

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO
JEQUITINHONHA E MUCURI

OTÁVIO AUGUSTO SILVA RIBEIRO

BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA ELABORADA COM *Camellia*
sinensis

DIAMANTINA - MG
201

OTÁVIO AUGUSTO SILVA RIBEIRO

**BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA ELABORADA COM *Camellia
sinensis***

Dissertação apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Prof. Cleube Andrade Boari

DIAMANTINA
2013

Ficha Catalográfica - Serviço de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecário Anderson César de Oliveira Silva, CRB6 - 2618.

R484b	<p>Ribeiro, Otávio Augusto Silva Bebida Láctea Fermentada Elaborada com <i>Camellia sinensis</i> / Otávio Augusto Silva Ribeiro. – Diamantina: UFVJM, 2013. 59p.</p> <p>Orientador: Cleube Andrade Boari Coorientador: Luiz Ronaldo de Abreu</p> <p>Dissertação (Mestrado - Curso de Pós-Graduação em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.</p> <p>1. Antioxidante. 2. Compostos voláteis. 3. Aceitação. 4. Alimento funcional. I. Título II. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.</p> <p style="text-align: right;">CDD 637</p>
-------	---

OTÁVIO AUGUSTO SILVA RIBEIRO

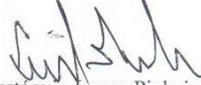
BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA ELABORADA COM CAMELIA SINENSIS

Dissertação apresentada à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA em 27/03/2013



Prof. Cleube Andrade Boari – UFVJM
Orientador



Prof. Luiz Eustáquio Lopes Pinheiro – UFMG/Inovales



Prof.ª Dora Neumann – UFVJM



Prof.ª Larissa Oliveira Ferreira Rocha – UFVJM



Prof.ª Roseli Aparecida dos Santos – UFVJM

DIAMANTINA - MG
2013

DEDICATÓRIA

A Deus, que sempre me deu forças para seguir em frente e nunca desistir.
Aos meus pais, que sempre me ajudaram e me apoiaram em todas as minhas decisões.
À minha esposa, por estar sempre ao meu lado me apoiando.
Ao meu filho, que me dá força, todos os dias, ao me sorrir.

AGRADECIMENTO

A Deus, por me dar força para continuar em frente a cada dia, e pela conclusão deste trabalho.

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM).

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPGZOO/UFVJM).

Aos Docentes do PPGZOO/UFVJM, pelos ensinamentos.

Ao Orientador Prof. Cleube Andrade Boari, que apoiou minhas decisões e me orientou em minhas dúvidas e dificuldades. Sem a sua ajuda, não teria conseguido completar esta pesquisa e esta etapa de minha vida acadêmica.

Aos Docentes do Departamento de Ciência dos Alimentos, da Universidade Federal de Lavras (DCA/UFLA), em especial ao meu Co-Orientador Professor Luiz Ronaldo Abreu, que me permitiu utilizar o Laboratório de Laticínios, além de me auxiliar no esclarecimento de muitas dúvidas, e à Professora Roberta Hilsdorf Piccoli, pelo apoio à realização desta pesquisa.

À Creusa, Técnica do Laboratório de Laticínios do DCA/UFLA, que me auxiliou em todas as etapas e análises de meu experimento.

Aos Mestrandos, Doutorandos e Estagiários do Laboratório de Laticínios do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA. Aos mestrandos do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPGZOO/UFVJM), em especial à Camila Martins Fonseca, pela contribuição nas análises e interpretações estatísticas.

Às Professoras Dora Neumann, Larissa Oliveira Ferreira Rocha e Roseli Aparecida Santos, da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, membros da banca, pela disponibilidade e valiosas contribuições. Ao Professor Luiz Eustáquio Lopes Pinheiro, da Secretaria de Estado de Ciência, Tecnologia e Ensino Superior (SECTES/MG) e da Agência Regional de Gestão do Conhecimento e Inovação (INOVALES/Diamantina-MG), integrante da banca, pela disponibilidade e valiosas contribuições.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço à minha família, minha mãe e meu pai, que sempre me apoiaram. Minha esposa, que esteve sempre ao meu lado nesta fase da minha vida. Ao meu filho, por sempre me trazer alegrias e me incentivar seguir adiante em minha vida acadêmica, pois sei que assim poderei lhe oferecer uma vida melhor.

A todos aqueles que, de outras formas, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

RESUMO

RIBEIRO, Otávio Augusto Silva. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, março de 2013. XX p. **Bebida láctea fermentada elaborada com *Camellia sinensis***. Orientador: Cleube Andrade Boari. Co-orientador: Luiz Ronaldo de Abreu. Dissertação (Mestrado em Zootecnia).

A presente pesquisa foi conduzida com o objetivo de se desenvolver e caracterizar bebida láctea fermentada formulada com *Camellia sinensis*. Procedeu-se a elaboração da infusão de folhas desidratadas e picadas de *C. sinensis* em soro lácteo ($1\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$) a qual foi adicionada em leite adoçado (sacarose 10% p/p), coagulado por *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* nas proporções de 10, 20, 30 e 40% (v/p). O controle consistiu em iogurte adicionado com sacarose (10% p/p). Procedeu-se às determinações de massa seca, umidade, resíduo mineral fixo, proteína, gordura, sódio, acidez, quantificação de bactérias lácticas totais, atividade antioxidante total e viscosidade no tempo inicial de fabricação e em 15 e 30 dias de armazenamento. No produto, em seu tempo inicial de fabricação, procedeu-se a determinação cromatográfica de compostos voláteis e à condução dos testes sensoriais de aceitação e intenção de consumo. O teor de massa seca, a umidade, resíduo mineral fixo e contagem total de bactérias lácticas de formulações de bebida láctea fermentada não foram significativamente afetados pela quantidade de infusão de *C. sinensis* adicionada. Entretanto, o conteúdo de proteína, gordura e sódio foram significativamente menores, quanto maior a percentagem de infusão incorporada ao produto. Houve redução significativa na viscosidade aparente do produto mediante o aumento da quantidade de infusão adicionada. A atividade antioxidante total das formulações foi significativamente maior quanto maior a quantidade de infusão adicionada. A adição de infusão contribuiu para a diversificação de compostos voláteis formadores de aroma e sabor no produto. A formulação de bebida láctea fermentada, com adição de 30% de infusão de *C. sinensis* em soro lácteo, foi a preferida em testes sensoriais, com maior aceitação e maior intenção de consumo.

Palavras-chave: antioxidante, compostos voláteis, aceitação, alimento funcional.

ABSTRACT

RIBEIRO, Otávio Augusto Silva. Federal Univeristy of the Jequitinhonha and Mucuri Valleys, March 2013. XX p. **Fermented milk elaborated with *Camellia sinensis***. Advisor: Cleube Andrade Boari. Guidance Comitite: Luiz Ronaldo de Abreu. Dissertation (Master in Animal Science).

The aim of this research was to develop and to characterize fermented dairy beverage formulated with *Camellia sinensis*. Infusion was elaborated with the addition of dehydrated leaves of *C. sinensis* in whey ($1\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$) which added in sweetened milk (10% sucrose w/w) coagulated by *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in proportions of 10, 20, 30 and 40% (v/ w). The control treatment consisted of yogurt added with sucrose (10% w / w). Analysis were performed to quantify dry mass, moisture, ash, protein, fat, sodium, acidity, total quantification of lactic acid bacteria, total antioxidant activity and viscosity at the initial time of production and at 15 and 30 days of storage. Chromatographic determination of volatile compounds and sensory tests of acceptance and consumption intention were conducted at the initial time of production. Dry matter content, moisture, ash and total count of lactic acid bacteria from fermented milk drink formulations were not significantly affected by the amount of infusion of *C. sinensis*. However, the content of protein, fat and sodium were significantly lower with the increase of the proportion of infusion incorporated into the product. Significant reduction in apparent viscosity occurs with the increase in the amount of infusion added. The total antioxidant activity of the formulations was significantly higher as higher were the amount of added infusion. The addition of infusion contributed to the diversification of volatile aroma and taste makers in the product. The formulation of fermented dairy drink with addition of 30% Infusion *C. sinensis* was better evaluated in sensory tests, with greater acceptance and greater consumer intent of consumption.

