

## Estudo da viabilidade tecnológica da aplicação de coacervado de proteínas de soro de leite com carboximetil celulose em iogurte probiótico

*Study of the technological feasibility of applying a coacervate of whey proteins with carboxymethyl cellulose to probiotic yoghurt*

### Autores | Authors

#### Maria Elisa Caetano SILVA

Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz (ESALQ)  
Faculdade de Ciências dos Alimentos  
e-mail: elisacaetano4@gmail.com

#### ✉ Maria Teresa Bertoldo PACHECO

Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL)  
Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos (CCQA)  
Laboratório de Química de Alimentos  
Av. Brasil 2880, Jd. Chapadão  
CEP: 13070-178  
Campinas/SP - Brasil  
e-mail: mtb@ital.sp.gov.br

#### Adriane Elisabete Costa ANTUNES

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)  
Faculdade de Ciências Aplicadas (FCA)  
Curso de Nutrição  
e-mail: adriantunes@yahoo.com.br

✉ Autor Correspondente | Corresponding Author

Recebido | Received: 03/03/2009  
Aprovado | Approved: 05/02/2010

### Resumo

A técnica de complexação das proteínas com polissacarídeos em pH ácido é muito interessante do ponto de vista ambiental, pois não gera resíduo e permite a obtenção de um subproduto com características funcionais e nutricionais diferenciadas. Adicionalmente, o emprego de culturas probióticas em iogurtes é uma nova tendência do mercado de laticínios. Neste trabalho, as proteínas do soro foram recuperadas por coacervação complexa com o polissacarídeo carboximetilcelulose (CMC) com o objetivo de avaliar a aplicação desse produto em iogurte probiótico. O iogurte foi preparado a partir de leite desnatado pasteurizado, inoculado com 2% cultura probiótica e 1% de culturas lácticas, fermentado a 45 °C e homogeneizado sob pressão de 70 Kgf.cm<sup>-2</sup>. Utilizando-se Metodologia de Superfície de Resposta, foram testadas concentrações de adição de coacervado (entre 0,1 e 1,46%) e de goma guar (entre 0 e 0,68%) e avaliada a viscosidade do produto, a sinérese e a viabilidade da cultura probiótica durante o armazenamento do produto. Realizou-se teste de aceitabilidade, utilizando-se escala hedônica de 9 pontos. Concentrações de coacervado ao redor de 0,78% e de goma guar 0,68% resultaram em um iogurte estável, viscoso (243,0 cP) e com elevada viabilidade da cultura probiótica (8,17 log UFC.mL<sup>-1</sup> após 30 dias de armazenamento). Da análise sensorial, o atributo aparência recebeu a maior pontuação. Os experimentos realizados mostraram que a aplicação de coacervado proteico em iogurte probiótico é viável.

**Palavras-chave:** Bebida fermentada; Probiótico; Coacervação; Proteínas do soro do leite; Bifidobacterium; Carboximetilcelulose.

### Summary

The technique of complexing polysaccharides with proteins at an acid pH is of interest from the environmental point of view, because it generates no residues and allows one to obtain a product with good functional and nutritional characteristics. Moreover, the use of probiotic cultures in yoghurt is a new trend in the dairy industry. In the present study the whey proteins were recovered by complex coacervation with carboxymethylcellulose (CMC) to evaluate the use of this product in probiotic yoghurt. The yoghurt was prepared with skimmed pasteurized milk inoculated with 2% of probiotic culture and 1% of lactic acid cultures, fermented at 45 °C and homogenized at 70 Kgf.cm<sup>-2</sup>. Response Surface Methodology was used to evaluate the influence of concentrations between 0.1 and 1.46% of the coacervate and between zero and 0.68% of guar gum on the viscosity and syneresis of the yoghurt, and on the viability of the probiotic culture during storage. An acceptability test was also applied using a 9-point hedonic scale. Concentrations of 0.78 and 0.68% of the coacervate and guar gum, respectively, resulted in a stable, viscous yoghurt (243.0 cP) with high viability of the probiotic culture (8.17 log CFU.mL<sup>-1</sup> after 30 days of storage). The attribute of appearance received the highest scores in the sensory analysis. It was concluded that the addition of whey protein coacervated with polysaccharides to probiotic yoghurt is feasible.

**Key words:** Fermented milk; Probiotic; Coacervation; Whey protein; Bifidobacterium; Carboxymethylcellulose.

## Estudo da viabilidade tecnológica da aplicação de coacervado de proteínas de soro de leite com carboximetil celulose em iogurte probiótico

CAETANO SILVA, M.E. et al.

