UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Efeito da adição de goma tara e carragena em iogurte firme desnatado

Camila Lie Hatanaka
Cientista de Alimentos

Profa. Dra. Mirna L. Gigante
Orientadora

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção de título de Mestre em Tecnologia de Alimentos

Campinas/SP
2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

Hatanaka, Camila Lie
H28e Efeito da adição de goma tara e carragena em iogurte firme desnatado / Camila Lie Hatanaka. -- Campinas, SP: [s.n.], 2009.

Orientador: Mirna Lúcia Gigante
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos

1. Iogurte firme. 2. Sinérese. 3. Goma tara. 4. Carragena. 5. Firmeza. 7. pH. 8. Superfície de resposta - Metodologia. I Gigante, Mirna Lúcia. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

(cars/fea)

Titulo em inglês: Effect of tara gum and carrageenan addition in non fat set yogurt
Palavras-chave em inglês (Keywords): Set yogurt, Syneresis, tara gum, Carrageenan, Firmness, pH, Response surface - Methodology
Titulação: Mestre em Tecnologia de Alimentos
Banca examinadora: Mirna Lúcia Gigante
Ana Lúcia Barreto Penna
Ângelo Luiz Fazani Cavallieri
Programa de Pós Graduação: Programa em Tecnologia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

_____

Profa. Dra. Mirna Lúcia Gigante
(Orientadora)

_____

Profa. Dra. Ana Lúcia Barretto Penna
(Membro)

_____

Dr. Ângelo Luiz Fazani Cavallieri
(Membro)

_____

Dra. Leila Maria Spadoti
(Membro)

_____

Prof. Dr. Salvador Massaguer Roig
(Membro)

Aos meus pais, Ricardo e Linda e
aos meus tios, José Francisco e Maria Helena
dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus acima de tudo;

À Mirna Lúcia Gigante pela confiança depositada, pelo acompanhamento científico e dedicação durante a realização deste trabalho e pela paciência, apoio, incentivo e amizade;

Aos membros da banca examinadora pelas correções e sugestões na redação desta dissertação;

Ao CNPq pela bolsa de estudos concedida;

À Profa. Dra. Rosiane Lopes da Cunha e ao Dr. Ângelo Luiz Fazani Cavallieri pelas sugestões e conhecimentos transmitidos;

À Profa. Eliana de Paula Ribeiro pelas sugestões.

À Bete, técnica do Laboratório de Leite, à Renata, técnica do Laboratório de Instrumentação, e à Ana Lourdes, técnica do Laboratório de Microbiologia, pela atenção, dicas e ajuda nos momentos de dúvida;

À Dirce, técnica do Laboratório de Higiene, e à Judite, técnica do Laboratório e Carnes, pela utilização dos equipamentos;

Aos meus colegas de laboratório Priscila Mamede, Priscila Vianna, Mariana Macchione, Mariana Kikuchi, Ana Patrícia, Bárbara, Atílio, Marcela, Keila, Laís e Mariane pela companhia, boa disposição e colaboração para a realização deste trabalho;

Às amigas esalqueanas Dá-cort, Xispita e Kero pelo enorme apoio, incentivo e amizade;

Aos amigos piracicabanos Ana Cristina, Vivian, Marina, Marcel e André que sempre estiveram presente durante essa jornada;

A todos os amigos e colegas da FEA pelas amizades que fiz, em especial a Milena, Dani, Manu, Sérgio e Carol e Adriano;

Um agradecimento muito especial aos meus pais Ricardo e Linda, meus irmãos Tássia e Ricardo, e à minha segunda família, Maria Helena e José Francisco, Marília e Carlos, Giovana e Lorenzo, Heloísa e Eduardo, Heitor, Zezé, Nel e Lili, por todo incentivo, apoio, convivência e torcida para a conclusão deste trabalho;

A todas aquelas pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

ÍNDICE GERAL

LISTA DE FIGURAS **x**

LISTA DE TABELAS **xi**

RESUMO **xii**

SUMMARY **xiv**

1. INTRODUÇÃO **1**
2. OBJETIVOS **3**
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA **4**
   - 3.1. Produtos lácteos fermentados **4**
   - 3.2. Agentes de textura utilizados em produtos lácteos fermentados **9**
     - 3.2.1. Carragena **11**
     - 3.2.2. Goma tara **13**
     - 3.2.3. Interações poliméricas **15**
   - 3.3. Aplicações de hidrocolóides em produtos lácteos fermentados **17**
   - 3.4. Análises de sinérese **20**
4. Material e Métodos **23**
   - 4.1. Material **23**
     - 4.1.1. Matéria-prima **23**
     - 4.1.2. Cultura láctica e preparo do fermento **23**
   - 4.2. Processo de fabricação do iogurte para atender ao objetivo 1 **24**
     - 4.2.1. Solubilização dos polissacarídeos **24**

4.2.2. Fabricação do iogurte **25**

4.3. Processo de fabricação do iogurte para atender ao objetivo 2 **26**

4.3.1. Solubilização dos polissacarídeos **29**

4.3.2. Fabricação do iogurte **29**

4.4. Amostragem e determinação analítica **30**

4.4.1. Determinação analítica **31**

4.4.1.1. Análises físico-químicas **31**

4.4.1.2. Determinação de sinérese **31**

4.4.1.2.1. Sinérese espontânea **32**

4.4.1.2.2. Sinérese por drenagem **32**

4.4.1.2.3. Sinérese por centrifugação **32**

4.4.1.3. Determinação de firmeza **32**

4.1. Delineamento experimental **33**

5. Resultados e Discussão **36**

5.1. Resultados e discussão do objetivo 1 **36**

5.1.1. Caracterização do processo de fermentação **36**

5.1.2. Características físico-químicas dos produtos obtidos **38**

5.1.3. Estudo da influência das concentrações de goma tara e carragena na sinérese do iogurte firme desnatado **38**

5.1.3.1. Sinérese espontânea **39**

5.1.3.2. Sinérese por drenagem **43**

5.1.3.3. Sinérese por centrifugação **48**

5.2. Resultados e discussão do objetivo 2 **51**

5.2.1. Composição do iogurte **51**

5.2.2. Efeito dos tratamentos e do tempo de armazenamento sobre a sinérese, firmeza e pós-acidificação. **52**

6. Conclusões **60**

7. Referências Bibliográficas **61**

ANEXO I **68**

ANEXO II **70**

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1	Ilustração das estruturas moleculares de kappa-carragena, iota-carragena e lambda-carragena	**13**
Figura 3.2	Ilustração das estruturas moleculares de goma locusta e goma tara	**15**
Figura 4.1	Esquema geral de fabricação do iogurte para o objetivo 1	**26**
Figura 4.2	Esquema geral de fabricação do iogurte para o objetivo 2	**28**
Figura 5.1	Curva de desenvolvimento de pH durante o processo de fabricação do iogurte	**37**
Figura 5.2	Curva de desenvolvimento de acidez durante o processo de fabricação do iogurte	**37**
Figura 5.3	Valores observados versus valores previstos para a sinérese espontânea	**42**
Figura 5.4	Gráfico da sinérese espontânea em função da goma tara	**43**
Figura 5.5	Valores observados versus valores previstos para a sinérese por drenagem	**47**
Figura 5.6	Gráfico da sinérese por drenagem em função da goma tara	**48**
Figura 5.7	Efeito dos tratamentos sobre a sinérese dos produtos	**54**
Figura 5.8	Efeito dos tratamentos sobre a firmeza dos produtos	**55**
Figura 5.9	Efeito do tempo de armazenamento refrigerado (5℃) sobre a firmeza dos iogurtes	**56**
Figura 5.10	Efeito dos tratamentos sobre o pH dos iogurtes	**57**
Figura 5.11	Efeito do tempo de armazenamento refrigerado (5℃) sobre o pH dos iogurtes	**58**
Figura 5.12	Correlação entre pH e firmeza	**59**

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1	Níveis decodificados das variáveis	**34**
Tabela 4.2	Níveis codificados e decodificados das variáveis para os ensaios	**34**
Tabela 5.1	Características do processo de fermentação dos iogurtes obtidos	**36**
Tabela 5.2	Concentração das variáveis e resposta para as sinéreses	**39**
Tabela 5.3	Efeito das variáveis e de suas interações na sinérese espontânea	**40**
Tabela 5.4	Coeficientes de regressão para sinérese espontânea	**41**
Tabela 5.5	Análise de variância para a sinérese espontânea	**41**
Tabela 5.6:	Efeito das variáveis e de suas interações na sinérese por drenagem	**44**
Tabela 5.7	Coeficientes de regressão para sinérese por drenagem	**45**
Tabela 5.8	Análise de variância para a sinérese por drenagem	**46**
Tabela 5.9	Efeito das variáveis e de suas interações na sinérese por centrifugação	**49**
Tabela 5.10	Efeito do tratamento sobre as características físico-químicos do iogurte	**52**
Tabela 5.11	Efeito do tratamento e do tempo de armazenamento refrigerado sobre a sinérese, firmeza e pós-acidificação do iogurte	**53**
Tabela I	Características físico-químicas dos iogurtes obtidos	**69**
Tabela II.1	Valores médios de sinérese espontânea dos iogurtes fabricados para atender ao objetivo 2	**71**
Tabela II.2	Valores médios de firmeza dos iogurtes fabricados para atender ao objetivo 2	**72**
Tabela II.3	Valores médios de pH dos iogurtes fabricados para atender ao objetivo 2	**73**

Resumo

Atualmente a adição de hidrocolóides é um recurso utilizado em produtos lácteos para modificar a textura ou evitar defeitos como a sinérese. Hidrocolóides são utilizados como agentes espessantes, gelificantes e estabilizantes, e podem apresentar características sinérgicas quando utilizados em conjunto. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de goma tara e carragena sobre a sinérese do iogurte firme desnatado. Os iogurtes foram fabricados com leite desnatado reconstituído adicionado de goma tara e carragena, em concentrações variando de 0 a 0,0585%, em combinações previstas pela metodologia de superfície de resposta. Após aproximadamente 48 horas de armazenamento refrigerado, determinou-se a composição dos iogurtes e a sinérese, que foi avaliada de três formas distintas: sinérese espontânea, por drenagem e por centrifugação. A goma tara afetou significativamente a sinérese do produto, que aumentou em concentrações superiores a 0,0293%, independentemente da sua forma de avaliação. A sinérese não foi significativamente afetada pela adição de carragena e nem pela interação entre os polissacarídeos. As concentrações escolhidas para fabricação e avaliação dos iogurtes durante o armazenamento refrigerado (29 dias) foram iogurte controle (sem adição de polissacarídeos), iogurte com 0,02% de goma tara e iogurte com 0,02% de tara + 0,02% de carragena. Após aproximadamente 24 horas os iogurtes foram avaliados quanto à composição centesimal. Durante o armazenamento refrigerado, após 1, 8, 15, 22 e 29 dias de fabricação os produtos foram avaliados quanto à sinérese espontânea, firmeza, e pH para acompanhamento da pós-acidificação. A sinérese espontânea foi significativamente afetada pelos tratamentos, sendo que a menor liberação de soro foi observada para o iogurte fabricado com goma tara e carragena, enquanto que o iogurte que continha apenas goma tara apresentou maior sinérese. A firmeza foi significativamente afetada pelos tratamentos. O iogurte fabricado com goma tara e carragena apresentou menor firmeza quando comparado ao iogurte controle, sendo que ambos não diferiram significativamente do iogurte fabricado com goma tara. Durante o tempo de armazenamento refrigerado a firmeza dos

iogurtes aumentou significativamente. Os tratamentos afetaram significativamente a pós-acidificação dos iogurtes, sendo que o iogurte controle apresentou menor pH quando comparado ao iogurte fabricado com adição de goma tara e carragena. O pH de todos os produtos diminuiu significativamente nos primeiros 8 dias de armazenamento refrigerado, mantendo-se estável após esse período.

Summary

Nowadays, the hydrocolloids addition is an applied mean to modify the texture or to avoid defects, such as syneresis, in dairy products. Hydrocolloids can be utilized as thickening, gelling and stabilizing agents, and can show synergistic features when applied along each other. The objective of this research was to evaluate the effect of addition of tara gum and carrageenan on the syneresis of non-fat set yogurt. Non-fat reconstituted milk added with carrageenan and tara gum in concentrations from 0 to 0.0585%, at combinations given by response surface methodology, was used. Composition and syneresis (spontaneous, by drainage, and by centrifugation) evaluations were done after 48 hours of cold storage. Tara gum significantly affected the syneresis, increasing it in concentrations higher than 0.0293%, independent of the type of syneresis evaluation. The effects of carrageenan and polysaccharides' interaction on the syneresis were not significative. The concentrations evaluated during 29 days were control yogurt (no polysaccharide addition), yogurt with 0.02% of tara gum and yogurt with 0.02% of tara gum and 0.02% of carrageenan. Composition was evaluated approximately after 24 hours. The pH (for post-acidification evaluation), spontaneous syneresis and firmness were evaluated during the cold storage at 1, 8, 15, 22 and 29 days after manufacture of yogurts. Natural syneresis was affected by the treatments and yogurt with tara gum and carrageenan showed the lowest whey-off, while the yogurt containing only tara gum showed the highest syneresis. Firmness was significantly affected by treatments. The lowest firmness was observed in yogurt containing carrageenan and tara gum, when compared to control yogurt, but both yogurts didn´t differed from yogurt containing only tara gum. Yogurt firmness increased during cold storage. Regarding the post-acidification, the treatments significantly affected the pH and the control yogurt showed the lowest pH, if compared to yogurt manufactured with tara gum and carrageenan. The pH of all yogurts significantly decreased at the first eight days of cold storage, stabilizing during cold storage.

1. INTRODUÇÃO

Segundo Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), entre 1974 e 2003, o consumo per capita de iogurte aumentou de 0,4 para 2,9 kg/ano. Entretanto, esse consumo é ainda muito baixo quando comparado ao consumo dos Estados Unidos e da Dinamarca, que possuem consumo per capita de iogurtes e outros produtos lácteos fermentados de 85,8kg e 43 kg/ano, respectivamente (IBGE, 2004).

O iogurte é definido como o produto obtido da fermentação do leite por cultivos proto-simbióticos de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, e pode variar quanto à sua composição química, método de produção, sabor e consistência. Em relação à consistência, o iogurte pode ser firme, batido ou líquido.

O iogurte firme, que se caracteriza por uma massa semi-sólida contínua, pode apresentar um defeito bastante comum durante sua vida útil, que é a sinérese, caracterizada pela formação de uma camada de soro na superfície do produto, resultante da contração natural do gel. Vários recursos tecnológicos podem ser utilizados para prevenir esse defeito, como por exemplo, aumento de conteúdo de sólidos, tratamento térmico intenso, homogeneização, controle das condições de fermentação e utilização de agentes de textura que interagem com o gel do iogurte, como por exemplo, os hidrocolóides.

A utilização de hidrocolóides em iogurtes, para melhorar sua consistência e reduzir a sinérese, é amplamente explorada na indústria e há um grande número de hidrocolóides com propriedades específicas disponível no mercado. A carragena é um polissacarídeo bastante utilizado em produtos lácteos pelas suas propriedades gelificantes. As galactomananas são polissacarídeos que têm como propriedade reológica o aumento de viscosidade do meio, e por isso também são bastante utilizadas. As galactomananas mais conhecidas são a goma locusta e a guar, sendo que a primeira pode apresentar propriedades

sinérgicas na presença de carragena. Porém, a goma locusta tem sofrido aumentos massivos nos preços. Como alternativa para esse aumento no custo da goma locusta, vários estudos sugerem que a goma tara possui bastante similaridade com a goma locusta, abrindo novas possibilidades para exploração de suas propriedades e comportamento sinérgico com outros hidrocolóides.

Os poucos estudos que exploraram as propriedades da carragena e da goma tara no meio lácteo sugeriram a existência de efeito sinérgico entre esses polissacarídeos, o que pode afetar positivamente a sinérese de produtos lácteos de baixo pH.

2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o efeito da adição de hidrocolóides sobre as características físico-químicas do iogurte firme desnatado. Os hidrocolóides utilizados foram goma tara e carragena.

Objetivos específicos:

Objetivo 1: utilizar a metodologia de superfície de resposta para avaliar a influência das concentrações de goma tara e carragena, nas respostas de sinérese do iogurte firme desnatado.

Objetivo 2: utilizar as concentrações otimizadas de goma tara e carragena para avaliar o comportamento de firmeza e sinérese durante a vida útil do iogurte firme desnatado.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Produtos lácteos fermentados

A Resolução 05/2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), define leites fermentados como os *produtos resultantes da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado, por fermentos lácticos próprios. Os fermentos lácticos devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade. O leite utilizado na fabricação de leites fermentados poderá ser em natureza ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos de origem láctea, bem como de outras substâncias alimentícias recomendadas pela tecnologia de fabricação de leites fermentados, e que não interfiram no processo de fermentação do leite pelos fermentos lácticos empregados. Nessa definição incluem-se o iogurte, o leite fermentado ou cultivado, o leite acidófilo, o kefir, o kumys e a coalhada* (BRASIL, 2000).

No Brasil, o iogurte é sem dúvida o leite fermentado mais conhecido e comercializado. Para sua fabricação, o mesmo regulamento estabelece que a fermentação do leite deve se realizar com cultivos proto-simbióticos de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, aos quais se pode adicionar outras bactérias ácido-lácticas que contribuam para a determinação das características do produto final (BRASIL, 2000).