Keywords: antioxidant, volatile compounds, sensorial acceptance, functional food.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1 Bebidas lácteas fermentadas.....	13
2.2 Soro lácteo: características, composição química e emprego industrial.....	16
2.3 O soro como poluente.....	19
2.4 Alimentos funcionais e <i>Camelia sinensis</i>	20
2.5 Referências Bibliográficas.....	24
3. TRABALHO.....	30
3.1 BEBIDA LÁCTEA FORMULADA COM <i>Camellia sinensis</i>	30
Resumo.....	30
Abstract.....	32
Introdução.....	33
Material e Métodos.....	35
Resultados e Discussão.....	40
Conclusão.....	52
Referências Bibliográficas.....	53
ANEXO	
Cromatogramas de compostos voláteis presentes em bebida láctea fermentada formulada com <i>Camelia sinensis</i>	59

1. INTRODUÇÃO GERAL

A fermentação do leite tem sido empregada desde épocas remotas, como método para a conservação e extensão da vida útil de seus constituintes. Desde então, com os avanços na ciência e tecnologia de alimentos, especialmente nas últimas décadas, novas técnicas, a gestão dos processos fermentativos e o emprego de aditivos alimentares foram determinantes à produção de derivados melhores, mais seguros, mais variados e com características sensoriais diferenciadas e mais adequadas às demandas de clientes e consumidores. Tais melhorias fizeram das bebidas lácteas fermentadas, um dos derivados lácteos mais aceitos e consumidos no mundo.

Em uma concepção contemporânea, dadas as crescentes demandas de segmentos de mercado, pesquisas tem sido delineadas com foco no desenvolvimento e na caracterização de alimentos funcionais, ou seja, aqueles que, além de nutrir e atender às expectativas dos consumidores veiculam constituintes benéficos ao organismo humano. Neste contexto, bebidas lácteas funcionais são inoculadas com bactérias lácticas probióticas, como *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp., por constituintes prebióticos, além de outros ingredientes não lácteos benéficos, como sucos de frutas, extrato de soja e chás, os quais podem elevar, no produto, a participação de minerais, vitaminas e compostos antioxidantes de interesse à nutrição humana.

Bebidas lácteas fermentadas são obtidas a partir da fermentação do leite, adicionado por soro remanescente da fabricação de queijos, por espécies microbianas de interesse tecnológico, cuja densidade populacional deve se manter em, no mínimo, $6 \log \text{ UFC.g}^{-1}$ durante a sua vida útil. Ao se desenvolver no leite estes micro-organismos, utilizam a lactose como fonte de energia e carbono, por vias fermentativas, produzindo ácido láctico, cujo acúmulo promove a redução do pH ao ponto isoelétrico das caseínas (pH~pI~4,6), momento em que há a coagulação.

A utilização do soro para a elaboração de bebida láctea representa benefícios, tanto ao produto e à nutrição humana, quanto à geração de riquezas e à redução do impacto ambiental de organizações do setor de lácteos.

No produto, se observa o aumento no teor de proteínas solúveis, principalmente lactoalbumina, lactoglobulina e lactose. As proteínas solúveis, presentes no soro, possuem fácil digestibilidade, além de apresentarem em suas cadeias aminoácidos essenciais. A lactose, carboidrato encontrado apenas no leite, é a única fonte externa de galactose, monossacarídeo este requerido na formação de neurônios e manutenção das atividades cerebrais normais. Na ótica do processo fermentativo, a lactose contribui para o melhor desenvolvimento de fermentos lácteos.

Para a indústria de laticínios, a utilização do soro na elaboração de bebidas lácteas, contribui para agregar valor e gerar riqueza a partir de um composto antes considerado como resíduo, além de reduzir, significativamente, os custos com o tratamento do mesmo. Ressalta-se, neste momento, o elevado poder poluente do soro, decorrente de sua composição química em proteínas, carboidratos, lipídios e sais minerais, os quais possibilitam elevado desenvolvimento microbiano onde tenha sido descartado. Considerar o soro como resíduo, implica em elevados custos e em dispensar grande parte dos sólidos do leite, os quais são de elevada qualidade e biodisponibilidade.

O processamento de bebidas lácteas é bastante versátil e permite a utilização de vasta gama de aditivos alimentares, e, também, matérias-primas não lácteas, o que torna este produto um excelente veículo a diversos tipos de ingredientes. Neste sentido, sua versatilidade permite ao setor produtivo o desenvolvimento de produtos adicionados com elementos sobre os quais haja pesquisas, demonstrando seus benefícios ao metabolismo e, até mesmo, a veiculação de alimentos em destaque na mídia, dentre os quais a *Camellia sinensis*, erva com a qual se prepara o chá verde.

O chá verde é um dos mais aceitos no mundo e seu consumo tende a aumentar, consideravelmente, nos próximos anos, dadas às elucidações de seus efeitos benéficos, e, até mesmo, na decorrência da extensa divulgação das propriedades deste produto. Dentre as propriedades funcionais demonstradas pela ciência, destacam-se as atividades antioxidantes, a redução de gordura corporal, devido aos processos de oxidação lipídica e a diminuição da absorção de colesterol. No chá verde estão presentes polifenóis (catequinas), os quais

contribuem para a redução de gorduras corporais, e também, antioxidantes, como o ácido ascórbico, o α -tocoferol e carotenóides, de ação anticarcinogênica.

Considerando-se o exposto, a presente pesquisa foi conduzida com o objetivo de se desenvolver e caracterizar bebida láctea fermentada adicionada com *Camellia sinensis*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Bebidas lácteas fermentadas

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (Brasil, 2005), define-se como bebida láctea o derivado lácteo resultante da mistura de leite (*in natura*, pasteurizado, ultrapasteurizado, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro do leite (líquido, concentrado ou em pó), adicionado ou não de produtos ou substâncias alimentícias, gordura vegetal, leites fermentados, fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. A base láctea deve representar, pelo menos, 51% (m/m) do total de ingredientes do produto. Componentes obrigatórios incluem, então, o leite, o soro remanescente do processamento de queijos e bactérias lácticas, que devem permanecer viáveis no produto em densidade populacional de, no mínimo, 10^6 UFC.g⁻¹ pelo período de vida útil do produto. Além do soro, permite-se utilizar o leitelho, elemento remanescente da produção de manteiga. O quantitativo de proteínas lácteas deve representar, no mínimo, 1,6%.

Este tipo de produto é bastante versátil e suas características podem variar de acordo com os ingredientes a ele adicionados, como, por exemplo, polpas de frutas, sucos, extratos, gomas, aromas, corantes, hidrocolóides, dentre outros. De acordo com Penna (1997), a tecnologia de fabricação de bebidas lácteas se baseia na mistura de iogurte e soro, seguida da adição de outros ingredientes e aditivos alimentares, de acordo com as propostas para cada produto.

Para a elaboração de bebidas lácteas fermentadas, procede-se à fermentação do leite, por meio da inoculação de cultura láctea contendo *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Franco e Landgraf, 2004; Wang et al., 2013; Tebaldi, 2005). A lactose, presente na base láctea do leite, é utilizada pelos micro-organismos como fonte de energia e carbono, os quais liberam no meio, como resíduo de seu metabolismo, o ácido láctico. O acúmulo gradual deste metabólito promove o aumento na

quantidade de prótons hidrogênio no meio, o que se reflete na gradual queda do pH. Quando o valor de pH atinge o ponto isoelétrico das caseínas (pH~pI~4,5), acontece a neutralização de suas cargas elétricas superficiais, o que lhe confere condição de maior hidrofobicidade. Nesta situação, acontece a interação hidrofóbica entre micelas de caseína adjacentes e a formação do gel, que será posteriormente adicionado de soro e aditivos para a produção de bebidas lácteas. Há possibilidade, também, de que o soro seja previamente adicionado ao leite e ambos sejam, assim, inoculados e submetidos ao processo de fermentação.

As culturas lácteas empregadas na elaboração de bebidas lácteas fermentadas devem ser padronizadas. Sua utilização, além dos benefícios tecnológicos e probióticos, também permitem a extensão da vida útil de constituintes do leite e contribuem para a sua inocuidade, pois estes micro-organismos produzem metabólitos tóxicos a bactérias deterioradoras e patogênicas, como ácido láctico, ácido propiônico, álcoois, dióxido de carbono, peróxido de hidrogênio e substâncias antagonísticas (Helander et al., 1997, Rodas et al., 2001, Wang et al., 2013).

Lactobacillus delbrueckii spp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* se desenvolvem na bebida láctea em simbiose. O lactobacilo, durante seu desenvolvimento, libera aminoácidos e peptídeos provenientes das proteínas do leite, que estimulam o desenvolvimento do estreptococo, o qual produz ácido fórmico e dióxido de carbono, favorecendo o desenvolvimento do lactobacilo (Oliveira e Damin, 2003). O estreptococo inicia seu desenvolvimento primeiramente, atingindo densidade populacional máxima em, aproximadamente 2 horas, favorecido pela baixa acidez inicial do leite (~20°D). Neste momento, a relação entre a população dos dois microrganismos é, em média, de 4:1. Quando a acidez do meio aproxima-se de 46°D, inicia-se o desenvolvimento do lactobacilo, atingindo, a partir de então, densidade populacional máxima em 3 horas e meia. Posteriormente a este tempo, a relação entre as populações se aproxima a 1:1 (Aquarone et al., 1983; Abreu, 2005).

