

CÁTIA PALMA DE MOURA ALMEIDA

**EFEITO DO FATOR DE CONCENTRAÇÃO NAS CARACTERÍSTICAS DE
IOGURTE COM BAIXO TEOR DE LACTOSE OBTIDO POR ULTRAFILTRAÇÃO**

SÃO CAETANO DO SUL

2008

CÁTIA PALMA DE MOURA ALMEIDA

**EFEITO DO FATOR DE CONCENTRAÇÃO NAS CARACTERÍSTICAS DE
IOGURTE COM BAIXO TEOR DE LACTOSE OBTIDO POR ULTRAFILTRAÇÃO**

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos.

Linha de Pesquisa: Análise e Otimização de Processos Industriais

Orientadora: Prof^a Dra. Eliana Paula Ribeiro

SÃO CAETANO DO SUL

2008

Almeida, Cátia Palma de Moura

Efeito do fator de concentração nas características de iogurte com baixo teor de lactose obtido por ultrafiltração / Cátia Palma de Moura Almeida.—São Caetano do Sul, SP : CEUN-EEM, 2008.
47 p.

Dissertação de Mestrado — Programa de Pós-Graduação. Linha de Pesquisa: Análise e Otimização de Processos Industriais — Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, SP, 2008.

Orientadora: Profa. Dra. Eliana Paula Ribeiro

1. Redução de Lactose. Ultrafiltração. Iogurte. Intolerância à Lactose. Instituto Mauá de Tecnologia. Centro Universitário. Escola de Engenharia Mauá. II. Título.

Dedico este trabalho a minha mãe Carmen,
meu pai Ari, minha irmã Carina e irmão Alexandre
e ao meu amor Jair que me apoiaram e incentivaram
para a realização de mais esta etapa da minha vida profissional,
como também, meu grande presente adquirido
ao longo da pesquisa, minha filha Ana Júlia.

AGRADECIMENTOS

A Deus por mais uma etapa de minha vida.

A minha orientadora Dra. Eliana Paula Ribeiro, pela paciência, dedicação demonstradas ao decorrer do trabalho.

À minha mãe Carmen, ao meu pai Ari e à minha irmã Carina, pelo incentivo durante todo esse período e pela sua paciência nos momentos mais difíceis.

Ao meu marido Jair pela ajuda física e moral de todo o desenvolvimento das atividades realizadas até altas horas. E a minha filhinha, que às vezes dormia para mamãe trabalhar.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a conclusão deste estudo, como Prof^o Dra. Alessandra, Débora, Gláucia e em especial aos funcionários Douglas, Rúbia e Inês que sempre me auxiliaram com disposição e bom humor.

Aos meus amigos de trabalho pelas sugestões e incentivo.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi o estudo da influência da redução do teor de lactose do leite até 1,7% e de três fatores de concentrações volumétricos distintos (1:1,35 ; 1:1,40 e 1:1,50), obtidos por meio de diafiltração e concentração do leite por ultrafiltração, na produção de iogurtes. Os iogurtes obtidos foram acompanhados quanto à acidificação durante a o processo de fermentação e durante a estocagem. Foram também realizadas determinações de viscosidade, dos parâmetros reológicos k e n , de contagem total de bactérias e de aceitabilidade sensorial de iogurte. A partir dos resultados obtidos verificou-se que tanto a redução do teor de lactose quanto a concentração do leite em todos os fatores de concentração avaliados não afetaram a produção dos iogurtes e não ocorreu a pós-acidificação acentuada como a observada em iogurtes tradicionais, além de ter obtido uma boa aceitabilidade por parte dos provadores. O teor de sólidos influenciou significativamente na viscosidade do iogurte, principalmente quanto ao teor protéico, um aumento de 0,2% de proteína fez com a viscosidade aumentasse em 1,2 vezes. Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que é possível produzir iogurtes com viscosidade adequada e boa aceitabilidade sensorial a partir de leites com baixo teor de lactose obtidos por ultrafiltração.

Palavras-chave: Redução de lactose. Ultrafiltração/Diafiltração. Iogurte.

Intolerância à lactose.

ABSTRACT

This work had as objective the studying of influence of low lactose milk (1.7%) and three different levels of volumetric concentration factors (VCF) (1:1.35; 1:1.40 and 1:1.50), obtained by diafiltration followed by ultrafiltration in yoghurts. The yoghurts obtained were evaluated about the acidification during the fermentation and during the storage, viscosity, rheological parameters k and n , total count of bacteria and sensory acceptability. From the results it was found that both reduced the lactose content as the concentration of milk in all factors evaluated not affected the production of yoghurt and did not occur to post-acidification sharp as that observed in traditional yoghurts, as well to have obtained a good acceptance by the panelists. The total solids content was significantly influenced in viscosity of yoghurt, especially on the protein level, an increase of 0.2% protein did with the viscosity increased by 1.2 times.. The results obtained showed that it is possible to produce yoghurts with proper viscosity and good sensory acceptability from low lactose milks obtained by ultrafiltration.

Keywords: Lactose reduction, Ultrafiltration/Diafiltration, Yoghurt, Lactose intolerance

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE TABELAS

1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	03
2.1 IOGURTE	03
2.1.1. Definição	03
2.1.2. Matéria-prima	03
2.1.3. Processamento do iogurte	07
2.1.4. Fermentação	10
2.1.5. Composição e legislação	11
2.1.6. Pós-acidificação	11
2.1.7. Propriedades terapêuticas do iogurte	12
2.2. INTOLERÂNCIA A LACTOSE	13
2.3. ULTRAFILTRAÇÃO	15
2.4. ULTRAFILTRAÇÃO NO PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE IOGURTES	17
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. MATERIAIS	19
3.1.1. Matéria-prima	19
3.1.2. Culturas Lácteas	19
3.1.3. Equipamento	19
3.2. METODOLOGIA	21
3.2.1. Experimentos preliminares	21
3.2.2. Processo de obtenção de retentados com baixo teor de lactose	21
3.2.3. Limpeza do sistema de ultrafiltração	21
3.2.4. Fluxo do permeado	22

3.2.5. Processo de fabricação dos iogurtes	22
3.3. DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS	24
3.3.1. Leite integral pasteurizado, permeados e retentados	24
3.3.2 Curvas de pH e acidez	24
3.3.3. Análises microbiológicas	24
3.3.4. Análise sensorial	25
3.3.5. Características reológicas	26
3.4. PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO	26
3.5. CÁLCULOS	26
3.5.1. Cálculos do fator de concentração e da massa de água para a diafiltração	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
4.1. Testes preliminares	28
4.2. Processo	28
4.2.1. Fluxo do permeado	28
4.2.2. Composição físico-química das matérias-primas	29
4.2.3. pH e acidez durante a fermentação	30
4.2.4. Característica da pós acidificação dos iogurtes com baixo teor de lactose	32
4.2.5. Análises microbiológicas	34
4.2.5. Análise Sensorial	35
4.2.5. Viscosidade Aparente	35
4.2.8. Comportamento reológico dos iogurtes	36
5. CONCLUSÕES	39
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 2.1.1. Fluxograma do processamento de iogurte.	09
FIGURA 3.1.3. Unidade Piloto de Ultrafiltração Tetra Alcross MF 1	20
FIGURA 3.2.2.5 Diagrama de blocos do processamento do iogurte	23
FIGURA 3.3.3 Ficha de análise sensorial utilizada para o teste de preferência	25
FIGURA 6.2.1. Vazão de permeado (Kg/ h) em função do tempo	29
FIGURA 6.2.3.1. Curvas de pH x Tempo durante a fermentação dos iogurtes	31
FIGURA 6.2.3.2. Curvas de acidez x Tempo durante a fermentação dos iogurtes	32
FIGURA 7.1. Comportamento reológico da amostra de iogurte LBL2	37
FIGURA 7.2. Comportamento reológico da amostra de iogurte LBL1	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1.1 Parâmetros de qualidade de leites integrais pasteurizados	04
Tabela 6.2.2. Composição centesimal	29
Tabela 6.2.4.1. Variação média de pH nos iogurtes durante estocagem	33
Tabela 6.2.4.2. Média de acidez desenvolvida g de Ácido Láctico/ 100 g de iogurte durante o armazenamento dos iogurtes	33
Tabela 6.2.3. – Enumeração de bactérias nos iogurtes após 30 dias de produção	34
Tabela 6.2.4. Pontuação dos iogurtes na análise sensorial.	35
Tabela 6.2.5. Viscosidade aparente Pa.s Medida A 1,0 rpm	36
Tabela 7.1. Índice de comportamento e índice de consistência média dos iogurtes	37

1. INTRODUÇÃO

Algumas pessoas apresentam sintomas de mal estar após ingerir produtos lácteos. Estes sintomas, associados à baixa tolerância à lactose, podem ser amenizados a partir de algumas alternativas que facilitam a absorção da lactose pelo organismo, sem causar danos à saúde.

Dentre estas alternativas, encontram-se alguns medicamentos sob a forma de comprimidos ou cápsulas, que possuem a enzima lactase, responsável pela digestão da lactose e facilitadora, portanto, da absorção desta substância pelo organismo. Cada vez que uma pessoa com déficit de lactase ingerir um alimento que contenha leite, recomenda-se a ingestão de 1 a 3 cápsulas, de acordo com o grau de intolerância do indivíduo (BEZERRA, 2004).

A intolerância à lactose é considerada primária quando estas ocorrem por deficiências congênitas de transportadores de monossacarídeos ou de enzimas que hidrolisam os açúcares mais complexos, e secundária quando é resultante de doença intestinal com lesão da mucosa. Essas alterações podem ocorrer através da ausência completa ou por deficiência da atividade dos diversos complexos enzimáticos envolvidos na digestão dos carboidratos. A intolerância secundária à lactose é a mais comum e pode ocorrer em consequência de doenças que causam algum tipo de dano à mucosa intestinal como gastroenterite, desnutrição, doença celíaca, deficiência imunológica, colite ulcerativa, doença de Crohn, sobrecrescimento bacteriano, giardíase etc. Cirurgias no aparelho digestivo como, por exemplo, gastrostomias, ileostomias, colostomias, ressecções intestinais e anastomoses de delgado e em prematuridade causam imaturidade enzimática associada a um processo infeccioso pode levar a essa mesma intolerância. Pode ocorrer durante e/ou após uma infecção viral ou bacteriana do aparelho digestivo e durar de duas semanas até vários meses, sendo mais comum em lactentes menores de um ano (A.S.C.N., 1988; FARIAS et. al., 2007).

Uma alternativa viável para pacientes com intolerância secundária, segundo Ferronato (2004), são os produtos fermentados que apresentam uma redução do teor de lactose de, no mínimo, 30% em relação ao leite.

A origem exata do iogurte ainda é desconhecida, provavelmente ocorreu no Oriente Médio. O leite era armazenado em recipientes de barro à temperatura ambiente, em torno de 40°C, possibilitando a acidificação e a coagulação pouco tempo depois da ordenha. Especialmente quando as condições de produção eram rudimentares, a ordenha era feita manualmente e não havia refrigeração do leite obtido, aumentando o risco de contaminação microbiana pelo ar, pelos animais e pelos manipuladores (TAMIME & ROBINSON, 1991. O iogurte teve sua origem na Ásia no século VIII, com os nômades turcos, que o denominavam de '*yogurt*' (GRANATO, 2007). Desde então, por tentativa e erro, variando-se a temperatura e o tempo de incubação do leite, produtos com acidez e texturas diferentes foram desenvolvidos, resultando em vários tipos de leites fermentados existentes no mundo. Em termos quantitativos, mundialmente, há,

aproximadamente, 400 tipos de produtos lácteos fermentados, existindo muitas semelhanças físico-químicas e sensoriais entre eles.

O iogurte difundiu-se por todo o mundo depois que alguns estudos demonstraram que o seu consumo trazia benefícios à saúde. O biólogo russo Llia Metchnikoff (1910) estudou as tribos das montanhas da Bulgária e verificou que essas tribos apresentavam um alto índice de longevidade e tinham como componente básico da dieta, o iogurte. Metchnikoff aprofundou-se nos estudos e conseguiu isolar um bacilo do iogurte, denominando-o de *Bacillus bulgaricus* (DANONE, 2006).

No Brasil, o iogurte foi introduzido nos anos 30, com a imigração européia, O primeiro iogurte com polpa de frutas fabricado no Brasil foi lançado em 1970, revolucionando os hábitos do consumidor brasileiro. Esta novidade conquistou o paladar dos brasileiros e se transformou em sinônimo não só de iogurte, mas também de saúde e nutrição (BRANDÃO, 1987; DANONE, 2004).

Atualmente, dentro do mercado de produtos dietéticos, uma das áreas que mais cresce é a de laticínios, com sua aplicação voltada para iogurtes. Esta área cresce diariamente e a concorrência entre as empresas ajuda a manter o preço acessível ao consumidor. As vendas do segmento de produtos dietéticos e “light”, segundo a empresa de pesquisas mercadológicas AC Nielsen, tiveram um crescimento de 10,7%, produtos como iogurtes dietéticos e “light” tiveram um aumento de consumo de 45%, sendo que a empresa estima que a venda de tais produtos continue crescendo (Diário de São Paulo, 2003). Dados mais recentes relatados pelo SEBRAE, 2007, mostram que nos últimos dez anos, esse nicho de mercado cresceu 870%. Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Alimentos Dietéticos e para Fins Especiais (Abiad, 2004), os fatores que levam ao crescimento do consumo de produtos *light* e dietéticos são: nicho de mercado em expansão, linhas com maior valor agregado, retornos financeiros maiores para a indústria, 1 em cada 2 brasileiros faz regime em algum momento de sua vida, crescimento da incidência de diabetes na população mundial, e a estimativa do Ministério da Saúde afirmando que a obesidade infantil atinge cerca de 20% das crianças no Brasil.

A redução do teor de lactose na produção de iogurtes utilizando ultrafiltração foi estudada por Kosikowski (1979), o autor verificou que foi possível a obtenção de iogurtes com características sensoriais adequadas, e permanecendo com uma acidez constante durante o armazenamento por meio da ultrafiltração aliada a diafiltração. O consumo de iogurtes contendo baixo teor de lactose tem crescido nos últimos anos, principalmente por indivíduos que apresentam má absorção ou intolerância à lactose (PEREIRA, 2002).

O presente trabalho teve como objetivo o estudo da influência da redução do teor de lactose do leite (em aproximadamente 38%) através da diafiltração e do aumento da concentração de proteínas, por ultrafiltração, no processo de acidificação durante a fermentação e estocagem, na viscosidade e na aceitabilidade sensorial de iogurte.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo é apresentado o levantamento teórico sobre iogurte, intolerância à lactose, ultrafiltração e diafiltração.

2.1. IOGURTE

A seguir, é apresentado o histórico do iogurte até o seu processamento, bem como os parâmetros para a produção de um produto de qualidade.

2.1.1. Definição

O iogurte é definido pela legislação brasileira como o produto adicionado ou não de outras substâncias alimentícias, obtido por coagulação e redução do pH do leite, ou leite reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctea mediante a ação proto-simbiótica de *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, aos quais se pode acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final (BRASIL, 1998).

