

UNIVERSIDADE DOS AÇORES



**Desenvolvimento de uma tecnologia de produção de iogurtes
funcionais com leite de cabra contendo fibra de *Beta vulgaris* e
frutos de *Vaccinium cylindraceum***

Mónica Torres Tavares

Dissertação de Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar

2013

Mónica Torres Tavares

**Desenvolvimento de uma tecnologia de produção de iogurtes
funcionais com leite de cabra contendo fibra de *Beta vulgaris* e
frutos de *Vaccinium cylindraceum***

Orientador: Professora Doutora Elisabete Maria de Castro Lima

Co-orientador: Professor Doutor José António Bettencourt Baptista

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS.....	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	VIII
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
2.1 Perfil terceira idade.....	8
2.2 Alimentos funcionais.....	9
2.3 Caprinocultura.....	9
2.3.1 Situação da caprinocultura leiteira em Portugal.....	10
2.4 Leite.....	12
2.4.1 Características do leite de cabra.....	15
2.5 Fibras alimentares.....	18
2.5.1 Inulina.....	19
2.5.2 Fibra de beterraba.....	20
2.6 Preparado de fruta.....	20
2.6.1 Uva da serra (<i>Vaccinium cylindraceum</i>).....	20
2.7 Iogurte.....	21
2.7.1 Produto fermentado.....	21
2.7.2 Iogurte de cabra.....	23
2.7.3 Critérios de classificação dos iogurtes.....	24
2.7.4 Propriedades do iogurte.....	24
2.8 Produção do iogurte.....	26
2.8.1 Processo de produção do iogurte.....	26
2.8.1.1 Preparação da matéria-prima.....	26
2.8.1.1.1 Problemas do leite que impedem o uso na produção do iogurte....	26
2.8.1.2 Tratamento térmico da matéria-prima.....	27
2.8.1.3 Arrefecimento do leite.....	29
2.8.1.4 Padronização do extrato seco.....	29
2.8.1.5 Inoculação das culturas.....	29
2.8.1.6 Processo de fermentação.....	30
2.8.1.7 Arrefecimento do produto.....	32
2.8.1.8 Quebra da massa.....	32
2.8.1.9 Engarrafamento e armazenamento.....	33
2.8.1.10 Transporte e comercialização.....	34
2.8.2 Matérias-primas utilizadas no iogurte.....	34
2.8.2.1 Leite.....	34
2.8.2.2 Açúcar.....	35
2.8.2.3 Leite em pó desnatado.....	35
2.8.2.4 Polpas de frutas.....	35
2.8.2.5 Cultura láctica utilizada no processo de fermentação.....	35
2.8.2.5.1 Cultura tradicional.....	36
2.8.2.6 Outras matérias-primas.....	36
2.8.2.6.1 Edulcorantes.....	36
2.8.2.6.2 Aromas e corantes.....	37
2.8.2.6.3 Espessantes.....	37

2.8.2.6.4 Estabilizantes.....	37
2.9 Análise sensorial.....	38
2.10 Separação de componentes voláteis usando SPME-GC.....	39
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
3.1 Materiais.....	41
3.1.1 Matéria-prima.....	41
3.1.2 Culturas lácticas.....	41
3.2 Métodos.....	41
3.2.1 Processo de produção dos iogurtes.....	41
3.2.1.1 Preparação da formulação inicial.....	42
3.2.1.2 Preparação dos ingredientes.....	43
3.2.1.2.1 Extração e preparação da fibra alimentar.....	43
3.2.1.2.2 Preparação da polpa de <i>Vaccinium cylindraceum</i>	44
3.2.1.3 Preparação dos iogurtes.....	44
3.2.2 Determinação do teor de proteínas dos iogurtes.....	46
3.2.3 Análise sensorial dos iogurtes.....	48
3.2.4 Microextração em fase sólida acoplada à cromatografia de fase gasosa	50
3.2.5 Estudo do período de conservação dos iogurtes.....	51
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1 Determinação do teor de proteínas dos iogurtes.....	53
4.2 Análise sensorial dos iogurtes.....	54
4.3 Análise da componente aromática dos iogurtes usando SPME-GC.....	59
4.4 Estudo do período de conservação dos iogurtes.....	60
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	61
BIBLIOGRAFIA.....	64
ANEXOS.....	73
Anexo 1 - Ficha utilizada na análise sensorial dos iogurtes.....	74
ANEXO 2 - Cromatogramas dos iogurtes obtidos por SPME-GC.....	75