### 1 Introdução

Historicamente o soro de leite sempre foi considerado um produto residual de baixo valor econômico. Seu grande volume de obtenção representa um dos maiores problemas para a indústria de laticínios. Em toda a extensão territorial brasileira, a maioria dos pequenos e médios produtores de queijo não consegue dar um destino nobre ao soro de leite, havendo uma enorme deficiência de tecnologias que viabilizem o aproveitamento de suas proteínas. Por conter elevada quantidade de nutrientes, é considerado um material altamente poluente, com a demanda biológica de oxigênio (DBO) de 30.000 a 50.000 mL<sup>-1</sup> (BORGES et al., 2001). Com a tendência de obter processos limpos e ambientalmente corretos na produção de alimentos, tem sido crescente a preocupação de encontrar aplicações econômicas para o soro obtido da produção de queijo (CAPITANI et al., 2005).

As proteínas do soro do leite podem ser utilizadas como ingredientes em várias aplicações, como alimentos de baixo conteúdo calórico, substituto de gordura, ou ainda como proteínas hidrolisadas funcionais e incorporadas como substratos prebióticos, para manutenção da viabilidade dos probióticos (PACHECO et al., 2005, 2008).

Várias tecnologias têm sido utilizadas para recuperar as proteínas do soro de leite para utilização como ingrediente funcional em alimentos formulados. Processos tecnológicos têm sido desenvolvidos para viabilizar sua comercialização, tais como técnicas de osmose reversa, ultrafiltração, eletrodialise, troca de íons e microfiltração ou a combinação de algumas delas. A maioria destas técnicas permite a separação e a concentração de proteínas, sem que ocorra a desnaturação, e tem como objetivo produzir produtos proteicos com atributos específicos na sua composição e funcionalidade para aplicação em nutrição humana. Porém, os custos com tecnologias para concentrar as proteínas do soro do leite, especialmente por ultrafiltração, são elevados (NEVES, 2001; PACHECO et al., 2008).

A interação entre proteína-polissacarídeo é uma técnica interessante tanto do ponto de vista funcional, como também da recuperação de proteínas em resíduos industriais (DALEV e SIMEONOVA, 1995; BRYANT e McCLEMENTS, 2000; MANN e MALIK, 1996). A técnica de coacervação complexa de proteínas com polissacarídeos em pH ácido tem sido empregada para formação de coacervados de elevado peso molecular, facilitando a separação das proteínas dos demais componentes do soro (CAPITANI et al., 2005).

No presente trabalho optou-se pelo polissacarídeo carboximetilcelulose de sódio (CMC), um polímero aniônico e linear, derivado da celulose, solúvel em água,

versátil no controle das propriedades reológicas e de sistemas aquosos. Em seu maior grau de pureza é usado extensivamente nos ramos alimentícios, farmacêuticos e indústrias de cosméticos.

Os leites fermentados são excelentes “veículos” para culturas probióticas porque o leite constitui um ambiente que favorece a sobrevivência destas culturas. O enriquecimento de um produto com proteínas do soro de leite pode melhorar o crescimento e a viabilidade das culturas probióticas, através de fatores promotores de crescimento, como peptídeos contendo cisteína (IBRAHIM e BEZKOROVAINY, 1994) e sua capacidade tamponante (KAILASAPATHY e SUPRIADI, 1996).

As culturas mais empregadas como probióticas pertencem aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Neste trabalho, foi empregada a cultura *B. animalis* subsp. *lactis* pelo fato de ser a cultura mais utilizada industrialmente como probiótico em iogurtes, leites fermentados, queijos, suplementos dietéticos, fórmulas infantis, entre outros (MÖLLER e DE VERSE, 2004; TRINDADE et al., 2003).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver iogurte probiótico utilizando como ingrediente funcional as proteínas do soro de leite (CPS) recuperadas pela técnica de coacervação complexa com carboximetilcelulose (CMC).

### 2 Material e métodos

#### 2.1 Obtenção do coacervado proteico de soro de leite

As proteínas de soro foram utilizadas na proporção de 1,0% (p/v). Optou-se por reconstituir o soro a partir de um concentrado proteico desidratado para garantir a reprodutibilidade dos ensaios analíticos. O polissacarídeo utilizado foi a carboximetilcelulose (CMC INDUSKOL FG-3000), com Grau de Substituição (DS) de 0,65-0,85 e grau de pureza de 99,88%.

