialmente as culturas do iogurte convertem parte da lactose em ácido láctico, originando uma diminuição do pH até um ponto em que a caseína se torna insolúvel e o leite mais viscoso. A produção gradual de ácido láctico começa por desestabilizar os complexos de caseína e 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 se aproxima o valor de pH do ponto isoelétrico, ou seja, aproximadamente 4,6 a 4,7 (TAMIME; ROBINSON, 1991).

Observa-se que o iogurte elaborado com soro de leite manteve os percentuais de acidez titulável sempre maiores em relação ao iogurte elaborado com leite em pó.

## 5.2 RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS E CROMATOGRÁFICOS

Na tabela 10 são demonstradas as características da matéria prima utilizada no preparo dos iogurtes. Os resultados mostram que este se encontrava dentro dos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 51/02 (BRASIL, 2002) em todos os parâmetros observados, caracterizando assim uma matéria-prima de boa qualidade.

A Instrução Normativa nº51 não preconiza valores para pH, umidade, cinzas e lactose. No entanto, a literatura dispõe desses valores. No estudo de Torres (2000) avaliou-se a composição centesimal de alguns alimentos de origem animal e, para leite encontrou-se os valores citados na tabela 10, como valores de referência.

Os resultados para análise de cinzas diferiram dos resultados encontrados por Torres, (2000) e concordam com Ordóñez, (2005). O percentual de lactose esteve abaixo dos valores citados por Ordóñez, (2005). Estes valores médios para análise de leites podem apresentar desvios, uma vez que a variação da composição do leite é muito grande (LONGO, 2006).

Tabela 10 - Perfil da matéria-prima para preparo dos iogurtes

<b>Parâmetros físico-químicos</b>	<b>Médias</b>	<b>Valores de referência</b>	<b>Referências</b>
pH	6,67 ( $\pm 0,01$ )	6,6 – 6,8	Tronco, (2003)
Acidez titulável <sup>1</sup>	0,18 ( $\pm 0,03$ )	0,14 - 0,18	Brasil, (2001)
Gordura (%)	3,70 ( $\pm 0,07$ )	Teor original, Mínimo de 3,0 - 3,5	Brasil, (2001); Ordóñez, (2005)
Densidade (g/mL)	1,034 (0,003)	1,028 a 1,034	Brasil, (2001)
Extrato seco total (%)	12,35 (0,08)	Mínimo de 8,4 - 12,2	Brasil, (2001); Ordóñez, (2005)
Umidade (%)	87,80 ( $\pm 0,49$ )	87,95	Torres et al. (2000)
Cinzas (%)	0,75 ( $\pm 0,01$ )	0,54 - 0,70	Torres et al. (2000) Ordóñez, (2005)
Proteína (%)	Nd	Mínimo de 2,9 - 3,1	Brasil, (2001); Ordóñez, (2005)
Lactose (%)	2,95 ( $\pm 0,045$ )	4,9 – 5,0	Ordóñez, (2005)

Valores relativos à média  $\pm$  desvio padrão das amostras de leite obtidas do IFAL - Campus Satuba utilizada no preparo dos iogurtes, analisados em triplicata. Nd: Não determinado.

<sup>1</sup> (% de ácido láctico).

### 5.2.1 Perfil físico-químico dos iogurtes de morango elaborados com leite em pó e soro de leite em pó e fortificados com própolis vermelha.

A tabela 11, expressa o perfil físico-químico dos iogurtes. Os resultados de pH das amostras adicionados de polpa de morango e própolis foram um pouco mais ácidos que as amostras controle leite e soro demonstrando que os iogurtes adquiriram acidez em relação a polpa de morango e/ou a própolis. Porém, para acidez titulável observou-se comportamento contrário, as amostras controle estão um pouco mais ácidas em termos de ácido láctico em relação as que receberam calda de morango e própolis sugerindo que acidez detectada por pH inclui os percentuais de ácido láctico e ácido cítrico do fruto morango, além de outros compostos de caráter ácido presentes na própolis, que não o ácido láctico, característico do iogurte. Contudo, os resultados obtidos para acidez titulável estão dentro dos padrões estabelecidos para iogurtes (BRASIL, 2007). A mesma legislação não estabelece valores para pH.

Tabela 11 - Perfil físico-químicos dos iogurtes de morango elaborados com soro de leite e leite em pó fortificados com própolis vermelha.

Parâmetro	Tratamentos					
	YA0	YA	YA1	YB0	YB	YB1
pH	4,40	4,33	4,24	4,46	4,32	4,38
Acidez titulável* (%)	0,82 (±0,04)	0,79 (±0,25)	0,75 (±0,15)	0,77 (±0,06)	0,76 (±0,05)	0,74 (±0,05)
Lípidios (%)	3,0 (±0,03)	3,0 (±0,05)	3,0 (±0,01)	3,0 (±0,02)	3,0 (±0,02)	3,0 (±0,05)
Umidade (%)	82,7 (±0,053)	80,3 (±0,060)	81,1 (±0,282)	82,2 (±0,063)	81,2 (±0,424)	83,3 (±0,304)
Sólidos totais (%)	17,3 (±0,013)	19,7 (±0,053)	18,9 (±0,014)	17,8 (±0,050)	18,8 (±0,026)	18,7 (±0,159)
Cinzas (%)	0,78 (±0,02)	0,73 (±0,01)	0,73 (±0,02)	0,77 (±0,02)	0,75 (±0,05)	0,71 (±0,05)
Lactose (%)	2,83 (±0,041)	4,35 (±0,216)	3,61 (±0,054)	2,73 (±0,00)	3,58 (±0,267)	3,29 (±0,078)

Valores expressos em médias ± desvio padrão para os tratamentos de iogurtes de morango analisadas em triplicatas. \* Acidez em % de ácido láctico.

Antunes (2004) avaliando a influência da adição de leite em pó desnatado e concentrado proteico do soro de leite, em diferentes proporções em iogurtes, encontrou valores de pH e acidez titulável diferentes dos valores encontrados neste estudo, obtendo valores de pH em torno de 4,0 e acidez titulável acima de 0,94% de ácido láctico.

O percentual de gordura foi o mesmo para todas as amostras uma vez que as amostras foram preparadas a partir da mesma matéria prima. Os iogurtes foram elaborados com leite integral e, de acordo com Brasil (2007) deve conter um percentual de gordura mínimo de 3,0%. Os resultados de umidade, sólidos totais e cinzas foram semelhantes para todas as amostras não havendo variações em função dos sólidos adicionados.

A intolerância a lactose é um distúrbio comum que impede as pessoas de consumirem o leite em quantidade suficiente para recompor o cálcio e evitar a osteoporose, além de seus outros benefícios. Vários leites fermentados podem auxiliar nesse problema, pois os micro-organismos vivos contribuem com a lactase ativa desdobrando a lactose presente nestes produtos e evitando o desconforto (COSTA; ROSA, 2010).

Em geral o iogurte apresenta um percentual de lactose equivalente ao do leite, pois embora parte deste açúcar seja convertido em glicose e galactose pela ação das culturas lácticas, a adição de leite em pó para aumentar o teor de sólidos eleva o teor de lactose. A melhora da digestibilidade deste dissacarídeo ocorre em função da atividade de lactase conferida pela presença das culturas lácticas (DEETH e TAMIME, 1981).

A legislação não estabelece valores para esse parâmetro. Os valores de lactose variaram de 2,7 para amostra controle soro a 4,3 para a amostra de iogurte elaborado com leite em pó, sendo esse o maior valor obtido. Os percentuais de lactose obtidos nos iogurtes, por serem superiores ao valor obtido da matéria-prima utilizada (tabela 9) podem ser justificados pela incorporação dos sólidos a eles adicionados.

No estudo de Longo, (2006) adicionou-se lactase ao iogurte e verificou-se que a redução do teor de lactose influenciou positivamente na sua acidificação, apresentando menor grau de acidez e maior percepção de sabor doce. Os iogurtes apresentaram características de suavidade, mediante os julgadores. Nesse estudo, foi verificado um teor de lactose abaixo do recomendado pela literatura, em torno de 5%, efeito causado pela adição da enzima.

### **5.2.2 Pós-acidificação dos iogurtes durante vida útil**

A pós-acidificação é o decréscimo significativo do pH e aumento significativo da acidez durante estocagem, sob refrigeração. Isso ocorre porque as bactérias lácticas continuam suas atividades metabólicas mesmo depois de encerradas as condições de

fermentação (PEREIRA, 2002). A tabela 12 expressa os valores de pH e acidez titulável dos iogurtes durante 28 dias de estocagem em condições de refrigeração.

Tabela 12 - Pós-acidificação dos iogurtes de morango elaborados com soro de leite e com leite em pó integrais adicionados de própolis vermelha durante estocagem.