Algumas espécies de bactérias ácido lácticas são capazes de produzir exopolissacarídeos (EPS), um tipo de composto de elevada viscosidade. EPS's produzidos por *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* têm importância fundamental para a textura e estabilidade de leites e bebidas lácteas fermentadas, pois reduzem a sinérese e separação de fases no produto,

ao longo de sua vida útil (Cerning, 1990).

Durante o processamento de bebidas lácteas, é comumente adicionado leite em pó desnatado ou estabilizantes, como hidrocolóides, com o intuito de se aumentar, assim, a quantidade de sólidos do produto final e reduzir o processo de sinérese, o que lhe conferirá textura mais firme e menor separação de fases ao longo da sua vida útil.

A elaboração de bebidas com soro líquido requer investimentos relativamente baixos, com equipamentos e acessórios, que são, inclusive, utilizados em outras operações de um laticínio, como câmaras frias, fermenteiras e padronizadoras. Por esta razão, a fabricação deste produto é bastante viável, tendo-se em vista que a maioria dos laticínios já dispõe destes itens (Sivieri e Oliveira, 2002).

Percebe-se, cada vez mais, a expansão de segmentos de mercado interessados em alimentos saudáveis, que é estimulada por profissionais e, até mesmo pela mídia (Awaisheh et al., 2005). Neste contexto, as bebidas lácteas fermentadas, atendem, satisfatoriamente, às exigências contemporâneas destes consumidores, pois seu consumo se associa a diversos benefícios nutricionais, dentre eles sua composição química diversificada e a presença de micro-organismos probióticos (Tebaldi, 2005; Oliveira, 2012).

Conforme Teixeira (2003), leites fermentados e bebidas lácteas fermentadas apresentam versátil alternativa de produção e comercialização. Uma vez pasteurizadas e acidificadas, permitem a extensão da vida útil dos constituintes do leite em até 30 dias. A utilização de embalagens diversificadas e as diferentes formulações também agradam ao consumidor, uma vez que oferecem inovação e variedade.

A maior parte das bebidas fermentadas é produzida a partir do leite e do soro bovino, entretanto, não é incomum a utilização de leite proveniente de outras espécies, como caprinos, o que eleva a gama de produtos desta natureza ao mercado consumidor atendendo, assim, maior número de consumidores.

Tamine e Robinson (1991) consideram que, nos últimos anos, houve grande aumento na produção e no consumo de bebidas lácteas fermentadas, as quais têm sido bastante aceitas na decorrência de seu aroma e textura refrescantes e suaves. Sobre isto, Teixeira et al. (2005), ressaltam, no entanto, que muitas vezes o consumidor desconhece a diferenciação dos

produtos que contém soro (bebidas lácteas), daqueles que não contém (leites fermentados), e, assim, sugere a necessidade de se avaliar a forma como tais alimentos têm sido comercializados e as informações pertinentes a sua composição, para que se eleve o conhecimento do consumidor acerca do que consome e não se deprecie este nobre produto.

2.2 Soro lácteo: características, composição química e emprego industrial

O soro lácteo pode ser entendido como o elemento remanescente da produção de queijos. Sua coloração é amarelo-esverdeada e seu sabor varia de adocicado à ligeiramente ácido, o qual depende do processo de fabricação utilizado e do tipo de queijo fabricado. Seu volume representa, aproximadamente, 85% da massa total do leite integral, mantendo, em média, 55% de seus sólidos totais, a saber: 93% de água, 5% de lactose, 0,9% de proteínas solúveis, 0,3% de gordura, 0,2% de ácido láctico (Bem-Hassan e Ghaly, 1994; Siso, 1996).

A α -lactoalbumina e a β -lactoglobulina são os principais protídeos solúveis do soro, constituindo, juntas, aproximadamente 80% de sua fração protéica. Quando do soro separadas, dão origem ao concentrado protéico de soro (*whey protein concentrate* - WPC), de elevado valor comercial (Di Giacomo et al., 1996).

O soro apresenta interessante valor nutricional, contendo aminoácidos essenciais de elevada biodisponibilidade, além de vitaminas como tiamina, riboflavina, ácido pantotênico, e vitaminas B6 e B12, o que o torna boa alternativa a dieta humana (Ferreira, 1999).

O soro lácteo foi, por muito tempo, considerado como resíduo e, em razão disto, por longo período, não recebeu apropriada atenção tecnológica. Grandes volumes de soro foram indiscriminadamente dispensados em mananciais d'água, o que tornou conhecido o seu grande poder poluidor (Scott, 1991; Ranhotra et al., 1997).

Entretanto, com o investimento em ciência e tecnologia, o soro deixa de ser percebido como resíduo e se torna importante e versátil matéria-prima para processos diversos. Muitos produtos têm sido produzidos a partir deste elemento, como o soro em pó, ricota, bebidas lácteas aromatizadas ou fermentadas, concentrado protéico, lactose, ácido láctico, álcool,

vinagre, dentre outros (Brandão, 1994; Hugunin, 1999; Ming, 2002; Siqueira et al., 2002). Laticínios mais tecnificados empregam, inclusive, técnicas diferenciadas para o melhor aproveitamento dos constituintes do soro, como a ultrafiltração, cristalização, precipitação, osmose reversa, e outros métodos de separação física (Ming, 2002). Dentre os derivados obtidos, o soro lácteo em pó possui em média 14% de proteínas, 75% de lactose, 1,5% de minerais e 1% de gordura e, com tal composição, este produto é utilizado para elevar o teor de sólidos do leite a ser beneficiado para diversos fins (Schermer, 2003).

Devido à habilidade da lactose em reter pigmentos e compostos voláteis responsáveis pelo flavour, o soro lácteo pode ser utilizado em uma grande variedade de chocolates, bombons e coberturas. Além disto, por possuir compostos hidrofílicos e anfipáticos, auxilia na estabilização de cremes e espumas como o merengue e recheios cremosos de base láctea (Dallas, 1999; Siqueira et al., 2002). Alguns minerais e proteínas do soro contribuem para realçar o sabor de alimentos, como queijos, carnes e embutidos. Em produtos de panificação, o soro tem sido utilizado como substituto em grande escala do leite em pó desnatado na maioria dos produtos (Ming, 2002). De acordo com Severo (1995), a utilização do soro lácteo, além de contribuir com o maior valor nutricional dos alimentos, permite a redução dos custos de alguns tipos de formulações (Severo, 1995).

Por fermentação, variando-se os isolados microbianos inoculados, obtém-se variados metabólitos, como proteína *single-cell*, ácido láctico, álcool etílico, riboflavina, metano, lactase, dentre outros (Brandão, 1994).

O dissacarídeo lactose (glucose-galactose) é o carboidrato característico do leite, encontrado no soro em concentração de, aproximadamente, 5%. Como exemplo de seu emprego pela indústria, menciona-se sua utilização como ingrediente de alimentos para recém-nascidos e crianças, bem como a sua utilização na indústria farmacêutica, como excipiente em medicamentos. A lactose é utilizada por algumas espécies de microrganismos, como substrato para a fermentação, da qual se originam diversos produtos fermentados, como bebidas lácteas.

Considerando-se a elevada demanda bioquímica de oxigênio da lactose (35-45 mg.L⁻¹), as indústrias de laticínios têm a constante necessidade de desenvolver novas utilizações

para o soro lácteo remanescente da produção de queijos, de forma a reduzir o potencial impacto ambiental que poderiam representar, e, até mesmo, reduzir os custos com tratamento de resíduos (Audic et al., 2003).

Conforme Almeida (2000), a utilização de soro para a produção de bebidas lácteas é uma das formas mais racionais de seu aproveitamento. Sobre isto, Siso (1996) relata que, algo ao entorno de 50% da produção mundial de soro é utilizada com aditivo alimentar, sendo quase a metade empregada para a produção de bebidas lácteas.

As proteínas do soro correspondem a aproximadamente 20% do teor proteico total do leite integral. No soro, α -lactoalbumina e a β -lactoglobulina representam em torno de 80% do seu total de proteínas, sendo presentes, também, a soroalbumina bovina, imunoglobulinas, protease-peptonas, lactoferrina, lactoperoxidase e outras enzimas (Morr e Ha, 1993).

A β -lactoglobulina representa 50% do teor total de proteínas do soro lácteo. A cadeia de aminoácidos que forma a β -lactoglobulina possui vários pontos que permitem a sua ligação com minerais, vitaminas lipossolúveis e lipídios, podendo assim, serem utilizados para a incorporação de compostos lipofílicos desejáveis, como por exemplo, o tocoferol e vitamina A (Ming, 2002).

Conforme Ming (2002), albumina e imunoglobulinas, presentes em quantidades reduzidas, são capazes de contribuir para o reforço da imunidade passiva de crianças e outros indivíduos.

A lactoferrina é capaz de se ligar ao ferro, e, com isto, auxiliar sua absorção, sem provocar reações em crianças. Além disto, tem ação antioxidante e anticarcinogênica e pode contribuir ao fortalecimento do sistema imunológico. Ao se ligar ao ferro livre, presente no trato gastrointestinal, esta proteína indisponibiliza este elemento ao desenvolvimento de microorganismos indesejados presentes na microbiota intestinal, inibindo a sua proliferação (Archibald, 2003).