A classificação do iogurte é, segundo sua consistência, resultante da coagulação protéica e do modo de produção, sendo, portanto, considerado firme quando seu coágulo é formado pela fermentação após a inoculação na própria embalagem de venda, apresentando-se este, na forma de uma massa contínua semi-sólida. Já no iogurte classificado como batido, o leite é coagulado, após o resfriamento o coágulo é quebrado e, então, é acondicionado nas embalagens (TAMIME & DEETH, 1980).

2.1.2. Matéria- prima

Para obtenção de um produto final com qualidade é necessária uma matéria-prima adequada e dentro dos padrões legais vigentes.

Como em todo produto a ser desenvolvido, a matéria-prima a ser utilizada para a fabricação de iogurte, deve ser de qualidade, ou seja, obtida e manipulada adequadamente para evitar contaminações, além de ser de procedência idônea, pois podem ser utilizadas várias formas para falsificar o leite, com o propósito de aumentar-lhe o volume, ou conservar, mascarando assim, as condições precárias de higienização, provocando profundas alterações nas características originais do produto. As práticas inadequadas utilizadas na fraude do leite vão

desde adição de água, soro, soda cáustica até contaminação por coliformes fecais (SILVEIRA, 1994). Portanto, a legislação brasileira, denomina leite, sem outra especificação, como sendo o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta em condições de higiene, de vacas saudáveis, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 1998).

O leite, obtido em circunstâncias naturais, é uma emulsão de cor branca, ligeiramente amarelada, de odor suave e gosto ligeiramente adocicado. É um produto secretado pelas glândulas mamárias e é um alimento indispensável aos mamíferos nos primeiros meses de vida, enquanto não podem digerir outras substâncias necessárias à sua subsistência (VEISSEYRE, 1988).

Segundo a instrução Normativa N° 51, de 18 de Setembro de 2002, o leite pasteurizado integral deve seguir os parâmetros de Composição e Requisitos Físicos, Químicos descritos na tabela 2.1.1

Tabela 2.1.1 – Parâmetros de qualidade de leites integrais pasteurizados

Item de Composição	Requisito
Gordura (g/100 g)	min. 3,0
Acidez, em g de ácido láctico/100 mL	0,14 a 0,18
Densidade relativa, 15/15 °C, g/mL (4)	1,028 a 1,034
Índice crioscópico máximo:	-0,530oH (-0,512oC)
Índice de Refração do Soro Cúprico/20 °C	mín. 37o Zeiss
Sólidos Desengordurados (g/100g):	mín. 8,4
Proteína Total (g/100 g)	mín. 2,9
Estabilidade ao Alizarol 72 % (v/v)	Estável

Adaptado de ANVISA (2001).

O leite de vaca possui em média 3,5% de proteínas, 3,8% de gordura, 5,0% de lactose, 0,7% de minerais (cinzas) e 87% de água. Estes valores médios podem apresentar desvios, uma vez que a variação da composição do leite é muito grande, pois depende da espécie, raça, metabolismo do animal, do tipo de alimentação, condições climáticas, do tipo de criação, como também do número de ordenhas. De todos os componentes do leite, a fração que mais varia é a formada pela gordura. Os sólidos não-gordurosos, que compreendem todos os elementos do leite menos a água e a gordura, representam em média 8,9% do total de constituintes do leite (VEISSEYRE, 1988; SPREER, 1991).

A água constitui, em volume, o principal componente do leite. A maior parte encontra-se como água livre, embora haja água ligada às proteínas, à lactose e aos minerais (SPREER, 1991; SILVA et. al., 1997).

A gordura é um dos componentes mais ricos do leite e está presente na forma de glóbulos de diversos tamanhos que se encontram em suspensão na fase aquosa, formando uma emulsão estável. Os glóbulos são compostos por triglicérides e cada um deles é envolvido por uma camada composta por proteínas (imunoglobulinas e fosfolípídeos). O leite de vaca possui aproximadamente 437 moléculas de ácidos graxos e entre os principais podem ser citados o ácido palmítico (25 a 29%) e o ácido oléico (30 a 40%). A gordura é o constituinte que mais sofre variações em razão da alimentação, raça, estação do ano e período de lactação (SPREER, 1991; SILVA et. al.; VEISSEYRE, 1988).

A lactose é o carboidrato característico do leite, sendo o constituinte predominante e menos variável da matéria seca do leite. É quantitativamente o mais importante dos sólidos não graxos. Industrialmente, a fermentação da lactose por ação dos microrganismos que a transforma em ácido láctico ocupa lugar de grande destaque, sendo utilizada para a obtenção de vários derivados lácteos como iogurte, leite fermentados, queijos, requeijões e outros (VEISSEYRE, 1988).

As substâncias minerais e as vitaminas são normalmente encontradas em pequenas quantidades nos alimentos. Entre os minerais presentes no leite, podem ser citados: cálcio, fósforo, cloro, sódio, potássio e magnésio em teores consideráveis, e ferro, alumínio, bromo, zinco e manganês em baixos teores. Quanto às vitaminas, o mesmo, constitui uma fonte para o fornecimento das vitaminas necessárias para o organismo. Entre as que se destacam estão presentes as vitaminas A, D, E e K (associadas aos glóbulos de gordura), a vitamina C e aquelas pertencentes ao complexo B: tiamina (B1), riboflavina (B2) e niacina (B3) (SPREER, 1991; ALBUQUERQUE, 1997; SILVA *et al.*, 1997).

As proteínas do leite podem ser classificadas em quatro grupos, de acordo com suas propriedades físico-químicas e estruturais: a) caseínas; b) proteínas do soro; c) proteínas das membranas dos glóbulos de gordura; d) enzimas e fatores de crescimento. Do ponto de vista nutritivo e industrial, as proteínas do leite de mais ampla aplicação e valor econômico são as caseínas (80%) e as proteínas do soro (15%) (VEISSEYRE, 1988; SGARBIERI, 1996).

As caseínas, no leite, são organizadas em micelas, partículas de 0,1 a 0,2 μm de diâmetro, formadas pelas caseínas, α_1 , α_2 e β , em sua parte central, e a kappa caseína, que se distribui em parte no corpo da micela e em parte na superfície, conferindo-lhe estabilidade físico-química. As unidades estruturais da micela (submicelas) são unidas pela presença de fosfato de cálcio coloidal. As proporções das diferentes caseínas nas micelas são: 3:1:3:1 para α_1 , α_2 , β e κ caseínas, respectivamente. São mais resistentes ao tratamento térmico que as proteínas do soro, pois estas sofrem vários graus de desnaturação em temperaturas acima de 70 °C. Apresentam excelentes propriedades funcionais, boa capacidade de geleificação, emulsificação e espuma, possuindo excelente valor nutritivo e várias propriedades fisiológicas importantes (FOX, 1989; SGARBIERI, 2005).

São moléculas de grande tamanho que contém fósforo e um grande número de aminoácidos, entre os quais os mais abundantes são ácido glutâmico e em menor quantidade a leucina e a prolina (VEISSEYRE, 1988)

O leite de algumas espécies animais, particularmente a bovina, contém 80% de suas proteínas como caseínas e o restante (20%) são representadas pelas proteínas de soro, ao contrário do leite humano, no qual essa proporção se inverte, 80% das proteínas aparecem no soro e apenas 20% como caseínas. As diferentes caseínas possuem diferentes pontos isoelétricos: 4,4 para α S1, 4,9 para β , 3,7 para κ , adotando-se o ponto isoelétrico da caseína bruta no leite como sendo 4,6 a 20°C, sendo por definição, o grupo de proteínas fosforadas, sendo que este ponto varia de acordo com a temperatura (VEISSEYRE, 1988).

A atração caseína-caseína aumenta com a diminuição do pH do leite de 6,6 – 6,8 para 4,6 durante a fermentação do iogurte, o que resulta na gelificação quando as caseínas se aproximam de seu ponto isoelétrico (pH ~ 5,0 a 45° C). Quando o pH se aproxima de 5,0, as micelas de caseína são parcialmente desestabilizadas e tornam-se ligadas umas às outras na forma de agregados; as cadeias formam parte de uma matriz protéica tridimensional em que a fase líquida do leite é imobilizada. A maioria dos estudos realizados sobre as propriedades de textura de iogurte está relacionada com a firmeza e a viscosidade; sabe-se que a desnaturação das proteínas do soro aumenta estes parâmetros no iogurte (LUCEY e SINGH, 1998).

O termo proteínas do soro é utilizado para denominar o grupo de proteínas que permanecem solúveis no soro do leite após a precipitação da caseína a pH 4,6 e temperatura de 20 °C (VEISSEYRE, 1988).

As proteínas remanescentes no soro de leite apresentam excelente composição em aminoácidos, alta digestibilidade e biodisponibilidade de aminoácidos essenciais, portanto elevado valor nutritivo. Estas proteínas apresentam propriedades funcionais de solubilidade, formação e estabilidade de espuma, emulsibilidade, gelificação, formação de filmes e cápsulas protetoras (SGARBIERI, 1996).

Dentre as proteínas do soro estão: as imunoglobulinas (euglobulina e pseudoglobulina) e as albuminas (β -lactoalbumina, α -lactoalbumina e seroalbumina), sendo que as imunoglobulinas representam 2% do total das proteínas do leite, enquanto as albuminas representam 15% (VEISSEYRE, 1988).

A β -lactoglobulina representa aproximadamente 50 % do teor protéico do soro de leite bovino. Esta proteína é termolábil e apresenta mudanças conformacionais reversíveis em temperaturas menores que 70 °C. Temperaturas elevadas podem provocar sua desnaturação e polimerização irreversível. Após o aquecimento do leite a 90 °C mais de 95 % da β -lactoglobulina é desnaturada. A β -lactoglobulina é considerada um excelente agente de gelificação. O tratamento térmico induz uma mudança conformacional que resulta na exposição do grupo tiol

reativo. Esse grupo tiol pode formar ligações dissulfeto com outras proteínas que contêm cisteína, como β -lactoglobulina ou albumina sérica bovina; ou com proteínas que possuem ligações dissulfeto, como α -lactoalbumina, κ -caseína e α s2-caseína. A formação de ligações dissulfeto intermoleculares é essencial para a formação de géis de proteínas do soro induzidos termicamente e para uma estrutura de espuma estável (VEISSEYRE, 1988; VASBINDER et. al., 2003).

Na produção do iogurte, o leite é normalmente aquecido (95 °C por 5 minutos), o que causa a desnaturação parcial das proteínas do soro (α -lactoalbumina, β -lactoglobulina). Este tratamento térmico tem um efeito significativo na formação do gel ácido e de suas propriedades. As proteínas do soro interagem com a κ -caseína nas micelas de caseína, via interações hidrofóbicas e formação de ligações dissulfeto intermoleculares. Podem ocorrer também alterações do equilíbrio osmótico, inativação de enzimas sensíveis ao calor, escurecimento não enzimático (LUCEY e SINGH, 1998).

2.1.3. Processamento do iogurte

Para a fabricação de iogurte natural tradicional, segundo Tamime e Robinson (1991), primeiramente, padroniza-se o leite com um conteúdo de gordura (0,5% a 3%), aumenta-se o extrato seco (14 -16%), podendo nesta etapa ainda, ser adicionado sacarose e/ou estabilizantes. Em seguida efetua-se um pré-aquecimento a 50 a 60°C seguido de uma homogeneização a 100 – 200 kg/cm², e tratamento térmico que poderá ser de: 85°C por 30 minutos, 90 – 95°C durante 5 – 10 minutos ou 120°C por 3 – 5 segundos. Após esta etapa, deve haver o resfriamento para a inoculação e incubação das bactérias lácticas seguida de seu envase (incubação curta 42 – 45°C), onde é resfriado a temperaturas mais baixas 15 – 20°C e mantido a temperaturas menores que 10°C, e assim é comercializado. Na figura 2.1.1 é apresentado o diagrama de blocos do processamento dos iogurtes tradicional, batido e líquido.

A homogeneização proporciona a redução do tamanho dos glóbulos de gordura, impede a sua coalescência e a conseqüente formação da linha de creme. Além disso, provoca uma série de efeitos secundários, tais como a modificação da membrana que recobre os glóbulos de gordura devido ao surgimento de novos glóbulos. Com isso, há uma reestruturação da membrana onde estão presentes partes da membrana antiga e de proteínas que tem a sua fração aumentada em cerca de quatro vezes. Devido a esse recobrimento parcial dos glóbulos com caseína eles se comportem como grandes micelas que quando em meio ácido ou excessivamente aquecido, podem se agregar. Outro fato decorrente da homogeneização é o aumento na tendência de formação de espuma, conseqüente do maior conteúdo protéico da membrana, onde as proteínas do soro são as principais responsáveis por este fenômeno (TAMIME; ROBINSON, 1991).

Durante o processo de homogeneização e antes que se forme a nova membrana, os glóbulos perdem parcialmente a sua antiga membrana devido ao choque entre eles e unem-se a micelas de caseína formando grumos de homogeneização que são recobertos pela nova membrana (ORDOÑES, 2005). As pressões variam durante o processo entre 150 e 200 bar de modo que essa operação evita a separação de gordura, proporcionando melhores características de consistência, sabor e digestibilidade (AQUARONE, 2001).

A etapa do tratamento térmico do leite cru tem como objetivo destruir os microrganismos patogênicos e desnaturar as proteínas do soro fazendo com que o coágulo do produto fermentado seja firme, reduzindo a sinérese no produto (VEISSEYRE, 1988).

O tratamento térmico dado ao leite homogeneizado pode variar desde uma pasteurização até um tratamento UHT. Industrialmente, para a fabricação deste tipo de produto utiliza-se o tratamento térmico que quando realizado em sistema descontínuo deve atender aos parâmetros de temperatura e tempo, respectivamente, de 80 a 85°C durante 30 minutos (OLIVEIRA; CARUSO, 1996; ROBINSON, 2002; ORDOÑES, 2005) e em sistema de fluxo contínuo temperatura de 90 a 95°C por um período de tempo de 5 minutos (ORDOÑES, 2005).

Este tratamento provoca à inativação de enzimas endógenas do leite, a desnaturação de proteínas do soro e redução da quantidade de oxigênio dissolvido, criando condições de microaerofilia favoráveis para o crescimento do cultivo iniciador (TAMIME; ROBINSON, 1991; OLIVEIRA; CARUSO, 1996).

A desnaturação das proteínas do soro por ação do calor causa a liberação de compostos nitrogenados de baixo peso molecular que estimulam o crescimento do inóculo. Enquanto que as proteínas do soro parcialmente desnaturadas podem se ligar umas as outras ou a outros componentes do leite aumentando a viscosidade do iogurte. As β -lactoglobulinas, por exemplo, podem formar agregados com a união entre elas ou depositarem-se na micela da caseína, unindo-se coalescentemente com moléculas de κ -caseína através de ligações dissulfeto (BOURGEOIS; LARPENT, 1995; OLIVEIRA; CARUSO, 1996; TAMIME; ROBINSON, 1991).

O teor de extrato seco total do leite tem influência direta na consistência do iogurte. Existem várias maneiras de aumentar esse teor, como adição de leite em pó, evaporação e concentração por ultrafiltração (JAY, 2002). Segundo Veisseyre (1988), o aumento de extrato seco do leite proporciona um produto com consistência firme e o processo de homogeneização antes do tratamento térmico do leite impede efeitos indesejáveis como a separação da gordura durante o período de incubação.