Amostras	pH			Acidez titulável*		
	Dia 1	Dia 15	Dia 28	Dia 1	Dia 15	Dia 28
YA0	4,46 <sup>a</sup>	4,37 <sup>a</sup>	4,32 <sup>a</sup>	0,82 <sup>a</sup>	0,82 <sup>a</sup>	0,83 <sup>a</sup>
YA	4,33 <sup>a</sup>	4,32 <sup>a</sup>	4,30 <sup>a</sup>	0,79 <sup>a</sup>	0,81 <sup>a</sup>	0,85 <sup>a</sup>
YA1	4,34 <sup>a</sup>	4,34 <sup>a</sup>	4,32 <sup>a</sup>	0,75 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	0,83 <sup>a</sup>
YB0	4,40 <sup>a</sup>	4,34 <sup>a</sup>	4,26 <sup>a</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,79 <sup>a</sup>	0,81 <sup>a</sup>
YB	4,32 <sup>a</sup>	4,32 <sup>a</sup>	4,31 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,80 <sup>a</sup>	0,81 <sup>a</sup>
YB1	4,38 <sup>a</sup>	4,34 <sup>a</sup>	4,30 <sup>a</sup>	0,74 <sup>a</sup>	0,79 <sup>a</sup>	0,83 <sup>a</sup>

\*(% Ácido láctico). Médias com letras em comum na mesma coluna não difere entre si a  $p \leq 0,05$  pelo teste de Tukey.

No dia 1, as formulações contendo calda de morango obtiveram valores de pH mais ácidos em relação as formulações controle. Assim, entende-se que calda de morango conferiu essa característica aos iogurtes. Ao final dos 28 dias, todos os tratamentos obtiveram valores semelhantes, tanto para pH quanto para acidez titulável. Esses resultados estiveram em acordo com o preconizado por Brasil (2007) que determina uma acidez titulável de 0,6 a 2,0 gramas de ácido láctico.

No processamento de iogurtes, alterações do pH podem ocorrer em decorrência do alimento ou de compostos alimentícios a ele adicionado bem como de culturas probióticas.

No estudo de Espírito Santo et al. (2012) iogurtes foram fortificados com diferentes fibras de frutas e adicionados de diferentes culturas probióticas. Os resultados para acidez titulável e pH diferiram em função da fibra de fruta adicionada e das culturas utilizadas no processo fermentativo. O iogurte fortificado com fibra de maracujá e fermentado por *Lactobacillus acidophilus* apresentou um pH significativamente inferior em relação a amostra controle. Diferente desse estudo, a adição da própolis vermelha não interferiu de modo significativo quanto aos valores de pH e acidez titulável dos iogurtes apesar da própolis possuir compostos de caráter ácido como os ácidos fenólicos, a exemplo dos ácidos caféicos, ácido p-cumárico, flavonoides, benzofenonas, que de acordo com suas características químicas, são considerados ácidos fracos.

### 5.2.3 Perfil cromatográfico dos iogurtes em relação à própolis vermelha

É possível observar na figura 28 - A, B, C e D o perfil cromatográfico dos flavonoides presentes na própolis vermelha, obtido a partir da tintura utilizada para fortificação dos iogurtes. Observa-se a presença de 15 compostos químicos. Esses isoflavonóides foram identificados no estudo de Silva et al. (2007) que comprovou sua origem a partir de uma espécie da família Leguminosae, *Dalbergia ecastophyllum*, podendo classificá-la como o 13º tipo de própolis brasileira.

Entre os cromatogramas obtidos, pode-se observar que todos os compostos fenólicos foram identificados nos 4 comprimentos de onda analisados. No comprimento de onda de 265, 280, 320 e 375 nm foi possível separar alguns compostos fenólicos presentes na própolis vermelha, em especial a liquiritigenina (6,80 min.), a isoliquiritigenina (18.5 min), formononteina (19,0 min) e biochanina A (20,0 min).

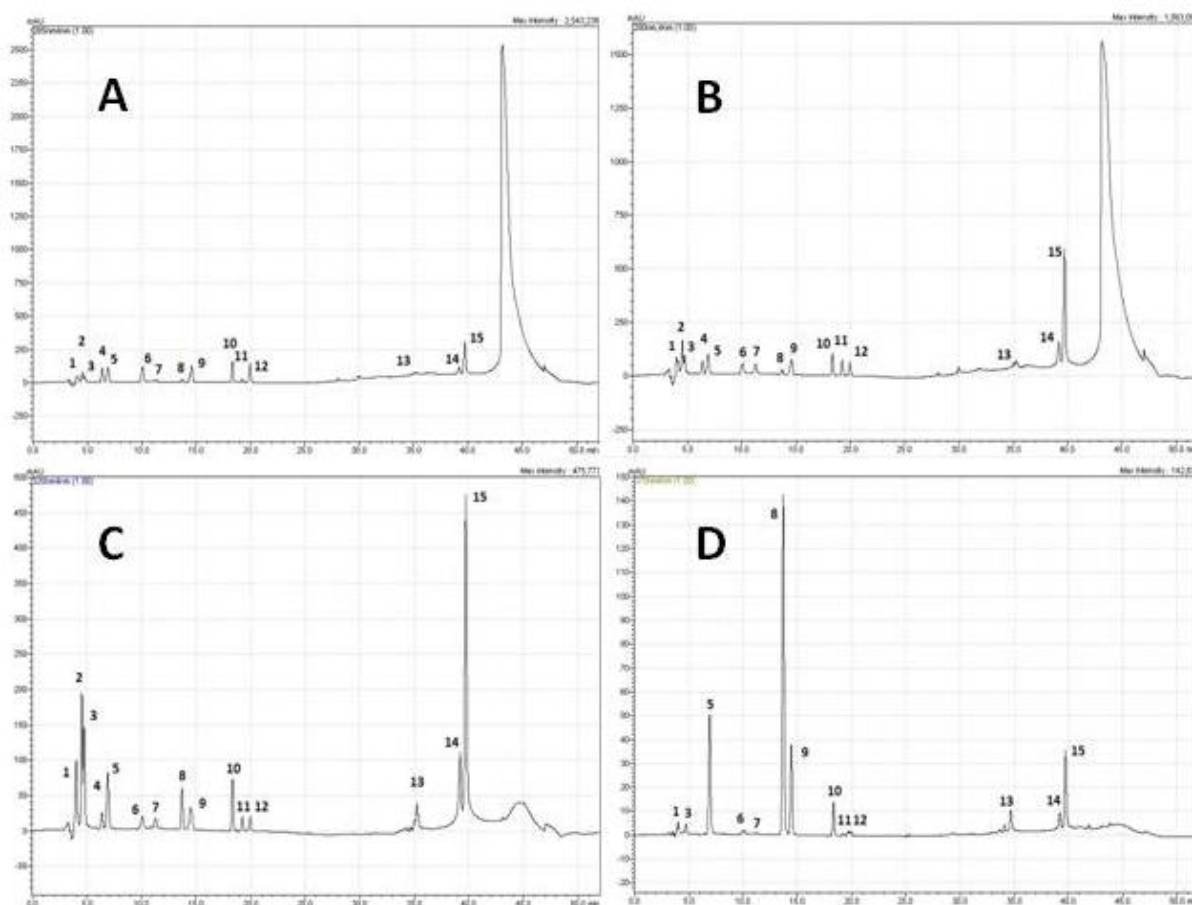


Figura 28 - Perfil cromatográfico dos flavonoides presentes na tintura própolis vermelha. (A)265nm, (B) 280nm, (C) 320nm e (D) 370nm. Padrões dos flavonoides: a) Ácido caféico, 2) Ácido p-cumárico, 3) Ácido ferúlico, 4) Daidzeína, 5) Liquiritigenina, 6) Pinobanksina, 7) Genisteína, 8) Quercetina, 9) Luteonina, 10) Isoliquiritigenina, 11) Formononetina, 12) Biochanina A, 13) Dalbergina, 14) Pinocembina, 15) Crisina.

O perfil cromatográfico da polpa de morango (figura 29) utilizada como flavorizante das composições de iogurtes também apresentaram alguns compostos fenólicos na faixa entre 3,0 e 6,0 minutos. Geralmente, os compostos fenólicos mais encontrados nos morangos são as catequina e antocianinas que apresentam como características alta polaridade e de fácil eluição pela coluna C18 de fase reversa.