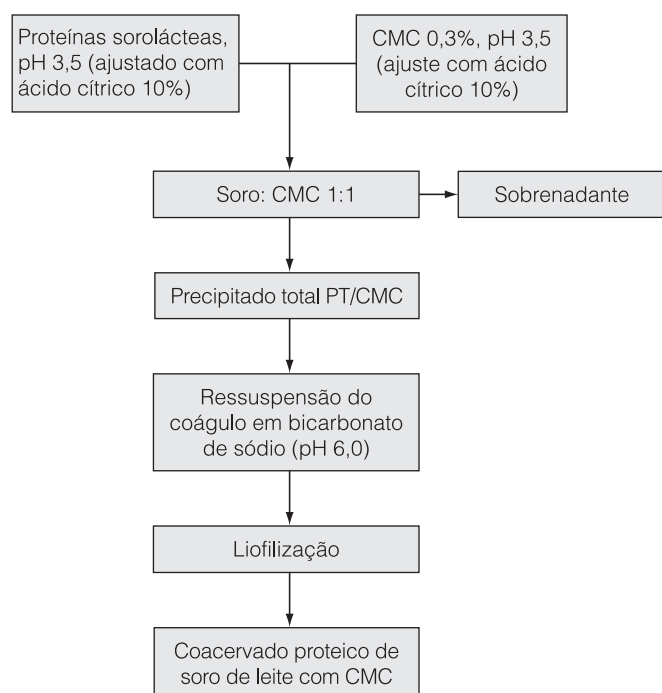
As concentrações e proporções do polímero CMC: proteínas do soro de leite utilizadas (0,3:1,0), bem como o pH de melhor precipitação de proteínas (pH 3,5) foram selecionados baseando-se em resultados da literatura (CAPITANI, 2004). Para obtenção de coacervado comestível, o processo foi alterado para atender às especificações da ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 1988), referentes às soluções ácidas e básicas, utilizadas para ajuste de pH, conforme descrito no fluxograma da Figura 1.

#### 2.2 Preparo de iogurte

O iogurte foi preparado a partir de leite em pó comercial desnatado (10%), pasteurizado (85 °C/30 min), adicionado de 10% (p/v) de açúcar, inoculado com 2%

## Estudo da viabilidade tecnológica da aplicação de coacervado de proteínas de soro de leite com carboximetil celulose em iogurte probiótico

CAETANO SILVA, M.E. et al.



**Figura 1.** Fluxograma de obtenção de coacervado proteico de soro de leite com carboximetilcelulose (CMC).

cultura probiótica (mL) e 1% de culturas lácticas (mL), fermentado a 45 °C por aproximadamente 4 h até atingir o pH de 4,6. Neste momento, foi adicionado o corante e homogeneizado sob pressão de 70 Kgf.cm<sup>-2</sup>. As culturas utilizadas foram: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (LB 340), *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (TA 40), ambas cedidas pela empresa Danisco; e a cultura probiótica *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (cedida pela Chr-Hansen). Para cada 100 mL de produto, foram utilizados 50 µL de corante carmim de cochonilha (cedido pelo fabricante Corantec) e 140 µL de aroma de morango (fornecido pela empresa Symrise). Os teores de coacervado e goma guar variaram de acordo com o planejamento proposto a seguir.

Elaborou-se um planejamento experimental de superfície de resposta completo (2<sup>2</sup>), em 2 níveis (-1, +1), mais os pontos axiais (-α, +α), para verificar os efeitos das variáveis independentes nas seguintes características: viscosidade, viabilidade da cultura probiótica e sinérese (BARROS NETO et al., 1995).

As Tabelas 1 e 2 apresentam as codificações X<sub>1</sub> e X<sub>2</sub>, bem como as concentrações [C] e [G], das variáveis: concentração percentual de coacervado proteico e de goma guar, respectivamente, em cada um dos 11 ensaios realizados.

### 2.3 Composição centesimal do coacervado proteico

A composição centesimal do coacervado proteico foi realizada da seguinte forma: determinações de

**Tabela 1.** Níveis e variáveis: concentração de coacervado proteico (%p/v) e concentração de goma guar (%p/v), utilizando planejamento fatorial completo.

Variáveis independentes	Níveis				
	-α	-1	0	+1	+α
Concentração de coacervado proteico	0,1	0,3	0,78	1,26	1,46
Concentração de goma guar	0	0,1	0,34	0,58	0,68

α = ± (2<sup>n</sup>) <sup>1/4</sup> = ± 1,41

**Tabela 2.** Matriz do planejamento fatorial completo, com as variações codificadas e reais, em função da concentração das variáveis coacervado proteico ([C]) e concentração de goma guar ([G]).

Ensaio	Codificação das variáveis		Concentração das variáveis (% p/v)	
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	[C]	[G]
1	-1	-1	0,3	0,1
2	+1	-1	1,26	0,1
3	-1	+1	0,3	0,58
4	+1	+1	1,26	0,58
5 (PC)	0	0	0,78	0,34
6 (PC)	0	0	0,78	0,34
7 (PC)	0	0	0,78	0,34
8	-1,41	0	0,1	0,34
9	0	+1,41	0,78	0,68
10	+1,41	0	1,46	0,34
11	0	-1,41	0,78	0

umidade, minerais e proteína (fator de correção = 6,38) foram realizadas segundo a AOAC (HORWITZ, 2000); cinzas e minerais através do equipamento ICP, segundo método de Zenebon e Pasquet (2005); lipídios pelo Método Rose-Gottlieb segundo a AOAC (HORWITZ, 2000) e proteínas segundo método Micro-Kjeldahl (HORWITZ, 2000).