Os tipos variados de iogurte podem diferir entre si de acordo com sua composição química, método de produção, sabor e natureza do método de pós-incubação. Porém existem dois tipos principais de iogurte, o firme (*set*) e o batido (*stirred*), cuja classificação é baseada no método de produção e na estrutura física do coágulo. O iogurte firme é o produto formado quando a fermentação/coagulação do leite ocorre na própria embalagem de comercialização do produto. A estrutura deste iogurte é caracterizada por uma

massa semi-sólida contínua. Em contraste, no iogurte batido, o coágulo é formado em grandes tanques e a estrutura do gel formado é quebrada antes do resfriamento e embalagem. Existe ainda o iogurte do tipo líquido que pode ser considerado o iogurte batido de baixa viscosidade, obtido através da mistura do iogurte com partes de água (TAMIME e DEETH, 1980).

As principais etapas na produção de iogurte são: padronização do leite para teores de sólidos e gordura desejáveis, tratamento térmico e homogeneização da mistura, adição de culturas lácticas, acondicionamento, fermentação até pH na faixa de 4,7 ± 0,1; refrigeração e armazenamento refrigerado do produto final. Outras etapas, como a adição de frutas e açúcar podem ser incluídas dependendo da característica do produto final (LUCEY, 2004).

O desenvolvimento satisfatório das características de aroma, textura e sabor do iogurte depende do processo de fermentação proto-simbiótico entre o *Streptococcus*. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. A ação proteolítica dos lactobacilos, com liberação de pequenos peptídeos e aminoácidos, especialmente valina, favorece o crescimento dos estreptococos, os quais produzem ácido fórmico e dióxido de carbono que estimulam o crescimento dos lactobacilos (WALSTRA et al*.,* 1999).

A formação do gel durante a acidificação é governada por duas forças opostas que atuam simultaneamente. De um lado, uma tendência de desagregação da micela de caseína causada pela solubilização do fosfato de cálcio coloidal e, do outro lado, uma tendência de agregação da micela num sistema mais ordenado causado pela redução das cargas negativas da superfície da micela, e pela diminuição da hidratação da caseína na faixa de pH de 5,3 a 4,6. A formação do gel ocorre quando as forças que promovem a agregação se sobrepõem às forças que promovem a repulsão. Em géis ácidos, como o iogurte, o alto conteúdo de umidade (~ 85%) e o baixo pH (~ 4,7), próximo ao ponto isoelétrico da caseína, são responsáveis pela baixa

capacidade de retenção de água do produto, tornando-o altamente susceptível a sinérese (FOX et al., 2000).

A sinérese durante a vida útil do produto é indesejável e resulta na formação de uma camada de soro na superfície do iogurte, que leva à sua rejeição por parte dos consumidores. A sinérese espontânea é resultado da contração natural do gel, sem aplicação de qualquer força externa, como por exemplo, a centrifugação, e está relacionada com a instabilidade da rede protéica, a qual perde sua capacidade de ligar a fase aquosa do produto (LUCEY, 2002). Esta separação do soro pode estar relacionada a diversos fatores, porém é possível resumi-los a danos ou perturbações à rede de gel formada, a rearranjos estruturais severos da rede, ou a algum parâmetro físico-químico que altere as interações protéicas responsáveis pela estrutura da rede (LUCEY, MUNRO e SINGH, 1998b).

No processo de fabricação de iogurte a separação do soro pode ser prevenida pelo aumento do conteúdo de sólidos do leite, pelo seu tratamento térmico severo e pela homogeneização. A fortificação dos sólidos totais pode ser alcançada pela remoção da água ou pela adição de sólidos. A remoção da água pode ser obtida por evaporação a vácuo ou por filtração por membrana, enquanto os sólidos normalmente adicionados são leite em pó desnatado ou integral, concentrado protéico de soro, caseína em pó, leitelho em pó, entre outros (TAMIME e ROBINSON, 1999). Independente do tipo de fortificação, o teor de proteína do leite é o fator mais importante que influencia as propriedades reológicas e físicas do iogurte. Um aumento no teor de proteínas ocasionará um aumento na quantidade de água ligada e, conseqüentemente, na firmeza do gel resultante (JAROS e ROHM, 2003).

GASTALDI et al. (1997) avaliaram o efeito do conteúdo de sólidos sobre a formação do gel ácido. Os autores utilizaram leite em pó desnatado reconstituído em diferentes concentrações de sólidos totais (10, 15, 20%) que foi acidificado pela adição de glucona-δ-lactona. A solubilização do fosfato de

cálcio coloidal, a dissociação e a solvatação da micela de caseína foram afetadas pelo teor de sólidos do leite. Segundo os autores, o aumento da firmeza e elasticidade deveu-se à maior concentração de caseína na mistura, que favoreceu as interações protéicas.

O tratamento térmico favorece a desnaturação das proteínas do soro e conseqüentemente e estrutura do iogurte. Durante o tratamento térmico usual para fabricação do iogurte (95ºC/5 min.), aproximadamente 90% das proteínas do soro são desnaturadas, favorecendo inicialmente a interação α-lactoalbumina-β-lactoglobulina, seguida da formação do complexo κ-caseína-β-lactoglobulina, o que resulta no aumento do tamanho da micela formando agregados globulares de 100-300 nm. No processo de acidificação, as micelas aumentadas de tamanho formam uma matriz protéica mais firme do que a obtida por um leite que não foi submetido ao tratamento térmico. Esta matriz protéica mais firme tem maior capacidade de ligar água nos interstícios das moléculas de proteínas do soro associadas à micela de caseína, o que resulta em menor sinérese do produto (KESSLER, 1998; KEOGH e O'KENNEDY 1998). O nível de desnaturação da proteína do soro necessário para afetar positivamente a firmeza e sinérese do iogurte depende do tipo de produto desejado e da quantidade de sólidos totais na mistura. Quanto menor o teor de sólidos do produto, maior a necessidade de desnaturação protéica (RASIC e KURMANN, 1978).

A homogeneização também afeta positivamente a sinérese do iogurte, pois a membrana do glóbulo de gordura pós-homogeneização, constituída principalmente por caseínas, e em menor quantidade pelas proteínas do soro, faz com que o glóbulo de gordura comporte-se como uma grande micela, a qual interage com as outras micelas na formação da matriz protéica durante a coagulação ácida. A maior interação protéica favorece a formação de um gel mais firme, com menor susceptibilidade à sinérese (KESSLER, 1998; KEOGH e O'KENNEDY 1998; TAMIME e ROBINSON, 1999). Além disso, a

homogeneização ocasiona um aumento na viscosidade do iogurte, pois aumenta o volume total de matéria suspensa (TAMIME e ROBINSON, 1999).

LUCEY, MUNRO e SINGH (1998b) estudaram o efeito do tratamento térmico (75, 80, 90ºC/30 minutos) e do teor de gordura (0, 1,5 e 3,5%) sobre as propriedades reológicas de géis ácidos de leite obtidos através de glucona-δ-lactona a 30ºC. Em tratamentos térmicos acima de 80ºC os autores observaram diminuição no tempo de formação do gel, o qual apresentou maior firmeza e elasticidade. No mais alto teor de gordura também se observou maiores firmeza e elasticidade.

Alguns cuidados podem ser tomados durante a fabricação do iogurte para se evitar a sinérese, como por exemplo o controle sobre as condições de fermentação, para garantir que haja produção de ácido satisfatória; ou as operações pós-incubação, como o resfriamento, bombeamento, e armazenamento, com o objetivo de não expor o produto ao abuso mecânico ou de temperatura (JAROS e ROHM, 2003; LUCEY, 2004). Segundo ROBINSON e TAMIME (1993), o tratamento térmico do leite e a temperatura de incubação são consideradas as duas variáveis mais importantes da fabricação do iogurte, afetando diretamente a microestrutura e a reologia do produto final.

Além do controle eficaz na padronização da mistura e nas condições de tratamento térmico e homogeneização, tecnologias inovadoras, tanto para produtos como para processos, têm sido utilizadas para melhorar as características de textura e sinérese de produtos obtidos através de géis ácidos do leite, como o iogurte, por exemplo. Como processos emergentes, pode-se citar o uso da alta pressão hidrostática no leite, para promover a desnaturação das proteínas do soro, o uso de pressões muito altas de homogeneização e o uso de tecnologias de membranas para concentração e fracionamento de constituintes do leite. O uso de novos ingredientes inclui os derivados do leite, culturas lácticas específicas, como as produtoras de exopolissacarídeos, o uso da enzima transglutaminase, que favorece interações protéicas e o emprego de

novos agentes de textura, como espessantes, gelificantes e estabilizantes (LUCEY, 2004).

3.2. Agentes de textura utilizados em produtos lácteos fermentados

Hidrocolóides são polímeros de cadeia longa e de alto peso molecular, extraídos de algas marinhas, sementes, exsudados de árvores e de colágeno animal. Também podem ser sintetizados por microorganismos, ou obtidos pela modificação de polissacarídeos naturais. A importância de sua utilização em produtos alimentícios está baseada em suas propriedades funcionais de dissolver ou dispersar em meio aquoso para promover um espessamento ou aumento de viscosidade, sendo que alguns poucos hidrocolóides também possuem a propriedade de formar gel (GLICKSMAN, 1982; RIBEIRO e SERAVALLI, 2004).

Entre os ingredientes utilizados no preparo de misturas para produtos lácteos, os agentes de textura são macromoléculas com alta capacidade de ligar água que têm grande importância na formação de estrutura física final do produto. Como agente espessante, a macromolécula diminui a mobilidade do sistema, um fenômeno que é geralmente realçado pela possibilidade de outras interações. Como agente gelificante, a interação entre as macromoléculas resulta na formação de uma rede tridimensional e uma estrutura de gel. Como estabilizantes, as macromoléculas mantêm em equilíbrio os componentes da suspensão que tem tendência de se separarem, tanto pelo aumento da viscosidade como pela retenção de partículas na rede tridimensional formada pelo gel (RIZZOTTI, TILLY e PATTERSON, 1984).

HANSEN (1993), citado por EVERRET e McLEOD (2005), classificou os hidrocolóides como aniônicos e neutros. Os hidrocolóides aniônicos, como a carboximetilcelulose, a pectina e a carragena, interagem com as cargas positivas na superfície das micelas de caseína para fortalecer a rede de caseína

e reduzir a sinérese, estes podem ser chamados de hidrocolóides adsorventes. Os hidrocolóides neutros, como as gomas guar e locusta, reduzem a sinérese através de um mecanismo diferente, aumentando a viscosidade da fase contínua, e podem ser chamados de polissacarídeos não adsorventes.

Entre os estabilizantes mais usados em produtos lácteos fermentados estão a goma locusta, goma xantana, carragena, goma guar, gelatina, pectina, agar, carboximetilcelulose, alginatos, goma arábica, amidos e concentrado protéico de soro. As quantidades dos estabilizantes normalmente usadas para os produtos fermentados são de 0,02 - 0,6% para pectinas e gelatinas, 0,05 - 0,6% para a maioria das gomas, < 0,8% para amidos modificados, e até 2% para amido (LUCEY, 2004; TAMIME e ROBINSON, 1999).

A gelatina proporciona estrutura gelificante brilhante característica, sendo efetiva no controle da umidade e com uma estrutura que derrete facilmente na boca. As pectinas de baixa metoxilação são usadas em iogurtes batidos para promover aumento na viscosidade, enquanto as pectinas de alta metoxilação são utilizadas na estabilização de bebidas a base de iogurte, pois previnem a reagregação das proteínas durante o armazenamento. O uso de amidos modificados ajuda a desenvolver uma textura cremosa, porém o tipo deve ser selecionado de acordo com as condições de processo. Os produtos lácteos fermentados com baixo teor de gordura precisam de uma seleção de estabilizantes mais cuidadosa para restaurar a cremosidade além de outros atributos presentes no produto integral (LUCEY, 2004).

O tipo e a quantidade utilizada de cada estabilizante podem afetar, entre outras características, a apresentação, o aroma e o sabor refrescante do iogurte. Outro fator que também determina a quantidade de estabilizante a ser adicionada ao leite para iogurte é a porcentagem de sólidos totais adicionados ao leite (SOUZA, 1996). O uso excessivo de estabilizantes pode agir negativamente nas propriedades sensoriais, pois propicia defeitos de paladar como sabor pouco natural e uma estrutura e textura de gel super-estabilizada (LUCEY, 2004). Os hidrocolóides também são utilizados para aumentar a vida

útil de produtos lácteos, prevenindo de efeitos indesejáveis como a dessoração, assentamento de partículas dispersas, ou floculação e formação de gotas de gordura (SYRBE, BAUER e KLOSTERMEYER, 1998).

3.2.1. Carragena

As carragenas são hidrocolóides amplamente utilizados na indústria de produtos lácteos, como por exemplo, em sobremesas lácticas, achocolatados, sorvetes e produtos similares. São poligalactonas sulfatadas extraídas da parede celulósica de algas marinhas vermelhas (*Rodophycea*), possuem uma estrutura polimérica linear com resíduos α-1,4 e β-1,3 galactoses e são classificadas como hidrocolóides aniônicos (TRČKOVÁ, ŠTETINA e KÁNSKÝ, 2004; RIZZOTTI, TILLY, PATTERSON, 1984; DROHAN et al., 1997). Ela possui várias frações, sendo as mais importantes a kappa e a iota-carragena, com propriedades gelificantes e solubilidade em água quente; e a lambda-carragena que é solúvel em água fria e possui propriedade espessante (GLICKSMAN, 1983 e RIZZOTTI, TILLY, PATTERSON, 1984).

A aplicação da carragena no leite inclui, além da formação de um gel fraco no meio aquoso, a interação da κ-carragena com a micela de caseína, produzindo um efeito sinergético. Em soluções aquosas as carragenas são capazes de formar géis termorreversíveis. Quando aquecidas em temperaturas acima da temperatura de transição sol-gel, o hidrocolóide se apresenta como espirais aleatórias, sendo que, durante o resfriamento forma uma estrutura tridimensional devido à junção dos polímeros por duplas-hélices. (GLICKSMAN, 1983 e DROHAN et al., 1997). A temperatura de hidratação da carragena, e a formação dessas duplas hélices dependem da presença dos cátions no meio aquoso. A κ-carragena necessita de íons de potássio para estabilizar a dupla-hélice e a ι-carragena se estabiliza com íons cálcio (IMESON, 2000).

A interação carragena-caseína vem sendo estudada pela sua capacidade de inibir a separação de fases visual entre as micelas de caseína e polissacarídeos. SPAGNUOLO et al. (2005) resumem as duas teorias que tentam explicar a interação da κ-carragena e a caseína. A primeira teoria propõe que a κ-carragena é adsorvida na superfície da micela de caseína através da interação das cargas negativas da κ-carragena com a região positivamente carregada da κ-caseína (resíduos 97-112). Porém, como a superfície da micela de caseína é carregada negativamente e estabilizada estericamente pela porção glicomacropeptídica da κ-caseína, esta possível adsorção parece ser improvável. A segunda teoria propõe que a inibição da separação de fases se dá pela formação de um gel fraco de κ-carragena, que retém as micelas de caseína em suspensão.

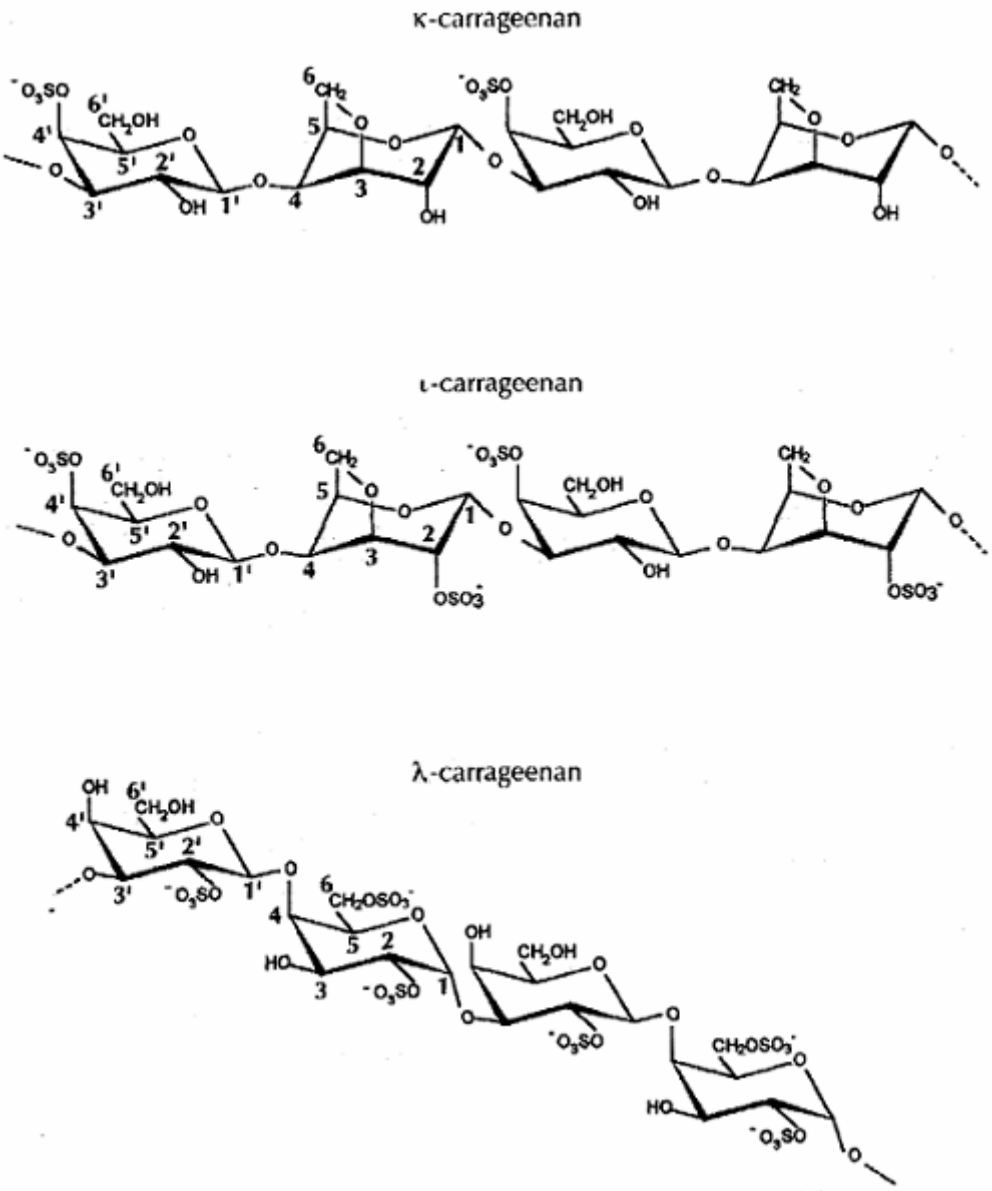

Figura 3.1 – Ilustração das estruturas moleculares de kappa-carragena, iota-carragena e lambda-carragena (DE RUITER e RUDOLPH, 1997).