As proteínas do soro lácteo apresentam, além de suas características nutricionais, propriedades tecnológicas que conferem aos alimentos melhor aparência, sabor, aroma e textura e, por esta razão, têm sido incorporadas à formulação de diversos produtos industrializados, para os quais se interessa a formação de espumas, emulsificação e

geleificação (De With, 1998; Sgarbieri, 1998; Yetim et al., 2001; Foegeding et al., 2002). De acordo com Cayot e Iorient (1997), as proteínas do soro lácteo podem ser utilizadas na incrementação de nitrogênio em sucos de frutas e outras bebidas, devido a sua elevada solubilidade em pH ácido.

De acordo com Ha e Zemel (2003), o elevado valor nutricional destas proteínas decorre da grande quantidade de cadeias de moléculas ramificadas e a presença de grande quantidade de aminoácidos essenciais. Além de seu valor nutricional e tecnológico, pesquisas demonstram importantes funções biológicas e fisiológicas ao metabolismo humano, que incluem imunomodulação (Mercier et al., 2003) e atividades anticarcinogênicas (Macintosh et al., 1998).

2.3 O soro como poluente

Remanescente do processamento de queijos, o soro sempre foi motivo de grandes preocupações ao setor produtivo, tanto em função dos volumes obtidos, quanto de seu potencial poluidor, decorrente de seu elevado conteúdo orgânico (Reis, 1999). Cada 1.000 litros de soro contém, aproximadamente, 50 quilos de lactose, 8 quilos de sais minerais, 8 quilos de proteínas e 4 quilos de gordura, dentre outros componentes (Mosquim, 1996).

Conforme a Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIC), no ano de 2005, considerando-se laticínios registrados no Sistema de Inspeção Federal, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), foram processadas, aproximadamente, 500.000 toneladas de queijo, quantidade estimada em 60% do total produzido no Brasil, naquele ano base (ABIQ, 2012). Considerando-se que de cada quilo de queijo produzido remanesce nove quilos de soro, conforme Kosikowski (1979) estima-se que, em 2005, foram produzidas cerca de 4.500.000 toneladas de soro lácteo, um dos maiores montantes produzidos no mundo. De acordo com as estimativas de Mosquim (1996), anteriormente mencionadas, tal volume corresponderia a 225.000 toneladas de lactose, 36.000 toneladas de sais minerais, 36.000 quilos de protídeos e 18.000 toneladas de gordura. Deduz-se assim que, caso este montante de soro fosse descartado, seriam estas as quantidades de nutrientes

perdidas. Entretanto, alguns laticínios brasileiros, principalmente de pequeno porte e casas de queijo de produtores artesanais, ainda lançam o soro lácteo produzido em rios ou, comumente, utilizam-no na alimentação de animais (Ugiette, 1990).

O lançamento do soro lácteo em afluentes é considerado um método ineficaz e nocivo de destino do soro, em função de elevado potencial poluidor, ocasionado pela grande demanda bioquímica de oxigênio (DBO), ao entorno de 30.000 e 60.000ppm, o que pode provocar a rápida degradação de ambientes aquáticos e de seu entorno (Mosquim, 1996).

A DBO tem sido a forma mais utilizada para se avaliar o quantitativo de matéria orgânica presente em águas residuais, como aquelas produzidas por laticínios. Esta determinação, padronizada pelo *Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater*, mensura a quantidade de oxigênio requerida para se estabilizar a matéria orgânica presente em amostras de água, em período de tempo de 5 dias e em temperatura de 20°C (Pessoa e Jordão, 1982). Quanto maior a DBO, maior é o requerimento de oxigênio dissolvido em água, para a neutralização biológica da matéria orgânica residual.

Considerando-se o alto investimento necessário à implantação e manutenção de sistemas de tratamento biológico do soro, assim como seu valor nutricional e tecnológico, a adoção de métodos e alternativas para o seu aproveitamento agroindustrial corresponde à maneira mais racional de se utilizar este importante componente (Mosquim, 1996).

2.4 Alimentos funcionais e *Camelia sinensis*

Conforme definido pela Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA), a partir da Resolução nº 18 de 30 de Abril de 1999, alimentos funcionais ou nutracêuticos são definidos como sendo aqueles que produzem efeitos metabólicos ou fisiológicos no indivíduo, através da atuação de nutriente ou não nutriente no crescimento, desenvolvimento, manutenção e em outras funções normais do organismo humano.

O termo alimento funcional foi introduzido no Japão, na década de 80, sendo descrito como aquele que apresenta similaridade sensorial e química aos alimentos convencionais, os

quais, ao fazer parte da dieta, proporcionam benefícios fisiológicos e reduzem os riscos de doenças crônicas, carcinomas, doenças cardíacas, osteoporose, patologias intestinais, fortalecem o sistema imunológico, auxiliam na estabilidade de condições físicas e mentais e propiciam o retardamento de processos de envelhecimento (Portugal et al., 2001; Brandão, 2002; Menrad, 2003).

De acordo com Galvão (2002), os consumidores buscam nos alimentos, não mais apenas o atendimento de suas necessidades nutricionais, mas, sim, anseiam por benefícios que os alimentos possam representar a sua saúde, longevidade e bem-estar.

O caráter funcional pode ser atribuído ao alimento em função de características inerentes à matéria-prima e a aditivos e ingredientes utilizados na formulação de um produto, bem como pelas tecnologias de processamento empregadas (Bistrom e Nordstrom, 2002).

De acordo com Kimura (2002), alimentos desta natureza tem sido prioridade em pesquisas em todo o mundo, com a finalidade de se conhecer as suas propriedades, e, com isso, demonstrar seus efeitos benéficos na promoção da saúde e do bem-estar dos consumidores.

Neste contexto, alguns derivados lácteos, dada a sua versatilidade e a possibilidade de veicular ingredientes não lácteos, além de micro-organismos probióticos, apresentam grande potencial de atendimento a estas demandas, principalmente as bebidas lácteas fermentadas (Portugal et al., 2001; Gaudreau et al., 2005).

O chá é a segunda bebida mais consumida em todo o mundo, sendo a água a primeira (Weisburger, 1997). Seu conceito se baseia na infusão de partes de plantas, dentre elas as do gênero *Camellia* spp, sendo as variações em suas denominações decorrentes do tipo de processamento ao qual a planta, ou suas partes, é submetida.

O chá preto, o oolong e o chá verde são os principais chás elaborados com *C. sinensis*. As variações nas características de cada um destes decorrem da intensidade de auto-oxidação, catalizada pela enzima polifenol-oxidase. A atividade desta enzima se evidencia após o esmagamento e trituração das folhas de *C. sinensis*, o que permite o contato dos constituintes do interior da folha com o oxigênio, o que desencadeia processos de escurecimento enzimático. Em se tratando do chá preto, há completa oxidação enzimática. O oolong é obtido

por oxidação enzimática parcial. Para o chá verde, no entanto, não ocorre oxidação enzimática (inativação enzimática total) (McKay e Blumberg, 2002). O processamento das folhas de *C. sinensis* inclui breve aquecimento após sua fragmentação (picagem), o que inativará a enzima polifenol-oxidase e impedirá a oxidação antes da desidratação de suas folhas.

Diversos resultados de pesquisa demonstram propriedades funcionais do chá verde, como seu efeito anti-hipertensivo, antioxidante, anticarcinogênico e hipocolesterolêmico (Henry e Stephens-Larson, 1984; Shi et al., 1994; Yang et al., 2001).

Os chás, como os obtidos da *C. sinensis*, são ricos em flavonóides e catequinas, que lhes conferem atividade antioxidante e o sequestro de radicais livres, sendo estas duas atividades relacionadas (Morais et al. 2009). A atividade antioxidante da *C. sinensis* advém da presença de polifenóis, sendo maior percentual correspondente às catequinas, de grande interesse para pesquisas em função de suas propriedades e benefícios para o organismo humano (Ziaedini et al. 2010). Dentre estes, Moraes et al. (2009) descrevem a epigalocatequina como o composto polifenólico de maior efeito (Morais et al. 2009).

A ação antioxidante, conferida por polifenóis, contribuí a redução do estresse oxidativo do organismo, e, com isto, reduz riscos de neoplasias (Sasazuki et al. 2012). Além destas propriedades, o polifenol epigalocatequina galato, presente na *C. sinensis*, possui possível atividade antialérgica inflamatória e antialérgica asmática, sendo demonstrada a sua atuação como supressor da Imunoglobulina E (IgE) (Hassanain et al., 2010; Wu et al., 2012). Arab et al. (2009), por intermédio de meta-análise sobre a relação entre o consumo de chás verde e preto e o risco de acidente vascular cerebral, relatam que, para consumidores assíduos do produto (3 xícaras por dia) há possibilidade de se reduzir o risco de AVC fatal em até 21%.