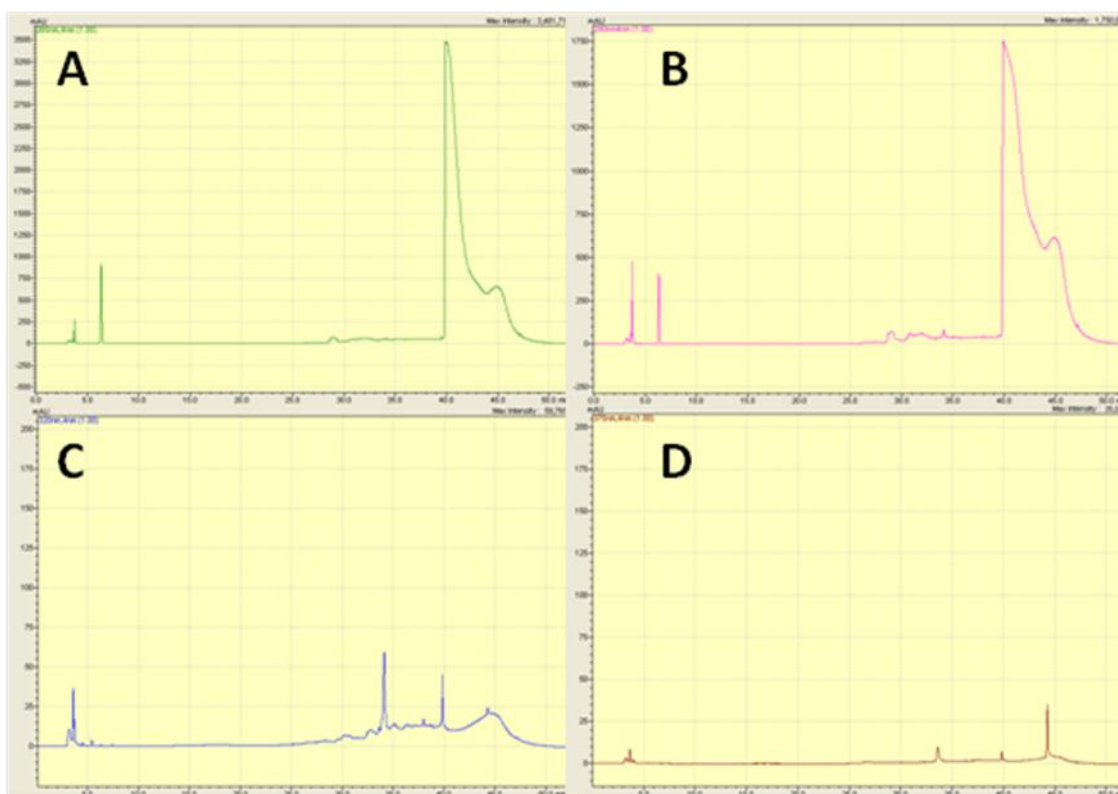


Figura 29 - Perfil cromatográfico dos ácidos fenólicos presentes na polpa de morango. (A)265nm, (B) 280nm, (C) 320nm e (D) 370nm.

A figura 30 mostra o perfil do iogurte elaborado com soro do leite sem flavorizante e sem tintura de própolis vermelha. Observou-se ausência de picos na faixa citada para os flavonoides da própolis vermelha e para os compostos fenólicos da polpa de morango. Alguns picos cromatográficos eluindo em 2,5 minutos e 02 picos acima de 40 minutos (265 e 280 nm) identifica açucares e proteínas, respectivamente presentes no iogurte.

A figura 31 - A, B, C e D, referente à amostra YB (iogurte elaborado com soro), comprova a ausência dos flavonóides da própolis nos iogurtes elaborados com soro de leite em pó e polpa de morango sem a fortificação com a tintura no intervalo entre 6 e 20 minutos (principalmente), porém alguns picos podem ser visualizados entre 3 e 6 minutos, provavelmente compostos fenólicos presentes na polpa de morango. Na figura 32 é diferente, dos 15 compostos detectados na tintura, 10 estão presentes nos iogurtes de morango elaborados com soro de leite e fortificados com 0,3% de tintura de própolis



vermelha, amostra YB1. Os compostos não identificados nesse iogurte foram: pinobanksina, luteonina e pinocembina. Comportamento semelhante demonstra os cromatogramas dos iogurtes elaborados com leite em pó e própolis vermelha, amostra YA1 na figura 34. O iogurte de leite em pó e polpa de morango apresentou perfil cromatográfico muito semelhante ao iogurte de soro do leite e polpa de morango com eluição de proteínas acima de 40 minutos e eluição de proteínas em 2,5 minutos (figura 33).

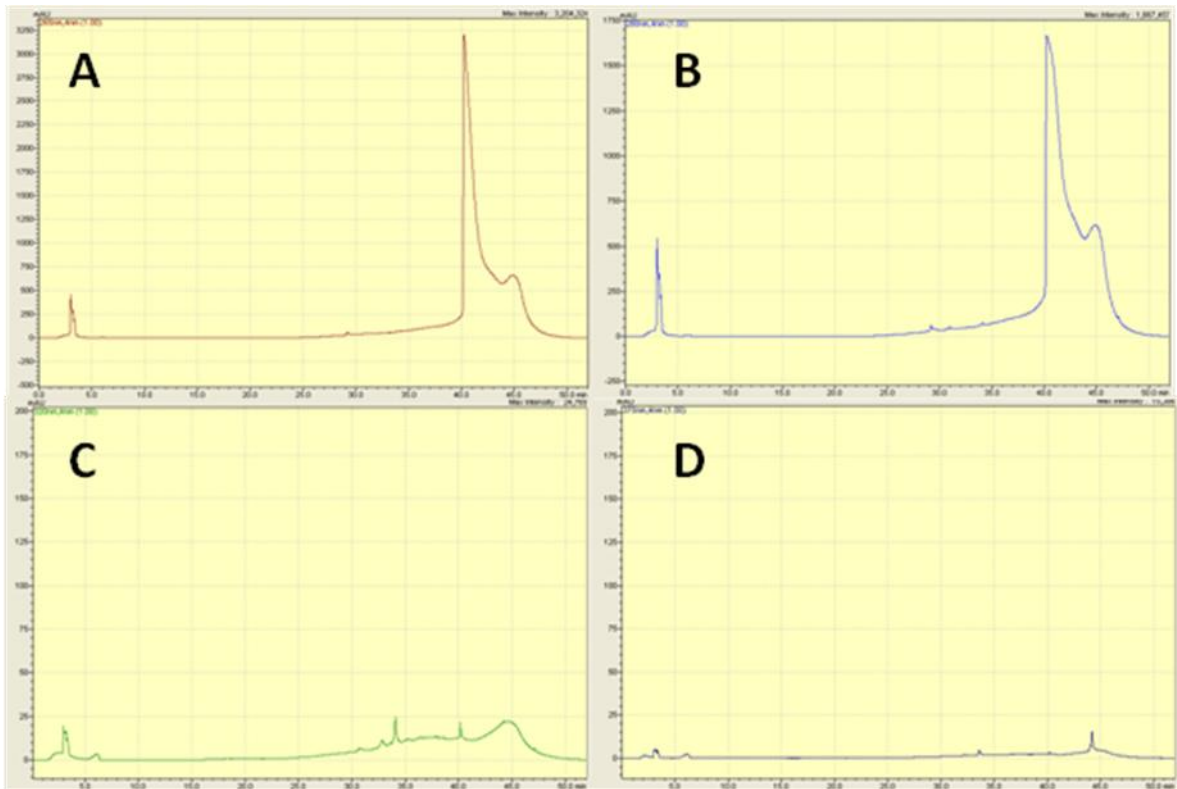


Figura 30- Perfil cromatográfico dos iogurtes elaborado com soro de leite. (A) 265nm, (B) 280nm, (C) 320nm e (D) 370nm.