3.2.2. Goma tara

As galactomananas são polissacarídeos de reserva encontrados no endosperma de algumas sementes de leguminosas. Elas são consideradas polissacarídeos neutros, compostas de uma cadeia linear de manoses unidas

por meio de ligações β-1→4 (cadeia principal), com ramificações ao acaso de unidades de α-1→6-galactose. As galactomananas mais conhecidas e utilizadas na indústria alimentícia são as gomas guar e locusta, extraídas da *Cyamopsis tetragonolobus* e *Ceratonia siliqua* L., respectivamente (SITTIKIJYOTHIN, TORRES e GONÇALVES, 2005; GOYCOOLEA, MORRIS e GIDLEY, 1995).

A goma tara também é uma galactomanana, extraída de sementes da leguminosa *Caesalpinia spinosum*, encontrada predominantemente na região do Peru. Ela apresenta um custo comparativo reduzido, oferecendo um grande incentivo econômico para sua exploração industrial. Sua estrutura é composta de polímeros de galactomanana, consistindo de uma cadeia principal de unidades de 1,4-β-d-manopiranose, com resíduos de 1,6-α-d-galactopiranose na proporção de 3:1. A goma tara é pouco solúvel em água fria e necessita de aquecimento para a completa dissolução. Em soluções aquosas é neutra e altamente viscosa, além disso, possui a capacidade de formar gel quando interage com as gomas xantana, carragena e agar (GLICKSMAN, 1986).

Uma das grandes e principais vantagens das galactomananas é a habilidade de formarem soluções de alta viscosidade em pequenas concentrações, sendo pouco afetadas pelo pH, íons, e processamentos térmicos (SITTIKIJYOTHIN, TORRES e GONÇALVES, 2005). A variabilidade na composição da galactose e a sua distribuição ao longo da cadeia de manose é a origem para as diferentes características reológicas observadas nas galactomananas. (CHANDRASEKARAN; RADHA; OKUYAMA, 1998). Quanto maior a razão manose/galactose, maior a probabilidade de existir seções de cadeias livres de ramificação, as quais poderiam se alinhar e interagir com proteínas e outros hidrocolóides para dar viscosidade e corpo ao produto (HUNT E MAYNES, 1997). A goma locusta possui uma razão de manose/galactose de 4:1, enquanto que para a goma guar essa razão é de 2:1 (PENNA, 2002). A goma tara possui uma razão intermediária, apresentando 3 unidades de manose para cada unidade de galactose ramificada, porém suas

propriedades funcionais são mais semelhantes à goma locusta do que à goma guar (MURUYAMA, ICHIKAWA, KAWABATA, 1995).

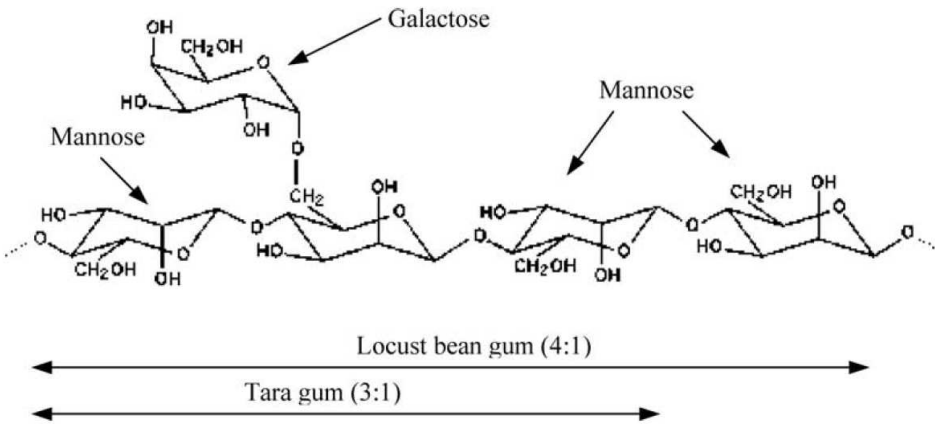

Figura 3.2 – Ilustração das estruturas moleculares de goma locusta e goma tara (SITTIKIJYOTHIN, TORRES e GONÇALVES, 2005).

3.2.3. Interações poliméricas

As interações poliméricas frequentemente levam à formação de complexos e/ou à separação de fases, sendo que a miscibilidade quase sempre é uma exceção (SYRBE, BAUER e KLOSTERMEYER, 1998). A contribuição entrópica nas misturas biopoliméricas geralmente é maior que a entálpica, tornando a separação de fases uma regra geral para essas misturas (DOUBLIER et al., 2000). Além disso, deve-se considerar um aspecto muito importante e inerente ao sistema leite adicionado de polissacarídeos: os hidrocolóides não são os únicos polímeros presentes no meio. Juntamente com as proteínas do leite dissolvidas na fase aquosa, há a formação de uma solução pseudoternária composta por "proteínas do leite-polissacarídeo-água" (SYRBE, BAUER e KLOSTERMEYER, 1998).

Existem dois fenômenos distintos que levam à separação de fases numa mistura polimérica e que são dependentes da afinidade entre biopolímeros e

solventes, são eles: incompatibilidade termodinâmica ou conhecida também como separação de fases segregativa, e coacervação complexa ou separação de fases associativa (DOUBLIER et al., 2000; DICKINSON e McCLEMENTS, 1996).

A incompatibilidade termodinâmica é o fenômeno mais ocorrente e se caracteriza pelo favorecimento da interação entre o solvente e um dos biopolímeros em detrimento da interação dos biopolímeros entre si. A conseqüência neste caso é uma separação espontânea do sistema em duas fases, sendo cada uma delas rica em um dos biopolímeros. Em um sistema envolvendo proteínas e polissacarídeos, a incompatibilidade termodinâmica manifesta-se quando a proteína está na presença de um polissacarídeo neutro ou na presença de um polissacarídeo aniônico carregando uma carga de mesmo sinal que a proteína (DOUBLIER et al., 2000; DICKINSON e McCLEMENTS, 1996). Quando as proteínas se encontram no estado de partículas, como por exemplo, micelas de caseína ou grandes agregados de proteínas desnaturadas termicamente, a separação de fases segregativa se dá pela floculação por depleção, que se diferencia basicamente por implicar em uma suspensão coloidal que é termodinamicamente instável (DOUBLIER et al., 2000).

O outro fenômeno de separação de fases, a coacervação complexa, ocorre quando os biopolímeros estão carregados com cargas opostas e a interação entre eles é favorecida. Em se tratando de proteínas do leite, esse fenômeno ocorre em um pH ligeiramente abaixo do ponto isoelétrico enquanto o polissacarídeo continua mantendo sua carga negativa. O sistema então pode se caracterizar ou por complexos solúveis no meio, ou pela separação de fases associativa no qual uma fase é rica em solvente com alguns traços dos polímeros, e outra fase rica em biopolímeros, formando o coacervado (DOUBLIER et al., 2000; DICKINSON e McCLEMENTS, 1996).

3.3. Aplicações hidrocolóides em produtos lácteos fermentados

Diversos autores têm estudado a aplicação de hidrocolóides em produtos lácteos a base de géis ácidos como iogurte, iogurte batido, bebidas lácticas, queijo *petit-suisse* e *cream chesse*, com a finalidade de melhorar as características reológicas e aumentar a capacidade de retenção de água dos produtos.

KEOGH e O'KENNEDY (1998) estudaram o efeito do teor de gordura (0 e 5%), da adição de proteína (0 e 1,5%) e de hidrocolóides sobre a consistência e sinérese do iogurte batido. Os hidrocolóides estudados foram gelatina (0 e 0,5%), amido (0 e 0,06%), goma xantana e goma locusta 50:50 (0 e 0,03%). Os produtos obtidos na presença da gordura e com a adição de proteína apresentaram melhor consistência e menor sinérese. Em relação aos hidrocolóides, os autores observaram que a gelatina e a mistura de goma xantana e locusta melhoraram a consistência do iogurte, a qual não foi afetada pela adição de amido. Nenhum hidrocolóide afetou significativamente a sinérese.

MARUYAMA et al., (2006) avaliaram o efeito de três diferentes combinações de gomas em queijo *petit-suisse* sobre as características de textura do produto. Foram testadas 3 formulações: F1 - xantana, carragena, guar e pectina (2,5:2,5:5:0); F2 - xantana, carragena, guar e pectina (2:3:0:5); F3 - xantana, carragena, guar e pectina (0:5:5:0). Os resultados indicaram que somente os queijos *petit-suisse* fabricados com adição de goma xantana, carragena, guar e pectina 2,5:2,5:5:0 (F1) apresentaram estabilidade quanto à firmeza durante os 21 dias de armazenamento do produto. Segundo os autores, esta formulação apresentou os melhores resultados para firmeza porque contém a maior concentração de goma xantana, que apresenta alta viscosidade aparente; e a menor de goma carragena, que seria responsável pela diminuição de firmeza, em comparação com as outras formulações.

EL-SAYED et al. (2002) avaliaram as propriedades reológicas, microestrutura e a aceitação sensorial de iogurte fabricado com diferentes combinações de goma. A goma xantana utilizada foi fabricada em laboratório e foi utilizada isoladamente ou em combinação com outras gomas. As gomas ou misturas testadas foram: goma xantana (0,005 e 0,01%); goma xantana com carboximetilcelulose (0,005 e 0,01%) e goma xantana com locusta e guar (0,005 e 0,01%). Os autores observaram que o iogurte obtido com goma xantana na menor concentração (0,01%), tanto isolada quanto combinada com as outras gomas, apresentou maior viscosidade. As amostras somente com 0,01% de goma xantana, também apresentaram maiores valores de tensão do coágulo, devido à interação do hidrocolóide com a proteína. A susceptibilidade à sinérese diminuiu com o uso de gomas, sendo que o uso de 0,05% de goma xantana, resultou em sinérese nula durante a estocagem por 10 dias. A avaliação da microestrutura demonstrou maior interação protéica e poros de menor dimensão quando o iogurte foi fabricado com 0,015% de goma xantana. Na avaliação sensorial, o iogurte fabricado com 0,01% de goma xantana foi o que recebeu a melhor avaliação nos atributos corpo, textura e aparência.

PENNA, OLIVEIRA e TAMIME (2003) utilizaram a metodologia de superfície de resposta para avaliar a influência da goma carragena (0,01 – 0,29%) e o teor de sólidos totais (7,5 – 9,91%) sobre as propriedades reológicas de bebidas lácticas produzidas com iogurte e soro de leite. As bebidas lácticas com maior teor de sólidos totais (9,5 e 9,91%) apresentaram estrutura mais resistente à força de cisalhamento. A amostra com 0,15% de carragena e maior concentração de sólidos totais 9,91g/100g demonstrou uma tendência à gelificação, possivelmente devido ao efeito combinado das interações entre carragena e caseína. Os autores concluíram que o teor de sólidos possui maior influência do que o nível de carragena, dentro da faixa estudada, no comportamento reológico das bebidas lácticas.

Utilizando a metodologia de superfície de resposta, ÜNAL, METIN e IŞILKLI (2003) estudaram o efeito da adição de goma locusta (0,002; 0,02 e

0,038%) e da concentração de sólidos totais (10, 12, 14%) obtida através da reconstituição do leite em pó desnatado, sobre as propriedades físicas de iogurte firme com baixo teor de gordura. Os autores observaram que a viscosidade e a capacidade de retenção de água no produto final foram afetadas positivamente pelo aumento do teor de sólidos, enquanto que a susceptibilidade à sinérese diminuiu. Entretanto, em concentrações superiores à 0,02%, a adição de goma locusta afetou adversamente o produto: o iogurte apresentou maior sinérese e menores viscosidade e capacidade de retenção de água. A melhor característica do produto foi obtida com 14% para sólidos totais e 0,02% de goma locusta.

O *cream cheese*, queijo obtido por coagulação ácida, utiliza tradicionalmente a goma locusta para aumentar sua capacidade de retenção de água. HUNT e MAYNES (1997) estudaram a viabilidade de substituição da goma locusta pela goma tara na fabricação do produto. Os autores compararam a viscosidade de *cream cheese*, adicionado de goma locusta ou de goma tara. Foram testadas oito amostras comerciais de goma tara em concentrações de 0,2%. Os resultados revelaram que os *cream cheeses*, obtidos com quatro das oito gomas tara testadas, apresentaram viscosidade, corpo e textura semelhantes ao produto obtido com goma locusta (produto controle). O *cream cheese* fabricado com uma das amostras comerciais, que possuía 5% de goma carragena sobre o peso total da goma tara, apresentou o melhor resultado de viscosidade, sugerindo o efeito sinergético da goma tara e carragena.

FISZMAN e SALVADOR (1999) avaliaram o efeito da adição de gelatina (0,3, 0,6, 0,9 e 1,5%) na textura e sinérese de iogurtes preparados com ou sem a adição de 5% de sólidos ao leite. Os resultados indicaram que a adição de gelatina e o aumento do teor de sólidos do leite resultou em aumento da firmeza e da capacidade de retenção de água no iogurte.

KOKSOY e KILIC (2004) avaliaram o uso de pectina de alta metoxilação (0,25 e 0,50%), goma guar (0,10 e 0,25%), goma locusta (0,10 e 0,25%), e gelatina (0,25 e 0,50%), na estabilização de ayram, uma bebida produzida na

Turquia através da adição de água e sal ao iogurte. Foram analisadas as propriedades reológicas e sensoriais, e a separação de soro durante estocagem por 15 dias a 4ºC. O produto obtido com adição de goma guar apresentou maior viscosidade e consistência. Seu uso preveniu a separação de soro, porém proporcionou uma percepção oleosa na boca que não é característica do produto. O uso de pectina de alta metoxilação e de gelatina evitou a sinérese apenas na concentração de 0,50%, entretanto, afetou negativamente o gosto e odor do produto, que foi rejeitado na análise sensorial. A utilização da goma locusta na concentração de 0,10% foi a mais recomendada para estabilizar a bebida, pois preveniu a separação do soro e aumentou a viscosidade aparente sem afetar o gosto e sabor do produto.

3.4. Análises de sinérese

Uma das grandes dificuldades de se estudar o defeito da separação espontânea de soro de iogurtes firmes, ou qualquer outro gel ácido de leite, é a ausência de metodologias publicadas e/ou aceitas que quantifiquem ou meçam a extensão de tal defeito (LUCEY, MUNRO e SINGH, 1998b; LUCEY, 2002).

Foram encontradas algumas metodologias que quantificaram o volume de soro liberado pelo iogurte após este ser submetido à centrifugação em alta velocidade ou à drenagem através de uma tela (DE WIT, 1988; DANNEMBERG e KESSLER, 1988; KEOGH e O'KENNEDY, 1998; BHULLAR, UDDIN, e SHAH, 2002; ÜNAL, METIN e IŞILKLI 2003), porém tais métodos têm como resposta a capacidade de retenção de água do iogurte e não a liberação espontânea do soro. A drenagem de um gel fragmentado e distribuído sobre uma tela mede a separação do soro de uma área exposta muito grande sendo mais relevante para produtos como queijo cottage ou caseína, no qual o soro é separado do coágulo por drenagem. Já a centrifugação por alta velocidade mede a capacidade de retenção de água sob forças relativamente altas. Dessa forma, essas metodologias de quantificação de separação do soro não são relevantes

para avaliar o defeito de separação espontânea do soro que pode ocorrer em iogurtes firmes ou outros géis intactos (LUCEY, MUNRO e SINGH, 1998b).

Um dos únicos estudos encontrados que teve como objetivo desenvolver um método empírico para caracterizar a separação de soro dada de forma espontânea em géis ácidos de leite foi realizado por LUCEY, MUNRO e SINGH (1998b). Foram estudados os efeitos do tratamento térmico e da temperatura de incubação na separação de soro em géis de leite acidificados com glucono-δ-lactona, utilizando três métodos empíricos de separação de soro. Os géis foram formados em balões volumétricos e placas de Petri, e a quantidade de soro expelido e acumulado na superfície dos géis foi comparada à quantidade de soro sobrenadante liberado pela centrifugação em baixa velocidade (100 g x 10 min). Os autores concluíram que a separação espontânea em géis ácidos e intactos de leite é diretamente dependente do recipiente utilizado para a incubação. Além disso, o teste com o frasco volumétrico demonstrou ser um método empírico adequado para caracterizar a sinérese espontânea de géis ácidos de leite, apresentando uma correlação positiva com o teste com as placas de Petri. Em contraposição o método que utilizou a centrifugação, mesmo em baixa velocidade, não pareceu ser de muita utilidade para quantificar o defeito de separação de soro em géis intactos.

FISZMAN, LLUCH e SALVADOR (1999) utilizaram metodologia semelhante para verificar a sinérese espontânea em seu estudo sobre a influência da adição de gelatina na microestrutura de géis ácidos de leite e iogurte e nas suas propriedades reológicas. Os géis foram formados em frascos de vidro (45 mm de diâmetro por 70 mm de altura) e ficaram em repouso por 17 h. Em seguida o soro liberado espontaneamente dos géis foi drenado por meio de uma seringa e calculado como índice de sinérese (mL por 100 mL da amostra inicial).