O processamento de plantas para o preparo de infusões pode divergir bastante, dependendo das características presentes em de cada espécie, bem como das propriedades e características pretendidas para o produto final. No entanto, para a maioria das plantas se aplica a secagem por exposição ao sol, em estufa ou radiação, assim como a fragmentação, moagem, fermentação e tostagem (Lima, 2004).

Visando à padronização da produção e do consumo de chás no Brasil, foi instituído pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil, 2005), o Regulamento Técnico para

Café, Cevada, Chá, Erva-Mate e Produtos Solúveis. Por este documento oficial, entende-se por chá o produto constituído por uma ou mais partes de espécies vegetais inteiras, fragmentadas ou moídas, com ou sem fermentação, tostadas ou não, constantes de Regulamento Técnico de Espécies Vegetais para o Preparo de Chás.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO (ABIQ). Disponível em: <<http://www.abiq.com.br>>. Acesso em: 20 Agosto. 2012.

ABREU, L. R. **Processamento do leite e Tecnologia de Produtos Lácteos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2005.

ALMEIDA, A.D.P.C. Prevalência de anemia em crianças de seis meses a seis anos na cidade de Vitória, ES (Dissertação Mestrado). Minas Gerais: Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina na Universidade Federal de Minas Gerais, 2000.

AQUARONE, E.; LIMA, U.A.; BORZANI, W. **Alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgard Blücher, p. 227, 1983.

ARAB, L.; LIU, W.; ELASHOFF, D. Green and Black Tea Consumption and Risk of Stroke A Meta-Analysis. **Stroke: A Journal of Cerebral Circulation**, v.40, p.1786-1792, 2009.

ARCHIBALD, A. O que é proteína do soro? **Food Ingredient**, vº 22, p.118-122, 2003.

AUDIC, J.L.; CHAUFFEUR, B.; DAUFIN, G. Non-food applications of milk components and dairy co-products: A review. **La Lait**, v. 83, p. 417-438, 2003.

AWAISHEH, S.S.; HADDADIN, M.S.Y.; ROBINSON, R.K. Incorporation of selected nutraceuticals and probiotic bacteria into a fermented milk. **International Dairy Journal**, v. 15, p. 1184-1190, 2005.

BEM-HASSAN, R.M.; GHALY, A.E. Continuous propagation of *Kluyveromyces fragilis* in cheese whey for pollution potential reduction. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 47, p. 89-105, 1994.

BISTROM, M.; NORDSTROM, K. Identification of key success factors of functional dairy foods product development. **Trends in Food Science & Technology**, v.13, p.372-379, 2002.

BRANDÃO, S.C.C. Soro: um desafio para as fábricas de queijos. **Leite e Derivados**, v. 1, p.13-20, 1994.

BRANDÃO, S.C.C. Novas gerações de produtos lácteos funcionais. **Indústria de Laticínios**, v.1, p. 64-66, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regulamento Técnico de**

Identidade e Qualidade de Bebida Láctea. Instrução Normativa nº 16, de 23 de Agosto de 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Regulamento Técnico para Café, Cevada, Chá, Erva-mate e Produtos Solúveis.** Resolução RDC nº 277, de 22 de Setembro de 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. Resolução RDC nº 18, de 30 de abril de 1999.

CAYOT, P.; LORIENT, D. Structure-function relationships of whey proteins. In **Food Proteins and their Applications**, 225-256 (Eds S Damodaran & A Paraf,). Marcel Dekker Inc. 1997.

CERNING, J. Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. **FEMS Microbiology Letters**, v. 87, p. 113-130, 1990.

DALLAS, P. O uso de derivados do soro em aplicações de produtos de consumo. **Leites e Derivados**, v.46, p.48-50, 1999.

DE WITH, J.N. Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.597-608, 1998.

DI GIACOMO, G.; DEL RE, G.; SPERA, D. Milk whey treatment with recovery of valuable products. **Desalination**, v. 108, p. 273-276, 1996.

FERREIRA, C. L. L. F. **Acidez em Leites e Produtos Lácteos: Aspectos Fundamentais**, Viçosa: UFV, 1999, 26 p.

FOEGEDING, E.A.; DAVIS, J.P.; DOUCET, D.; MCGUFFEY, GANDHI, D.N.; PATEL, R.S. Technology and keeping quality of fermented whey concentrate. **Cultured Dairy Products Journal**, v. 29, p. 25-27, 1994.

FRANCO, B. D, G, de M.; LANDGRAF M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu. 2004. p. 10-11.

GALVÃO, L. P. Inovando em produtos lácteos através de conceitos nutricionais. **Revista Indústria de Laticínios**, v. 40, p. 42-44, 2002.

GAUDREAU, H.; CHAMPAGNE, C.P.; JELEN, P. The use of crude cellular extracts of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 11842 to stimulate growth of a probiotic

Lactobacillus rhamnosus culture in milk. **Enzyme and Microbial Technology**, v.36, p.83-90, 2005.

HA, E.; ZEMEL, M.B. Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 14, p. 251- 258, 2003.

HASSANAIN, E.; SILVERBERG, J. I.; Kevin B. NOROWITZ, K. B.; CHICE, S.; BLUTH, M. H.; BRODY, N.; JOKS, R.; DURKIN, H. G.; SMITH-NOROWITZ, T. A. Green Tea (*Camelia sinensis*) Suppresses B Cell Production of IgE Without Inducing Apoptosis. **Annals of Clinical & Laboratory Science**, v. 40, p. 135-143, 2010.

HELANDER, I. M.; Von WRIGHT, A.; MATTILA-SANDHOLM, T. M. Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gram negative bacteria. **Trends in Food Science and Technology**, v.8, p. 146-150, 1997.

HENRY, J.P.; STEPHENS-LARSON, P. Reductions of chronic psychosocial hypertension in mice by decaffeinated tea. **Hypertension**, v. 6, p. 437-444, 1984.

HUGUNIN, A. O uso de produto de soro em iogurtes e produtos lácteos fermentados. **Leite e Derivados**, v.49, p. 22-33, 1999.

KIMURA, Y. O. Alimentos simbióticos: combinação de microrganismos probióticos com ingredientes prebióticos representa uma nova oportunidade no desenvolvimento de produtos lácteos saudáveis. **Revista Indústria de Laticínios**, v. 40, p. 22-24, 2002.

KOSIKOWSKI, F.V. Whey utilization and whey products. **Journal Dairy Science**, v. 62, p.1149-1160, 1979.

LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A.; LIMA, D. E. S. Teor de compostos fenólicos totais em chás brasileiros. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 7, n.2, p. 187-190, 2004.

MACINTOSH, G.H.; ROYLE, P.J.; LE LEU, R.K.; REGESTER, G.O.; JOHNSON, M.A.; GRINSTED, R.L.; KENWARD, R.S.; SMITHERS, G.W. Whey proteins as functional food ingredients? **International Dairy Journal**, v. 8, p. 425-434, 1998.

MCKAY, D.L., BLUMBERG, J.B. The role of tea in human health: an update. **Journal of the American College of Nutrition**, v.21, p 1-13, 2002.

MENRAD, K. Market and marketing of functional food in Europe. **Journal of Food Engineering**, v.56, .181-188, 2003.

MERCIER, A.; GAUTHIER, S.F.; FLISS, I. Immunomodulating effects of whey proteins and

their enzymatic digests. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 175-183, 2003.

MING, P. **Proteínas de Soro em Alimentos Funcionais. Ingredientes Inovadores Funcionais: Tendências**. US Dairy Export Council, 2002.

MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E. S. B.; COSTA, S. M. O.; AGUIAR, L. A.. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, p. 315-320, 2009.

MORR, C.; HA, E. W. Whey protein concentrates and isolates processing and functional properties critical reviews. **Food Science and Nutrition**, v. 33, p. 431-476, 1993.

MOSQUIM, M.C.A.V. **Propriedades Funcionais do soro de queijo**. IN: Encontro Digital de Tecnologia de Laticínios, Viçosa, MG, 3, 1996.

OLIVEIRA, M. N.; DAMIN, M. R. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 172-176, 2003.

OLIVEIRA, M. C. S. **Como diferenciar os diversos tipos de leite**. Disponível em: <http://www.radiobras.gov.br/ct/materia.phtml?tipo=AR&materia=161974> Acesso em: 22 de maio de 2012.

PENNA, A.L.B. **Parâmetros reológicos de gomas para a fabricação de bebidas lácteas à base de soro**. São Paulo: FCF/USP, 1997. 128p.

PESSOA, C.A, JORDÃO, E.P. **Tratamento de esgotos domésticos**. Rio de Janeiro: Edição: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental – ABES, cap.2, p. 9- 29, 1982.

PORTUGUAL, J. A. B.; CASTRO, M. C. D.; SILVA, P. H. F.; SAVINO, A. C.; NEVES, B.S.; ARCURI, E. F. **O agronegócio do leite e os alimentos lácteos funcionais**. Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 2001. 204 p.