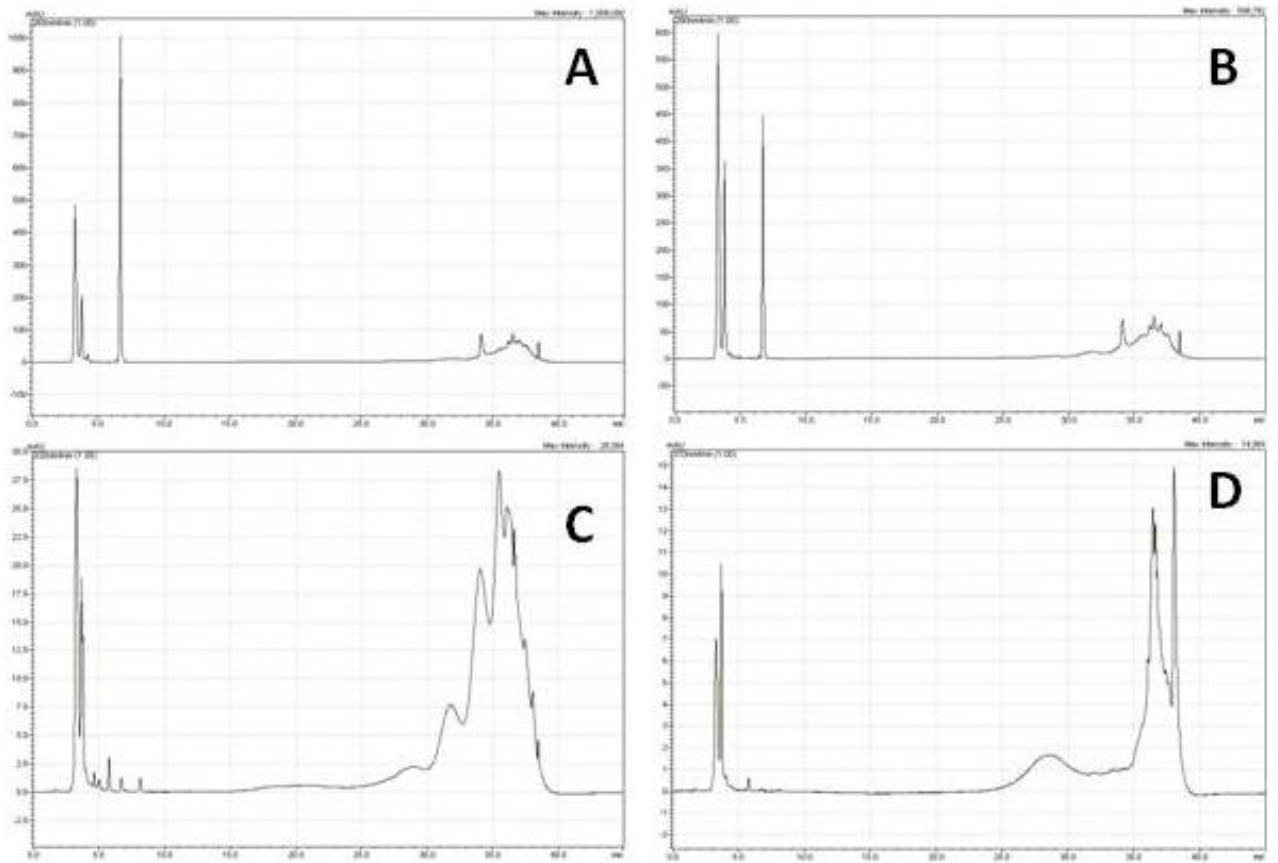


Figura 31 - Perfil cromatográfico dos iogurtes elaborado com soro de leite e polpa de morango. (A) 265nm, (B) 280nm, (C) 320nm e (D) 370nm.

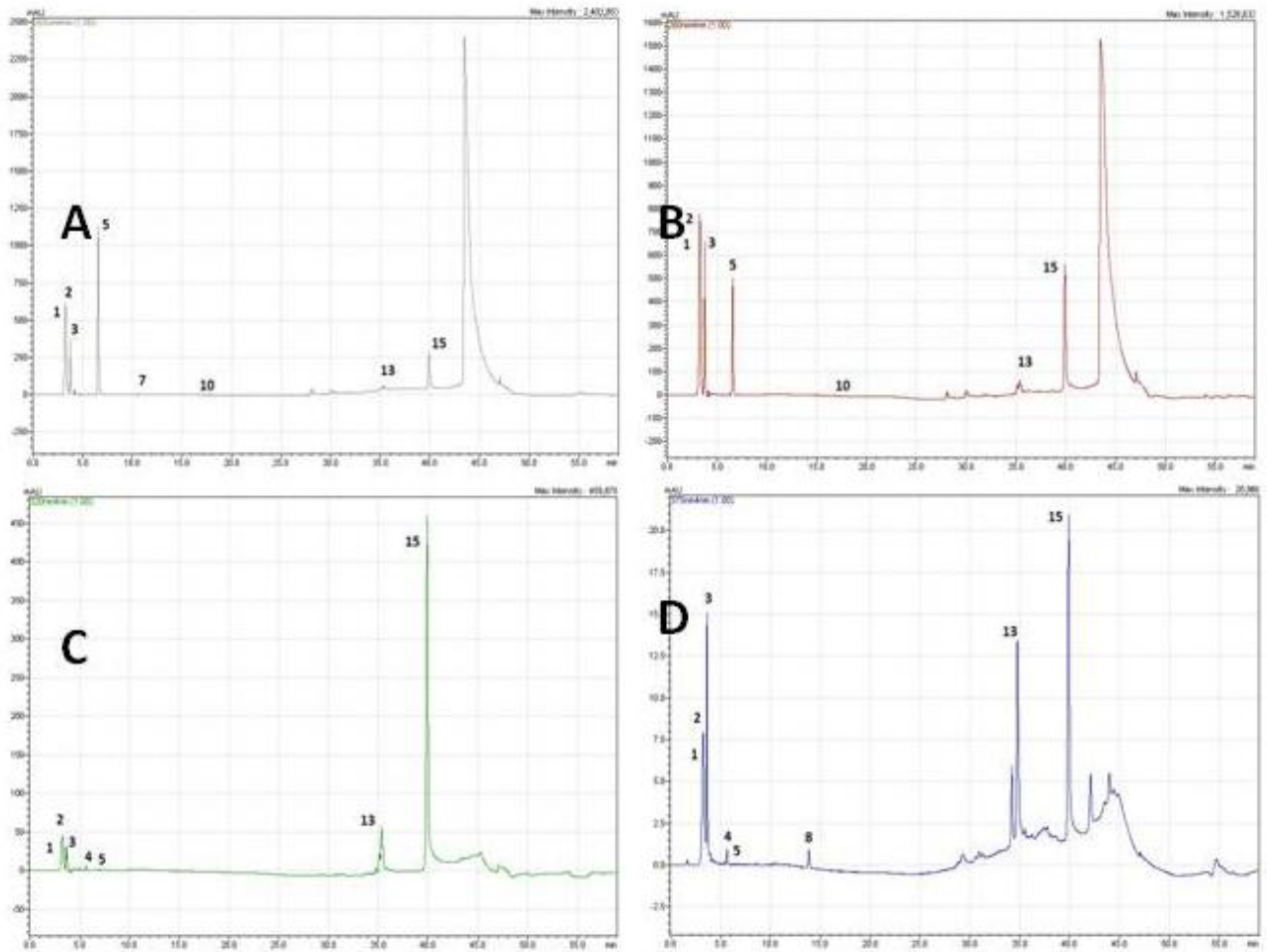


Figura 32 - Perfil cromatográfico dos flavonoides presentes no iogurte de morango elaborado com soro de leite e tintura de própolis vermelha 0,3%. (A) 265nm, (B) 280nm, (C) 320nm e (D) 370nm. Padrões dos flavonoides: 1) Ácido caféico, 2) Ácido p-cumárico, 3) Ácido ferúlico, 4) Daidzeína, 5) Liquiritigenina, 7) Genisteína, 8) Quercetina, 10) Isoliquiritigenina, 13) Dalbergina, 15) Crisina.

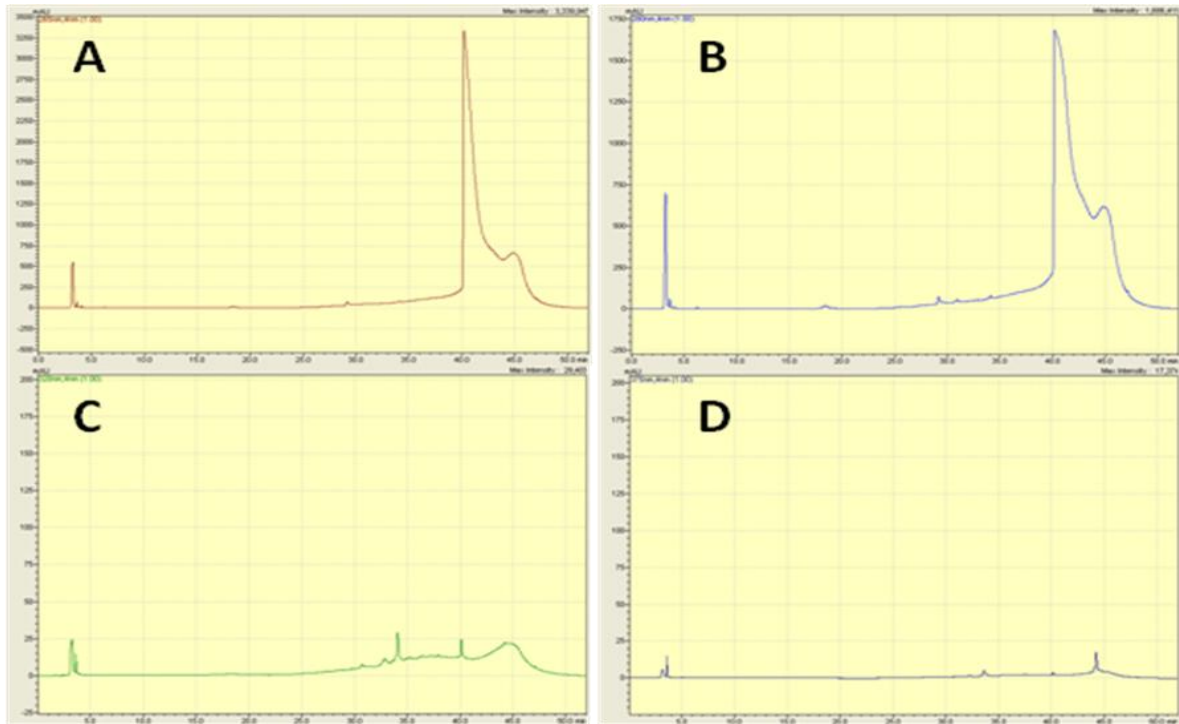


Figura 33 - Perfil cromatográfico dos flavonoides presentes no iogurte de morango elaborado com leite em pó e polpa de morango sem tintura de própolis vermelha. (A)265nm, (B) 280nm, (C) 320nm e (D) 370nm.