Em um estudo relatado por Tadini et. al (2002), foram comparados iogurtes elaborados com leite com teores de sólidos de 16% com iogurtes elaborados com o mesmo teor de sólidos acrescidos de 1% e 2% de caseinato, tendo como resultados valores de viscosidades aparente de 1,38 vezes superior e 1,92 vezes superiores, respectivamente, quando comparados ao iogurte sem adição de caseinato, observando-se a influência de proteína na viscosidade do iogurte.

Segundo Salji et. al. (1985) o teor de sólidos do leite influencia na viscosidade, aceitabilidade e estabilidade do iogurte final. Os autores avaliaram a influência dos níveis de sólidos totais a 11 e 12%, e verificaram que um incremento de 1% nos sólidos totais provocou um aumento de 5 vezes na viscosidade do iogurte final (0,18 para 2,88 Pa.s).

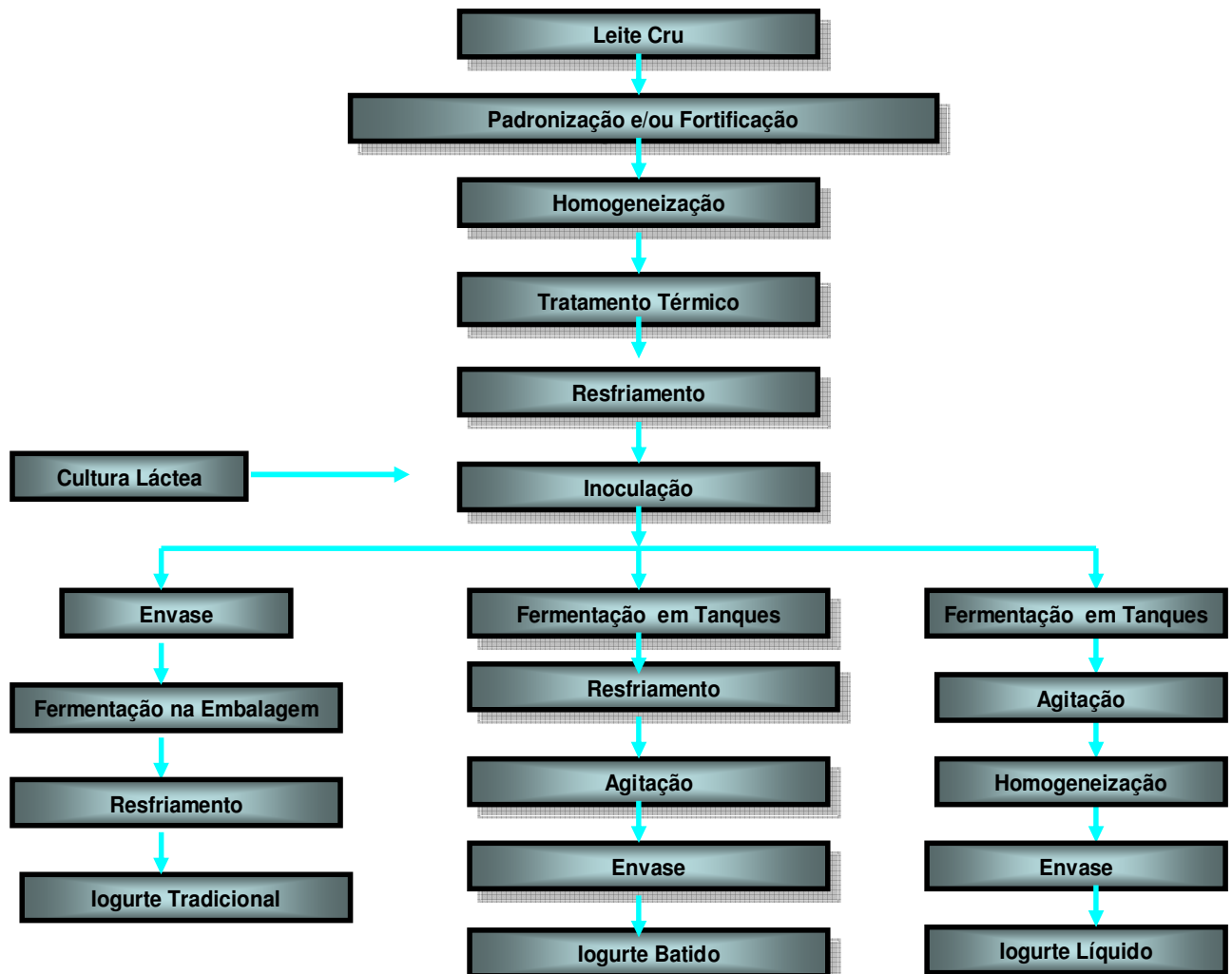


FIGURA 2.1.1: Diagrama de blocos do processamento de iogurte (TAMIME & DEETH, 1980).

2.1.4. Fermentação

A partir dos constituintes do leite e da fermentação láctica realizada com microrganismos específicos, se forma o iogurte. Assim, as proteínas são parcialmente hidrolisadas em peptídeos e aminoácidos, a gordura, em ácidos graxos livres e a lactose transformada em ácidos orgânicos (como principal metabólito). Estas alterações podem modificar profundamente a estrutura física das micelas de caseína e a biodisponibilidade dos minerais. Cada um dos elementos que constituem a matéria-prima irá influenciar nas características do iogurte, assim, o leite com um alto teor de lipídeos, produz um iogurte cremoso, com aroma e sabor característicos. A lactose é utilizada como fonte de energia pelas bactérias lácticas, condicionando a acidez do produto e as proteínas determinam a firmeza do coágulo e conseqüentemente a sua consistência (ÉSTEVEZ, 1988).

Segundo Granato (2007), durante a fermentação, além do ácido láctico, são produzidas outras substâncias, tais como ácidos orgânicos (fórmico, fenilático e capróico), dióxido de carbono, peróxido de hidrogênio, etanol, compostos aromáticos e bacteriocinas (peptídeos de baixo peso molecular com ação antimicrobiana). Além dessas substâncias, também são produzidas vitaminas.

O iogurte é produzido pela ação das bactérias *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* sobre os componentes do leite. Ambos os microrganismos são necessários para atribuir aroma e sabor característicos, sendo que existe uma relação simbiótica entre os mesmos. O *L. bulgaricus* estimula a formação de ácido e atua sobre as proteínas liberando aminoácidos como valina, histidina, prolina, metionina, ácido glutâmico e leucina que são essenciais para o crescimento de *S thermophilus* e este por sua vez, também estimula o crescimento de *L. bulgaricus* produzindo ácido fórmico e ácido pirúvico. Um dos componentes responsáveis pelo aroma característico do produto é o acetaldeído, sendo considerado ideal quando sua quantidade encontra-se entre 23 a 41 mg/kg. Outros componentes também são responsáveis pelo aroma como, ácidos graxos voláteis, principalmente acético, fórmico, capróico, caprílico, cáprico e alguns aminoácidos (OLANO & RAMOS, 1982; TAMIME & DEETH, 1980).

Os metabólicos produzidos pelas culturas mencionadas, como ácido láctico, ácido propiônico e diacetil exercem efeito inibitório sobre o crescimento de bactérias Gram-negativas responsáveis pela deterioração do produto (RODAS *et. al*, 2001).

Segundo Tamime e Robinson (1991), a temperatura de crescimento da bactéria *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* é de 42 a 43 °C e *Streptococcus thermophilus* é de 39 a 40 °C.

Segundo os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados, da Resolução Nº 5, de 13 de novembro de 2000, estabelece que em iogurtes a contagem total de

bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10^7 UFC/mL no produto final, durante todo o prazo de validade (BRASIL, 2000).

2.1.5. Composição e legislação

Na sua composição, segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Resolução nº5, de 13 de novembro de 2000, quanto à gordura, o iogurte integral deve possuir de 3,0 a 5,9 g/100g, sendo classificado como parcialmente desnatado quando este apresentar de 0,6 a 2,9 g/100g e desnatado quando possuir no máximo 0,5 g/100g, já quanto ao teor de proteína, o mínimo estipulado pela legislação é de 2,9 g/100 g, porém é aceitável valor menor para iogurtes adicionados de frutas e açúcares. Em relação ao teor de carboidratos, a quantidade adicionada varia de acordo com o sabor do iogurte e o público alvo do produto, não existindo um controle legislativo, porém o iogurte deve possuir não menos que 8,25% de sólidos desengordurados e acidez titulável entre 0,5 a 1,5%, expressa como ácido láctico.

A consistência e a viscosidade do iogurte dependem parcialmente do teor de proteínas do soro desnaturadas presentes no leite, devido a sua habilidade de ligar água e prevenir sinérese. Essa ação é favorecida pelo tratamento térmico dado ao leite, já que existe uma correlação entre a temperatura de aquecimento e a termodesnaturação das proteínas do soro (WOLFSCHOON-POMBO *et. al.*, 1983).

2.1.6. Pós-acidificação

Embora certo grau de acidez seja desejável no iogurte, a super acidificação do produto é indesejável, visto que conduz à separação de soro, a deterioração da sua consistência e redução da viscosidade (WOLFSCHOON-POMBO *et. al.*, 1983).

Segundo Rasic e Kurmann (1978), leites fermentados com maior teor de proteínas possuem um maior tempo de vida útil que produtos obtidos de leites sem o aumento de teor de sólidos. Os autores atribuem este fato ao aumento da inibição da degradação da lactose juntamente com o aumento da capacidade tamponante.

O aumento do nível de sólidos totais resulta em um aumento da acidez titulável e uma redução do tempo de coagulação devido ao efeito tampão de proteínas, fosfatos, citratos, lactatos e outros constituintes do leite (TAMIME & DEETH, 1980).

Salji & Ismail, 1983, observaram que a consistência do iogurte está relacionada com sua acidez, que se altera durante o armazenamento em maior ou menor grau, dependendo da acidez inicial e da temperatura de estocagem do produto. Esses resultados também foram observados por Ribeiro (1989) e Pereira (2002), porém em menores proporções, pois a redução de pH relatada pela primeira autora foi mais acentuada (de 4,90 para 4,41), atribuindo o fato a maior

quantidade de proteína. Martins, 2002, afirmou que o teor de sólidos do leite exerce grande influência na acidez titulável.

2.1.7. Propriedades terapêuticas do iogurte

A crescente procura por alimentos altamente nutritivos, que desempenhem funções terapêuticas (alimentos funcionais), está gerando um aumento no consumo de iogurtes em geral (Saboya *et. al.*, 1997). Algumas propriedades terapêuticas, tais como: efeitos anticolesterolêmicos, anticarcinogênicos, inibitórios de agentes patógenos também estão relacionados ao consumo do iogurte (RODAS *et. al.*, 2001).

Uma questão ainda não estabelecida é a quantidade e frequência de consumo de probióticos necessários para assegurar os benefícios funcionais a eles atribuídos (GILLILAND *et.al.*, 2002).

Segundo Antunes (2007), no Brasil, dos diversos leites fermentados disponíveis no mercado, apenas alguns contêm no rótulo a identificação do microrganismo presente. Em geral, o fabricante limita-se a informar que o produto contém "fermentos lácteos". No entanto, a linhagem de microrganismo presente no produto, bem como o número de células viáveis desta cultura, é que determina se este é ou não funcional. A legislação deveria exigir que fosse veiculada essa informação no rótulo para assim permitir aos consumidores a escolha de produtos com linhagens potencialmente benéficas à saúde. Além disso, sem estas informações do fabricante, torna-se difícil o controle de qualidade pelas agências governamentais de fiscalização.

O efeito anticolesterolêmico é atribuído ao ácido hidroximetilglutárico, relatado por Gurgel (1994), resultante da ação das bactérias lácticas, e presente no iogurte, este pode limitar a síntese de colesterol no organismo ao inibir a enzima hidroximetilglutárico-coenzima A-redutase (MARTIN, 2002).

Leblanc e Perdigón (2003) realizaram um experimento com camundongos ministrando uma dieta à base de iogurte contendo *Lactobacillus delbruecki* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, contendo 2×10^9 células/ml, antes e depois de induzir o carcinógeno responsável pelo tumor (câncer de cólon) obtendo como resultado uma progressão inibitória deste.

Além dos produtos dietéticos destinados a pessoas portadoras de diabetes, o uso de iogurtes tem sido estudado com a finalidade de produzir um produto de qualidade semelhante ao convencional, com acidez estabilizada durante a vida de prateleira, e contendo baixo teor de lactose. Estes produtos visam atender consumidores que apresentam má absorção ou intolerância à lactose, além dos indivíduos imunossuprimidos, como portadores do vírus HIV (PEREIRA, 2002).

2.2. INTOLERÂNCIA À LACTOSE

A maioria das alergias alimentares não é fatal, porém estima-se que cerca de mil norte-americanos apresentem choque anafilático a cada ano, após o consumo de alimentos a que são extremamente alérgicos. Os disparadores mais prováveis são alimentos como: amendoim, peixe, nozes, marisco, leite, ovos e soja (MAHAN & STUMP, 1998).

Segundo Bezerra (2005) a alergia à lactose ocorre devido a uma resposta do sistema imunológico a algo não reconhecido pelo organismo, causando intoxicação, irritações na pele e, quando se trata de uma alergia alimentar, reações gastrointestinais. Com a intolerância é diferente, pois não ocorre essa mobilização do sistema imunológico. O que ocorre é a ausência total ou parcial da enzima lactase, fazendo com que a lactose chegue intacta ao intestino, onde será fermentada pelas bactérias presentes no intestino.

A deficiência de lactase é a deficiência enzimática mundialmente mais comum. Os indivíduos com uma deficiência da enzima intestinal lactase possuem uma menor habilidade de digerir a lactose. Os sintomas após a ingestão de lactose incluem cólicas abdominais, flatulência e diarreia (MAHAN & STUMP, 1998).

Os médicos suspeitam da intolerância à lactose quando o indivíduo apresenta sintomas como diarreia, distensão abdominal e uma sensação de desconforto abdominal após o consumo de produtos lácteos, sendo que estes sintomas aparecem 20 a 30 minutos após a ingestão da dose-teste. Isto ocorre porque a dose-teste não é digerida em glicose, a concentração de glicose no sangue não aumenta na proporção considerada adequada (MANUAL MERCK, 2005). Estes sintomas são causados por elevados níveis de liberação de hidrogênio, devido à presença de bactérias anaeróbias e anaeróbias facultativas no cólon que utilizam a lactose não absorvida (JAY, 2002).

Mahan e Stump (1998) relatam que quando a intolerância à lactose foi descrita pela primeira vez em 1963, parecia ser uma ocorrência incomum, que existia apenas ocasionalmente, na população caucasiana. Entretanto, conforme se passou a medir a capacidade de digerir a lactose em pessoas de diferentes bases étnicas e raciais, logo se verificou que o desaparecimento da enzima lactase logo após o desmame ou pelo menos durante o início da infância é comum na maior parte da população mundial. Com poucas exceções os tratos intestinais dos adultos mamíferos produzem pouca lactase após o desmame (o leite dos pinipêdes – foca, morsa e leões marinhos não contém lactose).