ÍNDICE DE FIGURAS E TABELAS

Figuras:

Figura 1. Curva de desenvolvimento simbiótico da cultura láctica durante a fermentação do iogurte.....	31
Figura 2. Fluxograma do processo de produção dos iogurtes.....	42
Figura 3. Pasteurização do leite de cabra	42
Figura 4. Arrefecimento do leite a temperaturas abaixo dos 35 °C	42
Figura 5. Procedimento para a preparação da fibra de <i>Beta vulgaris</i>	43
Figura 6. Preparação dos diferentes tipos de iogurtes.....	44
Figura 7. Cozedura (fermentação) em iogurteira.....	46
Figura 8. Iogurtes utilizados para a determinação das proteínas.....	47
Figura 9. Preparação das amostras para centrifugar e respectiva centrifugação.....	48
Figura 10. Determinação do teor proteico do sobrenadante das amostras.....	48
Figura 11. Curva de calibração utilizada para calcular a concentração das proteínas.....	54
Figura 12. Análise sensorial ao sabor dos iogurtes.....	55
Figura 13. Análise sensorial ao aroma dos iogurtes	56
Figura 14. Análise sensorial à cor dos iogurtes.....	57
Figura 15. Análise sensorial ao aspeto dos iogurtes	58
Figura 16. Caracterização da frequência de consumo de iogurtes pelos provadores.....	58
Figura 17. Preferência dos provadores pela compra das amostras caso fossem colocados no mercado.....	59

Tabelas:

Tabela 1. Efetivo caprino (No.) por localização geográfica (Região agrária) e Categoria.....	11
Tabela 2. Composição típica do leite e soro bovino.....	15
Tabela 3. Iogurtes submetidos a análise sensorial.....	49
Tabela 4. Concentração de proteínas dos iogurtes.....	54

RESUMO

A grande maioria da população dos países desenvolvidos está mais consciente da relação existente entre nutrição e saúde, potenciando assim a aplicação de diversos produtos funcionais na indústria de alimentos, e incentivando o desenvolvimento de alimentos funcionais com boa aceitabilidade.

Em Portugal, o iogurte é o leite fermentado mais consumido. O seu elevado valor nutritivo, a sua maior digestibilidade comparativamente ao leite, entre outras propriedades extremamente benéficas para a saúde humana, e o seu consumo diário pela maioria das pessoas revestem este alimento de uma enorme importância social com impacto significativo na economia do país. Nestes últimos anos, as indústrias de laticínios portuguesas têm direcionado a produção de iogurte sobretudo para crianças, adolescentes e pessoas interessadas em perder peso. O consumo de iogurte tem uma relevância proeminente nos hábitos alimentares de outros públicos-alvo, nomeadamente a terceira idade, por ser considerado um substituto do leite, por representar uma importante fonte de cálcio e por possuir variadas características nutritivas indispensáveis para o bem-estar, entre outras particularidades, como a consistência, que o diferencia de outros produtos derivados de laticínios, e ser ainda um alimento de fácil consumo.

A grande procura de iogurtes, fomentadora de concorrência/inação no mercado da especialidade, gera uma excelente oportunidade para o desenvolvimento de (i) projetos de investigação aplicada conducente à criação de novos tipos de produto de elevado valor, de acordo com os diferentes públicos-alvo, e de (ii) estratégias de marketing, além de tornar os preços mais apelativos.

De acordo com dados do Instituto de Alimentação e Mercados Agrícolas-IAMA/Secretaria Regional da Agricultura, obtidos durante cinco anos (de 2003 a 2008), a produção de iogurtes na Região Autónoma dos Açores (RAA) foi sempre aumentando desde 2003. Verificou-se ainda que nos anos de 2003 e 2004 apenas a ilha de S. Miguel produzia iogurtes e que a partir do ano de 2005 a ilha Terceira também começou a produzir iogurtes.