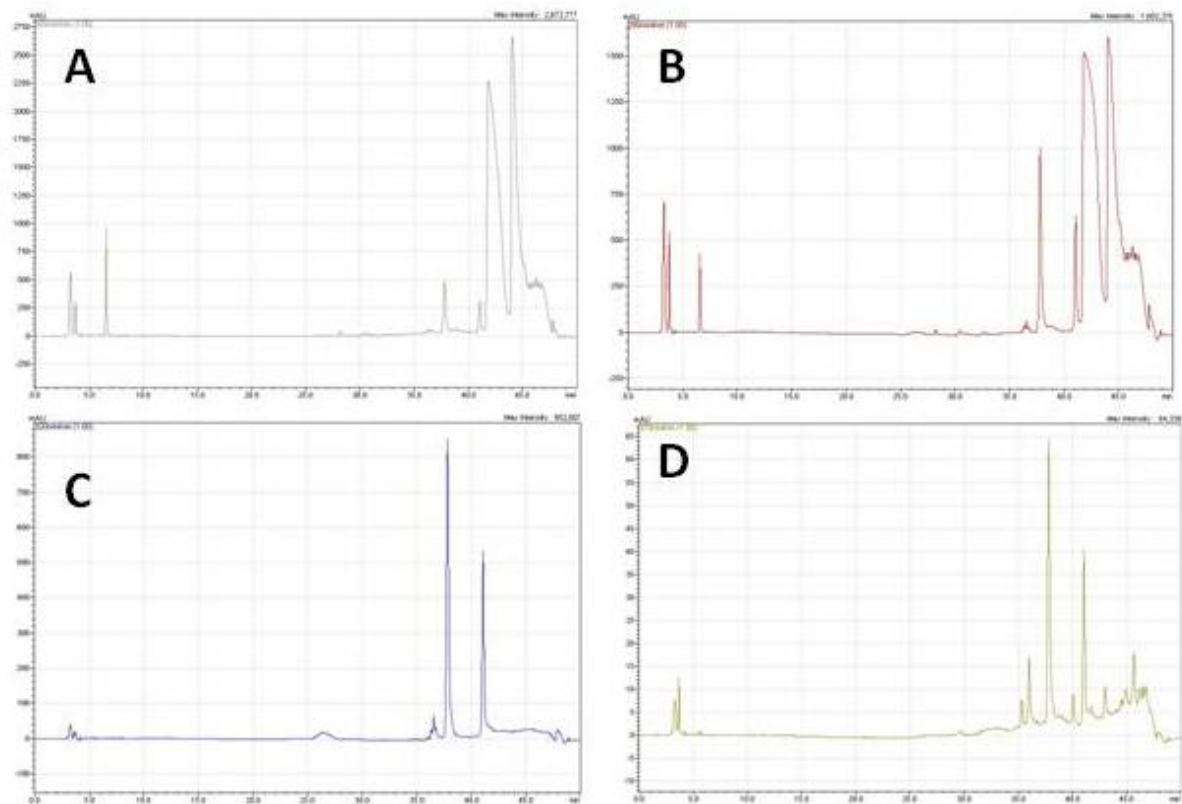


Figura 34 - Perfil cromatográfico dos flavonoides presentes no iogurte de morango elaborado com leite em pó e tintura de própolis vermelha 0,3%. (A)265nm, (B) 280nm, (C) 320nm e (D) 370nm.

Tentativas de adicionar compostos bioativos a partir de produtos vegetais em iogurtes têm sido relatadas na literatura. No estudo de Chouchouli et al. (2013) os iogurtes integrais e desnatados foram fortificados com extratos de sementes de uva e, semelhante a este estudo, essa fortificação não interferiu nas características normais do iogurte. Ao longo de 32 semanas foram identificados compostos simples de polifenóis e ácido oleanólico bem como compostos fenólicos totais, epicatequina, atividade sequestradora de radicais, redução do poder íon férrico. O presente estudo bem como de Chouchouli et al. (2013) demonstram que é possível enriquecer iogurtes com compostos bioativos de produtos de origem vegetal como a própolis vermelha, sem comprometer suas características sensoriais, físico-químicas e microbiológicas.

Sun-Waterhouse; Zhou; Wadhwa (2013) detectaram antocianinas de groselhas negras em iogurtes fortificados com esse fruto. As quatro principais antocinainas identificadas por cromatografia líquida de alta eficiência, foram: delphinidina-3-O-rutinosídeo, delphinidina-3-O-glicósido, cianidina-3-O-e rutinosídeo e cianidina-3-O-glicósido. Os autores buscavam atribuir funcionalidade antioxidante aos iogurtes fortificados com os extratos de groselha negra bem como obter sabor diferenciado.

### 5.3 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

#### 5.3.1 Caracterização microbiológica dos iogurtes durante estocagem

A tabela 13 apresenta os resultados microbiológicos obtidos durante estocagem dos iogurtes para micro-organismos indicadores das condições higiênico-sanitária, bem como para as bactérias próprias do iogurte, as bactérias lácticas.

Alimentos derivados do leite podem ser mantidos em temperatura de refrigeração durante um tempo limitado, sem alterar sua natureza. O controle inadequado da temperatura dos alimentos é uma das causas mais frequentes de doenças transmitidas pelos produtos alimentícios. Por isso, deve haver medidas que assegurem um controle eficaz da temperatura para garantir a inocuidade do produto. Quando iogurtes são expostos a temperaturas elevadas, a micro rede formada pelo estabilizante e a proteína se torna muito frágil, podendo ser rompida, acarretando em seu dessoramento o que compromete sua qualidade sensorial (FAO, 2003; DANTAS, 2008; LAZARINI, 2009).

Tabela 13 - Resultados das análises microbiológicas durante estocagem dos iogurtes de morango estabilizados com leite em pó integral ou soro de leite em pó integral e própolis vermelha.

Tempo de estocagem (dias)	Tratamentos	Micro-organismos		
		Indicadores de condições higiênico-sanitárias		
		Coliformes a 45°C (NMP/ml <sup>-1</sup> )	Bolores e leveduras (UFC/ml)	Bactérias lácticas totais (UFC/ml)
1	YA0	<3,0	<10	1,0 x10 <sup>9</sup> UFC/mL*
	YA	<3,0	<10	1,0 x10 <sup>9</sup> UFC/mL*
	YA1	<3,0	<10	1,0 x10 <sup>9</sup> UFC/mL*
	YB0	<3,0	<10	1,0 x10 <sup>9</sup> UFC/mL*
	YB	<3,0	<10	1,0 x10 <sup>9</sup> UFC/mL*
	YB1	<3,0	<10	1,0 x10 <sup>9</sup> UFC/mL*
15	YA0	<3,0	<10	2,1x10 <sup>8</sup> UFC/mL
	YA	<3,0	<10	2,1x10 <sup>8</sup> UFC/mL
	YA1	<3,0	<10	2,0x10 <sup>8</sup> UFC/mL
	YB0	<3,0	<10	2,1x10 <sup>8</sup> UFC/mL
	YB	<3,0	<10	2,0x10 <sup>8</sup> UFC/mL
	YB1	<3,0	<10	2,0x10 <sup>8</sup> UFC/mL
28	YA0	<3,0	<10	2,0x10 <sup>7</sup> UFC/mL
	YA	<3,0	<10	1,9x10 <sup>7</sup> UFC/mL
	YA1	<3,0	<10	1,9x10 <sup>7</sup> UFC/mL
	YB0	<3,0	<10	2,0x10 <sup>7</sup> UFC/mL
	YB	<3,0	<10	1,9x10 <sup>7</sup> UFC/mL
	YB1	<3,0	<10	1,9x10 <sup>7</sup> UFC/mL

\* Padronizado de acordo com instruções do fabricante de fermento para iogurte. Tratamentos: YA0 e YB0 (amostras controle leite e soro, respectivamente); YA (iogurte de morango elaborado com leite em pó); YA1 (iogurte de morango elaborado com leite em pó, adicionado de própolis vermelha); YB (iogurte de morango elaborado com soro de leite em pó); YB1 (iogurte de morango elaborado com soro de leite em pó, adicionado de própolis vermelha).