Em 2002 pesquisadores da Finlândia identificaram uma mutação genética que induziria a intolerância à lactose, sendo esta, iniciada em crianças após o desmame, quando as células que cobrem o intestino delgado diminuem a produção da enzima florizina-lactase. Os pesquisadores extraíram amostras de sangue para estudar o DNA de um grupo de 196 finlandeses adultos descendentes de africanos, asiáticos e europeus intolerantes à lactose. Foi encontrado o mesmo

variante de DNA em todas as pessoas intolerantes à lactose, portanto, concluíram que esse variante seria a forma original do gene que se modificou para tolerar produtos lácteos de origem animal, quando os primatas humanos passaram a adotar o consumo de leite não humano. Isso parece sugerir que todo mundo era originalmente intolerante à lactose, sendo um excelente exemplo de uma mutação útil na história humana (NATURE GENETICS, 2005).

A intolerância à lactose pode ser muito freqüente na população mundial, podendo atingir, em alguns casos, 98% da população como no caso dos Tailandeses, 97% nos chineses, 99% nos japoneses e 67% nos indianos. Entre os caucasianos a prevalência de intolerância é de 15%. Acomete também, negros africanos (72%), norte-americanos (70%) e índios. A deficiência ocorre também normalmente com o envelhecimento humano devido à atrofia da mucosa do intestino delgado, além disso, essa deficiência pode ser atribuída à inflamação da mucosa intestinal provocada por doenças como enterite, colite, doença de Crohn's, enteropatia induzida por glúten e infecções parasitárias e/ou após terapia com antibióticos e procedimentos cirúrgicos (CAMPOS, 2005).

Galante (2005) relata que em 1996, Adriana Sevá-Pereira fez um estudo onde mostrou que, entre os 144 milhões de brasileiros, a má absorção da lactose ocorre em 58 milhões de adultos (maiores de 15 anos), dos quais 37 milhões têm intolerância à lactose, desses, 27 milhões têm intolerância a um copo de leite, dez milhões têm intolerância grave, Esses números mostram que, no mínimo, 27 milhões de brasileiros, por determinação genética, ou seja, por não produzir a enzima responsável pela digestão da lactose, podem ter sintomas, tais como diarreia, distensão abdominal e uma sensação de desconforto abdominal, ao ingerir um copo de leite.

Em um estudo realizado com crianças de uma escola pública periférica de uma grande cidade do interior de São Paulo relatado por Farias (2007), observou-se uma deficiência ontogenética de lactase semelhante ao encontrado nas populações caucasianas, utilizando-se uma dose de lactose mais próxima da ingerida na alimentação habitual das mesmas.

A Comissão de Desenvolvimento Econômico aprovou em 11 de Abril de 2007 o projeto de lei do Deputado Sandro Mabel, do PR goiano, que obriga os fabricantes de produtos que contenham lactose a informarem essa característica no rótulo ou embalagem do produto. A alegação do Deputado foi a seguinte: "As mães que têm filhos com intolerância à lactose, apresentam muita dificuldade, ao fazer compras, de saber se o produto contém lactose ou não. Isso causa um mal para essa criança. Então, assim como o glúten que consta na embalagem 'contém glúten', quando o produto contém lactose, aparecerá na embalagem 'contém lactose', o que é transparente para o consumidor que não tem problema, ele não vai nem notar nada, mas para as pessoas que têm a doença, é uma informação importante" (LATICÍNIO.NET, 2007).

Atualmente estão disponíveis no mercado produtos com diferentes teores de lactose. Uma redução de 50% no teor de lactose pode ser adequada para aliviar os sinais e os sintomas da intolerância ao leite na maioria dos indivíduos saudáveis com má absorção da lactose. Campos

(2005) sugere que a ingestão de iogurte por ser tão efetivo quanto a de leite, porém apresenta a lactose na forma hidrolisada, aliviando assim, os sintomas de intolerância à lactose. Entretanto, Olano e Ramos (1982) afirmam que algumas pessoas não podem ingerir tal produto, uma vez que os microrganismos são capazes de hidrolisar apenas aproximadamente a quinta parte da lactose inicial, não sendo suficiente para tal finalidade.

Segundo Jay (2002), os fatores para minimizar os efeitos da intolerância à lactose quando da ingestão de iogurtes e leites fermentados estão relacionados a fatores como, cepas das bactérias utilizadas na produção do iogurte, diferenças básicas entre tratos digestivos de pessoas e animais estudados e grau de intolerância de cada indivíduo.

Martin (2002) relata que Blumer (1995) fez um estudo comparando a digestibilidade do iogurte com a do leite, obtendo-se os seguintes resultados: 32% a 44% do leite é digerido em até 3 horas, enquanto que para o iogurte ocorre a digestão de 92 a 96,5% no mesmo período. Estas diferenças foram atribuídas às mudanças químicas ocorridas nas proteínas, durante a fermentação.

Entre os métodos para reduzir o teor de lactose do leite estão: (A) ultrafiltração com modo de diafiltração; (B) hidrólise utilizando lactase. Segundo Rasic et.al.(1992), o método da hidrólise da lactose pela enzima lactase adicionada diretamente ao leite é um processo relativamente caro, pois a enzima não é recuperada para nova utilização. Sobre o mesmo método, Kohler et. al. (1994), descreve que é um processo que pode levar muitas horas a mais que um dia, dependendo da temperatura utilizada. Ainda sobre o mesmo método, VYAS et. al. (2003), afirmam que a hidrólise muda a forma presente do açúcar e, portanto, também aumenta a doçura, sendo uma vantagem ou não dependendo do propósito da redução de lactose.

2.3 ULTRAFILTRAÇÃO

No começo da década de 60, a ultrafiltração era descrita em publicações, particularmente nos Estados Unidos, como a principal aplicação, sendo a retenção das proteínas do soro de leites na fabricação de queijo e conseqüentemente aumento de rendimento (HORTON, 1997).

A ultrafiltração é um processo de separação por membrana, o qual consiste de um processo físico em que, sob influência de uma força motriz, efetua uma separação do líquido, através de uma membrana semipermeável, que pode ser constituída de material polimérico ou inorgânico, em duas frações líquidas: retentado e permeado (FRIELDLANDER et.al., 1966; RIBEIRO, 1989).

A separação das substâncias dependerá do valor "cut-off" da membrana, que é indicado pelo peso molecular da menor molécula retida pela membrana. Isto implica em que as substâncias de menor peso molecular do que o valor "cut-off", passam pela membrana e que substâncias de maior peso molecular, são retidas (ANON, 1980).

Processos com a utilização de membranas caracterizam-se pela concentração ou fracionamento de um líquido produzindo dois líquidos com composição diferente. O processo de separação está baseado na permeabilidade seletiva de um ou mais constituintes do líquido pela membrana. Os mecanismos que controlam o transporte de massa em diferentes processos de membrana variam em função do tipo de membrana, condições de processo e configuração do equipamento. Os principais processos realizados por meio de membranas são: osmose inversa (OI), nanofiltração (NO), ultrafiltração (UF) e microfiltração (MF). O que diferencia cada um dos processos são a porosidade das membranas e a pressão utilizada no processamento (ANON, 1980; ROSENBERG, 1995).

Alguns fatores devem ser analisados para a seleção da membrana a ser utilizada no processo de ultrafiltração, tais como: serem aprovadas para o uso em alimentos, terem durabilidade, disponibilidade, baixo custo, resistência à pressão, pH e temperatura de processo, compatibilidade química levando-se em consideração também, sua durabilidade (PAULSON et. al, 1984; FEUERPEIL, 1993).

As membranas derivadas de acetato de celulose são classificadas em membranas de primeira geração, sendo estas assim denominadas por apresentarem sensibilidade ao pH e a temperatura. As de segunda geração, constituídas por polímeros sintéticos, são mais resistentes à ação de ácidos e bases fortes e resistentes a temperaturas próximas ou superiores a 100°C. Os polímeros sintéticos podem ser: poliamidas, polissulfonas, poliácridonitrila e polifluoreto de vinilideno. As membranas de terceira geração são adequadas a processos que utilizem pressões elevadas, fluidos viscosos, soluções quimicamente agressivas ou altas temperaturas, assim são fabricadas a partir da síntese de pós extremamente finos, geralmente zircônia ou alumina, são as membranas denominadas de minerais ou inorgânicas (PETRUS, 1997).

A ultrafiltração, envolve o uso de membranas que separam estruturas com peso molecular de 1 a 200 kDa e a utilização de pressões menores que 1000 kPa . O gradiente de pressão hidrostática é a força motriz empregada para alcançar o escoamento hidrodinâmico desejado pela membrana (ROSENBERG, 1995).

Os processos de ultrafiltração (UF) permitem a recuperação e a purificação de constituintes valiosos do leite, e tem se tornado uma parte integral de um número crescente de processos lácteos. Quando utilizada em leite, a UF produz um retentado contendo altos teores de proteínas, gorduras e minerais coloidais e um permeado constituído de água, minerais solúveis, lactose, compostos nitrogenados não protéicos e vitaminas hidrossolúveis. A ultrafiltração oferece a possibilidade de ajustar as proporções dos diferentes constituintes do leite sem efeitos desfavoráveis às suas características físico-químicas e pode ser utilizada na padronização das proteínas do leite. As concentrações de proteínas, lactose e minerais no retentado dependem da extensão na qual o leite é processado pela UF e as condições (pH e temperatura) utilizadas (ROSENBERG, 1995).

O uso da ultrafiltração juntamente com a diafiltração é utilizado na produção de queijos desde 1975. Neste processo, a diafiltração é utilizada para remover água, lactose e solutos de baixo peso molecular do leite antes da produção do queijo.

Segundo Ribeiro (1989), a diafiltração consiste de uma fase no processo de ultrafiltração onde o concentrado é diluído através da adição de água e depois é novamente concentrado por ultrafiltração. Esta etapa visa reduzir o conteúdo de lactose nos retentados.

Na maioria dos artigos científicos e livros publicados sobre ultrafiltração se utiliza o termo “Diafiltração”, sendo este o termo mais comumente usado, porém pode ser encontrado também, o termo “ultrafiltração com modo de diluição” (DUTRÉ & TRAGARDH, 1994).

2.4. ULTRAFILTRAÇÃO NO PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE IOGURTES

De acordo com Ribeiro (1989), o uso de ultrafiltração aliada à fabricação de iogurte foi descrito pela primeira vez por Bundgaard et. al. (1972), onde os autores produziam iogurte a partir de leite desnatado concentrado por ultrafiltração a 13% de sólidos totais.

Segundo Gennip (1973), citado por Tamime & Deeth (1980), a prática comercial comum de fortificação do leite através da adição de leite em pó, pode ter suas desvantagens tais como: a produção excessiva de ácido e sabor indesejável. Essa alta produção de ácido é decorrente do alto nível de lactose e também do aumento da concentração de nutrientes propícios ao crescimento bacteriano.

Kosikowski (1979) produziu iogurte com baixo teor de lactose a partir de concentrados de ultrafiltração com teores de 3,5-4,5% de proteínas, ajustados a 1,4-2,6% de gordura e cerca de 1,1% de lactose, sendo realizada a fermentação a 43°C com a cultura de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* até atingir pH de 4,59 (3 a 4 horas). O produto apresentou firmeza e viscosidade satisfatória sem a formação de sinérese, porém apresentou falta de sabor e aroma característicos. O autor obteve uma acidez praticamente estacionária com pequenas variações (0,9 a 1,1% de ácido láctico), durante 6 semanas de estocagem a 5°C, concluindo assim, que a lactose é um fator limitante de pós-acidificação.

Rosenberg (1995) relata que através da UF, utilizada para padronizar níveis de proteínas e sólidos totais no leite utilizado para a produção de produtos fermentados, foi possível desenvolver produtos com características adequadas, tais como consistência, ausência de acidificação pós-processamento e de sinérese e com melhor qualidade que os produtos elaborados com leites fortificados com leite em pó ou leite evaporado.

Em um primeiro teste descrito por Tamime e Robinson (1999), através da concentração do leite integral por UF até um teor de sólidos totais de 18-20 % (p/v) foi possível obter um iogurte homogêneo e cremoso com *flavour* ácido típico, não sendo necessário realizar homogeneização

após o tratamento do leite. Em um segundo teste, foi efetuado um processo similar ao mencionado anteriormente, mas com o conteúdo de lactose ajustado para 2 % (p/v), resultando em um iogurte com melhores características que os comercialmente disponíveis. Em um terceiro teste, concentrou-se um leite desnatado por ultrafiltração até o teor de sólidos totais de 13 % (p/v) resultando também em um iogurte apropriado. No quarto teste, realizado para a produção de iogurte com leite desnatado concentrado por osmose inversa (OI) até um teor de sólidos totais de 15 % (p/v), resultou em um produto com qualidade similar (viscosidade, acidez e *flavour*) ao do iogurte produzido com adição de leite desnatado em pó com um teor de sólidos totais de 15% (p/v), apesar do produto mostrar uma propensão menor a sinérese, a prática da OI é muito limitada para o uso em grande escala.

A produção de iogurte a partir de leite desnatado concentrado por ultrafiltração, proporciona um aumento do teor de proteínas, o que permite uma maior absorção de água, além do que um produto acabado com maior viscosidade do que um iogurte com o mesmo teor de sólidos, obtido pelos métodos tradicionais, sem aumentar a sinérese (JEPSEN, 1977; NIELSEN, 1976; ANON, 1980; ROSENBERG, 1995).

Alguns estudos sobre a produção de iogurte obtido através de retentado obtido por UF sugerem que o conteúdo de sólidos totais deve ser de 13,23 % (p/v) porém não mencionam a quantidade de gordura (TAMIME & ROBSINSON, 1999).

A utilização do processo de ultrafiltração associada à diafiltração possibilitou o aumento de teor de sólidos totais do leite pasteurizado, com o teor de lactose reduzido, o que vem a ser uma vantagem do processo uma vez que o alto teor de lactose proporciona uma maior pós-acidificação (Tamime & Deeth, 1980). Rasic & Kurmann (1978), e Pereira (2002), afirmam que, independente do teor de lactose da matéria-prima e do tipo de cultura utilizada, os iogurtes estão sujeitos ao decréscimo de pH e aumento da acidez durante a estocagem refrigerada, atribuindo-se o fato à persistente atividade metabólica das bactérias lácticas durante a estocagem do produto mesmo em temperaturas de 0 a 5°C.

Ribeiro (1989) avaliou a aplicação da ultrafiltração de leite no processo de fabricação de iogurtes a partir de concentrados de leite integral, leite desnatado e de leite com baixo teor de lactose obtido por diafiltração. Os iogurtes produzidos a partir de leites diafiltrados, com teores de lactose ajustados à faixa de 0,52-2,44% apresentaram uma menor velocidade de produção de ácido láctico durante o processo de fermentação, a qual diminuiu com a redução do teor de lactose, e apresentou nível de acidez praticamente constante durante a estocagem quando o conteúdo de lactose foi de 0,52-0,67%.

Um fator favorável à redução do teor de lactose do leite por meio de diafiltração é que a produção de ácido láctico pelas bactérias lácticas diminui durante o armazenamento, fornecendo um maior tempo de vida de prateleira ao produto (RIBEIRO, 1989).