RANHOTRA, G.S.; GELROTH, J.A.; LEINEN, S. D.; RAO, A. Bioavailability of calcium in a high calcium whey fraction. **Nutrition Research**, v.17, p.1663- 1670, 1997.

REIS, G.L. Sistema de Gestão Ambiental em Laticínios. **Revista Instituto Laticínio Cândido Tostes**, v.54, p. 35-47, 1999.

RODAS, M.A.B.; RODRIGUES, R.M.M.S.; SAKUMA, H.; TAVARES, L.Z.; SGARBI, C.R.; LOPES, W.C.C. Caracterização Físico-Química, histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, p. 304-309, 2001.

SASAZUKI, S.; TAMAKOSHI, A.; MATSUO, K.; ITO, H.; WAKAI, K.; NAGATA, C.; MIZOUE, T. TANAKA, K.; TSUJI, I.; INOUE, M.; TSUGANE, S. Green Tea Consumption and Gastric Cancer Risk: An Evaluation Based on a Systematic Review of Epidemiologic Evidence Among the Japanese Population. **Japanese Journal of Clinical Oncology**, v. 42, p. 335-346, 2012.

SCHERNER, M. **Estudo da influência de diferentes concentrações de extrato seco total sobre a fermentação do iogurte**. Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, UTFPR, Medianeira, 2003.

SCOTT, R. **Fabricacion de queso**. Zaragoza, ed. Acibia, 1991.

SEVERO, L.M.B. **Desenvolvimento de uma bebida láctea à base de soro de leite fermentado**. Londrina: UEL, 1995. 74p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, 1995.

SGARBIERI, V. C. **Propriedades funcionais de proteínas em alimentos**. Bol SBCTA, v. 32, n. 1, p. 105-126, 1998.

SHI, S. T.; WANG, Z. Y.; SMITH, T. J.; HONG, J. Y.; CHEN, W. F.; HO, C. T.; YANG, C. S. Effects of green tea and black tea on 4-(methylnitrosamine)-1-(3-pyridyl)-1-butanone biactivation, DNA methylation and lung tumorigenesis in A/J mice. **Cancer Research**, v. 54, p. 4641-4647, 1994.

SIQUEIRA, I. M. C.; SOUZA, M. R.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; GLÓRIA, M. B. A. Caracterização físico-química de quatro tipos de soro de queijo. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**, v. 57, p. 225-227, 2002.

SISO, M.I.G. The biological utilization of cheese whey: a review. **Bioresource Technology**, v. 57, p. 1-11, 1996.

SIVIERI, K.; OLIVEIRA, M.N. Avaliação da vida-de-prateleira de bebidas lácteas preparadas com "fat replacers" (Litesse e Dairy-lo). **Ciência Tecnologia Alimentos**, v. 22, 2002.

TAMINE, A.Y.; ROBINSON, R.K. **Iogur Ciência y Tecnologia**, Zaragoza, Acibia, 368p, 1991.

TEBALDI, V.M.R. **Elaboração de bebida láctea de soro de ricota e extrato solúvel de soja**. 2005. 79 p. Dissertação (Magister Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

TEIXEIRA, S. M. B. ; DO VALLE, R. P. ; ABREU, L. R. ; CANO-CHAUCA, M. ; RIBEIRO, A. C. . Elaboración de una bebida lactea a partir del suero ricota.. *Alimentaria*

(Madrid), v. 03, p. 91-94, 2003.

TEIXEIRA, V.Q.; CORTEZ, M.A.S.; SILVA, C.; PLATTE, C. S.; SILVA, A. **Comercialização de produtos lácteos com a adição de soro de queijo e avaliação do conhecimento do consumidor em relação a essa adição.** Anais (Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos, Búzios, RJ), 2005.

UGIETTE, S. M.A. **Análise econômica da utilização de resíduo de indústria de queijo (soro de leite) em substituição ao leite de cabra na alimentação artificial de cabritos.** João Pessoa - PB, 1990, p.159. Anais (Simpósio Nordestino de Nutrição de Ruminantes), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 1990.

WANG, X.; REN, H.; LIU, D.; WANG, B.; ZHU, W.; WANG, W. H⁺-ATPase-Defective Variants of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Contribute to Inhibition of Postacidification of Yogurt during Chilled Storage. **Journal of Food Science** , v. 78, n. 2, p 297-302, 2013.

WEISBURGER, J.H. Tea and health: a historical perspective. **Cancer Letters**, v. 114, p.315-317, 1997.

WU, S. Y.; SILVERBERG, J. I.; JOKS, R.; DURKIN, H. G.; SMITH-NOROWITZ, T. A. Green Tea (*Camelia Sinensis*) Mediated Suppression of IgE Production By Peripheral Blood Mononuclear Cells of Allergic Asthmatic Humans. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 76, p. 306-310, 2012.

YANG, M. H.; WANG, C. H.; CHEN, H. L. Green, oolong and black tea extracts modulate lipid metabolism in hiperlipidemic rats fed high-sucrose diet. **Journal Nutrition Biochemistry**, v. 12, p. 14-20, 2001.

YETIM, H.; MULLER, W.D.; EBER, M. Using fluid whey in comminuted meat products: effects on technological, chemical and sensory properties of frankfurter-type sausages. **Food Research International**, v. 34, p. 91- 101, 2001.

ZIAEDINI, A.; JAFARI, A.; ZAKERI, A. Extraction of Antioxidants and Caffeine from Green Tea (*Camelia sinensis*) Leaves: Kinetics and Modeling **Food Science and Technology International**. V. 16, p. 505-510, 2010.

3. TRABALHO

BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA FORMULADA COM CAMELLIA SINENSIS

FERMENTED DAIRY BEVERAGE ELABORATED WITH CAMELLIA SINENSIS

RESUMO

A presente pesquisa foi conduzida com o objetivo de se desenvolver e caracterizar bebida láctea, fermentada e formulada com *Camellia sinensis*. Procedeu-se a elaboração da infusão de folhas desidratadas e picadas de *C. sinensis* em soro lácteo ($1\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$) a qual adicionada em leite adoçado (sacarose 10% p/p), coagulado por *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* nas proporções de 10, 20, 30 e 40% (v/p). O controle consistiu em iogurte adicionado com sacarose (10% p/p). Procedeu-se às determinações de massa seca, umidade, resíduo mineral fixo, proteína, gordura, sódio, acidez, quantificação de bactérias lácticas totais, atividade antioxidante total e viscosidade no tempo inicial de fabricação e em 15 e 30 dias de armazenamento. No produto, em seu tempo inicial de fabricação, procedeu-se a determinação cromatográfica de compostos voláteis e à condução dos testes sensoriais de preferência, aceitação e intenção de consumo. O teor de massa seca, a umidade, resíduo mineral fixo e contagem total de bactérias lácticas de formulações de bebida láctea fermentada não foram significativamente afetados pela quantidade de infusão de *C. sinensis* adicionada. Entretanto, o conteúdo de proteína, gordura e sódio foram significativamente menores quanto maior a percentagem de infusão incorporada ao produto. Houve redução significativa na viscosidade aparente do produto, mediante o aumento da quantidade de infusão adicionada. A atividade antioxidante total das formulações foi significativamente maior, quanto maior a quantidade de infusão adicionada. A adição de

infusão contribuiu para a diversificação de compostos voláteis formadores de aroma e sabor no produto. A formulação de bebida láctea fermentada com adição de 30% de infusão de *C. sinensis* em soro lácteo foi a mais bem avaliada em testes sensoriais, com maior aceitação e maior intenção de consumo.

Palavras-chave: antioxidante, compostos voláteis, aceitação, alimento funcional.

ABSTRACT

The aim of this research was to develop and to characterize fermented dairy beverage formulated with *Camellia sinensis*. Infusion was elaborated with the addition of dehydrated leaves of *C. sinensis* in whey ($1\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$) which added in sweetened milk (10% sucrose w/w) coagulated by *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in proportions of 10, 20, 30 and 40% (v/ w). The control treatment consisted of yogurt added with sucrose (10% w / w). Analysis were performed to quantify dry mass, moisture, ash, protein, fat, sodium, acidity, total quantification of lactic acid bacteria, total antioxidant activity and viscosity at the initial time of production and at 15 and 30 days of storage. Chromatographic determination of volatile compounds and sensory tests of preference, acceptance and consumption intention were conducted at the initial time of production. Dry matter content, moisture, ash and total count of lactic acid bacteria from fermented milk drink formulations were not significantly affected by the amount of infusion of *C. sinensis*. However, the content of protein, fat and sodium were significantly lower with the increase of the proportion of infusion incorporated into the product. Significant reduction in apparent viscosity occurs with the increase in the amount of infusion added. The total antioxidant activity of the formulations was significantly higher as higher were the amount of added infusion. The addition of infusion contributed to the diversification of volatile aroma and taste makers in the product. The formulation of fermented dairy drink with addition of 30% Infusion *C. sinensis* was better evaluated in sensory tests, with greater acceptance and greater consumer intent of consumption.