EL-SAYED et al. (2002) também avaliaram a sinérese espontânea de iogurtes firmes coletando o soro separado do gel, após sua exposição à temperatura ambiente por 30 minutos. A quantidade de soro liberada foi

relatada como índice de sinérese e expresso por mL de soro / 50 g de iogurte. KOKSOY e KILIC (2004) avaliaram a sinérese espontânea de iogurtes batidos. Os iogurtes depois de batidos foram armazenados em cilindros graduados e mantidos sob 4℃ por 15 dias, quando se realizou a leitura do volume de soro liberado na superfície do produto.

4. Material e Métodos

4.1. Material

4.1.1. Matéria-prima

O leite utilizado para a fabricação dos iogurtes e dos fermentos para atender ao objetivo 1 foi obtido a partir da reconstituição do leite em pó desnatado (Molico – Nestlé, data de validade: 06/07/2009 lote: 7321046032MA,) com água destilada. O leite em pó desnatado utilizado para atender ao objetivo 2 foi Molico – Nestlé, data de validade: 01/12/2009 , lote: 8239046031MA.

Os polissacarídeos utilizados foram goma tara (Vogler Ingredients, São Bernardo do campo, Brasil) e carragena (CL350H – Danisco, Cotia, Brasil).

4.1.2. Cultura láctica e preparo do fermento

As culturas utilizadas para a fermentação do leite e obtenção do iogurte consistiam em culturas comerciais liofilizadas e não mistas de *Streptococos thermophilus* e de *Lactobacilos delbrueckii* subsp. *bulgaricus* da marca EZAL. As culturas foram fracionadas e pesadas segundo as concentrações recomendadas pelo fabricante (0,05 g / 1000 mL de leite) e armazenadas congeladas em frascos de vacina esterilizados. Para sua ativação e preparo do fermento a ser utilzado na fabricação dos iogurtes, porções devidamente calculadas foram adicionadas ao leite reconstituído a um teor de 12,5 ± 0,5% de sólidos totais e à temperatura de 45℃ ± 1℃. A fer mentação foi conduzida em banho-maria a 45℃ ± 1℃ até coagulação e obtenção de um gel firme. Em seguida, o fermento foi resfriado e armazenado sob refrigeração (5℃ ± 1℃) até sua utilização no dia seguinte. O fermento foi preparado no dia anterior à fabricação do iogurte.

Para cada tratamento realizado para o objetivo 1, foi fabricada um novo fermento sob as mesmas condições.

Para o objetivo 2, utilizou-se o mesmo fermento para todos os tratamentos. Para cada replicata de processamento foi fabricado um novo fermento sob as mesmas condições.

4.2. Processo de fabricação do iogurte para atender ao objetivo 1

4.2.1. Solubilização dos polissacarídeos

Primeiramente realizou-se a dissolução do leite em pó em água destilada utilizando-se um agitador mecânico de hélice e um banho-maria a 85 ± 1℃, para garantir que a dissolução fosse homogênea e a temperatura constante. As quantidades de leite em pó e de água destilada foram calculadas pelo Quadrado de Pearson, objetivando a concentração final de 12,5% de sólidos totais, para um total de 2600 mL de leite. Para cada novo tratamento, o procedimento de dissolução do leite em pó em água destilada foi repetido sob as mesmas condições.

Os polissacarídeos foram adicionados ao leite em pó dissolvido nas concentrações pré-determinadas para cada tratamento. A adição foi realizada aos poucos e sob agitação constante do agitador mecânico, tomando-se o cuidado para não formar grumos (olho de peixe). Após a adição, a temperatura do leite foi estabilizada para 85℃ ± 1℃ por 30 mi nutos para a completa solubilização dos polissacarídeos no meio. Após o tratamento térmico, o leite foi rapidamente resfriado a temperatura de aproximadamente 20℃, e armazenado sob refrigeração (5℃ ± 1℃) até sua utilização no dia seguinte.

4.2.2. Fabricação do iogurte

O fluxograma de processamento do iogurte firme utilizado nos experimentos para atender ao objetivo 1 está apresentado na Figura 4.1. Foram realizados 11 tratamentos diferentes previstos pela Metodologia de Superfície de Resposta.

Após aproximadamente 18 horas de armazenamento refrigerado (5℃ ± 1℃), o leite reconstituído e adicionado de polissa carídeos foi rapidamente aquecido à temperatura de 45℃ ± 1℃ em banho-maria e sob agitação, inoculado com o fermento (2,5% sobre o volume do leite) preparada na véspera, e misturado por 5 minutos para obtenção de um conteúdo homogêneo. Uma amostra do leite foi retirada antes da inoculação para verificação do teor de sólidos totais.

Em seguida, a mistura foi distribuída em tubos de centrifugação para avaliação da sinérese por centrifugação; em frascos cilíndricos, para avaliação das sinéreses espontânea e por drenagem e em tubos de ensaio para avaliação do desenvolvimento da acidez. Os tubos de centrifugação e os frascos cilíndricos foram encaminhados para a BOD (45℃ ± 1℃) enquanto que os tubos de ensaio foram colocados em banho-maria (45°C ± 1℃) para avaliação do tempo de fermentação. O tempo de fermentação foi acompanhado com medidas de pH e acidez do produto retirado do banho-maria e resfriado com água gelada, em intervalos de 20 minutos e foi considerado o tempo necessário para que o produto atingisse pH 4,8 ± 0,05.

Após atingir o pH final, a temperatura da BOD foi reprogramada para 5℃ e os tubos de centrifugação e frascos cilíndricos permaneciam nesse ambiente por aproximadamente 18 horas e depois seguiam para o acondicionamento refrigerado (5℃ ± 1℃) onde permaneciam por aproxi madamente 48 horas, antes da realização das análises.

Os frascos cilíndricos eram constituídos de acrílico, com dimensões de 35 mm de diâmetro por 75 mm de altura.

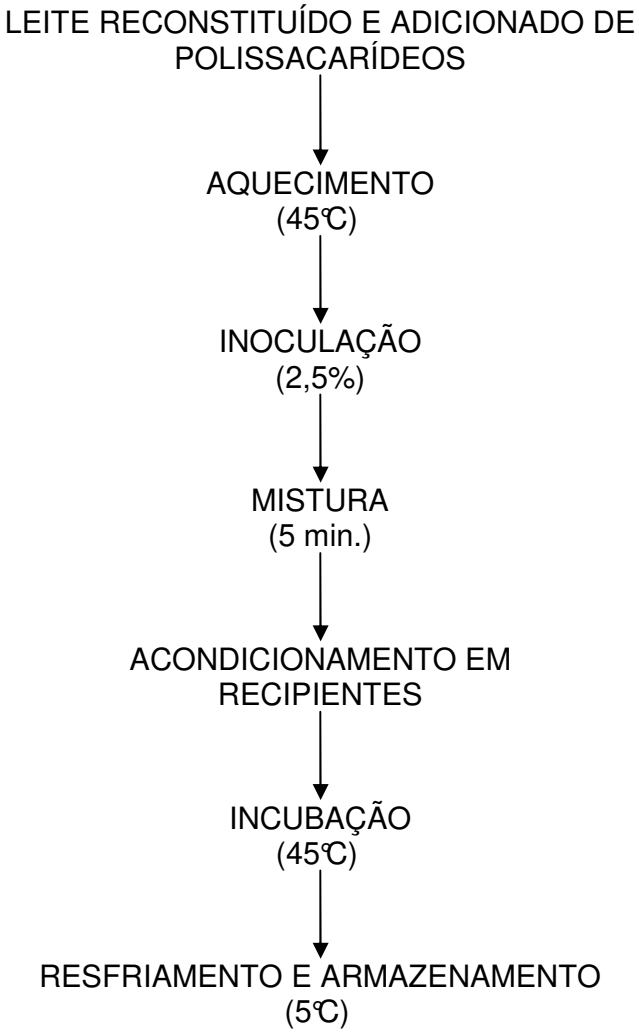

Figura 4.1 - Esquema geral de fabricação do iogurte para o objetivo 1.

4.3. Processo de fabricação do iogurte para atender ao objetivo 2

O esquema geral de fabricação do iogurte está apresentado na Figura 4.2. Foram realizados três tratamentos com diferentes concentrações de polissacarídeos:

- Controle (Ctr): sem adição de polissacarídeo;
- Goma tara (T): adição de 0,02% de goma tara;
- Goma tara+carragena (T+C): adição de 0,02% goma tara e 0,02% de carragena.

As concentrações utilizadas para atender ao objetivo 2 foram definidas na primeira etapa do trabalho através da metodologia de superfície de resposta.

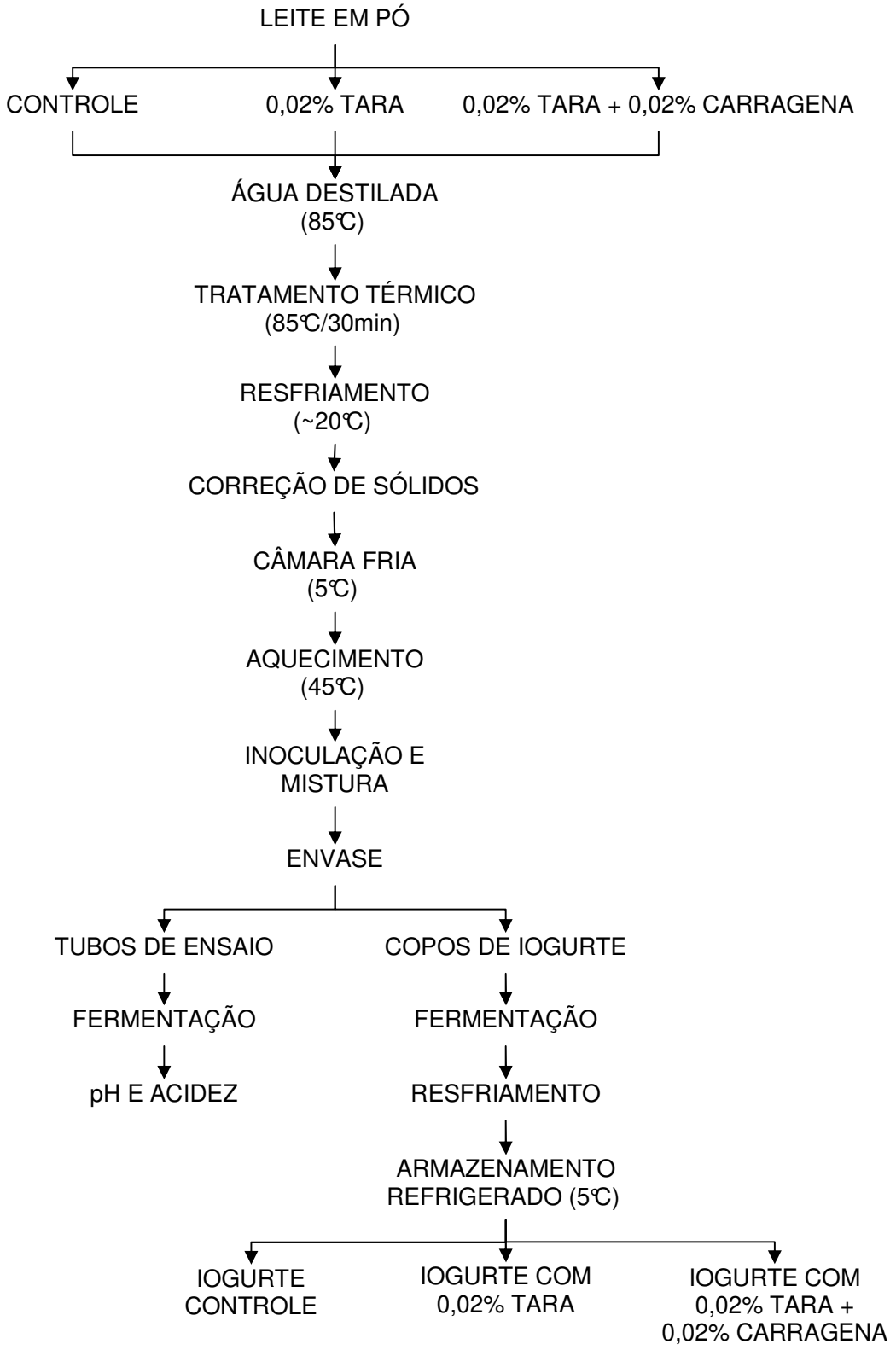

Figura 4.2 - Esquema geral de fabricação do iogurte para o objetivo 2.

4.3.1. Solubilização dos polissacarídeos

Para a solubilização, misturou-se a concentração de polissacarídeo determinada para cada tratamento, a uma quantidade de leite em pó necessária para reconstituir 7000 mL de leite a 12,5 ± 0,5% de extrato seco total. Os polissacarídeos misturados ao leite em pó foram dispersos em água destilada à aproximadamente 85℃ e esta temperatura foi mantida por 30 minutos sob agitação constante para sua completa solubilização. Em seguida, a mistura foi resfriada em banho de gelo até atingir aproximadamente 20℃. Após o resfriamento, efetuou-se a correção de extrato seco total pelo peso final da solução através de adição de água destilada. Essa mistura com o peso final corrigido compunha a matéria-prima para a fabricação do iogurte. Foi coletada uma amostra da mistura para posterior análise e verificação do extrato seco total. A mistura foi armazenada sob refrigeração (5℃ ± 1℃) até o dia seguinte, quando foi utilizada para a fabricação do iogurte.

4.3.2. Fabricação do iogurte

Após aproximadamente 18 horas de armazenamento refrigerado, a mistura foi aquecida a 45℃ ± 1℃ em banho-maria e inoculada com o fermento (2,5% do volume de leite) preparado na véspera. A mistura permaneceu sob agitação por 5 minutos para obtenção de um conteúdo homogêneo e uma parte foi acondicionada em tubos de ensaio para avaliação do tempo de fermentação, enquanto a outra parte foi envasada em copos de iogurte de 200 mL. Os copos de iogurte foram selados com tampa de alumínio termo-soldável e encaminhados para a estufa a 45℃ ± 1℃. A fermenta ção da mistura nos tubos de ensaio ocorreu em banho-maria, também a 45℃ ± 1 ℃.

O tempo de fermentação foi acompanhado com medidas de pH e acidez em intervalos de 30 minutos e foi considerado o tempo necessário para que o produto atingisse pH 4,65 ± 0,05. Ao atingir o pH final, os copos de iogurte foram transferidos cuidadosamente para um banho de gelo por 90 minutos e depois seguiam para o armazenamento refrigerado (5°C ± 1℃).

4.4. Amostragem e determinação analítica

O leite reconstituído e adicionado de polissacarídeos, utilizado para a fabricação dos iogurtes, foi analisado quanto ao extrato seco total, a partir da amostra coletada após o aquecimento para inoculação.

Os iogurtes obtidos de cada processamento foram analisados quanto às suas características físico-químicas: pH, acidez, extrato seco total, proteína total, gordura e cinzas. O teor lactose foi calculado por diferença. As análises foram realizadas aproximadamente após 48 horas de fabricação para os iogurtes do objetivo 1, e após 24 horas de fabricação para os iogurtes do objetivo 2.

Para os onze experimentos realizados para atender ao objetivo 1, as avaliações da sinérese espontânea, sinérese por drenagem e sinérese por centrifugação foram realizadas no segundo dia após a fabricação dos iogurtes, para garantir a estabilidade do gel formado, enquanto permaneciam aproximadamente por 40 horas sob refrigeração (5℃ ± 1).

Para os processamentos realizados para atender ao objetivo 2, o acompanhamento da pós-acidificação foi realizado através das análises de pH e acidez após 1, 8, 15, 22 e 29 dias de armazenamento refrigerado (5℃ ± 1℃). Nos mesmos dias também foram realizadas as análises de sinérese espontânea e firmeza.

As amostras foram aleatoriamente escolhidas tanto para as análises de sinérese e firmeza, como para as análises de pH, acidez, extrato seco total, proteína total, gordura e cinzas.

4.4.1. Determinação analítica

4.4.1.1. Análises físico-químicas

As determinações físico-químicas foram realizadas em triplicata para todos os iogurtes fabricados, de acordo com as seguintes metodologias:

- **pH:** determinado utilizando-se potenciômetro (Digimed/DM22) previamente calibrado, introduzindo-se o eletrodo diretamente na amostra homogênea.

- **Acidez titulável:** determinada através de titulação da amostra com hidróxido de sódio N/9 em presença do indicador fenolftaleína, de acordo com AOAC (1995).

- **Extrato seco total (EST):** determinado por secagem em estufa a 105°C, segundo AOAC (1995).

- **Proteína total:** determinada pelo método micro-Kjeldahl (AOAC 1995), utilizando o fator de conversão de nitrogênio para proteína igual a 6,38.

- **Gordura:** determinada gravimetricamente após extração em frascos de Mojonnier segundo AOAC (1995).

- **Cinzas:** determinado gravimetricamente por incineração em forno mufla a 550°C, de acordo com AOAC (1995).

4.4.1.2. Determinação de sinérese:

As análises de sinérese espontânea, por drenagem e por centrifugação descritas nos itens 4.4.1.2.1, 4.4.1.2.2 e 4.4.1.2.3 respectivamente, foram realizadas em quintuplicata para atender ao objetivo 1. Para o objetivo 2, foi realizada apenas a análise de sinérese espontânea em triplicata.

4.4.1.2.1. **Sinérese espontânea**: foi determinada pela metodologia utilizada por FISZMAN, LLUCH e SALVADOR (1999), através da coleta do

soro liberado de forma espontânea do produto, o qual permaneceu em seu recipiente de fermentação para a análise. O soro acumulado na superfície do produto foi retirado com auxílio de uma seringa. As análises foram realizadas à temperatura ambiente com exposição máxima do produto de 2 minutos. A sinérese foi expressa em gramas de soro por 100 gramas do produto.