Pereira (2002) fez um estudo para produção de iogurte com leite integral pasteurizado submetido primeiramente ao processo de ultrafiltração com fator de concentração de 1,25 seguido de diafiltração até atingir o teor de lactose de 1,7%, sendo avaliado também, os tipos de culturas, probióticas e tradicionais, concluindo que a redução de lactose não afetou significativamente a manutenção de ambos os tipos de culturas, porém observou-se que esta redução influenciou significativamente o tempo de fermentação que foi prolongado em 30 minutos, além de resultar em um produto considerado de baixa consistência e baixa acidez pelos consumidores.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAIS

3.1.1. Matéria-prima

Leite integral pasteurizado e homogeneizado Tipo A.

3.1.2 Culturas Lácteas

As culturas lácteas contendo *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* (Chr. Hansen – Yoflex - liofilizadas) na proporção 1:1 inicialmente dissolvidas em 2 L de leite esterilizado, inoculadas a 45°C, fermentadas por 4 horas e refrigeradas a 5° C até o momento da utilização, onde eram adicionadas em 5L dos retentados 1, 2 e 3 na proporção de 2%.

3.1.3 Equipamentos

- Unidade Piloto de Ultrafiltração Tetra Alcross MF 1, contendo uma membrana mineral tubular de óxido de zircônio com suporte de carbono grafite, com área de 0,2 m² e com tamanho de poros de 0,1 µm (figura 3.1.3).
- Pasteurizadora Brasnox modelo Tc capacidade 100 L.
- Estufas Fanem Orion 515
- Potenciômetro Tecnal Tec 2
- Balança Analítica Mettler Toledo AB204-S
- Utensílios de planta piloto

- Vidrarias e reagentes de laboratório
- Meios de cultura MRS e M17



Figura 3.1.3: Unidade Piloto de Ultrafiltração Tetra Alcross MF 1

3.2. METODOLOGIA

3.2.1. Experimentos preliminares

Inicialmente foram realizados testes preliminares com fatores de concentração volumétricos de: 1:1,4; 1:1,6; 1:1,8 e 1:1,9 e teor de lactose de 1,7%. A partir dos resultados obtidos foram realizados três ensaios com três repetições utilizando os fatores de 1,35 ; 1,40 e 1,50 e teor de lactose ajustado a ~1,7%.

3.2.2. Processo de obtenção de retentados com baixo teor de lactose

O leite pasteurizado tipo A marca Fazenda Bela Vista foi aquecido a 55°C. e concentrado por ultrafiltração até o fator de concentração volumétrico de 1: 4,5., determinado a partir da redução de volume obtida durante o processo e controlado por medidas de vazão de permeado durante o mesmo. Em seguida foi realizada a diafiltração através da adição de água deionizada a 55°C para a obtenção do teor de lactose até (1,70%). Após a diafiltração, o leite foi novamente concentrado por ultrafiltração até obtenção dos fatores de concentração volumétricos de 1:1,35, 1:1,4 e 1:1,5. A partir destes retentados foram produzidos os iogurtes.

3.2.3. Limpeza do sistema de ultrafiltração

A limpeza da membrana de ultrafiltração foi realizada no dia anterior e após a utilização do equipamento, seguindo as seguintes etapas:

- Enxágüe com água deionizada à temperatura ambiente;
- Circulação de solução de hidróxido de sódio a 1% por 30 minutos a 80 °C;
- Enxágüe do equipamento com água deionizada à temperatura ambiente até obtenção de pH neutro;
- Circulação de solução de ácido nítrico a 1% por 30 minutos a 50 °C;
- Medida do fluxo de permeado com água deionizada a 55 °C;
- Circulação de solução de hipoclorito de sódio 200 ppm durante 15 minutos à temperatura ambiente;
- Circulação de solução de hipoclorito 200 mg/kg à temperatura ambiente.

3.2.4. Fluxo de permeado (kg/h.m²)

O fluxo de permeado foi medido em função do tempo de processamento. O tempo de ultrafiltração foi medido com cronômetro e o permeado retirado, coletado em recipiente durante intervalo de tempo previamente determinado e pesado em balança digital com capacidade para 10 kg e precisão de 0,002 kg. O fluxo médio de permeado foi então calculado dividindo-se o peso de permeado pelo tempo e área da membrana.

3.2.5. Processo de Fabricação dos Iogurtes

O processamento de obtenção dos retentados e dos iogurtes utilizados nos experimentos é apresentado na figura 3.2.2.5.

Os retentados (Fc de 1:1,35, 1:1,4 e 1:1,5) foram submetidos ao tratamento térmico de 95°C por 5 minutos e resfriados a 45°C para a fabricação dos iogurtes.

Os leites com baixo teor de lactose foram inoculados com 2% do fermento láctico (*L.bulgaricus* e *S. thermophilus*), segundo as técnicas recomendadas pelo fabricante das culturas e homogeneizadas para promover uma distribuição adequada.

Em seguida, uma porção de cada iogurte foi acondicionada em tubos de rosca de 70 mL identificados e estes colocados em banho termostaticado a 45°C. Foram retiradas amostras a cada 15 minutos para o monitoramento de pH e acidez titulável ao longo da fermentação (curvas de acidez) e do tempo de fermentação. A outra porção foi acondicionada em balde de 5 litros e incubada em estufa a 45°C. O tempo de fermentação dos iogurtes foi considerado o necessário para que o produto atingisse pH de $4,9 \pm 0,1$. Em seguida os produtos foram retirados da estufa e imediatamente resfriados em banho de gelo até 10°C, batidos em misturador tipo “mixer” por 1 minuto e transferidos para copos de polietileno de 150 mL e lacrados com tampas de alumínio termossoldável e armazenados a 5°C.



Figura 3.2.2.5 Diagrama de blocos do processamento do iogurte.

3.3. DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

3.3.1. Leite integral pasteurizado, permeados e retentados:

- pH: foi determinado em um potenciômetro Micronal modelo B474, conforme metodologia descrita na A. O. A. C. (1997).

- Acidez titulável: foi determinada através da titulação da amostra com Hidróxido de Sódio 0,1 N em presença do indicador fenolftaleína (A. O. A. C, 1997).

- Extrato Seco Total (EST): foi determinado gravimetricamente após secagem em estufa a 105°C (A.O.A.C., 1997).

- Gordura: foi determinada pelo método de Gerber (ADOLFO LUTZ, 2005).

- Nitrogênio Total: foi determinado através do método micro Kjeldahl, sendo que o fator de conversão para proteína foi calculado multiplicando-se o teor de nitrogênio total por 6,38 (A.O.A.C., 1997).

- Lactose: foi determinada pelo método de Felhing (ADOLFO LUTZ, 2005).

3.3.2. Curvas de pH e acidez

Para de terminação das curvas de pH e acidez durante o processo de fermentação, os retentados adicionados de fermento láctico foram acondicionados em tubos de rosca com capacidade para 70 mL e incubados em Banho de água a temperatura de 43 °C. Em intervalos de 50 minutos, retirava-se um tubo de cada retentado do Banho, resfriava-se a 20 °C com auxílio de gelo e realizava-se as determinações de pH e de acidez titulável.

Amostras do iogurte foram armazenadas em recipiente de polietileno, com capacidade de 150 g, selados e armazenados em refrigerador a 5°C e analisadas quanto a acidez titulável nos intervalos de 1, 7, 14, 21,28 e 35 dias após sua fabricação.

3.3.3 Análises microbiológicas

Para verificar se os iogurtes estavam de acordo com a legislação, foram realizadas análises microbiológicas dos iogurtes após 35 dias de fabricação para determinação do número total de bactérias. O número total de *L. bulgaricus* foi determinado por meio de inoculação na profundidade das placas contendo agar para *Lactobacillus* DE Man, Rogosa e Sharpe (Agar M.R.S.) e incubadas a 37°C por 48h e o *S. thermophilus* na profundidade das placas contendo o

meio M17 com lactose incubados a 37°C por 48 h conforme descrito por Jay (2005). A abertura das embalagens dos iogurtes foi realizada no interior da câmara de fluxo laminar para prevenir qualquer contaminação da amostra. Após o tempo de incubação necessário para cada meio de cultura, realizou-se as contagens das colônias presentes nas placas.

3.3.4. Análise sensorial

Foi realizada a análise sensorial dos iogurtes para avaliar a aceitabilidade dos mesmos quanto aos atributos de “consistência” e “acidez” e para verificar se existia preferência entre as amostras. A análise foi realizada no Laboratório de análises sensoriais da Faculdade de Tecnologia Termomecânica e foi aplicada a 50 provadores de ambos os sexos com faixa etária entre 18 a 58 anos. Para cada provador, foram dispostas as três amostras contendo aproximadamente 50 mL de iogurte, produzidos com os leites concentrados e diafiltrados com fatores de 1,35, 1,40 e 1,50. A degustação foi realizada em cabines individuais sob a iluminação de lâmpadas vermelhas. Cada provador ordenou o código das amostras na ficha da análise sensorial de acordo com sua preferência (da mais preferida para a menos preferida) e sua justificativa como demonstrado na figura 3.3.3. O método sensorial foi realizado conforme descrito por Dutcosky (1996).

Análise Sensorial		
Nome: _____	Idade: _____	
Amostra: Iogurte natural		
Favor provar as amostras cedidas, da esquerda para a direita, e registrar o código de cada amostra de acordo com sua preferência nos espaços a baixo. Em seguida, se desejar, justifique suas escolhas.		
_____	_____	_____
(+ Preferida)		(- Preferida)
Justificativa: _____		

FIGURA 3.3.3: Ficha de análise sensorial utilizada para o teste de preferência dos iogurtes naturais

3.3.5. Características reológicas

As amostras de iogurte foram previamente homogeneizadas por 20 segundos, e acondicionadas em béqueres para a realização das medidas de viscosidade a 10°C, utilizando o Viscosímetro Brookfield modelo LVDV-III, sendo que para um determinado spindle SC4-18, efetuou-se a variação de rotação de 0,1 a 1,0 rpm (crescente e depois decrescente).

Foram realizados análises com o viscosímetro digital Brookfield DV-III Reometer v3.3 LV nos iogurtes após 7 dias de armazenamento sob refrigeração, sendo determinado os valores médios de *Índice de consistência (k)* e *Índice de comportamento do fluido (n)* nos três processamentos.

3.4. PLANEJAMENTO ESTATÍSTICO

Foi efetuado o planejamento de blocos completos com 3 repetições, conforme descrito por Box et. al., (1978). O experimento foi aleatorizado de acordo com esse planejamento. A variável avaliada foi o fator de concentração e os blocos foram os processamentos. Os resultados obtidos foram avaliados por Análise de Variância (ANOVA) e o nível de significância utilizado foi o de 5%. Quando aos resultados da ANOVA mostraram a existência de diferença significativa foi realizado o teste de médias de Duncan.

3.5. CÁLCULOS

3.5.1. Cálculos do fator de concentração e da massa de água para diafiltração

O fator de concentração foi determinado através da redução da massa obtida durante o processo de ultrafiltração, conforme descrito por FIL – IDF (1981).

$$F_c = \frac{\text{Massa inicial} \times F_c \text{ inicial}}{\text{Massa inicial} - \text{Peso permeado}}$$

A determinação do peso de água a ser adicionada foi calculada conforme descrito por Pereira (2002).

$$M_{L+A} = \frac{M_L \times C_L}{C_1}$$

$$M_A = M_{L+A} - M_L$$

Onde,

M_{L+A} = Massa de leite e água adicionada para a diafiltração (kg);

M_L = Massa de leite integral no sistema de ultrafiltração (kg);

C_L = Concentração de lactose inicial no leite integral (g/L);

C_1 = Concentração de lactose desejada no leite diafiltrado (g/L);

M_A = Massa de água deionizada a ser adicionada para obter leite diafiltrado (Kg).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Testes Preliminares

Os resultados obtidos nos testes preliminares mostrou que o iogurte elaborado com retentado de fator de 1:1,4 (com 10,3% de sólidos totais) resultou em um produto com consistência adequada, enquanto que os elaborados com retentados com fatores de concentração 1:1,8 (com 15,7% de sólidos totais) e 1:1,9 (com 16,7% de sólidos totais) resultaram em iogurtes de consistência inadequada similares a um “flan”, concluindo assim, que seria necessário um estudo maior com retentados com concentrações menores que 1:1,8.

4.2. Processo

4.2.1. Fluxo do permeado

Na figura 6.2.1. é apresentado o comportamento da vazão de permeado em função do tempo, onde verifica-se que a vazão diminui com o tempo à medida que o fator de concentração aumenta. Este comportamento foi observado por vários autores e confirmado por Ribeiro, 1989, uma vez que, além dos parâmetros operacionais (pressão, temperatura, concentração da alimentação e fluxo de alimentação), a formação de camada polarizada e a viscosidade do concentrado influenciam significativamente no fluxo de permeado. Essa camada é formada devido à deposição contínua de componentes retidos na superfície da membrana, principalmente proteínas e sais, à medida que a concentração aumenta, exercendo uma resistência hidráulica à passagem de água e de solutos de baixo peso molecular.

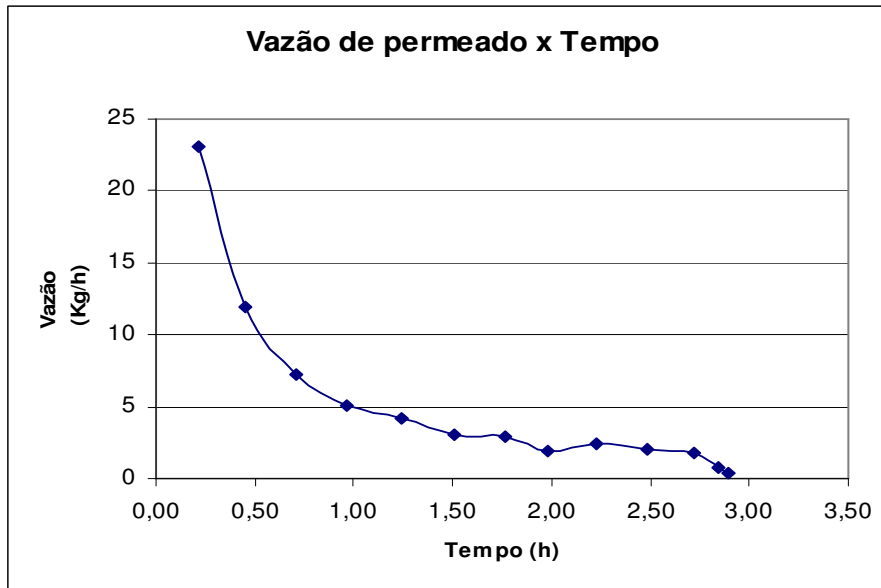


FIGURA 6.2.1 : Vazão de permeado (Kg/h) em função do tempo (h)

4.2.2. Composição físico-química das matérias-primas

A tabela 6.2.2. apresenta a composição média de 3 processamentos, assim como, os respectivos desvios padrões do leite pasteurizado integral, e dos retentados com fatores de 1:1,35, 1:1,40 e 1:1,50.