### 2.4 Viabilidade da cultura probiótica

A viabilidade da cultura *B. animalis* foi determinada empregando-se meio seletivo MRS Agar, modificado por Grosso e Fávoro-Trindade (2004). Para avaliação da seletividade do referido meio de cultura, foi testado o crescimento das culturas típicas de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, isoladamente.

### 2.5 Análise de viscosidade

A análise de viscosidade aparente foi feita em triplicata em viscosímetro Brookfield modelo LVF, nas condições: temperatura de 10 °C e rotações de 6, 12, 30 e 60 rpm.

## Estudo da viabilidade tecnológica da aplicação de coacervado de proteínas de soro de leite com carboximetil celulose em iogurte probiótico

CAETANO SILVA, M.E. et al.

### 2.6 Susceptibilidade à sinérese

Alíquotas de 10 mL de amostra foram estocadas em tubos de ensaio de fundo cônico (tipo Falcon: 13 x 1,7 cm) estéreis, a 6 °C durante o período de validade dos produtos (30 dias). A sinérese foi medida a cada 7 dias, em cm de dessoragem na superfície do produto (ANTUNES et al., 2005).

### 2.7 Análises higiênico-sanitárias

Previamente à análise sensorial, as amostras foram analisadas quanto à contagem de coliformes totais (incubados a 30 °C) e coliformes termotolerantes (incubados a 45 °C), e bolores e leveduras, utilizando-se metodologias padrão (APHA, 2001). Os resultados foram comparados com as exigências estabelecidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000).

### 2.8 Análise sensorial

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos da PUCC-Campinas, tendo os participantes assinado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para participação dos testes sensoriais (n. 992/07).

Foi conduzido o Teste de Aceitabilidade em cabines individuais. Os provadores (n = 34) avaliaram o quanto gostaram ou desgostaram do produto, utilizando uma escala hedônica de nove pontos (9 correspondendo a gostei muitíssimo e 1 a desgostei muitíssimo), de acordo com Chaves e Sproesser (2005). Os atributos avaliados foram: aparência, sabor, consistência e impressão global, após 3 dias de armazenamento do iogurte sob refrigeração.

### 2.9 Análise estatística

Os resultados foram analisados utilizando o Programa STATISTICA 6.0®, Statsoft (STATOFT, 1995), considerando  $p < 0,05$  como probabilidade mínima aceitável para diferença entre as médias.

## 3 Resultados e discussão

### 3.1 Obtenção do coacervado proteico

Para a obtenção do coacervado, o ajuste de pH foi feito com ácido cítrico, pois a Legislação Brasileira não apresenta nenhuma restrição quanto ao seu uso. O pH de melhor precipitação foi definido através da análise de proteínas, realizada no sobrenadante de cada amostra em pH 3,0, 3,5 e 4,0. O maior rendimento de precipitação das proteínas do soro foi de 99,63%, em pH 3,5. O ajuste para pH 6,0 no final do processo evitou que o coacervado

provocasse a formação de grumos e consequente divisão de fases, indesejável para o produto final.

### 3.2 Seletividade de meio da cultura para contagem de *B. animalis*

Foram conduzidos testes para verificar a seletividade para meio de cultura para crescimento unicamente da cultura probiótica (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*). As culturas ácido-láticas *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* também apresentaram crescimento no meio proposto pela literatura (GROSSO e FÁVARO-TRINDADE, 2004). Sendo assim, optou-se por utilizar concentrações maiores de dicloxacilina (agente de inibição), pois a adição de 3% de solução estoque a 0,5% de dicloxacilina ao meio base foi eficiente para inibir as culturas ácido-láticas, sem prejudicar o crescimento da cultura probiótica, conforme Antunes et al. (2007).

### 3.3 Composição centesimal do coacervado proteico

Após preparo do coacervado proteico, segundo metodologia já descrita, foram realizadas análises com a finalidade de determinar a composição centesimal do produto, conforme apresentado na Tabela 3. Os resultados mostram a proporção de proteínas:polissacarídeos, predominando as proteínas (64,54%) no coacervado de acordo com as condições utilizadas.

### 3.4 Formulação do iogurte

Após a fermentação do iogurte, observou-se separação de fases nas amostras adicionadas de coacervado proteico. Buscando minimizar a ocorrência de separação de fases foi testada a adição de goma guar a partir da realização de planejamento fatorial, com diversas combinações de adição de coacervado proteico e de goma guar antes do tratamento térmico e da fermentação do produto. As variáveis dependentes foram viscosidade aparente, viabilidade da cultura probiótica e sinérese (análises feitas após 30 dias de armazenamento

**Tabela 3.** Composição centesimal aproximada do coacervado proteico de soro de leite (1,0%) com carboximetil celulose (0,3% CMC), obtido no pH 3,5.