4.4.1.2.2. **Sinérese por drenagem**: determinada pela quantidade de soro drenado por 30 minutos a 4°C, usando uma penei ra de aço inoxidável de 120 mesh, conforme descrito por DE WIT (1988). O produto foi retirado de seu recipiente de fermentação e transferido para a peneira, e o soro liberado foi coletado em provetas graduadas. A sinérese foi expressa em gramas de soro por 100 gramas do produto.

4.4.1.2.3. **Sinérese por centrifugação**: foi determinada pela expulsão do soro sob força centrífuga pela metodologia utilizada por KEOGH & O'KENNEDY (1998) com modificações na força de centrifugação. O iogurte formado em tubos de centrífuga foi submetido à centrifugação de 120 g (1000 rpm) por 10 minutos a 4°C (centrífuga Beckman, modelo J2-21, rotor JA-20). O soro sobrenadante foi retirado com auxílio de uma seringa, e pesado. O resultado foi expresso em gramas de soro liberado por 100 gramas do produto.

4.4.1.3. Determinação de firmeza

Determinada segundo OLIVEIRA *et al* (2001) para atender ao objetivo 2. Determinou-se a firmeza dos iogurtes através de texturômetro (Stable Micro Systems – TAXT2i) em teste de compressão única. A célula de carga utilizada foi de 25 Kg e o probe utlizado foi um cilindro de acrílico (2,5 cm de diâmetro, distância 15 mm, velocidade: 2 mm s^{-1}). As análises foram realizadas a 5°C ± 1°C,

em triplicata e determinadas diretamente nos copos de iogurte. A firmeza foi considerada a força máxima necessária para a penetração no produto.

4.5. Delineamento experimental

Para atender ao objetivo 1, utilizou-se a metodologia de superfície de resposta para avaliar a influência da concentração e do tipo dos polissacarídeos sobre a sinérese dos iogurtes. Os experimentos foram realizados conforme um planejamento fatorial 2^2 completo, composto por 4 pontos fatoriais (níveis -1 e +1), 4 pontos axiais (níveis -1,41 e +1,41), e 3 pontos centrais (nível 0), totalizando 11 ensaios experimentais (processamentos). As variáveis independentes analisadas foram concentrações de goma tara e carragena. Como variável dependente, avaliou-se três respostas: sinérese espontânea, sinérese por drenagem e sinérese por centrifugação.

Todos os resultados foram analisados estatisticamente utilizando-se o software Statistica V.5.0 (Statsoft). Para se compor os modelos ajustados com suas respectivas superfícies, foram considerados os parâmetros estatisticamente significativos a $p \leq 0,05$.

A Tabela 4.1 apresenta os níveis decodificados das variáveis independentes definidos com base em experimentos exploratórios e a Tabela 4.2 apresenta as condições em níveis codificados e os decodificados correspondentes dos 11 ensaios experimentais.

Tabela 4.1 – Níveis decodificados das variáveis.

Variáveis Independentes	**Níveis**				
	-1,41	**-1**	**0**	**1**	**1,41**
Goma tara (%)	0	0,0085	0,0293	0,05	0,0585
Carragena (%)	0	0,0085	0,0293	0,05	0,0585

Tabela 4.2 – Níveis codificados e decodificados das variáveis para os ensaios.

Ensaios	**Níveis codificados**		**Valores reais (%)**	
	Goma tara	**Carragena**	**Goma tara**	**Carragena**
1	-1	-1	0,0085	0,0085
2	1	-1	0,05	0,0085
3	-1	1	0,0085	0,05
4	1	1	0,05	0,05
5	-1,41	0	0	0,0293
6	1,41	0	0,0585	0,0293
7	0	-1,41	0,0293	0
8	0	1,41	0,0293	0,0585
9	0	0	0,0293	0,0293
10	0	0	0,0293	0,0293
11	0	0	0,0293	0,0293

O delineamento experimental adotado para o desenvolvimento do objetivo 2 foi o de parcelas subdivididas (Split-Plot) em blocos com três repetições. O bloco foi o iogurte obtido em cada um dos três processamentos, e as parcelas foram os tratamentos aplicados com 3 níveis de variação: controle (Ctr), 0,02% goma tara (T), 0,02% goma tara + 0,02% carragena (T+C). A sub-parcela foi o tempo de armazenamento com 5 níveis de variação: 1, 8, 15, 22 e 29 dias de armazenamento refrigerado.

Os efeitos dos tratamentos, do tempo de armazenamento, e de suas interações sobre as características estudadas, foram analisados por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey de comparações de médias, considerando um nível de significância de 5%. Os cálculos foram realizados com auxílio do programa estatístico Statistica V.5.0 (Statsoft).

5. Resultados e Discussão

5.1. Resultados e discussão do objetivo 1

5.1.1. Caracterização do processo de fermentação

A Tabela 5.1 apresenta as caracter

ísticas do processo de fermentação dos iogurtes obtidos.

Tabela 5.1 – Características do processo de fermentação dos iogurtes obtidos.

	Processamentos (ensaios)										
Características	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**
pH inicial	6,52	6,46	6,57	6,39	6,41	6,54	6,35	6,42	6,62	6,36	6,33
pH final	4,83	4,83	4,77	4,82	4,78	4,85	4,82	4,85	4,85	4,84	4,81
Acidez inicial (% ác. lático)	0,24	0,25	0,20	0,21	0,25	0,23	0,23	0,25	0,23	0,25	0,25
Acidez final (% ác. lático)	0,77	0,86	0,79	0,74	0,83	0,88	0,77	0,87	0,87	0,74	0,80
Tempo de fermentação (minutos)	180	160	160	180	160	160	140	180	180	140	160

As Figuras 5.1 e 5.2 apresentam as curvas médias de desenvolvimento de pH e acidez durante o processo de fabricação dos iogurtes.

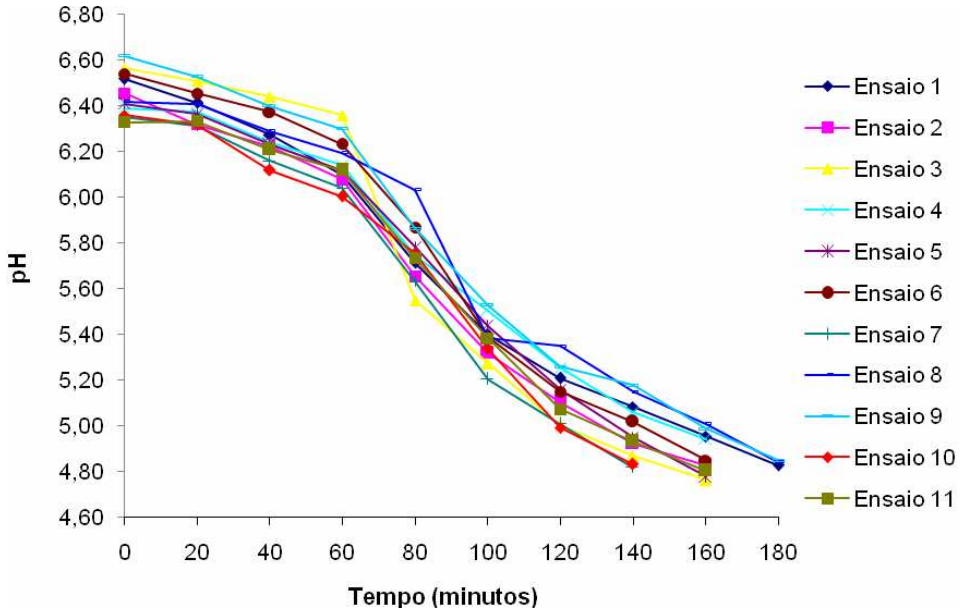

Figura 5.1 – Curva de desenvolvimento de pH durante o processo de fabricação do iogurte.

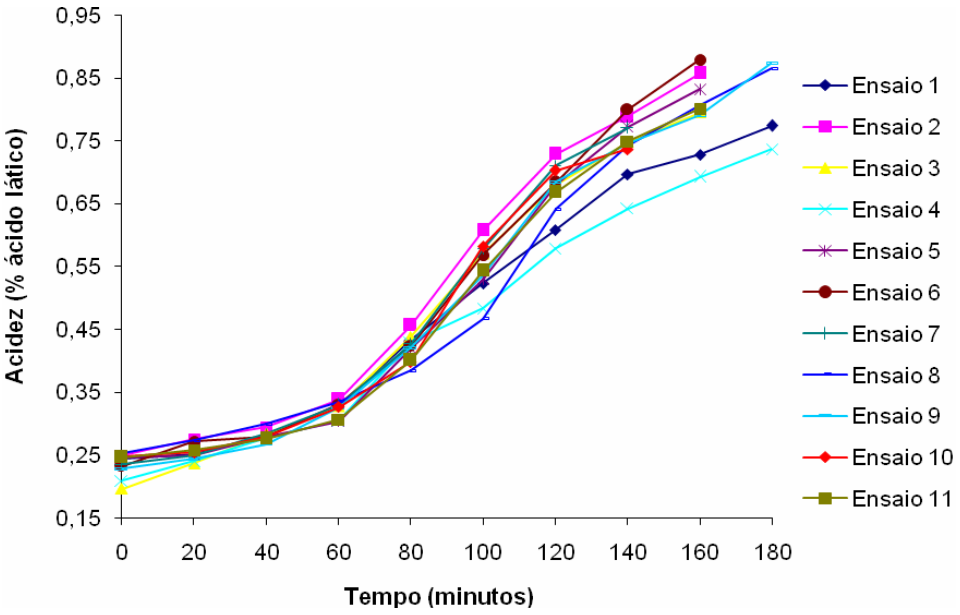

Figura 5.2 – Curva de desenvolvimento de acidez durante o processo de fabricação do iogurte.

5.1.2. Características físico-químicas dos produtos obtidos

Os tratamentos não afetaram significativamente o extrato seco total (p = 0,01), teor de proteína (p = 0,09), de gordura (p = 0,50), de cinzas (p = 0,02) e nem de lactose. A composição média dos iogurtes produzidos nos 11 ensaios foi de 12,51 $\pm$ 0,04% de extrato seco total, 4,9 $\pm$ 0,2% de proteína, 0,11 $\pm$ 0,01% de gordura, 1,06 $\pm$ 0,01% de cinzas e 6,41 $\pm$ 0,1% de lactose. Os resultados estão apresentados na Tabela 1 do Anexo 1.

5.1.3. Estudo da influência das concentrações de goma tara e carragena na sinérese do iogurte firme desnatado

Na Tabela 5.2 encontram-se os resultados obtidos para a avaliação da sinérese espontânea, sinérese por drenagem e sinérese por centrifugação nos 11 experimentos. Observa-se que cada metodologia apresentou valores bastante distintos de sinérese. Isso se deve ao fato de que em cada uma foi empregada um tipo de determinação analítica diferente para a liberação do soro.

Tabela 5.2 – Concentração das variáveis e sinérese dos iogurtes.

Ensaios	Concentração (%)		Sinérese		
	Goma tara	**Carragena**	**Espontânea (g/100 g)**	**Drenagem (g/100 g)**	**Centrifugação (g/100 g)**
1	0,0085	0,0085	2,23	20,34	17,56
2	0,05	0,0085	6,60	28,71	4,91
3	0,0085	0,05	7,87	24,44	18,34
4	0,05	0,05	10,78	25,30	16,15
5	0	0,0293	1,08	26,06	5,34
6	0,0585	0,0293	20,72	38,62	23,70
7	0,0293	0	1,46	25,01	3,71
8	0,0293	0,0585	2,60	24,45	20,25
9	0,0293	0,0293	0,84	19,00	3,31
10	0,0293	0,0293	0,55	23,01	4,61
11	0,0293	0,0293	0,86	22,24	4,25

5.1.3.1. Sinérese espontânea

Na sinérese espontânea, na qual a liberação do soro se deu de forma espontânea pela reestruturação e compactação natural do gel de iogurte, foi observada uma grande variação nos resultados, estendendo-se de 0,55 g até 20,72 g de soro liberado por 100 g de iogurte (Tabela 5.2). Os valores que apresentaram a menor sinérese foram para a condição do ponto central (ensaios 9, 10 e 11), em que as concentrações de ambos os polissacarídeos foram intermediárias e idênticas (0,0293%).

Em contraposição, a condição que apresentou o pior resultado para sinérese espontânea foi o ensaio 6 (20,72 g de soro/100 g iogurte), que corresponde à concentração de 0,0585% de goma tara com 0,0293% de carragena. Outro ensaio que também apresentou bastante sinérese foi o ensaio 4 (10,78 g/100 g), caracterizado pela maior concentração total de polissacarídeos (0,1%).

Na Tabela 5.3, é possível observar o efeito de cada polissacarídeo e de suas interações na sinérese espontânea. Observa-se que apenas os termos linear e quadrático de goma tara afetaram significativamente a liberação de soro, o qual aumentou com a elevação da concentração de goma tara. Os efeitos da carragena e da interação entre goma tara e carragena não foram considerados significativos.

Tabela 5.3 – Efeito das variáveis e de suas interações na sinérese espontânea.

Fatores	Efeito estimado	Erro padrão	t	p-valor
Média	0,75	2,03	0,37	0,73
Goma tara (linear)	8,77	2,48	3,53	0,02
Goma tara (quadrática)	10,40	2,96	3,51	0,02
Carragena (linear)	2,86	2,48	1,15	0,30
Carragena (quadrática)	1,48	2,96	0,50	0,64
Goma tara x Carragena	-0,73	3,51	-0,21	0,84

A Tabela 5.4 apresenta os coeficientes de regressão e a Tabela 5.5 apresenta a análise de variância (ANOVA), considerando apenas os termos significativos para a sinérese espontânea.

Tabela 5.4 – Coeficientes de regressão para sinérese espontânea.

Fatores	Coeficiente de regressão
Média	1,44
Goma tara (linear)	4,39
Goma tara (quadrática)	4,99

Tabela 5.5 – Análise de variância para a sinérese espontânea.

Fonte de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	$F_{calculado}$	p-valor
Regressão	305,57	2	152,79	15,00	0,002
Resíduos	81,48	8	10,18		
Falta de ajuste	81,42	6	13,57	433,09	0,002
Erro puro	0,06	2	0,03		
Total	387,05	10			

Coeficiente de determinação (R^2)= 0,79

$F_{2;\ 8;\ 0,05}$ = 4,46

O coeficiente de determinação (R^2) é uma medida da proporção da variação explicada pelo modelo em relação à variação total das respostas. Para a sinérese espontânea, o coeficiente de determinação indica que 79% da variação total em torno da média pode ser explicada pelo modelo. O valor encontrado para a relação $F_{calculado}$ e $F_{tabelado}$ de 3,36 ($p<0,05$) indica que o modelo foi estatisticamente significativo e preditivo, podendo ser usado para verificar as tendências da sinérese espontânea.

O modelo ajustado para determinar o grau de sinérese espontânea na região estudada foi:

$$\text{Sinérese Espontânea} = 1{,}44 + 4{,}39\ T + 4{,}99\ T^2,$$

onde os valores de T (goma tara) devem ser usados em valores codificados.

A Figura 5.3 apresenta os valores observados (experimentais) em função dos valores previstos pelo modelo. Observa-se que o modelo de 2ª ordem prevê de maneira satisfatória a tendência do comportamento da sinérese espontânea em função da variação das concentrações de goma tara.

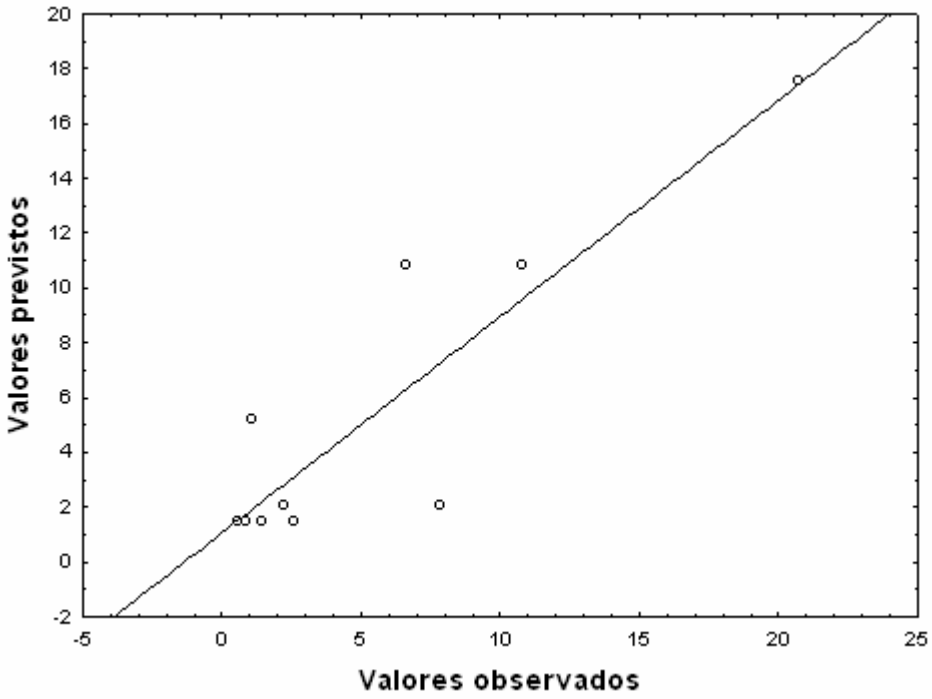

Figura 5.3 – Valores observados versus valores previstos para a sinérese espontânea.