No presente trabalho foi desenvolvido um iogurte funcional utilizando matérias-primas selecionadas e provenientes da RAA, destinado sobretudo a pessoas de terceira idade que geralmente apresentam maior risco de deficiências nutricionais do que os jovens e os adultos, acrescido às alterações fisiológicas associadas ao processo de envelhecimento.

Nas várias formulações a estudar usou-se, como matéria-prima, o leite de cabra (considerado como um excelente alimento funcional comparativamente ao leite de bovino) enriquecido com outros ingredientes também potencialmente benéficos para a saúde humana: fibra edível total de beterraba sacarina (*Beta vulgaris* L.) açoriana ou inulina obtida de *Cichorium intydu*s; polpa do fruto de *Vaccinium cylindraceum* (“mirtilo dos Açores”, conhecido por uva da serra) com propriedades antioxidantes; lactoalbumina ou soro seco de bovinos dos Açores, e aroma de morango.

Foram produzidas oito formulações, cinco das quais foram submetidas a um painel sensorial, com idades na faixa etária a que se destina o produto, com o intuito de testar as suas características organoléticas (sabor, aroma, cor e aspeto) e a sua aceitação junto de potenciais consumidores, bem como a intenção de compra e preferência destes. Foi ainda: (i) determinado o teor proteico das formulações, (ii) estudado o seu período de conservação à temperatura de refrigeração, pela avaliação das propriedades organoléticas e (iii) determinado o perfil dos compostos voláteis (aromograma), e conseqüentemente das propriedades organoléticas das formulações, por SPME-GC (microextração em fase sólida acoplada à cromatografia de fase gasosa).

Os resultados da análise sensorial dos iogurtes desenvolvidos foram muito positivos para a formulação contendo os ingredientes regionais fibra de beterraba (0.25 g) e polpa de mirtilo (5 ml) por 100 ml de leite pasteurizado, pois a maioria dos provadores consideraram-na agradável quanto às propriedades organoléticas avaliadas, e manifestaram intenção de compra do produto caso fosse colocado no mercado. Comparativamente, a adição de lactoalbumina à formulação não obteve tão bons resultados, particularmente no parâmetro sabor com apenas cerca de 30% de aceitabilidade e, conseqüentemente, uma baixa intenção de compra, devendo esta formulação proteica ser melhorada no futuro.

O valor obtido para o teor de proteínas (5.0%) do novo produto, cuja formulação se encontra caracterizada acima, foi superior ao teor proteico do iogurte comercial de leite bovino (cerca de 3.8-4.5%). Quanto ao seu período de conservação a frio foi de 28 dias. O cromatograma, traçado por cromatografia de gás (GC), permitiu comparar o perfil dos compostos aromáticos detectados no novo produto e nas outras formulações.

Certamente que, sobre este novo iogurte funcional, com potencial aplicação no mercado regional, é necessário efetuar mais estudos de caracterização físico-química e de estabilidade durante o período de armazenamento, e análises microbiológicas, entre outros. Além disso, será fundamental avaliar a sua atividade antioxidante. Poderá ainda ser feita a identificação dos componentes voláteis por GC-MS (cromatografia de gás acoplada a espectrometria de massa).

ABSTRACT

The great majority of people in developed countries are more aware today of the connection between nutrition and health. As a result, the application and development of several products in the functional food industry has been gaining great acceptability.

In Portugal, yogurt is the most consumed type of fermented milk. Its high nutritional value, higher digestibility compared to milk, and its high level of daily consumption for most people among other extremely beneficial properties to human health, provide this food a huge social importance, with a significant impact on the economy.

Over last few years, Portuguese industries have directed the yogurt production especially for children, adolescents and people interested in losing weight.

The consumption of yogurt has a prominent significance in the eating habits of other members of the public, particularly senior citizens, because it can be considered a substitute for milk. As a functional food, yogurt represents an important source of calcium as it has several nutritional characteristics essential for welfare while being a food of easy consumption. Finally, yogurt's consistency differentiates it from other food items derived from dairy products.

The high demand for yogurt increases competition and innovation in the market, and creates an excellent opportunity for the development of (i) applied research projects leading to the creation of new types of high-value products, for specific target audiences, and (ii) new marketing strategies with more appealing prices for consumers.