TABELA 6.2.2: Composição centesimal média do leite integral e dos retentados com fatores de concentração volumétricos de 1:1,35; 1:1,40 e 1:1,50

Análises	Leite Integral pasteurizado	Retentado 1 (FC 1:1,35)	Retentado 2 (FC 1:1,40)	Retentado 3 (FC 1:1,50)
Lactose (%)	4,6 ± 0,1 ^a	1,77 ± 0,09 ^b	1,8 ± 0,1 ^b	1,75 ± 0,08 ^b
Gordura (%)	3,1 ± 0,1 ^a	4,5 ± 0,1 ^b	4,9 ± 0,3 ^b	4,8 ± 0,1 ^b
Proteína (%)	4,4 ± 0,1 ^a	4,4 ± 0,2 ^a	4,6 ± 0,1 ^a	4,9 ± 0,2 ^a
Cinzas (%)	0,67 ± 0,01 ^a	0,57 ± 0,06 ^b	0,52 ± 0,04 ^b	0,53 ± 0,04 ^b
Extrato seco Total (%)	11,6 ± 0,6 ^a	11,4 ± 0,4 ^b	11,62 ± 0,08 ^b	12,0 ± 0,4 ^b

Valores médios resultantes de três processos. Médias com letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de significância ($p > 0,05$).

A partir dos resultados obtidos (tabela 6.2.2.) pode-se verificar que o leite pasteurizado tipo A utilizado nos três processamentos sofreu poucas variações em sua composição entre os processamentos uma vez que foi utilizada a matéria-prima de mesmo fornecedor, assim como, as amostras de leite ultrafiltrados e concentrados diafiltrados, visto que apresentaram baixos desvios

padrões, havendo repetibilidade nos três processos realizados, não apresentando diferença significativa ($p=0,99$).

Segundo Tamime e Deeth, 1980, o teor de sólidos totais no leite para a fabricação de iogurtes pode variar de 9,0 % para obtenção de iogurte desnatado até 20% para iogurtes integrais. Duame (1979), afirma que a matéria-prima deve apresentar no mínimo 12,0% para obtenção de um iogurte de boa textura.

O processo de ultrafiltração possibilitou o aumento do conteúdo de proteínas, gordura e conseqüentemente um pequeno aumento no teor de extrato seco total. Já o processo de diafiltração permitiu uma redução de 63% do teor de lactose total da matéria-prima e uma redução do teor de resíduos minerais.

A composição do leite integral pasteurizado e homogeneizado se encontrou dentro dos padrões estabelecidos pelo Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento quanto à composição físico-química.

O valor de proteína do leite integral pasteurizado é superior ao encontrado por Pereira (2002), conseqüentemente, mesmo com retentado com fator de concentração de 1:1,25 com o valor protéico de 3,3% utilizado para a produção de iogurte foi inferior ao utilizado, assim a autora não obteve um iogurte de boa consistência e acidez desejada, mesmo utilizando a matéria-prima com a mesma concentração de lactose, constatando-se assim, a forte influência do teor de proteínas para a fabricação do iogurte, sendo o teor protéico, o fator de maior relevância, visto que os valores de proteínas da matéria-prima utilizada foram superiores (4,4 a 4,9%), resultando em iogurte com a viscosidade e acidez adequadas.

4.2.3 pH e acidez durante a fermentação

A legislação não determina valores de pH para iogurtes, entretanto é uma forma de monitorar a fabricação e o seu valor está relacionado com a acidez e o desenvolvimento microbiológico, ficando seus valores a critério de cada produtor de acordo com o produto que se deseja obter. Estabelecido como término da fermentação o pH de aproximadamente 4,9, o tempo necessário para atingi-lo foi de 320 minutos. Esse tempo de fermentação diferente ao encontrado por Pereira, 2002, que foi de 280 minutos em média quando da fabricação de iogurtes a partir de teores de lactose semelhantes ao utilizado ($1,73 \pm 0,04$ %). Essas diferenças podem ser atribuídas às diferenças entre as cepas utilizadas.

Segundo Fernández-Garcia et.al., (1998) o efeito significativo do teor de lactose da matéria-prima sobre o tempo de fermentação se deve principalmente ao comportamento da cultura tradicional durante a fermentação, visto que, observou-se que o tempo de fermentação necessário para o produto atingir pH 4,4 foi o mesmo (475 minutos) tanto para o leite controle quanto para o leite com 85% de redução do teor de lactose, obtido por hidrólise enzimática.

A figura 6.2.3.1 mostra que as concentrações dos retentados não influenciaram no tempo de fermentação ao nível significância de 5% ($p>0,05$), cinco horas e oitenta e três minutos, ou seja, quando os iogurtes apresentaram um valor de pH de aproximadamente 4,9.

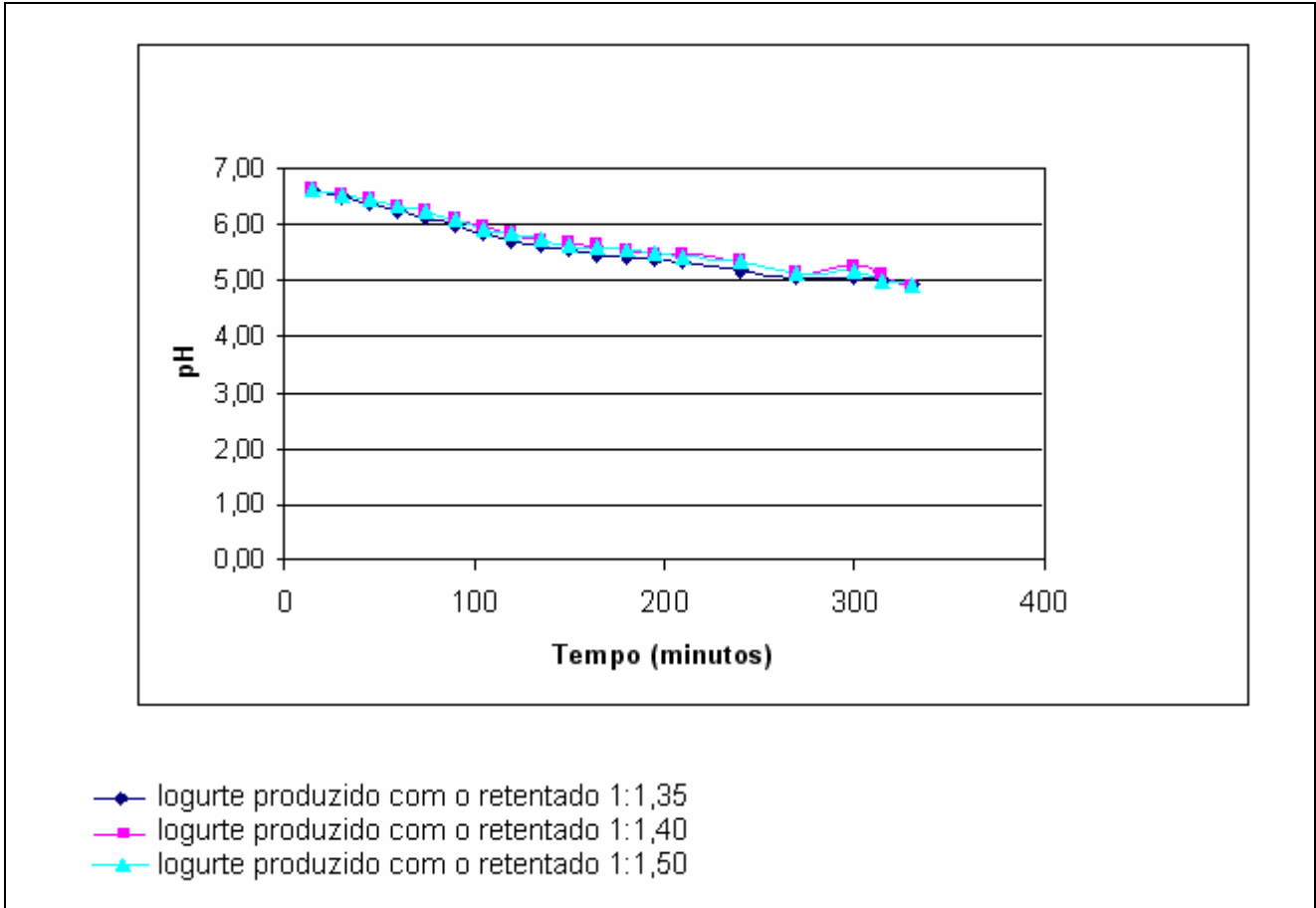


FIGURA 6.2.3.1: Variação de pH durante a fermentação dos iogurtes

De forma semelhante ao pH, os fatores de concentração dos retentados não influenciaram de forma significativa ($p=0,01$) no desenvolvimento de acidez ao longo do tempo de fermentação (figura 6.2.3.2). Este comportamento era esperado em função do fato do teor de lactose ter sido ajustado a um mesmo valor, ou seja, 1,7%.

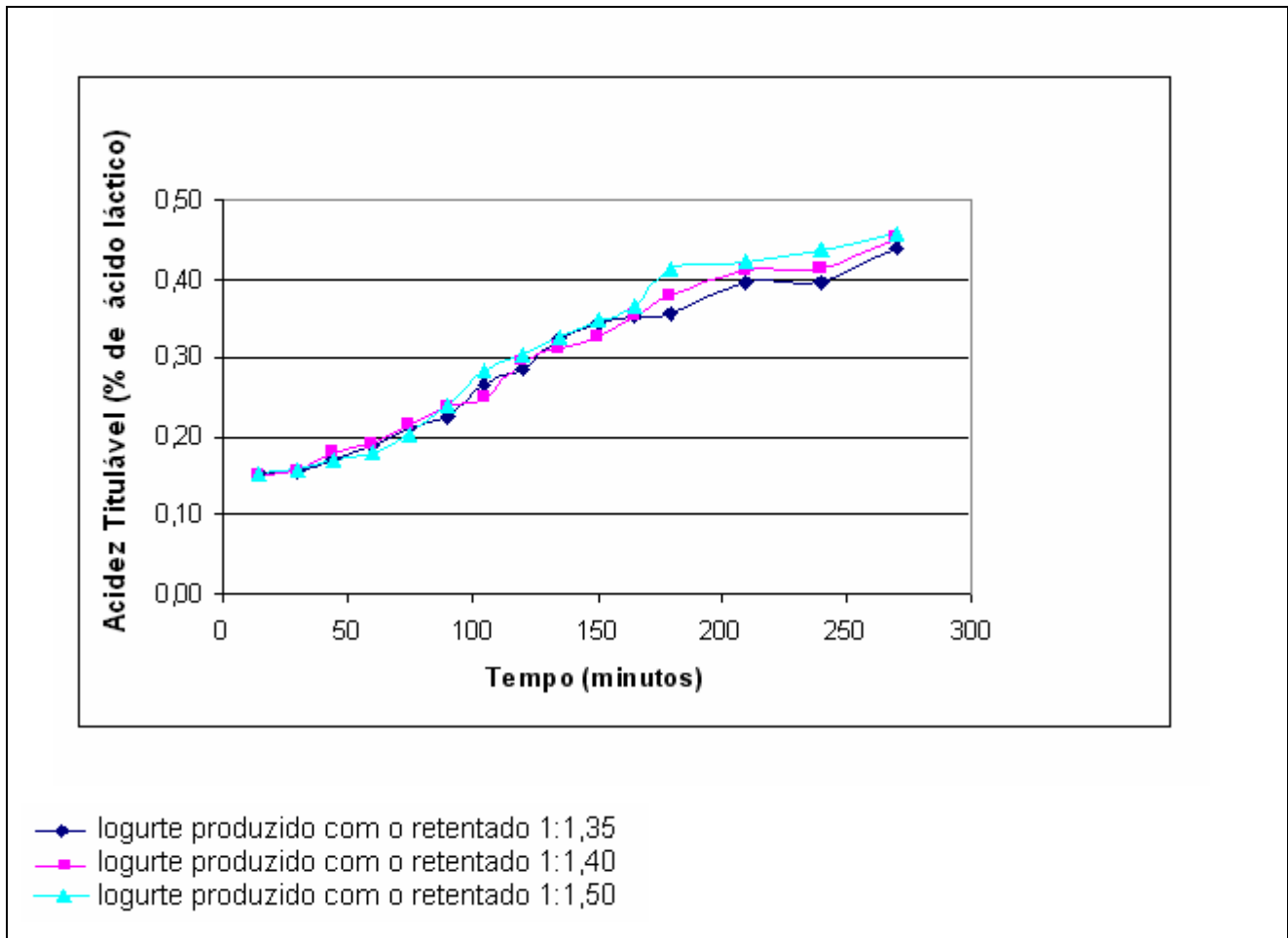


FIGURA 6.2.3.2: Desenvolvimento de acidez durante a fermentação dos iogurtes.

4.2.4. Característica da pós- acidificação dos iogurtes com baixo teor de lactose

A utilização do processo de ultrafiltração associada à diafiltração possibilitou o aumento do teor de sólidos totais do leite pasteurizado, com o teor de lactose reduzido, o que vem a ser uma vantagem do processo uma vez que o alto teor de lactose proporciona uma maior pós-acidificação (TAMIME & DEETH, 1980). Os iogurtes estão sujeitos ao decréscimo de pH e aumento de acidez durante a estocagem sob refrigeração, independente do teor de lactose da matéria-prima e do tipo de cultura utilizada, atribuindo-se o fato à persistente atividade metabólica das bactérias lácticas durante a estocagem do produto mesmo a 4°C (BEAL et.al., 1999; PEREIRA, 1992).

Na tabela 6.2.4.1 é apresentado o comportamento de pós acidificação dos iogurtes processados a partir dos leites concentrados e ultrafiltrados durante o tempo de estocagem sob refrigeração (5°C) de 5 semanas.

TABELA 6.2.4.1: Variação média de pH dos iogurtes durante estocagem

Tempo de armazenamento (dias)	pH médio Retentado 1 (1:1,35)	pH médio Retentado 2 (1:1,40)	pH médio Retentado 3 (1:1,50)
7	5,1 ± 0,3 ^a	5,1 ± 0,4 ^a	5,1 ± 0,4 ^a
14	4,9 ± 0,3 ^a	5,1 ± 0,4 ^a	5,1 ± 0,4 ^a
21	4,9 ± 0,3 ^a	5,0 ± 0,5 ^a	5,0 ± 0,4 ^a
28	4,9 ± 0,2 ^a	5,0 ± 0,5 ^a	5,0 ± 0,4 ^a
35	4,8 ± 0,3 ^a	5,0 ± 0,5 ^a	4,9 ± 0,5 ^a

Médias com letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$).

Os dados apresentados na tabela 6.2.4.1 mostram que não foi obtida diferença significativa na variação de pH ao longo do tempo ($p=0,93$) ao nível de significância de 5%, como também não houve diferença significativa entre os 3 processos ($p=0,74$) ao mesmo nível. Esses resultados mostram que o fator de concentração não influenciou na variação de pH durante o armazenamento e que a redução do teor de lactose permitiu que a acidez não sofresse uma variação significativa, evitando assim pós-acidificação do iogurte, concordando com dados obtidos por Ribeiro (1989) e Pereira (2002).