Na Figura 5.4 observa-se o gráfico para a sinérese espontânea em função da concentração de goma tara, obtido a partir do modelo ajustado. Através desse gráfico foi possível avaliar que concentrações próximas a 0,02% de goma tara resultou em menor sinérese espontânea. Baixas concentrações, isto é, inferiores a 0,01% e concentrações superiores a 0,03%, contribuíram para o aumento da sinérese espontânea do iogurte.

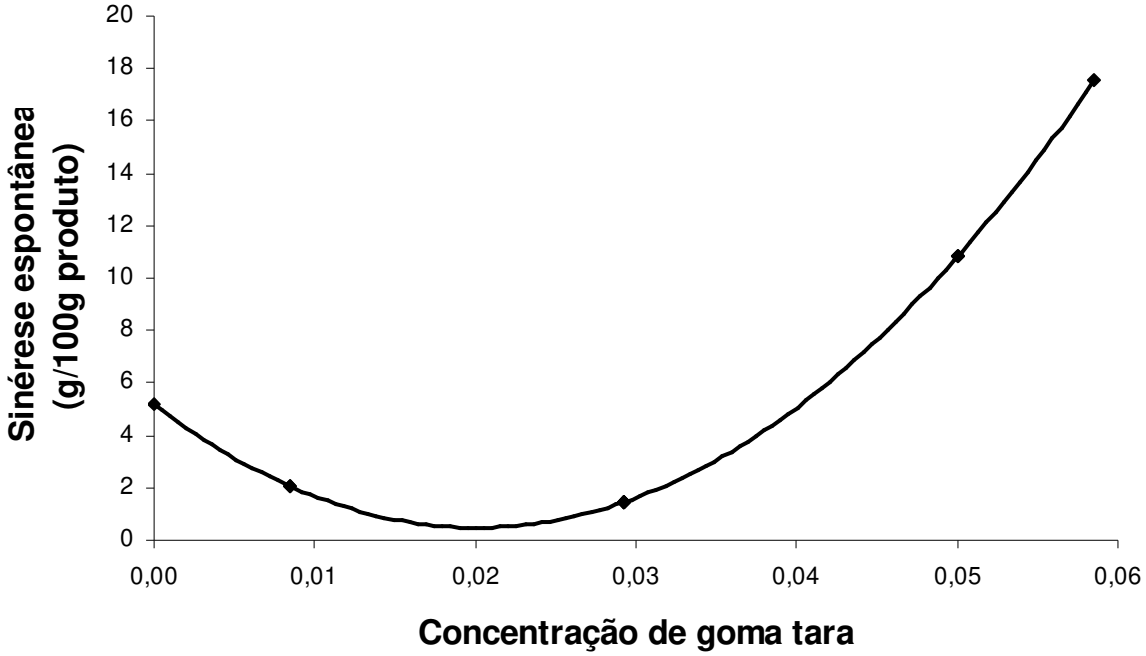

Figura 5.4 – Gráfico da sinérese espontânea em função de goma tara.

5.1.3.2. Sinérese por drenagem

Na sinérese por drenagem, o iogurte formado nos frascos cilíndricos sofre uma perturbação ao ser transferido para a peneira, desestruturando e quebrando seu gel e tornando-o mais susceptível à liberação de soro. Este fato é facilmente observado pelos valores maiores na porcentagem de sinérese em relação à sinérese espontânea (Tabela 5.2).

Observa-se também que a menor sinérese correspondeu novamente aos pontos centrais (ensaios 9, 10 e 11), com valores de 19,00; 23,01 e 22,24g/100 g de iogurte respectivamente. O ensaio 1, que possui as condições de goma tara e carragena no nível -1 (0,0085%), apresentou sinérese por drenagem da ordem de 20,34 g/100 g de iogurte, que é próximo dos pontos centrais. Como observado na sinérese espontânea, o ensaio 6 (goma tara no nível 1,41 e carragena no nível 0) obteve o resultado de maior sinérese (38,62 g/100 g de iogurte).

A Tabela 5.6 apresenta os efeitos das variáveis para a sinérese por drenagem. Como para a sinérese espontânea, observa-se que os parâmetros que foram significativos foram a goma tara linear e quadrática, e que o aumento da concentração de goma tara proporciona uma elevação na sinérese por drenagem. Os efeitos da carragena e da interação entre goma tara e carragena não foram significativos.

Tabela 5.6 – Efeito das variáveis e de suas interações na sinérese por drenagem.

Fatores	Efeito estimado	Erro padrão	t	p-valor
Média	21,43	1,80	11,92	<0,001
Goma tara (linear)	6,75	2,21	3,06	0,03
Goma tara (quadrática)	9,02	2,63	3,43	0,02
Carragena (linear)	-0,02	2,21	-0,01	0,99
Carragena (quadrática)	1,37	2,63	0,52	0,63
Goma tara x Carragena	-3,75	3,11	-1,21	0,28

Na Tabela 5.7 se encontram os coeficientes de regressão e a Tabela 5.8 apresenta a análise de variância (ANOVA), considerando apenas os termos significativos para a sinérese por drenagem.

Tabela 5.7 – Coeficientes de regressão para sinérese por drenagem.

Fatores	Coeficiente de regressão
Média	22,07
Goma tara (linear)	3,38
Goma tara (quadrática)	4,31

A equação encontrada para determinar o grau de sinérese por drenagem na região estudada foi:

$$\text{Sinérese por drenagem} = 22{,}07 + 3{,}38\ T + 4{,}31T^2,$$

para valores codificados de T (goma tara).

A partir da análise de variância (ANOVA), observa-se que a relação de $F_{calculado}/F_{tabelado}$ foi de 2,82%, e o p-valor ficou estabelecido em 0,003; tornando a equação de regressão significativa a 99% de confiança. O coeficiente de determinação encontrado indica que 75% da variação pode ser explicada pelo modelo.

Tabela 5.8 – Análise de variância para a sinérese por drenagem.

Fonte de variação	Soma de quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	$F_{calculado}$	p-valor
Regressão	204,84	2	102,42	12,57	0,003
Resíduos	65,19	8	8,15		
Falta de ajuste	56,12	6	9,35	2,06	0,362
Erro puro	9,07	2	4,54		
Total	270,02	10			

Coeficiente de determinação: R^2 =0,75

$F_{2;\ 8;\ 0,05}$ = 4,46

Pela Figura 5.5, na qual se encontra o gráfico dos valores observados em função dos valores previstos pelo modelo, observa-se que é possível prever através do modelo a tendência do comportamento da sinérese por drenagem em função da variação das concentrações de goma tara e carragena.

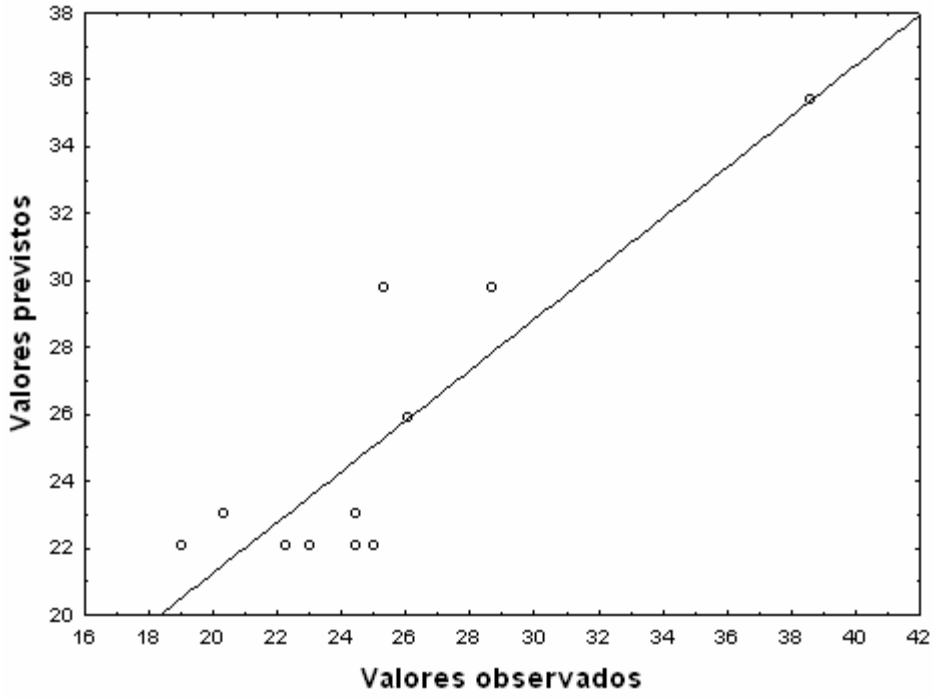

Figura 5.5 – Valores observados versus valores previstos para a sinérese por drenagem.

A Figura 5.6 apresenta o gráfico da sinérese por drenagem em função de goma tara obtido a partir do modelo ajustado validado pela ANOVA. Assim como observado para a sinérese espontânea, a concentração de goma tara que proporcionou menor liberação de soro também é próxima a 0,02% e em concentrações inferiores a 0,01% e superiores a 0,03% de goma tara elevaram a liberação de soro.

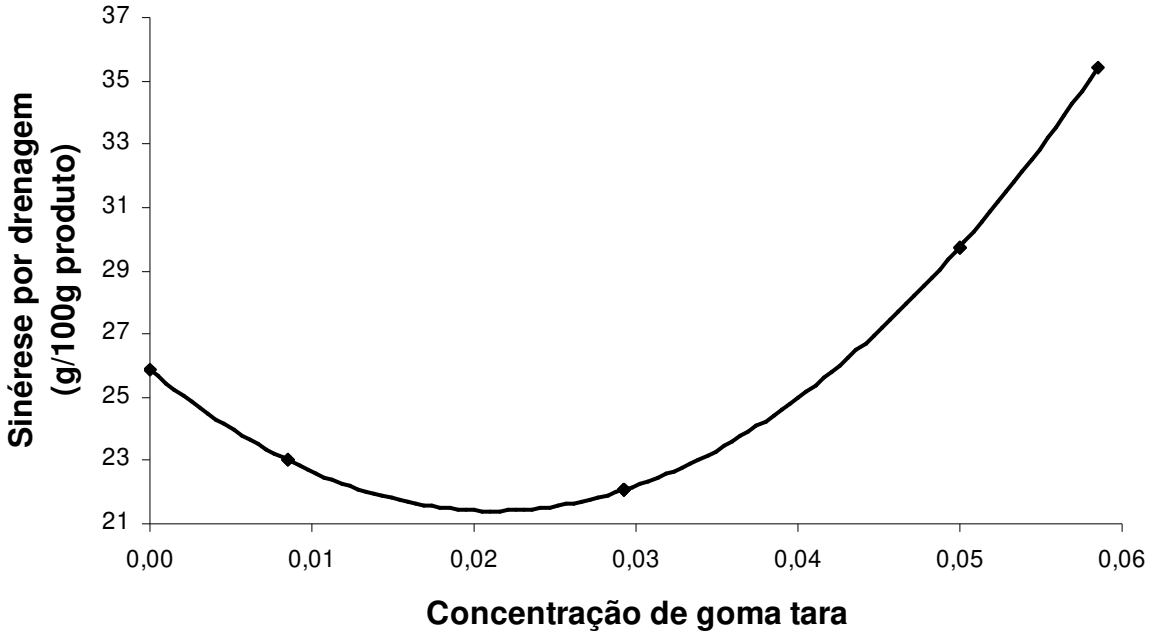

Figura 5.6 – Gráfico da sinérese por drenagem em função de goma tara.

5.1.3.3. Sinérese por centrifugação

Na sinérese por centrifugação, a força empregada para liberação do soro é a força centrífuga. Dependendo da magnitude da força aplicada, pode haver maior ou menor liberação da fase aquosa. A aplicação de forças relativamente altas pode estar relacionada mais à rigidez da rede de gel formada, ou seja, à capacidade desta rede de resistir às forças externas empregadas, do que à liberação de soro de forma espontânea. Nesta metodologia, foi empregada uma força centrífuga relativamente baixa, pois o objetivo foi de relacionar os resultados obtidos à liberação espontânea do soro e não à capacidade de retenção de água, conforme LUCEY, MUNRO e SINGH (1998b).

Observando a Tabela 5.2, nota-se que os menores valores de sinérese por centrifugação ocorreram nos pontos centrais (ensaios 9, 10 e 11), com valores de 3,31; 4,61 e 4,25 g / 100 g de iogurte. Tal resultado é semelhante ao observado para

sinérese espontânea e por drenagem. Outro ponto que apresentou baixa liberação de soro pela metodologia de centrifugação foi o ensaio 7, que corresponde à condição dos níveis 0 para goma tara e -1,41 para carragena, 0,0293% e 0% respectivamente, apresentando um valor de 3,71 g / 100 g do produto. Novamente o ensaio que obteve a maior sinérese foi o ensaio 6 (goma tara no nível 1,41 e carragena no nível 0) com a liberação de 23,70 g de soro / 100 g de iogurte. O iogurte controle (sem polissacarídeos) obteve para sinérese por centrifugação o valor de 16,16 g / 100 g do produto, sendo considerado um valor relativamente alto se comparado com os resultados dos pontos centrais.

Pela Tabela 5.9, observa-se que nenhuma das variáveis (goma tara e carragena) apresentou efeito significativo na sinérese por centrifugação. Ou seja, dentro das faixas de concentração de goma tara e carragena estipuladas pelo planejamento experimental, não houve influência no soro liberado através da metodologia de sinérese por centrifugação, tornando o modelo não preditivo.

Tabela 5.9 – Efeito das variáveis e de suas interações na sinérese por centrifugação.

Fatores	Efeito estimado	Erro padrão	t	p-valor
Média	4,05	3,89	1,04	0,35
Goma tara (linear)	2,77	4,77	0,58	0,59
Goma tara (quadrática)	11,00	5,70	1,93	0,11
Carragena (linear)	8,86	4,77	1,86	0,12
Carragena (quadrática)	8,45	5,70	1,48	0,20
Goma tara x Carragena	5,23	6,74	0,78	0,47

Os resultados indicaram que independentemente da forma de avaliação da sinérese: espontânea, por drenagem ou por centrifugação, na condição do ponto central (0,0293% de goma tara + 0,0293 de carragena) observou-se a menor sinérese do iogurte. Paralelemente, para as três formas de avaliação a maior sinérese foi observada na condição de concentração dos polissacarídeos correspondeu ao ensaio 6 (0,0585% de goma tara, e 0,0293% de carragena).

A concentração de goma tara afetou significativamente a liberação de soro quando avaliado por sinérese espontânea e por drenagem. Em concentrações superiores a 0,0293% de goma tara verificou-se o aumento da liberação de soro (Tabela 5.2). Resultado semelhante foi encontrado por ÜNAL, METIN e IŞILKLI (2003) para goma locusta, que é também uma galactomanana. Os autores verificaram que concentrações acima de 0,02% de goma locusta em iogurte firme desnatado proporcionavam um aumento na sinérese do produto.

A interação entre a goma tara e a carragena não afetou significativamente a sinérese em nenhuma forma de avaliação. Cabe ressaltar que nesta etapa do trabalho a sinérese foi avaliada dois dias após a fabricação do iogurte e o efeito do tempo de armazenamento sobre a sinérese não foi avaliado.

A interação da carragena com a caseína pode se dar de duas formas: pela adsorção da carragena da superfície da micela, através das cargas negativas ou pela formação de um gel fraco de carragena que retem as micelas de caseína em suspensão (SPAGNUOLO *et al*, 2005). A diminuição do pH durante a fermentação afeta diretamente o comportamento da caseína, que tende a se associar conforme se aproxima do ponto isoelétrico (pI), aumentando sua incompatibilidade com os polissacarídeos. Com a redução contínua do pH para abaixo do pI, a caseína se torna ligeiramente positiva favorecendo a interação com a carragena, podendo dar lugar à coacervação complexa (PENNA, OLIVEIRA e TAMIME, 2003).

A goma tara, um polissacarídeo de propriedades espessantes, parece participar interagindo com a fase aquosa do sistema, aumentando a viscosidade e

diminuindo a sinérese. Comportamento semelhante foi observado para *cream cheese* (54,29% ± 1,52% de umidade e pH 4,83 ± 0,05) fabricado com goma locusta, também um polissacarídeo neutro e espessante (GIGANTE, ALMENA-ALISTE, KINDSTEDT, 2006). Segundo estes autores, o decréscimo da viscosidade da fase aquosa do *cream cheese* implicou no aumento da fase soro liberado.

É possível que a partir de uma dada concentração de goma tara, nas condições estudadas neste trabalho da ordem de 0,0293%, o aumento da sinérese seja decorrente da incompatibilidade termodinâmica do polissacarídeo do sistema. Neste caso, seria caracterizada pelo favorecimento da interação entre a goma tara e o solvente (soro) em detrimento da interação entre os polissacarídeos (DOUBLIER *et al*, 2000).

As concentrações escolhidas para serem utilizadas no objetivo 2, que avalia o produto ao longo do tempo, foram iogurte controle, ou seja, sem adição de polissacarídeos, iogurte com 0,02% de goma tara e iogurte com 0,02% de goma tara + 0,02% de carragena, que apresentaram a menor sinérese em qualquer forma de avaliação.

5.2. Resultados e discussão do objetivo 2

5.2.1. Composição do iogurte

As características físico-químicas dos iogurtes são apresentadas na Tabela 5.10, bem como a média das triplicatas de processamento e seu desvio padrão dos três tratamentos: iogurte controle, iogurte com adição de 0,02% de goma tara, e iogurte com adição de 0,02% de goma tara + 0,02% de carragena. Observa-se que os tratamentos não afetaram significativamente a composição dos produtos.

Tabela 5.10 – Efeito do tratamento sobre as características físico-químicos do iogurte.