Keywords: antioxidant, volatile compounds, sensorial acceptance, functional food.

INTRODUÇÃO

Bebidas lácteas fermentadas são obtidas a partir da fermentação do leite, adicionado por soro remanescente da fabricação de queijos, por espécies microbianas de interesse tecnológico, cuja densidade populacional deve se manter em, no mínimo, $6 \log \text{UFC.g}^{-1}$ durante a sua vida útil (Brasil, 2005). Sua base láctea deve representar, pelo menos, 51% (m/m) do total de ingredientes do produto (Brasil, 2005). Ao se desenvolver no leite, estes micro-organismos utilizam a lactose como fonte de energia e carbono, por vias fermentativas, produzindo ácido láctico, cujo acúmulo promove a redução do pH ao ponto isoelétrico das caseínas ($\text{pH} \sim \text{pI} \sim 4,6$), momento em que há coagulação.

A utilização do soro para a elaboração de bebida láctea representa benefícios, tanto ao produto e à nutrição humana, quanto à geração de riquezas e à redução do impacto ambiental de organizações do setor de lácteos.

No produto, se observa o aumento no teor de proteínas solúveis, principalmente lactoalbumina, lactoglobulina, e lactose. As proteínas solúveis, presentes no soro, possuem fácil digestibilidade, além de apresentarem em suas cadeias, aminoácidos essenciais (Ferreira, 1999). A lactose, carboidrato encontrado apenas no leite, é a única fonte externa de galactose, monossacarídeo, este requerido na formação de neurônios e manutenção das atividades cerebrais normais. Na ótica do processo fermentativo, a lactose contribui para o melhor desenvolvimento de fermentos lácteos.

Para o laticínio, a utilização do soro na elaboração de bebidas lácteas, contribui para agregar valor e gerar riqueza a partir de um composto antes considerado como resíduo, além de diminuir, significativamente, os custos com o tratamento de resíduos (Mosquim, 1996). Ressalta-se, neste momento, o elevado poder poluente do soro, decorrente de sua composição química em proteínas, carboidratos, lipídios e sais minerais, os quais possibilitam elevado desenvolvimento microbiano onde tenha sido descartado. Considerar o soro como resíduo, implica em elevados custos, e em dispensar grande parte dos sólidos do leite, que possuem elevada qualidade e biodisponibilidade.

O processamento de bebidas lácteas é bastante versátil e permite a utilização de vasta gama de aditivos alimentares, e, também, matérias-primas não lácteas, o que torna este produto um excelente veículo a diversos tipos de ingredientes. Neste sentido, sua versatilidade permite ao setor produtivo o desenvolvimento de produtos adicionados com elementos sobre os quais haja pesquisas, demonstrando seus benefícios ao metabolismo e, até mesmo, a veiculação de alimentos em destaque na mídia, dentre estes a *C. sinensis*, erva que se prepara o chá verde.

Define-se como chá, o produto constituído por uma ou mais partes de espécies vegetais inteiras, fragmentadas ou moídas, com ou sem fermentação, tostadas ou não (Brasil, 2005). Dentre estes, o chá verde é um dos mais aceitos no mundo e seu consumo tende a aumentar, consideravelmente, nos próximos anos, dadas às elucidações de seus efeitos benéficos e até mesmo na decorrência da extensa divulgação das propriedades deste produto (Penna e Thamer, 2005; McKay e Blumberg, 2002). Dentre suas propriedades funcionais demonstradas pela ciência, destacam-se as atividades antioxidantes, a redução de gordura corporal, devido aos processos de oxidação lipídica e a diminuição da absorção de colesterol. No chá verde estão presentes polifenóis (catequinas), os quais contribuem para a redução de gorduras corporais, e também, antioxidantes, como o ácido ascórbico, o α -tocoferol e carotenóides, de ação anticarcinogênica (Lima et al., 2009).

Os polifenóis encontrados na *C. sinensis* podem reduzir o estresse oxidativo das células e contribuir para a atividade antimutagênica celular, e, conseqüentemente, para a redução dos riscos de carcinomas (Rathore et al. 2012; Sasazuki et al. 2012). Dentre os polifenóis, a epigalocatequina galato, de ocorrência natural na *C. sinensis* contribui ao controle da biossíntese de Imunoglobulina e, a qual, quando em altos níveis séricos, relaciona-se ao desenvolvimento de quadros alérgicos, inflamatórios e asmáticos (Hassanain et al. 2010; Wu et al. 2012). Além disto, os polifenóis presentes na *Camellia sinensis* possuem, também, a capacidade de acelerar o metabolismo dos lipídios no organismo.

Considerando-se o exposto, a presente pesquisa foi conduzida com o objetivo de se desenvolver e caracterizar bebida láctea fermentada adicionada com *Camellia sinensis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Produção da bebida láctea fermentada

Para a produção da bebida láctea fermentada, foi empregado volume suficiente de leite bovino *in natura*, e adicionado açúcar cristal (10% p/v), submetido à filtração em coador de nylon, sendo pasteurizado a 65°C por 30 minutos. Volumes suficientes de soro foram obtidos pela coagulação enzimática de leite pasteurizado a 65°C por 30 minutos, resfriado a 37°C e adicionado de renina, com poder coagulante 1:10.000 (Chr-Hansen[®], Valinhos, São Paulo, Brasil). Após coagulação, procederam-se ao corte da massa, ao descanso, mexedura, prensagem e drenagem do soro, que foi filtrado com dessorador e armazenado a 4°C até o momento de seu uso.

Após pasteurização, o leite foi resfriado a 42°C, momento em que foi adicionado com cultivo láctico termofílico liofilizado, contendo *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Chr-Hansen[®], Valinhos, São Paulo, Brasil), em proporção de 1,5% (p/v). A mistura foi incubada a 42°C, com monitoramento da acidez titulável até que fossem atingidos, aproximadamente, 80°Dornic.

Concomitantemente à fermentação do leite, produziu-se a infusão de folhas desidratadas e picadas de *C. sinensis* no soro previamente obtido (1g.100g⁻¹). Para tal, o soro foi aquecido a 85°C, momento em que as folhas foram adicionadas e homogeneizadas, sendo assim, mantidas por 10 minutos. Posteriormente, a infusão foi coada para remoção dos resíduos vegetais. As folhas desidratadas e picadas de *C. sinensis* foram produzidas no município de Registro (latitude: 24° 29' 13".7 S; longitude: 47° 50' 17".4 O), Vale do Ribeira, São Paulo, no ano de 2012.

A infusão em soro de *C. sinensis* foi incorporada ao leite fermentado, paralelamente obtido, durante a quebra do gel, por agitação manual, e seu resfriamento a 12°C. Foram adicionadas proporções de 10, 20, 30 e 40% (v/p). Posteriormente, as formulações foram embaladas em recipientes de polietileno e armazenadas a 12°C por 18 horas para maturação.

Finalizado o processo, as embalagens foram resfriadas a 4°C e assim mantidas até o momento das análises de interesse (tempo inicial: 15 e 30 dias).

O tratamento controle consistiu em formulação padrão de iogurte, adicionado com sacarose 10% (p/p).

Análises físico-químicas

A acidez titulável foi obtida pela titulação de alíquotas de 10 gramas das amostras, homogeneizadas em 10mL de água destilada, com solução NaOH 0,1M (Brasil, 2008). A massa seca ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) foi obtida por diferença de umidade, a qual previamente obtida em estufa a 105°C (Brasil, 2008; AOAC, 2005). O teor de gordura foi determinado pelo método de Gerber ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) (Brasil, 2008). Proteína ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) foi determinada pelo método de semi-micro Kjeldahl, compreendendo as etapas de digestão, destilação e titulação, com solução padrão de ácido clorídrico $0,1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (Brasil, 2008; AOAC, 2005). O resíduo mineral fixo foi determinado por incineração de alíquotas em forno tipo mufla a 550°C até peso constante (BRASIL, 2008; AOAC, 2005).

Realizou-se a quantificação de sódio a partir de cinzas úmidas, empregando-se fotômetro de chama (Brasil, 2008; Cecchi, 2003). O equipamento foi calibrado com soluções padrão de sódio com concentrações de 40, 80 e 100ppm. O teor de sódio foi calculado pela fórmula: $\text{Na} = [(L-b)/a] \times (\text{Pf}/\text{Pi})$, sendo: L= leitura realizada pelo aparelho; b: constante 2,932; a: constante 1,028; Pf: peso da amostra no analisada no fotômetro; Pi: peso da amostra utilizada para a extração da cinza úmida.