According to data from the Food Institute and Regional Agricultural Markets: Agrícolas-IAMA/Secretaria obtained during a five year period (2003-2008), the production of yogurt in the Azores (RAA) has increased since 2003. It was also found that in the years 2003 and 2004, only S. Miguel Island produced yogurts, however starting in 2005 Terceira Island also started production.

In this work we developed a functional yogurt using raw materials selected from the RAA, especially for elderly people who generally have a higher risk for nutritional deficiencies than younger adults, in addition to physiological changes associated with the aging process.

In the various formulations of this study Goat's Milk (considered as an excellent functional food compared to bovine milk) was used as a raw material, and was supplemented with other ingredients that can also be potentially beneficial for human health, such as: total fiber edible sugar beet açoriana inulin obtained from *Cichoriu mintydus*; pulp of a fruit (blueberry Azores) with antioxidant properties; lactalbumin or bovine dry serum from the Azores, and strawberry flavor.

Eight formulations were produced, five of which were subjected to a sensory panel, aged according to whom the products were intended, in order to test their organoleptic characteristics (flavor, aroma, color and appearance) and its acceptance by potential consumers, as well as to measure their purchase intentions and preferences. From the study: (i) the protein content of the formulations were also determined (ii) the storage period refrigeration temperature for the product were also studied, through the evaluation of the yogurt's organoleptic properties and (iii) the profile of volatile compounds (aromograma) were determined, and hence the properties of the organoleptic formulations were found by SPME-GC (solid phase microextraction coupled to gas chromatography).

The results of sensory evaluation for the yogurt were very positive for the formulation containing regional ingredients such as: beet fiber (0.25g) and blueberry pulp (5 ml per 100 ml of pasteurized milk), because most tasters found it enjoyable, which was comparable to the high level of organoleptic properties present in this formulation. Furthermore, the test subjects also expressed intentions to purchase the product if it were available on the market.

By comparison, adding lactalbumin to the formulation didn't achieve the expected results, especially for the flavor parameter, with only a 30% acceptance rate and consequently lower purchase intentions. Therefore, this protein formulation should be improved in the future.

The obtained value for the protein content (5.0%) of the new product with a cold storage of 28 days, whose formulation is characterized above, was superior to the protein in commercial yogurt containing bovine milk (about 3.8-4.5%). The aromatic chromatogram profile traced by gas chromatography (GC) has also allowed us to quantify the aroma compounds detected in the new product.

Despite these positive results, certainly it is still necessary to perform further studies of the physicochemical characterization, stability during storage, and conduct a microbiological analysis of this new functional yogurt for its potential application in the regional market.

Furthermore, it is essential to evaluate its antioxidant activity. It may also be made the identification of volatile components by GC-MS (gas chromatography coupled to mass spectrometry).

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

São os alimentos que fornecem, através dos seus nutrientes, a energia e a matéria necessária à atividade metabólica dos seres vivos. A alimentação é, pois, um aspeto indissociável da saúde humana, sendo de extrema importância para a faixa etária da chamada terceira idade que necessita de uma alimentação adequada para ajudar a combater as alterações fisiológicas associadas ao processo de envelhecimento.

A elevada incidência, nas sociedades industrializadas ocidentais, de doenças relacionadas com a nutrição está a conduzir a grandes mudanças nos padrões do consumo alimentar, nomeadamente a um crescente interesse por alimentos funcionais. Estes, devido a uma composição química particular que lhes confere propriedades biológicas importantes, desempenham um papel fundamental na regulação de vários processos metabólicos auxiliando assim na proteção contra doenças como hipertensão, diabetes, cancro, osteoporose, entre outras (Souza et al., 2003). Entre a grande variedade de alimentos funcionais que têm despertado a atenção, encontram-se os produtos lácteos fermentados probióticos, as fibras edíveis, os frutos com elevado poder antioxidante, como o mirtilo, e o lactosoro, um dos resíduos originados na indústria alimentar que contém proteínas de elevado valor.