Características	Tratamentos		
	Controle	**Goma tara**	**Goma tara + Carragena**
pH	4,6 ± 0,1[a]	4,7 ± 0,2[a]	4,7 ± 0,02[a]
EST (%)	12,3 ± 0,2[a]	12,1 ± 0,3[a]	12,3 ± 0,1[a]
Proteína (%)	4,3 ± 0,1[a]	4,4 ± 0,1[a]	4,39 ± 0,02[a]
Gordura (%)	0,10 ± 0,01[a]	0,10 ± 0,01[a]	0,10 ± 0,01[a]
Cinzas (%)	1,07 ± 0,04[a]	1,06 ± 0,05[a]	1,07 ± 0,05[a]
Lactose (%)	6,51 ± 0,08[a]	6,3 ± 0,1[a]	6,44 ± 0,09[a]

[a] Médias com a mesma letra na linha não diferem significativamente entre si (p≤0,01)

5.2.2. Efeito dos tratamentos e do tempo de armazenamento sobre a sinérese, firmeza e pós-acidificação

A Tabela 5.11 apresenta o efeito dos tratamentos, do tempo e da interação destes fatores sobre a sinérese, a firmeza e a pós-acidificação dos iogurtes. Os resultados da análises de sinérese espontânea, firmeza e pH encontram-se no Anexo II.

Tabela 5.11 – Efeito do tratamento e do tempo de armazenamento refrigerado sobre a sinérese, firmeza e pós-acidificação do iogurte.

Variáveis	Valores de p-valor		
	Sinérese	**Firmeza**	**pH**
Tratamento*	<0,01	<0,05	<0,01
Tempo**	ns***	<0,01	<0,01
Tratamento x tempo	ns***	ns***	ns***

* Iogurte controle, iogurte com 0,02% de goma tara, iogurte com 0,02% de goma tara mais 0,02% de carragena.

** Armazenamento refrigerado a 5℃ ± 1℃, por 29 di as.

*** não significativo.

Observa-se que a sinérese foi afetada significativamente apenas pelos tratamentos. Na Figura 5.7, observa-se que os iogurtes que continham goma tara e carragena foram os que apresentaram menor sinérese (0,44g de soro/ 100g de iogurte), enquanto que a quantidade de soro liberado pelos iogurtes fabricados apenas com a goma tara foi praticamente três vezes maior (1,22g de soro/ 100g de iogurte). Os dados indicam que nestas condições de processamento, concentração de gomas e armazenamento, a associação dos dois polissacarídeos afetou positivamente a sinérese do produto, possivelmente devido ao aumento da viscosidade da fase aquosa do sistema. O efeito sinérgico entre goma tara e carregena foi demonstrado por outros autores em sistemas modelo com água (MURAYAMA, ICHIKAWA, KAWABATA, 1995a; MURAYAMA, ICHIKAWA, KAWABATA, 1995b, PARKER *et al*, 1995) e em produtos lácteos como *cream cheese* por HUNT e MAYNES (1997).

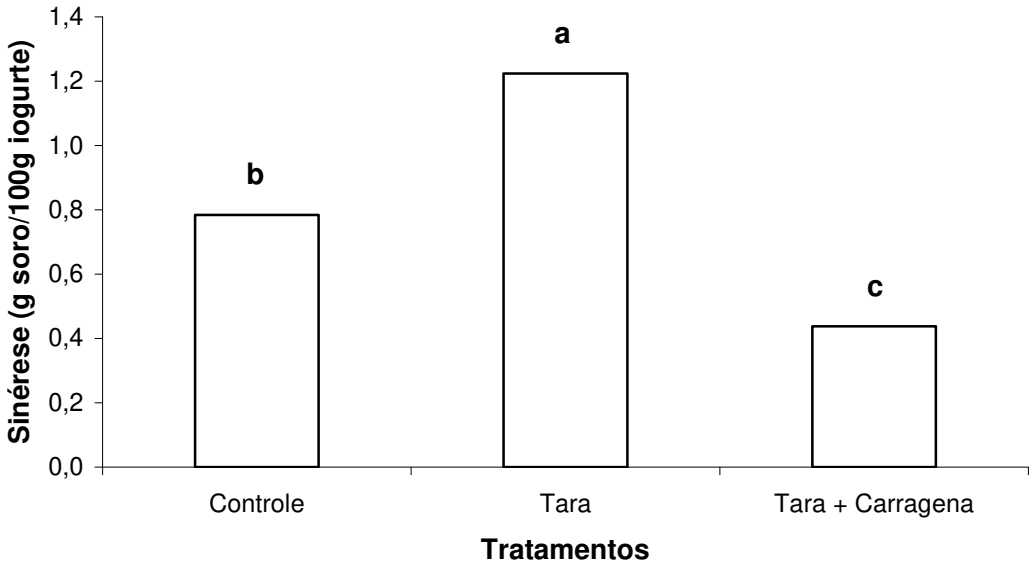

Figura 5.7 – Efeito dos tratamentos sobre a sinérese dos produtos.

O tempo de armazenamento não afetou significativamente a liberação de soro do gel, fato que também foi observado por TAMIME, BARRANTES e SWORD (1996) em iogurtes firmes desnatados adicionados de substitutos de gordura à base de amido.

A firmeza dos iogurtes foi afetada significativamente tanto pelos tratamentos quanto pelo tempo, porém não pela interação entre tratamento x tempo (Tabela 5.11).

A menor firmeza encontrada foi para os iogurtes fabricados com goma tara e carragena, entretanto este apresentou diferença significativa apenas em relação ao iogurte controle. O iogurte com goma tara apresentou valor intermediário de firmeza não diferenciando significativamente de nenhum dos outros tratamentos (Figura 5.8).

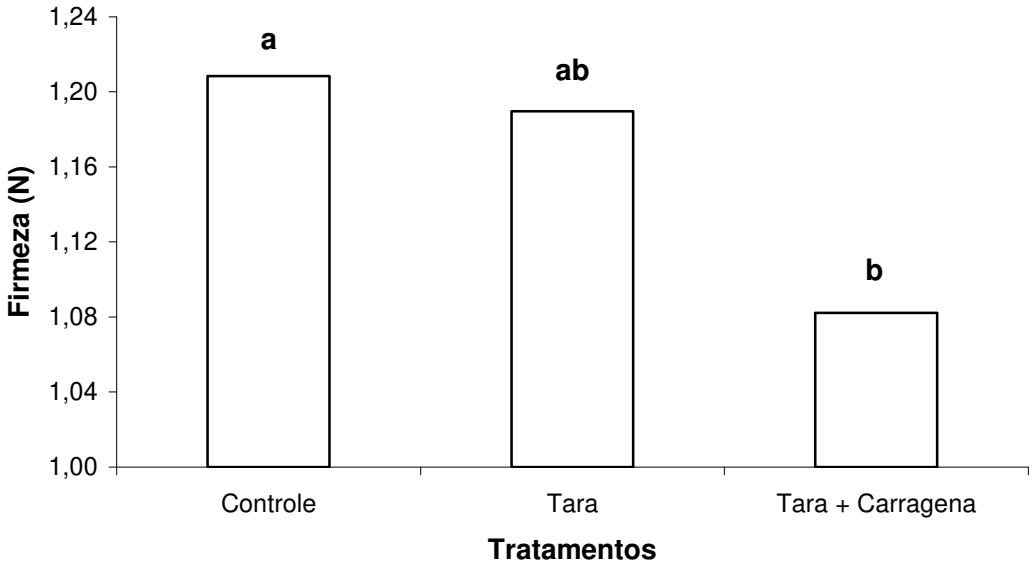

Figura 5.8 – Efeito dos tratamentos sobre a firmeza dos produtos.

Na Figura 5.9, observa-se que a firmeza aumentou ao longo do tempo. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por OLIVEIRA et al (2001), que avaliaram a firmeza de iogurtes no primeiro e no sétimo dia após a fermentação e verificaram um aumento significativo da firmeza, provavelmente devido a uma reestruturação do gel durante o tempo de armazenamento.

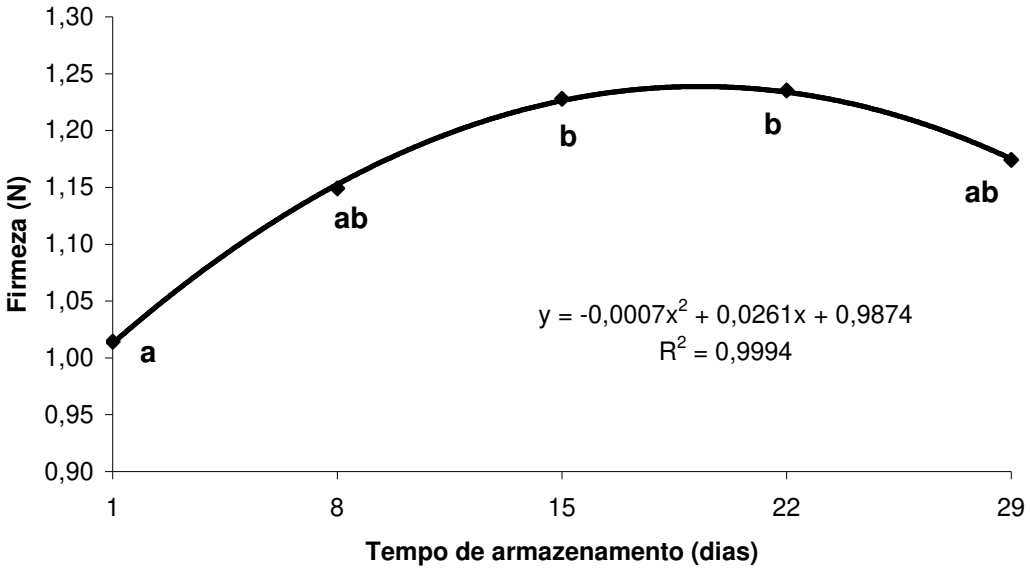

Figura 5.9 – Efeito do tempo de armazenamento refrigerado (5°C) sobre a firmeza dos iogurtes.

O pH dos produtos durante o tempo de vida útil foi afetado significativamente pelos tratamentos e pelo tempo, contudo a interação entre tratamento x tempo não possuiu efeito significativo (Tabela 5.11).

Em relação ao efeito dos tratamentos sobre o pH, observa-se na Figura 5.10 que houve diferença significativa entre o iogurte controle, cujo pH foi de 4,45 e o fabricado com goma tara e carragena com pH de 4,56. Entretanto, do ponto de vista tecnológico, esta diferença não é considerada importante uma vez que a variação de pH é de apenas 0,11; uma variação aceitável e normal para o produto.

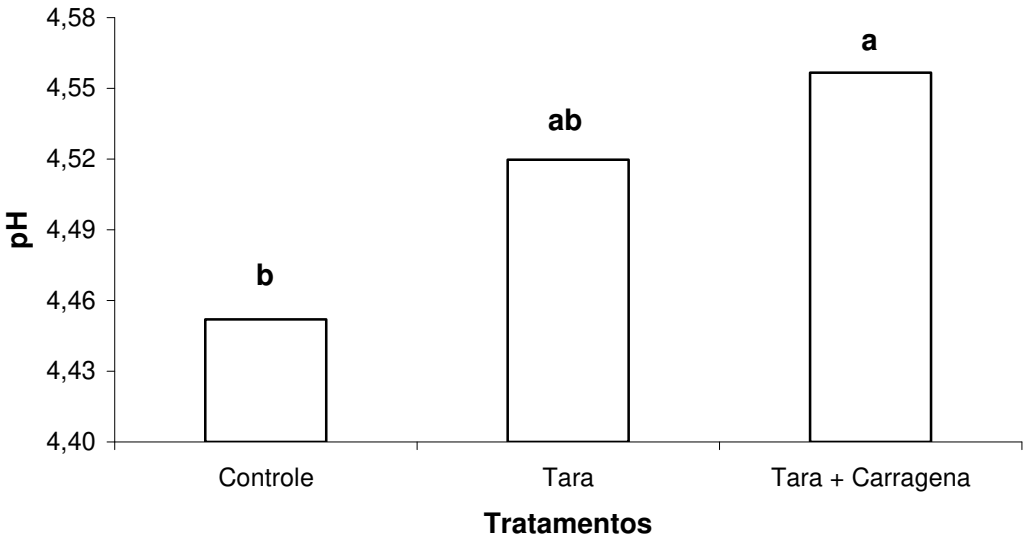

Figura 5.10 – Efeito dos tratamentos sobre o pH dos iogurtes.

Observa-se na Figura 5.11 que o tempo de armazenamento (5 ± 1℃) afetou significativamente o pH dos iogurtes entre o primeiro e o oitavo dia, quando ocorreu uma diminuição de pH mais acentuada (0,17 unidades de pH); enquanto que durante o período posterior do tempo de armazenamento observou-se a estabilização do pH. Esta pequena diminuição do pH ao longo do tempo de armazenamento também foi verificada por SALVADOR e FIZSMAN (2004) em iogurtes firmes integrais e desnatados.

Durante o armazenamento refrigerado, a atividade metabólica dos microorganismos diminui intensamente, porém a produção de ácido láctico ainda é suficiente para reduzir o pH ao longo do tempo, este fenômeno é conhecido por pós-acidificação. Contudo, a produção contínua de ácido láctico afeta o desenvolvimento dos próprios microorganismos, inibindo-os. Essa inibição diminui a produção de ácido láctico e conseqüentemente a redução do pH (WALSTRA et al., 1999).

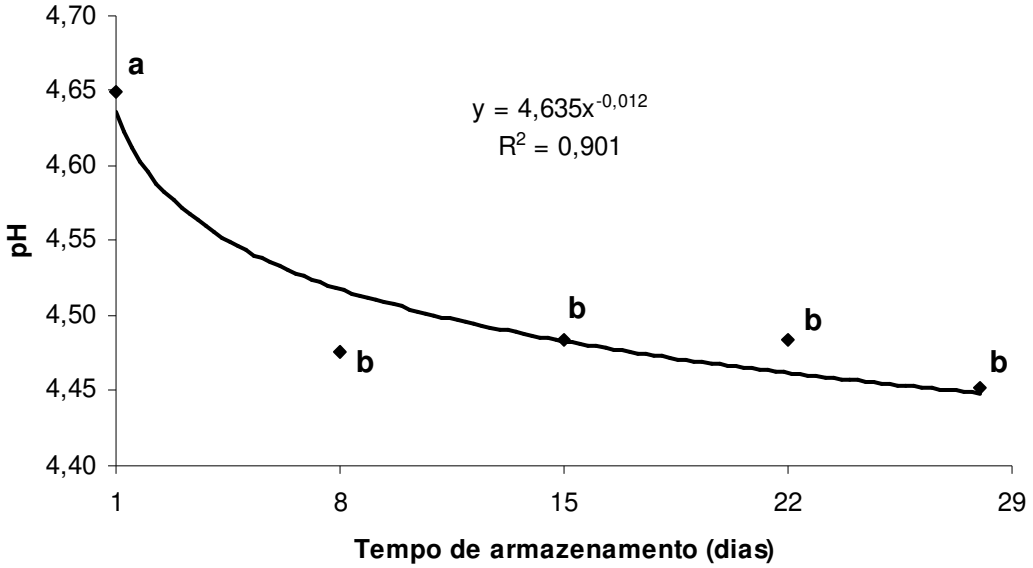

Figura 5.11 – Efeito do tempo de armazenamento refrigerado (5℃) sobre o pH dos iogurtes.

A Figura 5.12 apresenta a correlação entre o pH e firmeza do iogurte, onde observou-se que com a diminuição do pH houve um aumento progressivo da firmeza. Esse aumento da firmeza com a redução do pH deve-se possivelmente às interações entre os polímeros presentes nos sistemas constituídos de apenas proteínas do leite (controle), de proteínas do leite e goma tara, e de proteínas do leite, goma tara e carragena, não sendo possível isolar os fatores para discussão.

No caso do iogurte fabricado com goma tara e carragena, esse aumento da firmeza pode estar relacionado a uma possível rigidez do gel proporcionado pela interação da carragena com a caseína, que abaixo do pI se torna levemente positiva favorecendo interações com a carragena (PENNA, OLIVEIRA e TAMIME, 2003).

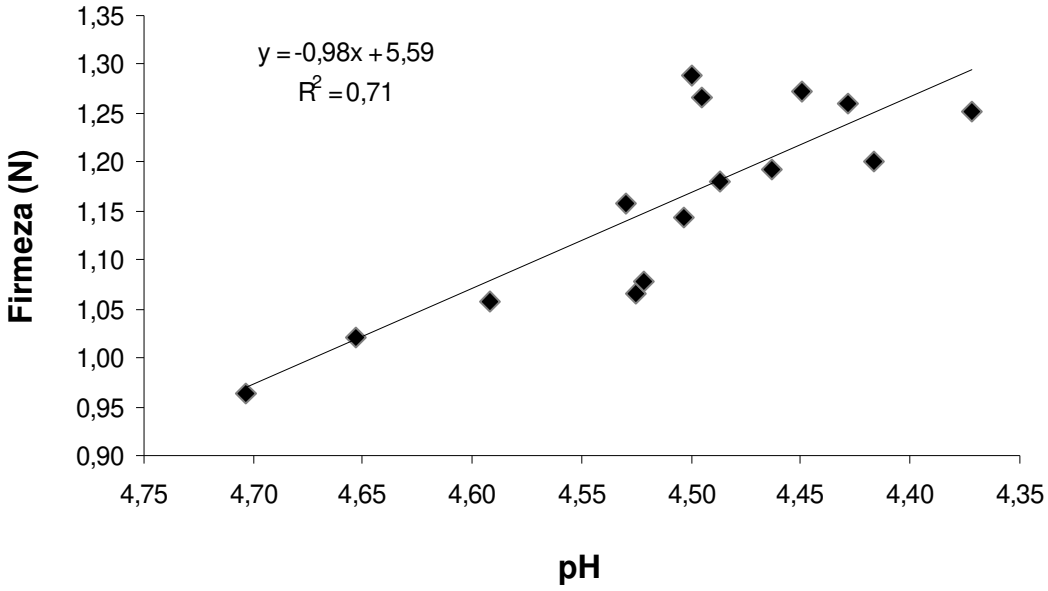

Figura 5.12 – Correlação entre pH e firmeza.