As condições higiênico-sanitárias e a qualidade de iogurtes informam se o mesmo encontra-se apto para o consumo humano. Souza et al. (2012) avaliaram a qualidade de iogurtes comercializados por ambulantes no centro de Fortaleza, Ceará. A avaliação foi baseada nas condições em que os iogurtes eram ofertados aos consumidores como: local de venda, temperatura, condições dos manipuladores. Após coleta, observou-se o pH, obtendo-se valores moderadamente abaixo do recomendado pela literatura, em torno de

4,4. Os iogurtes eram vendidos em carrinhos e caminhões em altas temperaturas o que compromete a qualidade do produto e promove o crescimento de micro-organismos deteriorantes e patogênicos. As temperaturas dos iogurtes verificados nessa pesquisa variaram entre 8,3 a 28,2°C.

Os padrões de higiene estabelecidos pelo Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Industriais de Alimentos, Aprovado pela Portaria 368/97 - MA, de 4 de setembro de 1997 indica os seguintes contaminantes para leites fermentados: coliformes à 30° e 45°C e bolores e leveduras que devem ter valores máximos iguais a 100, 10 e 200UFC/mL, respectivamente. Por outro lado, a Resolução 12 de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que estabelece os padrões microbiológicos para alimentos, indica apenas coliformes à 45°C como contaminantes de leite fermentado, estabelecendo-se valor máximo igual a 10 UFC/mL. De acordo com a tabela 13, os resultados para coliformes à 45°C e bolores e leveduras estiveram dentro dos padrões estabelecidos pelas legislações consultadas caracterizando, portanto um iogurte de boa qualidade microbiológica.

As colônias de bactérias lácticas apresentaram morfologia de bastonetes e cocos, catalase negativa e Gram positiva, confirmando a presença de bactérias lácticas. Em todas as análises de coloração de Gram realizadas, predominou a presença de bastonetes em relação à cocos. Uma resposta a essa questão estaria relacionada ao uso do meio de cultura Ágar MRS, geralmente utilizado para contagem de bactérias lácticas totais, mesmo sendo seletivo para *Lactobacillus ssp.* Este é um meio para determinação tradicional de cultivos em placas recomendado para contagem de bactérias lácticas pelo International Dairy Federation (LIMA et al.2009; DUALDO et al.2010).

Sabe-se que a proporção de bactérias lácticas no iogurte deve ser de 1:1 (AQUARONE et al. 2001, ORDÓÑEZ, 2005). No estudo de Moreira et al. (1999) realizou-se a determinação da proporção de cocos e bacilos em seis amostras de iogurtes com e sem sabor, através do método de coloração de Gram. Verificou-se maior proporção para *Streptococcus* do que para *Lactobacillus*, mínimo de 1:2,3 para iogurte com sabor e máximo de 1:4 para iogurte sem sabor. A proporção 1:1 não ocorreu em nenhum dos iogurtes e os *Streptococcus* foram determinantes em 85,3% das amostras analisadas.

De acordo com a Resolução nº 5 de 2007 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) que estabelece os padrões de identidade e qualidade dos leites fermentados, a contagem de bactérias lácticas no iogurte até seu prazo final de validade deve ser de o mínimo  $10^7$  UFC/mL.

Para o tempo 15, os iogurtes obtiveram contagens dentro dos limites estabelecidos pela legislação e, no último tempo de vida útil avaliado os resultados mostraram valor mínimo preconizado para todas as amostras,  $10^7$  UFC/mL.

De modo geral, constatou-se que os iogurtes adicionados de própolis vermelha teve comportamento similar aos iogurtes sem adição da própolis tanto para os indicadores das condições de higiene como para bactérias lácticas totais. Em termos microbiológicos não se percebeu diferenças entre iogurtes elaborados com soro de leite em pó ou com leite em pó.

Esses resultados concordam com os obtidos por Chouchouli et al. (2013) em que a adição de 5-10mg de extrato de semente de uva a iogurtes não interferiu no crescimento de *Lactobacillus ssp.* e não descaracterizou o produto.

## 6 CONCLUSÃO

Os tratamentos adicionados de tintura de própolis vermelha e soro de leite apresentaram características físico-químicas e microbiológicas dentro dos padrões microbiológicos e de controle higiênico sanitário preconizado pela legislação, demonstrando que estes atenderam as recomendações de Boas Práticas de Fabricação empregadas em seu processamento e armazenadas sob condições ideais.

Um percentual de 0,3% de tintura de própolis vermelha possibilitou iogurtes com características físico-químicas e microbiológicas semelhantes a iogurtes sem adição de própolis vermelha, tanto para contaminante como para bactérias lácticas.

Os resultados cromatográficos demonstram a fortificação dos iogurtes com os compostos da própolis vermelha confirmando que é possível a adição de compostos bioativos da própolis vermelha a iogurtes sem comprometer seus parâmetros de qualidade.



## REFERÊNCIAS

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

APHA. DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4<sup>th</sup> Ed. American Public Health association, Washington, D.C., 2001.

AQUARONE, E. et al. **Biotecnologia industrial. Biotecnologia na produção de alimentos**. vol. 4. São Paulo: Edgard Blücher LTDA, 2001.

BARBOSA, A. F. et al. Sensorial de iogurte sabor pêssego acrescido de diferentes concentrações de aroma e polpa por meio da técnica de mapa de preferência. **Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Minas Gerais, Brasil. v. 68, nº 390, p. 52-58, 2013.

BASTIANI, M. I. D. **Iogurte adicionado de concentrado proteico de soro de leite e farinha de linhaça: Desenvolvimento, qualidade nutricional e sensorial**. 2009. 115 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria 368, de setembro de 1997. Adota o Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de elaboração para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 4 de setembro de 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de leites fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, 23 de outubro de 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 12, de janeiro de 2001. Adota o Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 12 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº. 51. Regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado e regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 set. 2002.

CHOUCHOULI, V. et al. Fortification of yoghurts with grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. **Food Science and Technology**., Atenas, Grécia. v. 53, p. 522 – 529, 2013.

COSTA, B. N. M.; ROSA, C. O. B. **Alimentos funcionais. Componentes bioativos e efeitos fisiológicos.** Editora Rubio. Rio de Janeiro, 2010.

DANTAS, E. P. V. Sorvetes: padrões microbiológicos e higiênico-sanitários. **Higiene Alimentar.** São Paulo, v. 22, n.158, p. 38-41, jan-fev, 2008.

DEETH, H. C., TAMIME, A. Y. Yogurt: nutritive and therapeutic aspects. **Journal of Food Protection,** v. 44, n. 1, p. 78-86, 1981.

DUALDO, L. C. S. et al. Avaliação da pós-acidificação e viabilidade de bactérias lácticas utilizando o método convencional e o sistema compact dry® tc durante estocagem refrigerada de iogurtes. **Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes,** Maio/Jun, nº 374, 33-40. 2010.

ESPÍRITO SANTO, A. P. et al. Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts. **Food Science and Technology.,** São Paulo, Brasil. v. 154, p. 135-144, 2012.

\_\_\_\_\_. et al. Influence of milk type and addition of passion fruit peel powder on fermentation kinetics, texture profile and bacterial viability in probiotic yoghurts. **Food Science and Technology.** São Paulo, Brasil. v. 47, p. 393 - 397, 2011.

FAO. **Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação.** Código internacional de práticas recomendando princípios gerais de higiene de alimentos. CAC/RCP 1-1969, Rev. 4 (2003).

FUNARI, C. S.; FERRO, V. Análise de Própolis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** Campinas, v. 26, p. 171-178, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos.** 4 ed. 2008.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Yogurt: enumeration of characteristic microorganisms. IDF/ISO Standard, 1997. 5 p.

JOHNSTON , K. L ; CLIFORD, M. N ; MORGAN, L. M. Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. **Am. J. Clin. Nutr.,** v.78. n 4, p.728-733, 2003.

LAZARINI, C. Estabilização de iogurte e bebida láctea fermentada. **Leite e derivados.** Ano XVIII, n. 111, mar-abr, 2009.

LIMA, K. G. C. et al. Evaluation of culture media for enumeration of *Lactobacillus*

*acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* in the presence of *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. **Food Science and Technology**, v. 42, n. 2, p. 491-495, 2009.