Componente	Concentração (g.100 g <sup>-1</sup> )	Concentração base seca (g.100 g <sup>-1</sup> )
Proteína	57,23 (0,32)*	64,54 (0,36)*
Lipídios	11,00 (0,16)*	12,40 (0,14)*
Cinzas	8,07 (0,07)*	9,10 (0,05)*
Carboidratos**	12,38	30,00 (0,40)*
Umidade	11,32 (0,29)*	-

\* média e estimativa de desvio-padrão e \*\* calculado por diferença.



## Estudo da viabilidade tecnológica da aplicação de coacervado de proteínas de soro de leite com carboximetil celulose em iogurte probiótico

CAETANO SILVA, M.E. et al.

refrigerado do produto). Os resultados estão expressos na Tabela 4.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2008) estabelece que para um produto probiótico apresentar alegação de promover a saúde, a quantidade mínima viável da cultura probiótica deve estar entre  $10^8$  a  $10^9$  UFC por dia, ou seja, na porção do produto consumida diariamente. Conforme a Tabela 5, todas as amostras de iogurtes obtidas atenderam à exigência da ANVISA para que um produto possa ser considerado probiótico.

### 3.5 Análise de efeitos e superfícies de resposta

A fim de se determinar a melhor formulação do iogurte, realizou-se a análise de efeitos das variáveis, considerando ser este um importante passo no planejamento fatorial. Conforme a Tabela 5, o efeito na viscosidade do iogurte não foi significativo para nenhuma das duas variáveis independentes e para a interação de ambas, nas faixas avaliadas, a 95% de confiança. Embora não significativa, existe uma tendência de aumento de viscosidade aparente do iogurte proporcionalmente ao aumento da concentração de coacervado e goma guar, como se observa na superfície de resposta apresentada na Figura 2.

**Tabela 4.** Viscosidade, viabilidade da cultura probiótica e sinérese das amostras de iogurte formuladas por planejamento fatorial.

Ensaio	Viscosidade (cP*)	Viabilidade da cultura probiótica (log UFC.mL <sup>-1</sup> )	Sinérese (cm)
1	12,5	8,36	4,1
2	11,3	8,74	4,8
3	175,0	8,23	3,0
4	706,7	7,94	1,5
5	27,3	9,00	3,4
6	27,2	8,71	3,9
7	26,2	8,62	3,8
8	23,8	8,74	5,2
9	243,0	8,17	0,6
10	166,0	7,81	2,0
11	7,7	8,51	4,0

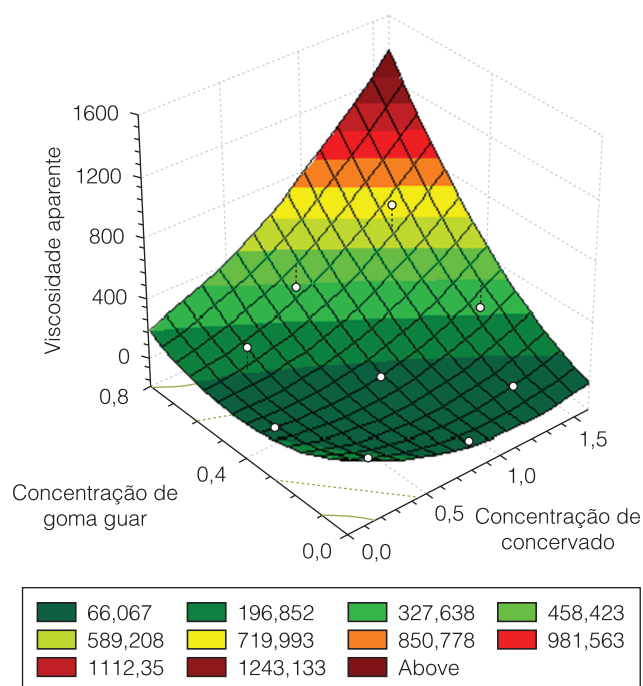
\*Viscosidade aparente em centipoise (cP), com taxa de deformação de 30 rpm.

**Tabela 5.** Efeito das variáveis independentes na viscosidade aparente do iogurte

	Efeito	Erro padrão	t (3)	p	Limite de confiança -95%	Limite de confiança +95%
Média/Intercepto	140,8571	57,0122	2,470650	0,090012	-40,581	322,2953
(1) Concentração do coacervado	265,2500	150,8400	1,758485	0,176905	-214,790	745,2903
(2) Concentração da Goma guar	428,9500	150,8400	2,843741	0,065445	-51,090	908,9903
(1) x (2)	266,4500	150,8400	1,766441	0,175494	-213,590	746,4903

O efeito das variáveis independentes na viabilidade da cultura probiótica, apresentado na Tabela 6, embora não significativo, a variável concentração de coacervado apresentou efeito positivo na viabilidade da cultura probiótica ( $0,04 \log \text{UFC.mL}^{-1}$ ), enquanto que a goma guar apresentou efeito negativo ( $-0,46 \log \text{UFC.mL}^{-1}$ ). Contudo, avalia-se que a variação nos resultados de viabilidade foi muito pequena, não influenciando significativamente na escolha das formulações, visto que todas apresentaram viabilidade dentro do exigido pela legislação (ANVISA, 2008), conforme se observa na Figura 3.