A indústria de laticínios está a reagir no sentido de aumentar a sua competitividade no segmento de produtos funcionais, para se adaptar à tendência de mudanças num mercado consumidor exigente, que se modifica rapidamente, além de ter que manter a liderança tecnológica na indústria de alimentos (Brandão, 2002). Diversos estudos na área de produtos lácteos têm sido realizados nesse sentido (Park et al., 1997). Como é do conhecimento geral, a RAA tem a sua economia muito dependente da indústria de laticínios, pelo que este tipo de estudos reveste-se de grande interesse.

O leite de cabra parece ter um papel essencial como fonte de proteína de alta qualidade e cálcio, especialmente para pessoas de baixo poder económico ou mal nutridas, em zonas áridas onde as vacas têm dificuldades para serem mantidas. As cabras são muitas vezes consideradas pelos consumidores como animais ecológicos, e

os seus produtos, *a priori*, como os mais adaptados para manter a saúde humana (Haenlein, 2004).

O iogurte é um produto lácteo fresco, com um sabor ligeiramente azedo (ácido), obtido pela fermentação do leite com cultivos pró-simbióticos de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*. É um dos produtos lácteos existentes no mercado de maior aceitação e consumo. Inicialmente, o seu consumo foi bastante limitado, restringindo-se apenas a certos grupos étnicos. Em meados de 1960, a adição de frutas ao produto, com o objetivo de atenuar o seu sabor ácido, possibilitou uma maior aceitação popularizando o seu consumo em todas as classes sociais e faixas etárias. Simultaneamente, promoveu-se uma ampla divulgação das suas qualidades nutritivas, terapêuticas e pré-bióticas, levando a um considerável aumento no seu consumo (Moreira et al., 1999).

O iogurte apresenta uma das melhores margens de rentabilidade para o fabricante de produtos lácteos, devido ao facto de não passar por nenhum processo de concentração, ou seja, começa com um volume de matéria-prima e termina com o mesmo volume, ou superior, quando alguns ingredientes, como polpa de frutos, são acrescentados. O seu mercado, nas suas diversas categorias, tem demonstrado um grande potencial de crescimento nos últimos anos (Santos, 1998).

Neste contexto, o objetivo geral do presente trabalho incidiu sobre o desenvolvimento de uma tecnologia para o fabrico de iogurtes funcionais com leite de cabra (apreciado pelos nutricionistas e consumidores, além da boa adaptabilidade que a espécie caprina apresenta) enriquecido com outros ingredientes potencialmente benéficos para a saúde, e também oriundos da RAA, como fibra alimentar de beterraba sacarina, polpa de mirtilo (fruto obtido da espécie *Vaccinium cylindraceum*) dos Açores e uma fonte proteica (lactoalbumina ou soro seco de bovinos).

Como é do conhecimento geral, a indústria de alimentos gera subprodutos e resíduos que podem conter substâncias de elevado valor nutritivo e terapêutico, cuja recuperação e aproveitamento pode ter repercussões quer na economia, dada a tendência atual para o consumo de alimentos funcionais, quer no ambiente, uma vez que diminui a quantidade desperdiçada desses produtos.

A polpa de beterraba sacarina (*Beta vulgaris* L.), subproduto na indústria açucareira açoriana (empresa SINAGA), é geralmente rejeitada ou aproveitada para a alimentação do gado, procedimento que subavalia o seu valor como fonte rica em fibras e proteínas, e que poderá ser aproveitada na produção de alimentos funcionais com interesse comercial e terapêutico. Já na década de 70, Burkitt sugeriu a hipótese de que um baixo consumo de fibras na dieta humana estaria relacionado com a causa de algumas doenças nos países ocidentais, como a obesidade, doenças cardiovasculares e alguns tipos de cancro. A partir de então, vários estudos foram feitos na tentativa de perceber como funcionavam as fibras no organismo humano. Atualmente admite-se que as fibras sejam essenciais para o perfeito funcionamento do trato gastrointestinal, possuindo uma função importante na formação do bolo alimentar, no controlo da absorção dos nutrientes e como adsorvente de compostos nocivos que, desta forma, não são absorvidos pelo organismo. A ingestão de fibras também se relaciona com a redução da incidência de cancro do intestino e em alguns casos no controlo da diabetes em pacientes não dependentes de insulina (Andrade & Alves, 2006).