O mercado de iogurte é relativamente novo e existem poucas especificações do padrão de qualidade, sendo estas, usualmente fixadas pelos consumidores e pelos próprios fabricantes (MARTINS, 2002). A variação média da acidez dos iogurtes processados a partir dos leites concentrados e ultrafiltrados durante o tempo de estocagem é apresentada na tabela 6.2.4.2, estes resultados demonstram que todos os iogurtes apresentaram valores de acidez de acordo com a legislação, ou seja, 0,6 a 1,5 g de ácido láctico / 100 g (ANVISA, 1998).

TABELA 6.2.4.2: Valores médios de Acidez desenvolvida (g de ácido láctico/ 100 g) de iogurte durante o armazenamento dos iogurtes elaborados com os retentados 1, 2 e 3.

Tempo de armazenamento (dias)	pH médio Retentado 1 (1:1,35)	pH médio Retentado 2 (1:1,40)	pH médio Retentado 3 (1:1,50)
	0,61 ^a ± 0,07	0,60 ^a ± 0,09	0,63 ^a ± 0,09
14	0,65 ^a ± 0,07	0,6 ^a ± 0,1	0,6 ^a ± 0,1
21	0,67 ^a ± 0,07	0,6 ^a ± 0,1	0,7 ^a ± 0,1
28	0,65 ^a ± 0,07	0,6 ^a ± 0,1	0,7 ^a ± 0,1
35	0,67 ^a ± 0,06	0,6 ^a ± 0,1	0,7 ^a ± 0,1

Médias com letras iguais entre linhas não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$).

Através da tabela 6.2.4.2. pode-se observar que não houve diferença significativa na variação da acidez ao longo do tempo ($p=0,81$) ao nível de significância de 5%, como também não houve diferença significativa entre os 3 processos ($p=0,77$) ao mesmo nível. Esses resultados mostram que o fator de concentração não influenciou na variação da acidez durante o armazenamento e que a redução do teor de lactose permitiu que a acidez não sofresse uma variação significativa, evitando assim pós-acidificação do iogurte, concordando com dados obtidos por vários autores (Ribeiro, 1989; Pereira, 2002; Martins, 2002).

Segundo Martins, 2002, a acidez do iogurte varia com a temperatura de incubação, sendo esta importante para ocorrer o desenvolvimento da cultura láctica durante o armazenamento a frio. Salji & Ismail (1983) observaram que a consistência do iogurte estava relacionada com sua acidez, que se alterava durante o armazenamento em maior ou menor grau, dependendo da acidez inicial e da temperatura de estocagem do produto. Como pode ser observado através da tabela 6.2.4.1 que a variação de pH durante a estocagem do iogurte em todas as concentrações estudadas foi muito pequena, praticamente constante, fato explicado devido à redução de lactose e aumento do teor de proteína que resulta em um aumento do poder tamponante no concentrado sendo observado também por Ribeiro (1989) e Pereira (2002), porém em menores proporções, pois a redução de pH relatada pela primeira autora foi mais acentuada (de 4,90 para 4,41) da obtida que inicialmente foi de 5,1 para 4,8, atribuindo o fato a maior quantidade de proteína, concordando também, Martins, 2002, afirmando que o teor de sólidos do leite exerce grande influência na acidez titulável.

Em um estudo relatado por Martins (2002), os autores Lee et. al. (1991) concluíram que a vida de prateleira de seu produto deveria ser de 16 dias a 5°C com base nas alterações de pH e de acidez titulável. Neste trabalho, o iogurte superou o prazo de validade estipulado pelo autor, sendo que este pode ser estendido para 30 dias na mesma temperatura, pois os mesmos parâmetros ainda estão de acordo com a legislação e com os recomendados por outros autores.

4.2.5. Análises microbiológicas

Na tabela 6.2.3 são apresentados os valores resultantes da enumeração das bactérias (*S.thermophilus* e *L. bulgaricus*) nos iogurtes após 35 dias da produção.

TABELA 6.2.3: Enumeração de bactérias nos iogurtes após 30 dias da produção (LOG 10⁷ UFC/g).

iogurte	<i>S.thermophilus</i>	<i>L. bulgaricus</i>
Retentado 1 (1:1,35)	16,4 ± 0,5 ^a	1,2 ± 0,3 ^b
Retentado 2 (1:1,40)	15 ± 2 ^a	1,05 ± 0,07 ^b
Retentado 3 (1:1,50)	12 ± 1 ^a	7 ± 1 ^b

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$).

As análises foram realizadas em duplicata. A composição dos leites utilizados para a elaboração dos iogurtes com concentração com fatores de 1:1,35; 1:1,40 e 1:1,50 permitiram a viabilidade do inóculo, pois o teor de lactose da matéria-prima não afetou o processo de fermentação. O número de células viáveis de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* manteve-se dentro dos padrões exigidos pela legislação, uma vez que o número destas bactérias foi superior a 10^7 bactérias lácticas totais (UFC/g), não apresentando diferença significativa ($p=0,93$) entre as concentrações dos iogurtes obtidos (Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2007). Os resultados demonstram a predominância do *S.thermophilus*, pois segundo Tamime & Deeth (1980) o *L. bulgaricus* estimula a formação de ácido e atua sobre as proteínas liberando aminoácidos como valina, histidina, prolina, metionina, ácido glutâmico e leucina que são essenciais para o crescimento deste.

4.2.6. Análise Sensorial

Na tabela 6.2.4. é apresentada a somatória da pontuação obtida no teste de ordenação atribuídas às amostras de iogurtes na três concentrações estudadas.

Tabela 6.2.4. Pontuação dos iogurtes na análise sensorial.

Somatória da Pontuação dos iogurtes obtidos em análise sensorial	
Retentado 1 (1:1,35)	109 ^a
Retentado 2 (1:1,40)	98 ^a
Retentado 3 (1:1,50)	93 ^a

Somatória com letras iguais não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$).

Os resultados obtidos foram comparados por meio da tabela de Newell e Mac Farlane (Dutcosky, 1996), e análise de variância. Verificou-se que não houve preferência significativa entre os iogurtes avaliados, ao nível de significância de 5%. Foram observados alguns comentários sobre a consistência e sabor, onde os provadores apreciaram o produto e foi constatado que alguns preferiam o menos viscoso, enquanto outros o mais viscoso, concluindo-se ser uma questão de preferência particular de cada provador. Esses resultados demonstraram que os iogurtes apresentaram uma boa aceitabilidade.

4.2.7. Viscosidade Aparente

Na tabela 6.2.5 é apresentada a viscosidade dos iogurtes determinada a 1,0 rpm após 1 semana de produção.

TABELA 6.2.5: Viscosidade Aparente (Pa.s) determinada nos iogurtes após 01 semana de fabricação

logurte elaborado com Retentado 1 (1:1,35)	logurte elaborado com Retentado 2 (1:1,40)	logurte elaborado com Retentado 3 (1:1,50)
7,0 ± 0,1 ^a	8,49 ± 0,08 ^b	9,4 ± 0,1 ^c

Médias de viscosidade com letras diferentes diferem significativamente entre si ($p > 0,05$).

Como pode ser observado na tabela 6.2.5, houve diferença significativa entre os três iogurtes, pois pelo teste de médias, nenhuma média é igual, o que é visível pelos dados e era esperado uma vez que se utilizaram fatores de concentrações das matérias-primas diferentes refletindo assim, em maior viscosidade quando este foi elaborado com fator de concentração maior, uma vez que o fator determinante da viscosidade é o teor de proteínas (TAMIME, 2002).

Em um estudo relatado por Tadini et. al. (2002), comparou-se iogurtes elaborados com leite com teores de sólidos de 16% com iogurtes elaborados com o mesmo teor de sólidos acrescidos de 1% e 2% de caseinato, tendo como resultados valores de viscosidades aparente de 1,38 vezes superior e 1,92 vezes superior, respectivamente, quando comparados ao iogurte sem adição de caseinato, observando-se a influência de proteína na viscosidade do iogurte. Os valores numéricos de viscosidade aparente obtidos neste trabalho não podem ser comparados com os obtidos em outros trabalhos, uma vez que, por definição, esta é uma medida em um único ponto através de cisalhamento constante, dependendo das condições iniciais de cada medição (velocidade e temperatura) (DORAN, 1998; EARLE, 1998).

Através da tabela 6.2.2. e 6.2.5. verifica-se que o teor de sólidos influenciou significativamente na viscosidade do iogurte, principalmente quanto ao teor protéico, visto que, com um aumento de 0,2% de proteína juntamente com mudanças ocasionadas pela ultrafiltração fez com a viscosidade aumentasse em 1,2 vezes, sendo assim, possível obter iogurtes com consistência adequada e baixo teor de lactose utilizando os fatores de concentração de 1:1,35; 1:1,40 e 1:1,50 e ajuste do teor de lactose a 1,7%.

4.2. 8. Comportamento reológico dos iogurtes

Avaliando-se o comportamento reológico das amostras, através da rotação do fuso utilizado de 0,1 rpm a 1 rpm, verificou-se comportamento semelhantes ao exemplo demonstrado na figura 7.1.

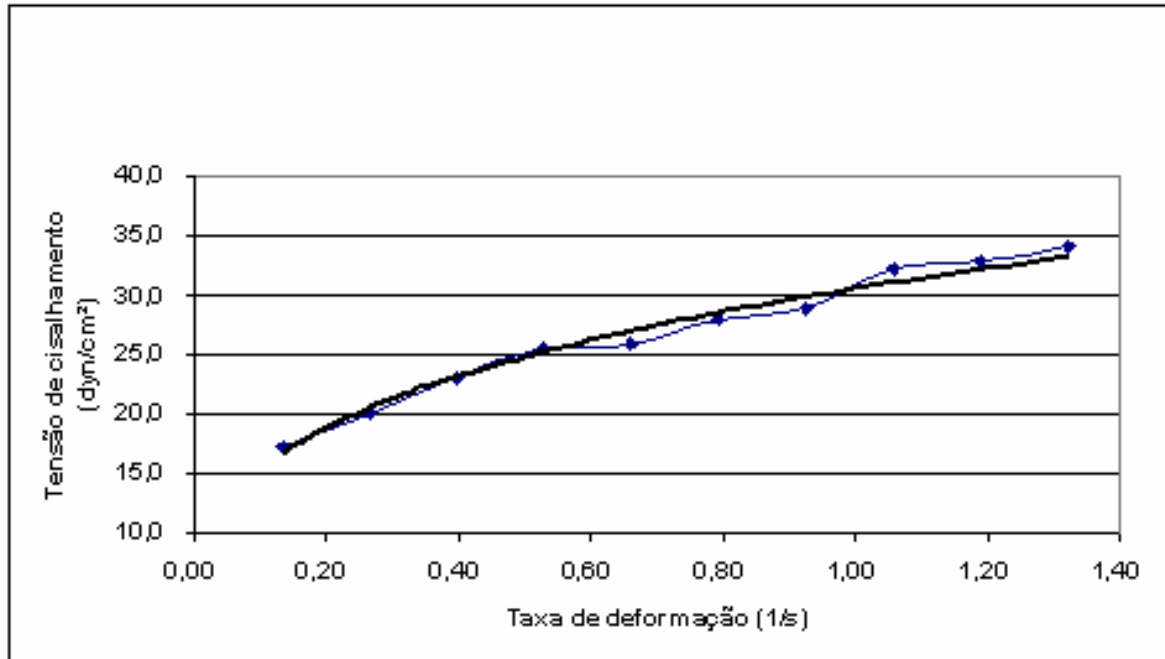


FIGURA 7.1: Comportamento reológico da amostra de iogurte.

A equação que rege este comportamento é a apresentada na equação 7.1.

$$\tau = k \left(\frac{dv}{dx} \right)^n \quad (\text{equação 7.1})$$

k = Índice de consistência

n = Índice de comportamento do fluido (DORAN, 1998; EARLE, 1998).

Os valores mais prováveis, valor médio e respectivo desvio padrão, de k e n das amostras analisadas são apresentados na tabela 7.1. Analisando os resultados obtidos, conclui-se que os fluidos apresentam comportamento pseudoplástico, pois de acordo com Earle (1998) e Doran (1998) para ter esta classificação o valor do índice de comportamento do fluido (n) deve ser menor que 1. Os valores de k obtidos nos iogurtes foram influenciados pelo fator de concentração dos retentados, pois foi verificada diferença significativa ao nível de 5% ($p=0,01$), evidenciando assim a diferença de viscosidade aparente entre as amostras como demonstrado na tabela 6.2.5.

TABELA 7.1: Índices de comportamento (n) e de consistência (k) mais prováveis obtidos nos iogurtes

	Retentado 1 (1:1,35)	Retentado 2 (1:1,40)	Retentado 3 (1:1,50)
k	$(30,13 \pm 0,07)^a$	$(33,5 \pm 0,2)^b$	$(36,4 \pm 0,8)^c$
n	$(0,27 \pm 0,06)^a$	$(0,2 \pm 0,1)^a$	$(0,28 \pm 0,09)^a$

Médias com letras diferentes na mesma linha diferem significativamente entre si ($p > 0,05$).

Ao aplicar-se rotação de inicialmente de 0,1 a 1,0 rpm (crescente) e posteriormente de 1 a 0,1 (decrecente), o comportamento reológico das amostras resultou em valores semelhantes ao exemplo demonstrado na figura 7.2, verificando-se diminuição da viscosidade aparente para uma mesma taxa de deformação, caracterizando-se comportamento tixotrópico (DORAN, 1998).

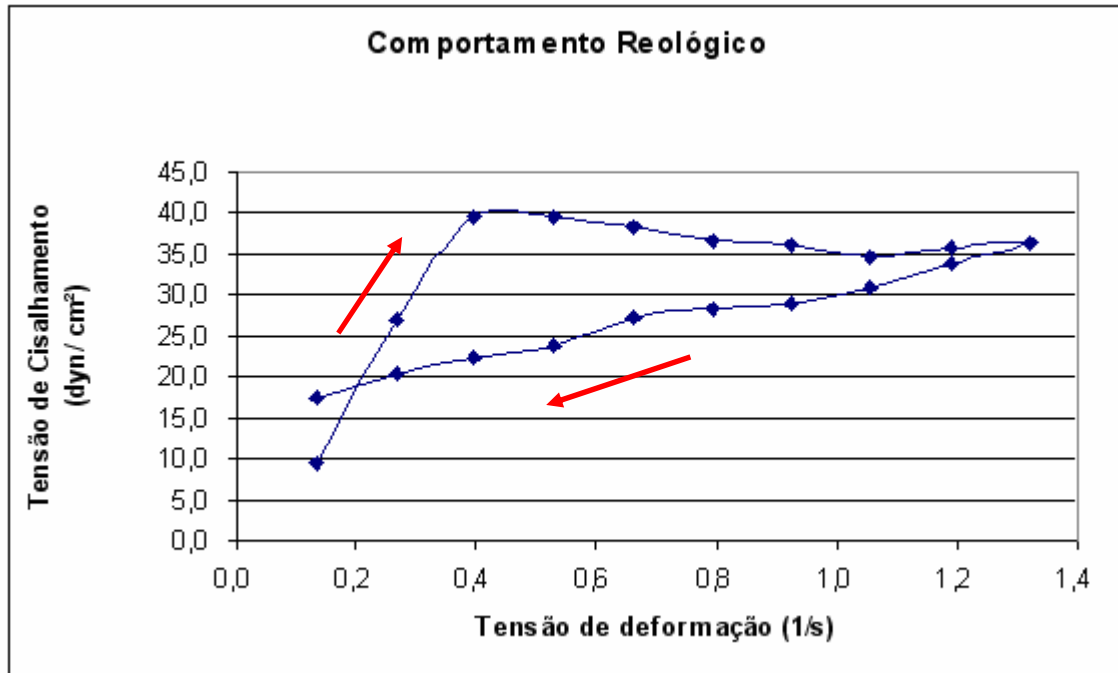


FIGURA 7.2: Comportamento reológico da amostra de iogurte.