Na Tabela 7 observa-se que o efeito da variável concentração de goma guar e desta variável com a concentração de coacervado foi significativo na redução da sinérese. Ao passar da concentração de 0,1% para 0,58% de adição de goma guar ao iogurte ocorreu diminuição da dessoragem da ordem de 2,2 cm de sobrenadante. A diminuição da sinérese é um efeito desejável para obtenção de um iogurte estável e de maior aceitabilidade. Na Figura 4 observa-se a tendência de se obter menores valores de dessoragem nas maiores concentrações das variáveis independentes. Cabe ressaltar que para todos



**Figura 2.** Superfície de resposta da viscosidade em função da variação de concentração de coacervado e goma guar.

## Estudo da viabilidade tecnológica da aplicação de coacervado de proteínas de soro de leite com carboximetil celulose em iogurte probiótico

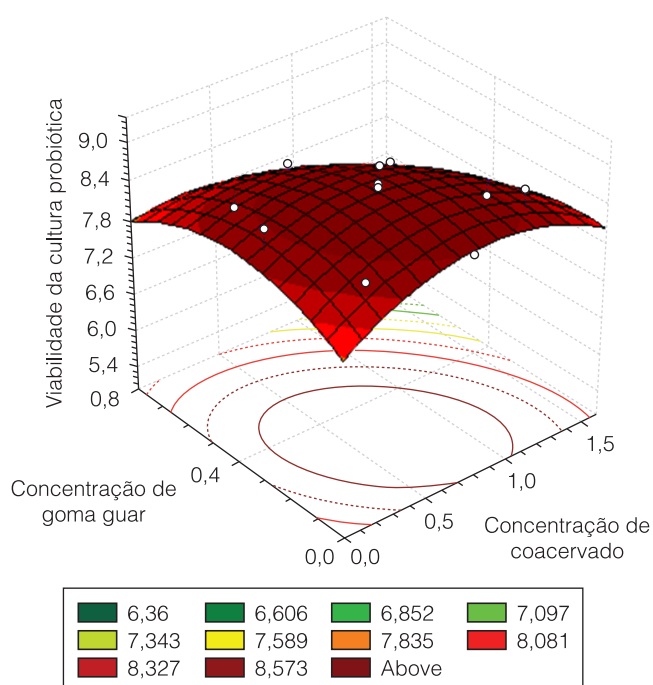
CAETANO SILVA, M.E. et al.

**Tabela 6.** Efeitos das variáveis independentes na viabilidade da cultura probiótica do iogurte.

	Efeito	Erro padrão	t (3)	p	Limite de confiança	
					-95%	+95%
Média/Intercepto	8,514286	0,144798	58,80108	0,000011	8,05347	8,975098
(1) Concentração do coacervado	0,045000	0,383100	0,11746	0,913916	-1,17419	1,264195
(2) Concentração da Goma guar	-0,465000	0,383100	-1,21378	0,311671	-1,68419	0,754195
(1) x (2)	-0,335000	0,383100	-0,87445	0,446239	-1,55419	0,884195

**Tabela 7.** Efeitos das variáveis independentes na sinérese do iogurte.

	Efeito	Erro padrão	t (3)	p	Limite de confiança	
					-95%	+95%
Média/Intercepto	3,50000	0,129099	27,11088	0,000110	3,08915	3,91085
(1) Concentração do coacervado	-0,40000	0,341565	-1,17108	0,326121	-1,48701	0,68701
(2) Concentração da Goma guar	-2,20000	0,341565	-6,44094	0,007589	-3,28701	-1,11299
(1) x (2)	-1,10000	0,341565	-3,22047	0,048567	-2,18701	-0,01299