4. CONCLUSÕES

- Através da superfície de resposta observou-se que a goma tara afetou significativamente a sinérese espontânea e por drenagem, porém a carragena e a interação entre os dois polissacarídeos não afetaram significativamente a sinérese do iogurte avaliada dois dias após a fabricação do produto;

- A menor sinérese foi observada para a concentração de 0,02% de goma tara. A redução ou o aumento além dessas concentrações favoreceram a liberação de soro.

- Os iogurtes fabricados com adição de 0,02% de goma tara e 0,02% de carragena apresentaram menor sinérese espontânea que os iogurtes controle e os fabricados com 0,02% de goma tara durante o armazenamento refrigerado;

- Os iogurtes fabricados com adição de 0,02% de goma tara e 0,02% de carragena apresentaram menor firmeza que os iogurtes controle e não diferiram significativamente dos fabricados com 0,02% de goma tara, durante o armazenamento refrigerado;

- Para todos os tratamentos a firmeza aumentou significativamente durante o armazenamento refrigerado dos iogurtes por 29 dias;

- Os iogurtes fabricados com adição de 0,02% de goma tara e 0,02% de carragena apresentaram maior pH que os iogurtes controle e não diferiram significativamente dos fabricados com 0,02% de goma tara, durante o armazenamento refrigerado;

- Para todos os tratamentos o pH diminuiu significativamente durante o armazenamento refrigerado dos iogurtes por 29 dias.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International.** 16ª ed, Virginia, 1995.

BHULLAR, Y. S.; UDDIN, M. A.; SHAH, N. P. Effects of ingredients supplementation on textural characteristics and microstructure of yoghurt. **Milchwissenschaft**, v.57, n. 6, p. 328-332, 2002.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF):** através da Comunicação Social de 19 de maio de 2004. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_impressao.php?id_noticia=171>. Acesso em 18 nov. 2008.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Resolução nº5 de 13 de novembro de 2000. Oficializa os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados: Diário Oficial da União de 27/11/2000. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=3285>. Acesso em 30 nov. 2006.

CHANDRASEKARAN, R.; RADHA, A.; OKUYAMA, K. Morphology of galactomananns: an x-ray structure analysis of guaran. **Carbohydrate Research**, v. 306, p. 243-255, 1998.

DANNEMBERG, F.; KESSLER, H.-G. Effect of denaturation of β-lactoglobulin on texture properties of set-style nonfat yoghurt. 1. Syneresis. **Milchwissenschaft**, v. 43, p. 632-635, 1988.

DE RUITER, G. A.; RUDOLPH, B. Carrageenan Biotechnology. **Trends in Food Science and Technology**, v. 8, p. 389-395, 1997.

DE WIT, J. N. Empirical observations and thermodynamical considerations on water-binding by whey proteins in food products. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 5, p. 1553-1559, 1988.

DICKINSON, E.; McCLEMENTS, D. J. Protein-polysaccharide interactions. In: Advances in Food Colloids. London: Blackie Academic & Professional – An Imprimant of Chapman & Hall, 1996. cap. 3, p. 81-101.

DOUBLIER, J.-L.; GARNIER, C.; RENARD, D.; SANCHEZ, C. Protein-polysaccharide interactions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 5, p. 202-214, 2000.

DROHAN, D. D.; TZIBOULA, A.; McNULTY, D., HORNE , D. S. Milk protein-carrageenan interactions. **Food Hydrocolloids**, v. 11, n. 1, p. 101-107, 1997.

EL-SAYED, E. M.; EL-GAEAD, I. A. A.; MURAD, H. A.; SALAH, S. H. Utilization of laboratory-produced xanthan gum in the manufacture of yoghurt and soy yoghurt. **European Food Research and Technology**, v. 215, p. 298-304, 2002.

EVERETT, D.W.; McLEOD, R. E.; Interactions of polysaccharide stabilizers with casein aggregates in stirred skim-milk yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 15, p. 1175-1183, 2005.

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

FISZMAN, S. M.; SALVADOR, A. Effect of gelatin on the texture of yoghurt and acid-heat induced milk gels. **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und – Forschung A**, v. 208, p. 100-105, fev, 1999.

FOX, P. F.; GUINEE, T.; COGAN, T.; McSWEENEY, P. L.H. **Fundamentals of Cheese Science.** Gaithersburg: Aspen Publishers, 2000, 587p.

GASTALDI, E.; LAGAUDE, A.; MARCHESSEAU, S.; TARODO DE LA FUENTE, B. Acid milk gel formation as affected by total solids content. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 4, p. 671-676, 1997.

GIGANTE, M.; ALMENA-ALISTE, M.; KINDSTEDT, P. S. Effect of cheese pH and temperature on serum phase characteristics of cream cheese during storage. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 1, p. c7-c11, 2006.

GLICKSMAN, M. **Food hydrocolloids**. Boca Raton: CRC Press Inc, 1982. v.1, 219p.

GLICKSMAN, M. **Food hydrocolloids**. Boca Raton: CRC Press Inc, 1983. v.2, 199p.

GLICKSMAN, M. **Food hydrocolloids**. Boca Raton: CRC Press Inc, 1986. v.3, 247p.

GOYCOOLEA, F. M.; MORRIS, E. R.; GIDLEU, M. J. Viscosity of galactomannans at alkaline and neutral pH: evidences of “hyperentanglement” in solution. **Carbohydrate Polymers**, v. 27, p. 69-71, 1995.

HUNT, C. C.; MAYNES, J. R. Current issues in the stabilization of cultures dairy products. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 10, p. 2639-2643, 1997.

IMESON, A. P. Carrageenan. In: PHILLIPS, G. O.;WILLIANS, P. A.(ed) **Handbook of Hydrocolloids.** Cambridge: Woodhead Publishing Limited; Boca Raton: CRC Press LLC, 2000. cap. 5.

JAROS, D.; ROHM, H. Controlling the texture of fermented dairy products: the case of yoghurt. In: SMIT, G. (ed) **Dairy Processing**: improving quality. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; Boca Raton: CRC Press LLC, 2003, cap 8.

KEOGH, M. K.; O'KENNEDY, B. T. Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein and hydrocolloids. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 1, p. 108-112, 1998.

KESSLER, H. G. The structure of fermented milk products as influenced by technology and composition. In: **PROCEEDINGS OF IDF SYMPOSIUM**, 1997. Vicenza. Trabalhos apresentados. Brussels: International Dairy Federation, 1998, p. 93-105.

KOKSOY, A.; KILIC, M. Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yoghurt drink, ayran. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 593-600, 2004.

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

LUCEY, J. A. Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. **International Journal of Dairy Technology**, v. 57, n. 2/3, p. 77-84, maio/ago, 2004.

LUCEY, J. A.; MUNRO, P. A.; SINGH, H. Whey separation in acid skim milk gels made with glucono-δ-lactona: effects of heat treatment and gelation temperature. **Journal of Texture Studies**, v. 29, p. 413-426, 1998a.

LUCEY, J. A; MUNRO, P. A.; SINGH, H. Rheological properties of microestruture of acid milk gels as affected by fat content and heat treatment. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 4, p. 660-664, 1998b.

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

MURAYAMA, A.; ICHIKAWA, Y.; KAWABATA, A. Rheological properties of mixed gels of κ-carrageenan with galactomannan. **Bioscience, Biotechnology & Biochemistry,** v. 59, n. 1, p. 5-10, 1995a.

MURAYAMA, A.; ICHIKAWA, Y.; KAWABATA, A. Sensory and rheological properties of κ-carrageenan gels mixed with locust bean gum, tara gum or guar gum. **Journal of Texture Studies**, v. 26, p. 239-254, 1995b.

OLIVEIRA, M. N.; SODINI, I; REMEUF, F.; CORRIEU, G. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. **International Dairy Journal,** v. 11, p. 935-942, 2001.

PARKER, A.; LELIMOUSIN, D.; MINIOU, C.; BOULENGUER, P. Binding of galactomananns to kappa-carrageenan after cold mixing. **Carbohydrate Researche**, v. 272, p. 91-96, 1995.

PENNA, A. L. B. Hidrocolóides: usos em alimentos. **Fi Food Ingredients,** v. 3, n. 17, p. 58-64, 2002.

PENNA, A. L. B.; OLIVEIRA, M. N.; TAMIME, A. Y. Influence of carrageenan and total solids content on the rheological properties of lactic beverage made with yogurt and whey. **Journal of Texture Studies,** v. 34, p. 95-113, 2003**.**

RASIC, J. L.; KURMANN, J. A. **Yoghurt**: Scientific grounds technology, manufacture & preparation. Copenhagen: Technical Dairy Publishing House, 1978. 465p.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. **Química de Alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, Instituto Mauá de Tecnologia, 2004. 184p.

RIZZOTTI, R.; TILLY, G.; PATTERSON, R. A.; The use of hydrocolloids in the dairy industry. In: **Gums and stabilizers for the food industry**: applications of hydrocolloids. Oxford: Pergamon Press, 1984, p.323-337.

ROBINSON, R. K.; TAMIME, A. Y. Manufacture of yoghurt and other fermented milks. In: **Modern Dairy Technology**, vol. 2, Advances in Milk Products. 2° edição (R.K.Robinson, ed) pp 1-48,London: Elsevier Applied Science, 1993.

SALVADOR, A.; FISZMAN, S. M. Textural and sensory characteristics of whole and skimmed flavoured set-type yogurt during long storage. **Journal of Dairy Science,** v. 87, p. 4033-4041, 2004.

SITTIKIJYOTHIN, W.; TORRES, D.; GONÇALVES, M. P. Modeling the rheological behaviour of galactomannan aqueous solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, p. 339-350, 2005.

SOUZA, G. Iogurte: tecnologia, consumo e produção em alta. **Leite e Derivados** n. 28, p. 44-54, maio/jun, 1996.

SPAGNUOLO, P. A.; DALGLEISH, D. G..; GOFF, H. D.; MORIS, E. R. Kappa-carrageenan interactions in systems containing casein micelles and polysaccharide stabilizers. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 371-377, 2005.

SYRBE, A.; BAUER, W. J.; KLOSTERMEYER, H. Polymer science concepts in dairy systems – an overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 179-193, 1998.

TAMIME, A. Y.; BARRANTES, E.; SWORD, A. M. The effect of starch based fat substitutes on the microstruture of set style yogurt made from reconstituted skimmed milk powder. **Journal of the Society of Dairy Technology**. v. 49, n. 1, p. 1-10, 1996.

TAMIME, A. Y.; DEETH, H. C. Yoghurt: Technology and Biochemistry. **Journal of Food Protection**, v. 43, n. 12, p. 939-977, 1980.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yoghurt:** science and technology. 2ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 1999.

TRČKOVÁ, J.; ŠTETINA, J.; KÁNSKÝ, J. Influence of protein concentration on rheological properties of carragenan gels in milk. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 337-343, 2004.

ÜNAL, B.; METIN, S.; IŞIKLI, N. D. Use of response surface methodology to describe the combined effect of storage time, locust bean gum and dry matter of milk on the physical properties of low-fat set yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 13, p. 909-916, 2003.

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

Anexo I

As características físico-químicas dos iogurtes são apresentadas na Tabela I, como a média das triplicatas de análise e seu desvio padrão dos 11 iogurtes fabricados pelos tratamentos determinados pela metodologia de superfície de resposta para atender ao objetivo 1.

Tabela I - Características físico-químicas dos iogurtes obtidos.

Ensaio	EST (%)	Proteína (%)	Gordura (%)	Cinzas (%)	Lactose (%)
1	12,44 ± 0,02[a]	5,1 ± 0,4[a]	0,10 ± 0,01[a]	1,08 ± 0,02[a]	6,16 ± 0,03[a]
2	12,45 ± 0,05[a]	4,8 ± 0,2[a]	0,116 ± 0,008[a]	1,05 ± 0,01[a]	6,50 ± 0,02[a]
3	12,54 ± 0,03[a]	5,05 ± 0,03[a]	0,108 ± 0,007[a]	1,08 ± 0,01[a]	6,29 ± 0,02[a]
4	12,54 ± 0,01[a]	5,13 ± 0,05[a]	0,107 ± 0,003[a]	1,05 ± 0,01[a]	6,28 ± 0,02[a]
5	12,51 ± 0,04[a]	5,2 ± 0,05[a]	0,14 ± 0,02[a]	1,060 ± 0,005[a]	6,18 ± 0,01[a]
6	12,46 ± 0,03[a]	4,6 ± 0,3[a]	0,11 ± 0,04[a]	1,067 ± 0,003[a]	6,72 ± 0,01[a]
7	12,55 ± 0,03[a]	5,0 ± 0,1[a]	0,101 ± 0,002[a]	1,08 ± 0,01[a]	6,36 ± 0,02[a]
8	12,56 ± 0,04[a]	5,0 ± 0,1[a]	0,09 ± 0,05[a]	1,049 ± 0,002[a]	6,42 ± 0,02[a]
9	12,50 ± 0,05[a]	4,6 ± 0,3[a]	0,105 ± 0,005[a]	1,06 ± 0,02[a]	6,71 ± 0,01[a]
10	12,57 ± 0,03[a]	5,1 ± 0,4[a]	0,104 ± 0,002[a]	1,076 ± 0,005[a]	6,33 ± 0,02[a]
11	12,46 ± 0,01[a]	4,8 ± 0,2[a]	0,108 ± 0,004[a]	1,037 ± 0,005[a]	6,54 ± 0,02[a]
12	12,49 ± 0,03[a]	4,87 ± 0,09[a]	0,116 ± 0,009[a]	1,083 ± 0,004[a]	6,42 ± 0,03[a]

[a] Médias com a mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si ($p<0,01$)

Anexo II

A sinérese espontânea, firmeza e pH dos iogurtes fabricados para atender ao objetivo 2 estão apresentadas respectivamente nas Tabelas II.1, II.2, II.3, como a média das replicatas de análise.

Tabela II.1 – Valores médios de sinérese espontânea dos iogurtes fabricados para atender ao objetivo 2.

	Tempo de armazenamento (dias)	Sinérese (g /100g de produto)			
		Processamentos			Média
		1	2	3	
Iogurte Controle	1	0,80	0,94	0,52	0,8 ± 0,2
	8	0,87	0,63	0,95	0,8 ± 0,2
	15	0,75	0,86	0,89	0,83 ± 0,07
	22	0,31	0,91	0,85	0,7 ± 0,3
	28	0,43	0,93	1,12	0,8 ± 0,4
Iogurte 0,02% Tara	1	0,81	1,44	0,74	1,0 ± 0,4
	8	1,13	0,96	1,59	1,2 ± 0,3
	15	1,05	1,34	1,48	1,3 ± 0,2
	22	0,86	1,47	1,77	1,4 ± 0,5
	28	0,87	1,14	1,70	1,2 ± 0,4
Iogurte 0,02% Tara + 0,02% Carragena	1	0,02	0,09	0,38	0,2 ± 0,2
	8	0,47	0,37	0,57	0,5 ± 0,1
	15	0,28	0,23	0,77	0,4 ± 0,3
	22	0,78	0,52	0,49	0,6 ± 0,2
	28	0,01	0,67	0,91	0,5 ± 0,5

Tabela II.2– Valores médios de firmeza dos iogurtes fabricados para atender ao objetivo 2.

	Tempo de armazenamento (dias)	Firmeza (N)			
		Processamentos			Média
		1	2	3	
Iogurte Controle	1	1,21	1,20	0,77	1,1 ± 0,2
	8	1,30	1,35	0,95	1,2 ± 0,2
	15	1,34	1,43	1,01	1,3 ± 0,2
	22	1,48	1,33	1,01	1,3 ± 0,2
	28	1,35	1,43	0,97	1,3 ± 0,2
Iogurte 0,02% Tara	1	1,35	0,90	0,81	1,0 ± 0,3
	8	1,56	0,96	1,02	1,2 ± 0,3
	15	1,64	1,01	1,15	1,3 ± 0,3
	22	1,69	1,06	1,11	1,3 ± 0,3
	28	1,62	1,03	0,94	1,2 ± 0,4
Iogurte 0,02% Tara + 0,02% Carragena	1	1,05	0,93	0,92	0,96 ± 0,07
	8	1,23	1,04	0,93	1,1 ± 0,1
	15	1,19	1,15	1,13	1,2 ± 0,03
	22	1,34	1,01	1,08	1,14 ± 0,2
	28	1,35	0,79	1,09	1,1 ± 0,3

Tabela II.3 – Valores médios de pH dos iogurtes fabricados para atender ao objetivo 2.

	Tempo de armazenamento (dias)	pH			
		Processamentos			Média
		1	2	3	
Iogurte Controle	1	4,57	4,55	4,66	4,59 ± 0,06
	8	4,37	4,43	4,46	4,42 ± 0,04
	15	4,17	4,49	4,63	4,43 ± 0,24
	22	4,41	4,54	4,41	4,45 ± 0,07
	28	4,33	4,41	4,38	4,37 ± 0,04
Iogurte 0,02% Tara	1	4,63	4,49	4,85	4,65 ± 0,18
	8	4,51	4,30	4,66	4,49 ± 0,18
	15	4,30	4,41	4,79	4,50 ± 0,26
	22	4,54	4,44	4,53	4,50 ± 0,06
	28	4,49	4,34	4,56	4,46 ± 0,11
Iogurte 0,02% Tara + 0,02% Carragena	1	4,69	4,72	4,71	4,70 ± 0,02
	8	4,48	4,53	4,57	4,53 ± 0,04
	15	4,32	4,51	4,76	4,53 ± 0,22
	22	4,51	4,48	4,52	4,50 ± 0,02
	28	4,53	4,47	4,58	4,52 ± 0,06