LONGO, G. **Influência na adição de lactase na produção de iogurtes**. 2006. f. 109. Dissertação (Mestrado em tecnologia de alimentos). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MORAES, M. N. **Caracterização físico-química e reológica de iogurtes elaborados com diferentes substitutos de gordura**. 2011. f. 91. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

OLIVEIRA, P. D. et al. Avaliação sensorial de iogurte de açaí (*Euterpe oleracea mart*) “tipo “Sundae”. **Instituto de Laticínios Cândido Tostes.**, Minas Gerais, Brasil. v. 66, nº 380, p. 5-10, 2011.

ORDOÑEZ. J. A. **Tecnologia de Alimentos. Alimentos de Origem Animal**. vol. 2. Porto alegre: Artmed, 2005.

PEREIRA, M. A. G. **Efeito do teor de lactose e do tipo de cultura na acidificação e pós-acidificação de iogurtes**. 2002. 86p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP.

POZZA, M. S. S. et al. Iogurte simbiótico contendo yacon (*Smallantus sonchifolius*). **Higiene Alimentar**. São Paulo, vol. 26, n. 241/215, p. 140-145, 2012. nov-dez, 2012.

PROUDLOVE, R. K. **Os alimentos em debate uma visão equilibrada**. Varela: São Paulo, 1996.

SANTANA, A. T. M. C. et al. Avaliação sensorial de iogurte à base de pitaiá (*Hylocereus undatus*), enriquecido com quinoa (*Chenopodium quinoa*) e sucralose. **Instituto de Laticínios Cândido Tostes.**, Minas Gerais, Brasil. v. 67, nº 389, p. 21-25, 2012.

SANTOS, G.; et al. Avaliação sensorial, físico-química e microbiológica do leite fermentado probiótico desnatado adicionado de jenipapo desidratado osmoticamente. **Instituto de Laticínios Cândido Tostes.**, Minas Gerais, Brasil. v. 67, nº 388, p. 61-67, 2012.

SILVA, B. B. et al. Chemical Composition and Botanical Origin of Red Propolis, a New Type of Brazilian Propolis. **Evid Based Complement Alternat Med**. v.5. p. 313–316, 2007.

SOUZA, D. V. et al. Avaliação da qualidade de iogurtes comercializados por ambulantes no centro de Fortaleza, CE. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 27, n. 224/225, p. 62-65, set-out, 2012.

SUN-WATERHOUSE, D.; ZHOU, J.; WADHWA, S. S. Drinking yoghurts with berry polyphenols added before and after fermentation. **Food Control**. n°32 p. 450-460, 2013.

TORRES, E. A. F. S. et al. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** v.20 n.2 Campinas, 2000.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. 2. ed. UFSM: Santa Maria-RS, 2003.

## REFERÊNCIAS

ACKERMAN, T. Fast Chromatographic Study Propolis Crudes. **Food Chemistry**. Vol. 42. p. 135-138. Israel, 1991.

ALENCAR, S. M., et al. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: Red propolis. **Journal of Ethnopharmacology**, 113(2), 278–283. 2007.

APHA. DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4<sup>th</sup> Ed. American Public Health association, Washington, D.C., 2001.

ALMEIDA, T. C. A.; et al. **Avanços em Análise Sensorial**. São Paulo: Varela, 1999.

ALVES, T. L.; et al. Análise sensorial de gelatina com soro de leite bovino proveniente do queijo de ricota. In **Anais...** X Congresso Internacional do Leite. Maceió: 2010.

ANTUNES, A. E. C. **Influência do concentrado proteico do soro de leite e de culturas probióticas nas propriedades de iogurtes naturais desnatados**. 4002. 240 f. Tese (Doutorado em engenharia de alimentos). Departamento de Alimentos e Nutrição, Campinas, 2004.

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 proteico de soro de leite. **Cien. Tecnol. Aliment.**, 23 (supl): 183-189. Campinas, 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS - ABNT. **Análise sensorial dos alimentos e bebidas: terminologia**. 1993.

BASTIANI, M. I. D. **Iogurte adicionado de concentrado proteico de soro de leite e farinha de linhaça: Desenvolvimento, qualidade nutricional e sensorial**. 2009. 115 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2009.

BANKOVA, VB.; DE CASTRO, SL.; MARCUCCI, MC. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, 31 (1), p. 3–15, 2000.

BLAUT, M. Relationship of prebiotics and food to intestinal microflora. **European Journal of Nutrition**. v. 41, supplement 1, p.1-16, 2002.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Editora Varela, 2001.

BRAMAUD, C., AIMAR, P., DAVEEE, G. Whey protein fractionation: Isoelectric precipitation of  $\alpha$ -lactoalbumin under gentle heat treatment. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 56, p.391-397, 1997.

BRASIL, R. B. **Estrutura e estabilidade das micelas de caseína do leite bovino**. Seminário. Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2013.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 3 – ANEXOS VI e VIII – A prova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Própolis e Extrato de Própolis. **Diário Oficial da República da União**. Brasília, 19 jan. 2001.

CAMPOS, O. F.; et al. Avaliação da produção e perspectivas de otimização da Coleta e da concentração do soro de leite no estado do Rio de Janeiro. In **Anais...IV Congresso Brasileiro de Qualidade do leite**. Florianópolis: 2010.

CHAVES, J. B. P.; SPROESSER, R. L. **Práticas de Laboratório de Análise sensorial de Alimentos e Bebidas**. Cadernos didáticos. Viçosa: UFV, 1999.

CHOUCHOULI, V.; et al. Fortification of yoghurts with grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. **Food Science and Technology**., Atenas, Grécia. Vol. 53, p. 522 – 529, 2013.

CORREIA, A. G. S. **Desenvolvimento, caracterização físico-química, avaliação sensorial e microbiológica de néctar de goiaba (*Psidium guajava*, L) adicionado de soro de leite bovino**. 2012. 72.f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) Universidade Federal de Alagoas, Alagoas.

CORREIA, A. G. S.; et al. Avaliação Sensorial de sobremesa de gelatina elaborada com soro de leite incluída no cardápio de escolares do IFAL-Câmpus Satuba. **Anais... 26º Congresso Nacional de Laticínios**. Juiz de Fora-MG, 2009. 1-CD-ROM.

DALGLEISH, D. G. On the structural models of bovine casein micelles – Review and possible improvements. **Soft Matter**, v. 7, p. 2265–2272, 2011.

DAUGSCH, A. A própolis vermelha do nordeste do Brasil e suas características químicas e biológicas. **Tese de doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas**, Campinas/SP. 2007.

DUALDO, L. C. S. et al. Avaliação da pós-acidificação e viabilidade de bactérias lácticas utilizando o método convencional e o sistema compact dry® tc durante estocagem refrigerada de iogurtes. **Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes**, Maio/Jun, nº 374, 33-40. 2010.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 2. Ed. Revista e ampliada. Curitiba: Champagnat, 2007.

EZKAURIATZA, E. J. A. et al. Effect of mixing during fermentation in yogurt. manufacturing. **Journal of Dairy Science**, v.91, n. 12, p. 4454-4465, 2008.

FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de Análise Sensorial**. 2.ed. Campinas, 2008.

FERRARI, A. S.; AZAREDO, E. M. C.; BALDONI, N. R.; Análise sensorial de produtos elaborados à Base de soro de leite. In **Anais... XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Salvador: 2010.

FERREIRA, C. L. L. **Produtos lácteos fermentados: aspectos bioquímicos e tecnológicos**. Viçosa, MG: Editora UFV, 1999.

FERREIRA, M. B. ANJOS, M. **Novo dicionário Aurélio da lingual portuguesa**. 3.ed. revista e atualizada. p.888. Positiva: Curitiba, 2004.

FERREIRA, V. L. P.; et al. Análise Sensorial: testes discriminativos e afetivos. **Manual: Série qualidade**. Campinas, SP: SBCTA, 2000.

FORSYTHE, S. **Microbiologia da segurança alimentar**. Artmed: Porto Alegre, 2002.

FOX, P. F.; BRODKORB, A. The casein micelle: Historical aspects, current concepts and significance. *International Dairy Journal*, Canada, v. 18, p. 677- 684, 2008.

FUNARI, C.S.; FERRO, O. Análise de própolis. **Ciênc. Technol. Aliment.** 2006. 26(1), 171-178.

FRANCO, S. L.; et al. Avaliação Farmacognóstica da própolis da região de Maringá. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 9, p.1-10, 2000.

HARPER J. J. Tendências em proteínas de soro de leite (aspectos nutricionais de ingredientes lácteos). **Rev. Leite e derivados**. Ano XVII – n ° 103, janeiro/fevereiro, 2008. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos**. 4 ed. 2006.