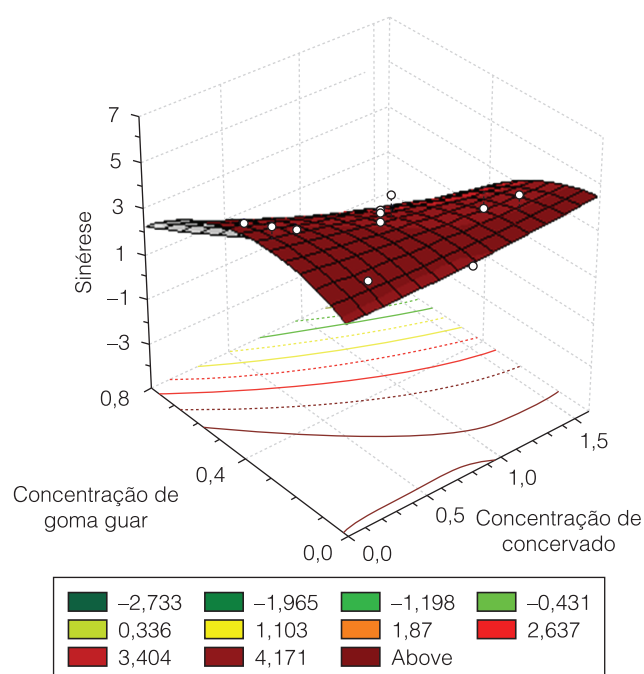
**Figura 3.** Superfície de resposta da viabilidade da cultura probiótica em função da variação de concentração de coacervado e goma guar.

os ensaios não ocorreu dessoragem no tempo zero (início da estocagem a 6 °C).

O ensaio 9 apresentou o menor resultado de sinérese (0,6 cm) e um valor intermediário de viscosidade. Nesse ensaio foram empregadas as concentrações de 0,78% de coacervado proteico e 0,68% de goma guar. A partir desses dados, optou-se por assumir estas proporções para formulação final do iogurte probiótico.

### 3.6 Qualidade higiênico-sanitária

Foram conduzidas análises microbiológicas no início e final do armazenamento das amostras de iogurte. Foram obtidas contagens menores do que 3 NMP.mL<sup>-1</sup>



**Figura 4.** Superfície de resposta da sinérese em função da variação de concentração de coacervado e goma guar.

de coliformes a 30 °C (totais) e a 45 °C (termotolerantes) e menor do que 10 UFC.mL<sup>-1</sup> de bolores e leveduras no início e final do período de armazenamento. Portanto, as amostras apresentaram qualidade microbiológica adequada.

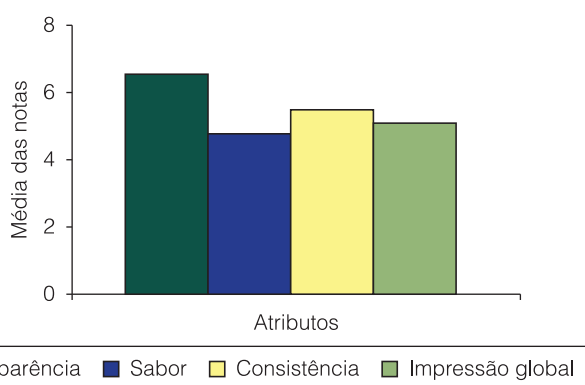
### 3.7 Análise sensorial

As amostras de iogurte foram avaliadas sensorialmente por um grupo de 34 consumidores deste tipo de produto.

Na Figura 5 observam-se os valores médios de aparência, sabor, consistência e impressão globais do iogurte atribuídos pelos julgadores. Dentre os critérios

## Estudo da viabilidade tecnológica da aplicação de coacervado de proteínas de soro de leite com carboximetil celulose em iogurte probiótico

CAETANO SILVA, M.E. et al.



**Figura 5.** Valores médios de aparência, sabor, consistência e impressão global do iogurte adicionado de coacervado de proteína do soro do leite.

avaliados pelos consumidores, a aparência foi o critério com maior pontuação, seguido pela consistência e impressão global. Sendo que para as notas de aparência, sabor, consistência e impressão global, as amostras não diferiram entre si ao nível de erro de 5%.

### 4 Conclusões

A composição centesimal do coacervado proteico apresentou resultados satisfatórios, destacando-se seu alto teor de proteína, aproximadamente 65% em base seca. O resultado da precipitação da proteína por coacervação complexa com a carboximetil celulose, nas condições do método, foram excelentes e renderam uma recuperação de 99,63% das proteínas solúveis.

Concentrações de coacervado ao redor de 0,78% e de goma guar 0,68% resultaram em um iogurte estável, com viscosidade adequada e viabilidade da cultura probiótica dentro do valor esperado. Os experimentos realizados mostram que a aplicação de coacervado proteico em iogurte probiótico é viável, visto que não interfere na viabilidade da cultura *B. animalis*. Além disso, esta apresentou contagem adequada ao estabelecido na legislação brasileira.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq a bolsa de iniciação científica e ao Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Laticínios (Tecnolat) o apoio técnico científico.

### Referências

- ANTUNES, A. E. C.; CAZETTO, T. F.; BOLINI, H. M. A. Viability of probiotic micro-organism during storage, postacidification and sensory analysis of fat-free yogurts with added whey protein concentrate. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 58, n. 3, p. 169-173, 2005.
- ANTUNES, A. E. C.; MARASCA, E. T. G.; MORENO, I.; DOURADO, F. M.; RODRIGUES, S. L. G.; LERAYER, A. L.