A produção total de leite na RAA tem vindo a aumentar desde 2003, sendo que mais de metade do leite produzido é transformado em queijo (Silva, 2009). O lactosoro, produto resultante dessa transformação, contém aproximadamente metade dos sólidos presentes no leite, incluindo cerca de 20% de proteínas (albuminas, globulinas e enzimas), praticamente toda a lactose, sais minerais, vitaminas hidrossolúveis e alguns lípidos. O lactosoro, certamente um dos resíduos mais poluentes originados na indústria alimentar, é atualmente visto como uma fonte de oportunidades. Nomeadamente as proteínas do lactosoro, pelo seu elevado valor nutricional, podem ser usadas para suplemento alimentar. Representam uma excelente fonte de aminoácidos essenciais, sendo muito ricas em aminoácidos de cadeia ramificada e aminoácidos com enxofre (Baptista et al., 1998).

O género *Vaccinium* é conhecido pela sua riqueza em compostos com elevada actividade antioxidante devido ao seu elevado teor em polifenóis, particularmente antocianinas (Prior et al., 1998). A maioria dos membros do género são nativas de áreas frias do Hemisfério Norte, mas alguns como *Vaccinium cylindraceum* são encontrados em climas moderadamente quentes. Esta espécie, endémica dos Açores,

produz um fruto com um sabor excelente. O único estudo químico conhecido sobre esta planta mostra que o mirtilo dos Açores, conhecido localmente por uva da serra, apresenta uma composição em antocianinas muito rica e variada em relação ao mirtilo comum (*V. myrtillus* e *V. corymbosum*, espécies europeia e americana, respetivamente), pelo que pode ser considerado uma boa fonte alimentar de antocianinas e antioxidantes naturais (Lima et al., 2009). Como é do conhecimento geral, os antioxidantes combatem a ação dos radicais livres, particularmente as ERO (espécies reativas ao oxigénio) que têm um papel importante no desenvolvimento de doenças como a aterosclerose, doenças cardiovasculares, doenças reumáticas, cancro e muitas outras doenças degenerativas.

Tendo em conta as tendências atuais para o consumo de alimentos funcionais e as necessidades nutricionais da população mais idosa, o objetivo geral deste estudo foi, conforme já abordado atrás, desenvolver um iogurte funcional, principalmente para essa faixa etária, usando leite de cabra enriquecido com ingredientes potencialmente benéficos para a saúde, oriundos da RAA. Para o efeito, foram propostos os seguintes objetivos específicos: (1) extração da fibra da polpa de *Beta vulgaris* fornecida pela empresa SINAGA; (2) colheita do fruto de *Vaccinium cylindraceum* e preparação da sua polpa; (3) desenvolvimento de várias formulações de iogurte de leite de cabra; (4) constituição de um Painel Sensorial treinado, com idades na faixa etária de maior consumo desse produto, para testar as formulações desenvolvidas, quanto às suas características organoléticas (sabor, aroma, cor e aspeto) de modo a avaliar a sua aceitabilidade; (5) determinação do teor proteico das formulações pelo método de Biureto usando para comparação a albumina do soro BSA; (6) estudo do período de conservação à temperatura de refrigeração, pela avaliação das propriedades organoléticas das formulações e (7) estudo preliminar da componente aromática das formulações (através da extração, separação e quantificação por SPME-GC), com vista à obtenção de mais uma informação (aromograma) sobre as propriedades organoléticas do novo produto.

Esta dissertação de mestrado encontra-se estruturada em cinco capítulos, incluindo a presente introdução. No segundo capítulo apresenta-se uma revisão bibliográfica, não muito exaustiva, pretendendo contextualizar o tema do trabalho,

apresentar algumas generalidades de interesse sobre o tema do trabalho, abordar a importância económica e social do iogurte, detalhar o processo de produção tradicional do iogurte e enumerar as suas matérias-primas mais usuais. O terceiro capítulo refere-se ao trabalho experimental desenvolvido. No quarto capítulo apresentam-se e discutem-se os resultados obtidos com o trabalho experimental desenvolvido. No capítulo cinco enumera-se as conclusões deste trabalho e as suas perspetivas futuras.