5. CONCLUSÕES

- O teor de lactose de 1,7% dos retentados utilizados para a elaboração dos iogurtes permitiu a sobrevivência do inóculo. Os números de células viáveis de *S. thermophilus* e *L. delbruecki* subsp. *bulgaricus* mantiveram-se dentro dos padrões exigidos pela legislação.
- Os fatores de concentração volumétricos dos retentados (1:1,35; 1:1,40 e 1:1,50) e mesmo teor de lactose não influenciaram significativamente no processo de fermentação dos iogurtes.
- A redução de lactose e aumento do valor protéico evitou a pós-acidificação do iogurte durante o armazenamento, não havendo influência da concentração dos retentados utilizados como matéria-prima (1:1,35; 1:1,40 e 1:1,50) uma vez que, os valores de pH e acidez se mantiveram praticamente constantes.
- A utilização de retentados com fatores de concentração volumétricos de (1:1,35; 1:1,40 e 1:1,50) para elaboração dos iogurtes não resultou em preferência significativa ao nível de significância de 5%.
- O teor de sólidos influencia significativamente na viscosidade do iogurte, principalmente quanto ao teor protéico, visto que, com um aumento de 0,2% de proteína resultou em um aumento de viscosidade de 1,2 vezes.
- Foi possível obter iogurtes com consistência adequada utilizando os fatores de concentração volumétricos de 1:1,35; 1:1,40 e 1:1,50 e com baixo teor de lactose por meio da utilização de diafiltração durante o processo de concentração por ultrafiltração.
- Os iogurtes produzidos com os retentados com fatores de concentração volumétricos de 1:1,35; 1:1,40 e 1:1,50 apresentaram comportamento pseudoplástico e tixotrópico. Os valores de índice de consistência k dos iogurtes foram significativamente afetados pelos fatores de concentração volumétricos de 1:1,35; 1:1,40 e 1:1,50 dos retentados utilizados em sua elaboração. Quanto maior o fator de concentração, maior o valor de k .

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIAD - Associação Brasileira da Indústria de Alimentos Dietéticos e Para Fins Especiais. Acessado 17/05/2007 <http://www.abiad.org.br/artigos.htm>.

ADOLFO LUTZ, Instituto. **Métodos Químicos e Físicos pra Análises em Alimentos**. 4º Edição. Brasília, 2005.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, **Regulamento Técnico Referente a Alimentos para Fins Especiais, Portaria nº 29, 13 de janeiro de 1998**.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, **Regulamento Técnico, Portaria nº 593, 25 de agosto de 2001**.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, **Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional ou de Saúde**, Resolução RDC nº 2, 7 de janeiro de 2002.

ALBUQUERQUE, L. C. **O leite em suas mãos**, Juiz de Fora: Concorde Editora Gráfica, v. 3, 1997. 150 p.

ANON – Processamento de leite desnatado por ultrafiltração e hiperfiltração – **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 35, n. 212), p. 41-46,1980.

AQUARONE, E; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A. **Biotecnologia Industrial**, vol. 4. São Paulo: Edgard Blüncher Ltda, p. 210 – 214, 2001.

ANTUNES A. E. C. et.al. Desenvolvimento de buttermilk probiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.27, n.1, 2007.

WILLIAMS. **Official methods of analysis of AOAC international**. 16 ed.. Washington, v. 1-2, 1984.

A.S.C.N. – American Society for Clinical Nutrition. Lactose Intolerance and Milk Consumption. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 48, p. 1083-1159, 1988.

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

BEZERRA C. **Intolerância x Alergia**. <http://www.medicobrasil.com.br/noticias/not163.html> Acessado 29/01/2005.

BOURGEOIS, C. M.; LARPENT, J. P. **Microbiología Alimentaria 2: Fermentaciones Alimentarias**. Zaragoza: Acriba, S. A., 1995.

BOX, G.E.P. et. al. **Statistics for experimenters: an introduction to design; data analysis and model building**. New York; Jonh Wiley & Sons, Inc., 1978.

BRABANDERE A.G., BAERDEMAEKER J. G. Effects of process conditions on the pH development during yogurt fermentation. **Journal of food Engineering**, v. 41, p. 221 – 227, 1999.

BRANDÃO, S.C.C. Tecnologia da fabricação de iogurte. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**, Juiz de Fora, v.42, n.250, p.3-8, 1987.

BRASIL, Legislação, **Nova legislação de produtos lácteos e de alimentos para fins especiais, diet, light e enriquecidos**, São Paulo: Fonte Comunicação e editora, 1998, p. 47.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Resolução nº. 5., Padrões de identidade e qualidade de leites fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, 13 nov. 2000.

CAMPOS S. **Intolerância à lactose**. <http://br.news.yahoo.com/articles/health/0411/36/pemn.html>.. Acessado 29/01/2005

DANONE, Indústria de Laticínios, **Produtos Lácteos Frescos**. Disponível em http://www.danone.com.br/empresa.php?pagina=brasil_lacteos. Acessado em 20 de novembro de 2004.

DANONE. **logurte, histórico e fabricação**. Disponível na internet em: <http://www.danone.com.br>. Acesso em: 15 novembro 2006.

DIÁRIO DE SÃO PAULO. **Consumo na crise com a desconfiança**. Reportagem 1/04/2003. Disponível em:< <http://www.diariosp.com.br>. Acessado em 25 de Julho de 2005.

DORAN P. M. **Princípios de ingeniería de los bioprocesos**. Espanha (Zaragoza) Editorial Acribia, S.A., 203 p., 1998.

DUAME, H.E. **Making marketable yorgurts**. Dairy Field, v. 162, n. 12), p. 92-96,1979.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996.

DUTRÉ B, TRAGARDH G. Macrosolute-microsolute separation by ultrafiltration: A review of diafiltration processes and applications. **Food Engineering**. Sweden, 1994, 227 p.

EARLE R.L. **Ingeniería de Los Alimentos**. Espanha (Zaragoza) Editorial Acribia, S.A., 1998, 203 p.

ÉSTEVEZ M.C.R. **Aplicación del processo de ultrafiltración a la fabricación de yogur**. Alimentaria, 1988, 32-70 p.

FARIAS F. F. et. al. **Intolerância aos Carboidratos**. The Eletronic Journal of Pediatric Gastroenterology Nutrition and Liver Diseases, 2007. Disponível em: <http://www.e-gastroped.com.br/dec04/intolerancia.htm>.

FEUERPEIL, H.P. Superior ceramic membrane technology in food industry, **Fruit Process**. V.3, 1993, 366 p.

FERNÁNDEZ-GARCIA E. ET.AL. The addition of oat fiber and natural alternative sweeteners in the manufacture of plain yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n.3, p. 655-663, 1998.

FERRONATO, D. D. Z.; FARINÃ, L. O.; JORGE, A. S.; COSTA, M. C. D. Avaliação dos teores de lactose em iogurtes e leites fermentados produzidos no Paraná como subsídio para orientação nutricional de pacientes com intolerância à lactose. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 59, n. 339, p. 156-159,jul./ago. 2004

FIL-IDF Membrane process guidelines for testing terms and definitions. **Bulletin of the International Dairy Federation** (134), 1981, 11 p.

FOX. Proteolysis During Cheese Manufacture and Ripening. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 6, 1989.

FRIEDLANDER, H. Z.; RICKES, R.N. Membrane separation processes. **Chemical Engineering**, v.73, p.111-115,1966.

GALANTE A. **Milhões de brasileiros têm intolerância à lactose**. Folha Online, reportagem dia 12/10/2004. Disponível em: <http://www1.folha.uol.com.br/folha/colunas/nutricaoesaude/ult69u145.shtml>. Acessado em 29/01/2005.

GILLILAND, S. E.; REILLY, S. S.; KIM, H. S. Viability during storage of selected probiotic lactobacilli and bifidobacteria in yogurt-like product. **Food Microbiology and Safety**, v. 67, n. 8, 2002, 3091-3095 p.

GRANATO D. Leites Fermentados: algumas considerações. **Revista Leite & Derivados**, n.100, p. 16-32, 2007.

HORTON B.S. Whatever happened to the ultrafiltration of milk? **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 52 , 1997.

JAY J. M. **Microbiologia moderna de los alimentos**. 4ed. Espanha: Editorial Acribia S.A., 2002, 105-119 p.

JAY J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6^a ed. São Paulo. Artmed Rditora, 2005, 144-146 p.

JEPSEN, S. Membrane filtration in the manufacture of cultured milk products: yogurt, ymer, camembert cheese. **Cultured Dairy Products Journal**, v. 12, n. 3, p. 14-17, 1977.

KOHLER ET. AL. **United States Patent**. Method and apparatus for producing reduced lactose milk. Patent Number: 5,357,852 . 25 de Outubro de 1994.

KOSIKOWSKI, F. **Cheese and fermented milk foods**. F.V. Kosikowski and Associates, 2° ed, New York, USA, 1978, 711p.

KOSIKOWSKI, F. V. Low lactose yogurts and milk beverages by ultrafiltration. **Journal Dairy Science**, v. 62, n. 1, p. 41-46, 1979.

LATICINIO.NET. Lactose: **A indústria deverá informar na embalagem presença de lactose em produtos**. <http://www.Laticinio.net/noticias.asp?cod=4527>. **Acessado**

11 de abril de 2007.

LEBLANC A. M.; PERDIGÓN G. **Yogurt feeding inhibits promotion and progression of experimental colorectal cancer**. Medscimont. Argentina: 2003, 96 – 104 p.

LUCEY, J.A.; SINGH, H. Formation and physical properties of acid milk gels: a review. **Food Research International**, v. 30, n. 7, 1998, 529-542 p.

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

MANHAN K., STUMP S. E. **Krause**: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 9.ed. Ed. Roca, 1998.

MANUAL MERCK– **Síndrome da má absorção**. [http: //www.msd-brasil.com/msd43/m_manual/mm_sec9_110.htm](http://www.msd-brasil.com/msd43/m_manual/mm_sec9_110.htm). Acessado 20 de novembro de 2005.

MARTIN A.F. **Armazenamento do iogurte comercial e o efeito na proporção das bactérias lácticas**. São Paulo, 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, **Padrões de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados**. Resolução nº5, de 13 de novembro de 2000.

NATURE GENETICS. [http: //emedix.com.br/not2002/02jan14nut-nn-ual-lactose.php](http://emedix.com.br/not2002/02jan14nut-nn-ual-lactose.php). Acessado 29/01/2005.

NIELSEN, V. H. Factors which control the body and texture of commercial yoghurts. **American Dairy Review**, v. 37, n. 11, p. 36-38, 1975.

OBERMAYER-PIETSCH B. et. al. **Genetic predisposition for adult lactose intolerance and relation to diet, bone density, and bone fractures**. The American Society for Bone and Mineral Research. Washington, n.1, v.19, 42 p.

OLANO, A.; RAMOS, M. Diferentes tipos de yogur. Tecnologia y valor nutritivo. **Revista Espanhola de Lecheria**. N. 126, 1982, 239-255 p.

OLIVEIRA, M. N.; SIVEIRA, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probiótico. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 38, n. 1, jan./mar., 2002.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos Vol. 2 - Alimentos de Origem Animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PAULSON, D.J.; WILSON, R. L. Membrane Technology and its applications. **Food Technology**, v. 12, 1984, 77-87 p.

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

PETRUS, J.C.C. **Preparação, modificação e caracterização de membranas assimétricas para clarificação de suco de frutas**. Tese (doutorado em tecnologia de alimentos). Faculdade de Engenharia de alimentos. UNICAMP. Campinas/ SP, 1997).

RASIC, J.; KURMANN, J.A. **Yoghurt – Scientific grounds technology, manufacture & preparation**. Technical Dairy Publishing House, Copenhagen-Denmark; 1978, 427 p.

RIBEIRO E.P. **Aplicação de ultrafiltração de leite no processo de fabricação de iogurtes**. Campinas, 1989. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

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

ROSENBERG M. **Current and future applications for membrana processes in the dairy industry**. Trends in FOOD Science and Technology, v.6, 1995, 12-19 p.

SABOYA, L.V. et. al. Propriedades profiláticas e terapêuticas de lentes fermentados: uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n.2, 1997, 176-185 p.

SALJI, J.P.; ISMAIL A.A. Effect of initial acidity of plain yoghurt on acidity changes during refrigerated storage. **Journal of Food Science**, v. 48, n. 1, p. 258-259 1983p.

SALJI, J.P.; FAWAL, A.K.; ISMAIL, A.A.; MASHHADI, A. Effects os processing and compositional parameters on quality of plian liquid yogurt. **Milchwissenschaft**, v. 40, n.12, p. 734-736, 1985.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Editora-Livraria Varela, 1996, 139-157 p.

SGARBIERI, V.C. Revisão: Propriedades Estruturais e Físico-Químicas das Proteínas do Leite. **Brazilian Journal Food Technology**, v.8, n.1, 2005, 43-56 p.

SILVA, R. C. F.. Iogurte. Piracicaba: ESALQ, Departamento. **Tecnología Rural**, p.23, 1985.

SILVA, P. H. F.; PEREIRA, D. B. C.; OLIVEIRA, L. L.; COSTA JÚNIOR, L. C G. **Físico-química do leite e derivados: métodos analíticos**. Juiz de Fora: Oficina de Impressão Gráfica e Editora Ltda. 1997, 190 p.

SILVEIRA, N.V.V. et. al. **Leite em natureza e seus derivados: reciclagem analítica em laticínios e aplicação da legislação de alimentos nas conclusões das análises**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1994.

TADINI C.C. ET. AL. Avaliação da tixotropia de iogurte batido adicionado decaseinato de sódio, **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2002.

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

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R.K. **Yoghurt science and technology**. 2ed. England: Woodhead Publishing Limited, 1999, 330-333 p.

TAMIME, A. Y. Fermented milks: a historical food with modern applications – a review. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, n. 4, p. 2-15, 2002.

VASBINDER et. Al. Texture of acid milk gels: formation of disulfide cross-links during acidification. **International Dairy Journal**, v.13, p. 29-38,2003.

VEISSEYRE R. **Lactologia técnica. Composición, recogida, tratamiento y transformación de la leche**. Espanha (Zaragoza) Editorial Acribia, 1988, 288 – 291 p.

VYAS H.K.; TONG P.S. Process for Calcium Retention During Skim Milk Ultrafiltration. **Journal American Dairy Science Association**, v. 86, p. 2761-2766, 2003.

WOLFSCHOON-POMBO A.F. et.al. Sólidos do leite, acidez, pH e viscosidade do iogurte. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**, Juiz de Fora, v.38, n.227, 1983, 19-24 p.