Selective enumeration and viability of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* in a new fermented milk for the Brazilian market. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 73-177, 2007.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. **Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos**. Brasília, 2008. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>. Acesso em: 15 de janeiro de 2009.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4 ed. Washington, 2001. 676 p.

BARROS NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de processos**. Campinas: Editora Unicamp, 1995. 303 p.

BORGES, P. F. Z.; SGARBIERI, V. C.; DIAS, N. F. G.; JACOBUCCI, H. B.; PACHECO, M. T. B.; BALDINI, V. L. S. Produção piloto de concentrados de proteínas de leite bovino: composição e valor nutritivo. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 4, p. 1-8, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Resolução n. 5, de 13 de novembro de 2000. Oficializar os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 27 nov. 2000. Seção 1, p. 9. Disponível em: <<http://oc4j.agricultura.gov.br/agrolegis/do/consultaLei>> Acesso em: 10 de fevereiro de 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução CNS/MS n. 4, de 24 de novembro de 1988. Aditivos Intencionais em Alimentos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 19 dez. 1988. Seção 1. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/04\\_cns.pdf](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/04_cns.pdf)>. Acesso em: 28 de janeiro de 2009.

BRYANT, C. M.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of xantan gum on physical characteristics of heat-denatured whey protein solutions and gels. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 14, n. 4, p. 383-390, 2000.

CAPITANI, C. D. **Interação de proteínas do soro de leite com polissacarídeo: fracionamento e estudo das propriedades funcionais dos complexos**. 2004. 153 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

CAPITANI, C. D.; PACHECO, M. T. B.; GUMERATO, H. F.; VITALI, A.; SCHMIDT, F. L. Recuperação de proteínas do soro de leite por meio de coacervação com polissacarídeo. **Revista de Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 11, p. 1123-1128, 2005.

CHAVES, J. B. P.; SPROESSER, R. L. **Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas**. Viçosa: Imprensa Universitária, 2005. 81 p.

## Estudo da viabilidade tecnológica da aplicação de coacervado de proteínas de soro de leite com carboximetil celulose em iogurte probiótico

CAETANO SILVA, M.E. *et al.*

- DALEV, P. G.; SIMEONOVA, L. S. Emulsifying properties of protein-pectin complexes and their use in oil-containing foodstuffs. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 68, n. 2, p. 203-206, 1995.
- GROSSO, C. R. F.; FÁVARO-TRINDADE, C. S. Stability of free and immobilized *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in acidified milk and immobilized *Bifidobacterium lactis* in yoghurt. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 35, n. 1-2, p. 151-156, 2004.
- HORWITZ, W. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17 ed. Gaithersburg: AOAC, 2000.
- IBRAHIM, S. A.; BEZKOROVAINY, A. Growth: promoting factors for *bifidobacterium longum*. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 59, n. 1, p. 189-191, 1994.
- KAILASAPATHY, K.; SUPRIARDI, D. Effect of whey protein concentrate on the survival of *Lactobacillus acidophilus* in lactose hydrolyzed yoghurt during refrigerated storage. **Milchwissenschaft**, München, v. 47, n. 6, p. 362-365, 1996.
- MANN, B.; MALIK, R. C. Studies on some functional characteristics of whey protein-polysaccharide complex. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 33, n. 3, p. 202-206, 1996.
- MÖLLER, C.; VERSE, M. Review: probiotic effects of selected acid bacteria. **Milchwissenschaft**, München, v. 59, n. 11-12, p. 597-600, 2004.
- NEVES, B. S. Aproveitamento de subprodutos da indústria de laticínios. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil: qualidade e segurança alimentar**. Brasília, 2001. p. 97-108.
- PACHECO, M. T. B.; ANTUNES, A. E. C.; SGARBIERI, V. C. New technologies and physiological functional properties of milk proteins. In: BOSCOE, A. B.; LISTOW, C. R. (Orgs.). **Protein Research Progress**. 1 ed. Hauppauge: Nova Science Publishers, 2008. p. 117-168.
- PACHECO, M. T. B.; DIAS N. F. G.; BALDINI, V. L.; TANIKAWA, C.; SGARBIERI, V. C. Propriedades funcionais de hidrolisados obtidos a partir de concentrados protéicos do soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 333-338, 2005.
- STATOFT. **Statistic for Windows: computer program manual**. Tulsa, 1995.
- TRINDADE, M. I.; ABRATT, V. R.; REID, S. J. Induction of sucrose utilisation genes from *Bifidobacterium lactis* by sucrose and raffinose. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 69, n. 1, p. 24-32, 2003.
- ZENEBON, O.; PASQUET, N. S. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.