HERTAS, R. A. P. Yogur en la salud humana. **Lasallista Investig**. vol.9, n.2, p. 162-177. 2012.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Artmed: Porto Alegre, 2005.

KAILASAPATHY, K. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. **Elsevier**. LWT 39. f. 7. p. 1221-1227, Australia. 2005.

LI, F., AWALE, S., TEZUKA, Y., KADOTA, S., 2008. Cytotoxic constituents from Brazilian red propolis and their structure–activity relationship. **Bioorg. Med. Chem.** 16, 5434–5440.

LIMA, S. C. G.; GIGANTE, M. L.; ALMEIDA, T. C. A. **Efeito da adição de diferentes tipos e concentrações de sólidos nas características sensoriais de iogurte tipo firme**. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.8, n.1, p.75-84, 2006.

MARTIN, A. F. **Armazenamento do iogurte comercial e o efeito na proporção das bactérias lácticas** . 2002. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e tecnologia de Alimentos). Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, 2002.

MARCUCCI, M. C., et al. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of Ethnopharmacology**, **74(2)**, 105–112. 2001.

MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie** **26**: 83 – 99; 1995.

MARCUCCI, M. C. CUSTÓDIO, A. R.; PEREIRA, R. M. S. Própolis tipificada: um novo caminho para a elaboração de medicamentos de origem natural, contendo este produto apícola. **Mensagem Doce**, n.90. 2007

MARCUCCI, MC. Propriedades biológicas e terapêutica dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, 19 (5), p.529-536, 1996.

MEILGAARD, M. C.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 4th ed. Boca Raton, FL: CRC Press: p. 4-27, 275-276, 2007.

MILKPOINT. **Pesquisadora espanhola ressalta os benefícios do consumo de iogurte**. 2001. Disponível em:< <http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/pesquisadora-espanhola-ressalta-os-beneficios-do-consumo-de-iogurte-12629n.aspx>> Acesso em: 20/09/2014 às 14h.

MONTEIRO, A. A.; PIRES, A. C. S.; ARAÚJO, E. A. **Tecnologia de produção de derivados do leite**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2011.

MOOR, C., HA, E. W. Whey protein concentrates and isolates processes and functional properties critical, **Reviews in Food Science and Nutrition**. **Columbus**, v.33, n.6, p.431-476, 1993.



MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista eletrônica de farmácia**. v. 3. p. 109-122, 2006.

MORAES, M. N. **Caracterização físico-química e reológica de iogurtes elaborados com diferentes substitutos de gordura**. 2011. f. 91. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

MORAES, P. C. B. T. **Avaliação de iogurtes líquidos comerciais sabor morango: estudo de consumidores perfil sensorial**. 2004. f. 128. Tese (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

MOREIRA et al. Análise microbiológica e química de iogurtes comercializados em lavras – MG. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, Brasil. v.19, n.1, 1999.

NORI, M. P.; et al. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. **Food Science and Technology**.v. 44 p. 429-435. São Paulo, 2011.

OLIVEIRA, A. P. V.; BENASSI, M. T. Perfil livre: uma opção para análise sensorial descritiva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 24. n. 3, p. 468-472, 2003.

OOMA, B. D. Flaxseed as a functional food source. *Journal of the Science of food and agriculture*. v. 81. p. 889-894, 2001.

PARK, Y.K., et al. Evaluation of Brazilian propolis by both physicochemical methods and biological activity. **Honeybe Science** 21, 85–90. 2000.

\_\_\_\_\_. et al. ESTUDO DA PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS DE PRÓPOLIS E SUAS APLICAÇÕES. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, **18(3)**, 313–318. 1998.

\_\_\_\_\_. et al. Botanical Origin and Chemical Composition of Brazilian Propolis. **J. Agric. Food Chem**, 50(9), 2502–2506, 2002.

PELEGRINE, D. H. G. e CARRASQUEIRA, R. L. Aproveitamento do soro do leite no enriquecimento nutricional de bebidas. **Braz. J. Food Technol.**, VII BMCFB, dez. 2008.

PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; AQUINO-NETO, F. R. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, p. 321-326, 2002.

PROUDLOVE, R. K. **Os alimentos em debate uma visão equilibrada**. Varela: São Paulo, 1996.

REGIS, A. A.; FREITAS, M. C.; CASTRO, J. A. C.; GUIMARÃES, F. R.; WELLINGTON BRITO JERÔNIMO, W. B. Aproveitamento do soro de queijo coalho no município de Jaguaribe-ce. In **Anais...Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Salvador: 2010.

REIG, A. L. C.; ANESTO, J. B. Prebióticos y probióticos, una Relación Beneficiosa. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. **Revista Cubana de Alimentação e Nutrição**. v. 16, n. 1, p. 63-8, 2002.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. 2.ed revisada. Blucher: São Paulo, 2007.

RIBEIRO, M. **Desenvolvimento e caracterização sensorial de iogurte diet sabor morango enriquecido com concentrado proteico de soro**. 2008.93 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

RIGHI, A. A. **Perfil químico de amostras de própolis brasileira**. 2008. f. 102. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade de São Paulo. São Paulo. 2008.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**. v. 34, Suppl. 2, p. 105-10, 2002.

ROBIM, M. S. **Avaliação de diferentes marcas de leite uat comercializadas no estado do rio de janeiro e o efeito da fraude por aguagem na fabricação, composição e análise sensorial de iogurte**. 2011. 98 f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal). Universidade Federal Fluminense. Niterói, Rio de Janeiro, 2011.

RODAS, M. A. B. et al. Caracterização físico-química, histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 21, n 3, p. 304-309, Campinas, 2001.

RODRÍGUEZ, M. B. S.; MEGÍAS, S. M.; BAENA, B. M. Alimentos Funcionales y Nutrición óptima. **Revista da Espanha de Salud Pública**. v. 77, n. 3, p. 317-331, 2003.  
SCHREZENMEIR, J., DE VERSE, M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics – **suppl.**, p. 361s-364s, 2001.

SGARBIERI, V. C. Physiological-functional properties of milk whey proteins. **Rev. Nutr.** vol.17 no.4 Campinas, 2004.

- SILVA, B. B. Caracterização da própolis vermelha: sua origem botânica e o efeito sazonal sobre sua composição química e atividade biológica. Dissertação de mestrado. **Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba/São Paulo**, SP, Brasil, 2008.
- SILVA, J. F. M.; et al. Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. **Food Chemistry**, v. 99, p. 431-435, 2006.
- SILVA, K.; BOLINI, H. M. A.; ANTUNES, A. J. Diferentes produtos de soro de leite bovino em sorvetes. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 15, n. 2, p. 187-196, 2004.
- SILVA, T. M. S.; et al. Bebida a base de soro do leite. In **Anais...XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Salvador: 2010.
- SUN-WATERHOUSE, D.; ZHOU, J.; WADHWA, S. S. Drinking yoghurts with berry polyphenols added before and after fermentation. **Food Control**. n°32 p. 450-460, 2013.
- SMITHERS, G. W. et al. New opportunities from the isolation and utilization of whey proteins. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.1454-1459, 1996.
- STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory Evaluation Practices. Food Science and Technology**, International Series. Third Edition. California-USA: Elsevier Academic Press, 2004.
- TAMINE, A. Y.; ROBINSON, R. K. Yogur – Ciência e tecnologia. Zaragoza: Acribia, 1991, p. 368.
- TEIXEIRA, L. V. Análise Sensorial na indústria de alimentos. Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”, Jan/Fev, n° 366, 64: 12-21, 2009.
- TORRES, D. P. M. **Gelificação Térmica de Hidrolizados Enzimáticos de Proteínas do Soro de Leite Bovino**. 99p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia / Engenharia de Bioprocessos). Universidade do Minho, Braga, Portugal, 2005.
- TSENG, A.; ZHAO, Y. Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad dressing. **Food Chemistry**. Corvallis, USA. n. 138, p. 356–365, 2013.
- VARGAS, A. C.; et al. Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcoólico de própolis. **Ciência Rural**, v. 34, p. 159-163, 2004.

VIDIGAL, M. C. T. R.; et al. Viscoelasticidade de iogurte contendo concentrado proteico de soro. In **Anais...XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Salvador: 2010.

VIOTTO, W. H.; LOIOLA, L. S.; GONÇALVES, M. C.; Efeito da adição de concentrado proteico de soro nas propriedades funcionais do requeijão cremoso. In **Anais...IV Congresso Brasileiro de Qualidade do leite**. Florianópolis: 2010.

**WPC – CONCENTRADO PROTEICO DE SORO**. Disponível em <  
<http://www.sooro.com.br/produtos/wpc-concentrado-proteico-de-soro/>> Acesso em:  
20/06/2013.