Quantificação de bactérias lácticas

Procedeu-se à quantificação de bactérias lácticas totais após o plaqueamento de alíquotas de interesse em profundidade, com adição de sobrecamada, utilizando-se ágar MRS

(Himedia Laboratories, Mumbai, Índia). A incubação foi realizada em estufa BOD, com temperatura de 42°C por 48 horas. Os resultados foram expressos em log UFC.g⁻¹ (APHA, 2001).

Viscosidade

A viscosidade aparente das formulações foi obtida por uso de viscosímetro digital programável (Brookfield DVIII), utilizando-se sonda cilíndrica n°4 e velocidade de 50rpm durante 20 minutos. Para tal, as amostras foram mantidas em 10°C. O equipamento foi programado para realizar 17 medições de torque e viscosidade, com intervalo de tempo de 35,3 segundos para cada ponto de medição. Os resultados foram expressos em Centipoise (cP).

Atividade antioxidante total

A atividade antioxidante total das formulações foi determinada em função da reação de redução do radical livre 1,1-difenil-2-(2,4,6-trinitrofenil) hidrazila (DPPH), adaptado de Rufino et al. (2007). A obtenção do extrato para a aplicação deste método foi adaptada de Larrauri et al. (1997). Para a obtenção do extrato, 25g das amostras foram pesadas em béquer de 100 mL, adicionados de 40mL de metanol 50%, homogeneizados e mantidos em repouso por 60 minutos em temperatura ambiente. Centrifugou-se a 15.000 rpm por 15 minutos, sendo o sobrenadante transferido para um balão volumétrico de 100mL. Ao resíduo da primeira extração foram adicionados 40mL de acetona, 70%, homogeneizado e mantido em repouso por 60 minutos em temperatura ambiente. Realizou-se outra centrifugação a 15.000rpm, durante 15 minutos, sendo o sobrenadante transferido para balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante. Completou-se o volume de 100mL com água destilada. A solução de DPPH foi preparada, dissolvendo-se 2,4mg de DPPH em 100mL de metanol. Para a

determinação da atividade antioxidante total, alíquotas de 0,1mL do extrato, previamente obtido, foram transferidas em ambiente escuro para tubos contendo 3,9mL do radical DPPH 0,06mM. Branco consistiu na homogeneização de 0,1mL de solução controle (álcool metílico, acetona e água) com 3,9mL do radical DPPH. Utilizou-se álcool metílico, como branco, para calibração do espectrofotômetro. As leituras (515nm) foram monitoradas a cada minuto, observando-se a redução da absorbância até sua estabilização. Feitas as leituras, calculou-se a atividade antioxidante total pela fórmula: $AAT = (AbC - AbL) / AbC$, sendo: AbC: absorbância do controle; AbL: absorbância da amostra, sendo os resultados expressos em percentual de inibição da atividade da enzima DPPH (ATT%).

Análise sensorial

Testes de aceitação e intenção de compra foram realizados com 60 provadores não treinados, verbalmente recrutados. Amostras de 50g das formulações, em temperatura de aproximadamente 4°C, foram apresentadas aos provadores em cabines, de forma aleatória, servidas em copos plásticos descartáveis, codificados com números três dígitos. Dados foram coletados através do preenchimento das fichas para informar preferência, aceitação (cor, sabor, textura e impressão global: escala hedônica de 9 pontos ancorados aos extremos 'desgostei muitíssimo' e 'gostei muitíssimo') e intenção de compra (escala de 5 pontos ancorados nos extremos 'compraria sempre' a 'nunca compraria') (BRASIL, 2008).

Cromatografia

Procedeu-se à determinação de compostos voláteis, empregando-se cromatógrafo a gás Hewlett-Packard modelo 5890, acoplado a um espectrômetro de massa HP-MSD-5970. A separação foi feita em coluna de sílica fundida LM 5, de 30m e 0,25mm de diâmetro interno. As condições cromatográficas foram: gás de arraste He ultra puro, com velocidade linear de

32cm/seg; temperatura injetor, 250°C; temperatura detector, 280°C; fonte de impacto de elétrons, 70eV; injetor, split a uma razão de divisão de 1:20; volume injetado, 3µL. O analisador utilizado foi o quadrupolo e integrador HP 9133. Os compostos voláteis foram identificados por espectrometria de massas e índice de Kovats (PHEROBASE, 2012).

Delineamento experimental e análises estatísticas

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado arranjado em esquema fatorial 5x3x4 (formulação; tempo; repetição). Os dados gerados pelas análises para análises físico-químicas, microbiológicas, instrumental e atividade antioxidante total foram submetidos a análises de variância e regressão, utilizando-se o programa *Statistical Analysis System* (SAS, 2002).

A análise sensorial foi conduzida em blocos balanceados. Os dados gerados pelo teste de aceitação foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey, em probabilidade de 5%, utilizando-se o programa *Statistical Analysis System* (SAS, 2002). Dados pertinentes ao teste de intenção de compra foram expressos em percentual.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aceitação e intenção de compra

A aceitação e intenção de compra de formulações de bebida láctea fermentada elaborada com *C. sinensis* são apresentadas na Tabela 1.

TABELA 1 - Aceitação para aparência, sabor, textura e impressão global e intenção de compra de bebida láctea fermentada, formulada com *Camellia sinensis*.

%	Aceitação (escore: 0-10)				Intenção de compra (%)				
	A	S	T	IG	Se	Fr	Oc	R	NC
10	7,2 ^a	7,1 ^a	7,2 ^a	7,2 ^a	36,7	35	20	5	3,3
20	7 ^a	6,9 ^a	7 ^a	7,1 ^a	38,3	40	16,7	4	1
30	7 ^a	7,1 ^a	6,8 ^a	7 ^a	41,7	46,7	8,3	1,7	1,7
40	6,7 ^a	6,4 ^b	6,2 ^b	6,4 ^b	31,7	36,7	25	5	1,7

%CS: percentagem de *C.sinensis*; A: aparência; S: sabor; T: textura; IG: impressão global; Se: compraria sempre; Fr: compraria frequentemente; Oc: compraria ocasionalmente; R: compraria raramente; NC: nunca compraria. Médias em coluna seguidas por mesma letra não se diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey, em probabilidade de 5%.

A proporção adicionada de infusão de *C. sinensis*, em soro lácteo, não influenciou significativamente ($P > 0,05$) a aceitação do produto, no que se refere a sua aparência, entretanto, sabor, textura e impressão global foram significativamente influenciados ($P < 0,05$).

Com relação ao sabor, as formulações com 10, 20 e 30% de infusão foram as mais aceitas. Conforme manifestado por escrito pelos provadores, em suas fichas de avaliação, a formulação com 40% apresentou sabor forte e amargo. Além disto, alguns relatam, também, adstringência.

Conforme Rossetti et al. (2008), a adstringência oral como um fenômeno comumente associado a chás, decorrente da presença dos polifenóis, resulta da precipitação de proteínas presentes na saliva, responsáveis pela lubrificação da cavidade oral. Por esta razão, eleva-se o coeficiente de atrito entre os tecidos da boca, promovendo a sensação descrita por boca seca.

Neste contexto, o sabor amargo e a adstringência de infusões elaboradas com *C. sinensis*, podem ser associados ao elevado teor de polifenóis (catequinas), presentes nos mesmos.

Para a textura, as formulações contendo 10%, 20% e 30% de infusão apresentaram maior aceitação e a bebida láctea com 40% a menor. Conforme adiante discutido, quanto maior a quantidade de infusão adicionada menor a viscosidade do produto. Alguns avaliadores mencionaram que a bebida com 40% de infusão ‘estava rala’, e, assim, justificaram sua menor aceitação por sua textura. Conforme Caldeira et al. (2010), adições de soro, em menores proporções, permitem a obtenção de produtos com consistência mais semelhante ao iogurte, fato que pode contribuir a sua maior aceitação. Ainda segundo estes autores, a adição de maiores quantidades de soro pode, também, produzir efeitos indesejados nas bebidas lácteas, como a separação de fases. Para esta pesquisa, realizou-se análise sensorial no produto recém-fabricado e não foi observada separação de fases durante seu manuseio, fato que se justifica por não ter havido efeito significativo ($P > 0,05$) sobre a aparência.

Com relação à impressão global, os avaliadores demonstraram maior aceitação para as formulações contendo 10%, 20% e 30% de infusão de *C. sinensis*. Presume-se, pelo contexto anteriormente exposto, que os atributos sabor e textura influenciaram, sensivelmente, na aceitação global deste produto.

Independente do percentual de infusão adicionado, a maior proporção de avaliadores manifestou interesse em sempre comprar o produto, ou comprá-lo frequentemente. Entretanto, a formulação com 30% apresentou o maior percentual para estas intenções. Embora não tenha havido diferença significativa ($P > 0,05$) na aceitação do sabor, alguns avaliadores informaram, por escrito nas fichas, que as bebidas com 10% e 20% apresentaram sabor muito sutil e que na formulação com 30%, o sabor esteve mais bem definido. Todas as formulações recém-fabricadas, incluindo aquela com 40% de infusão adicionada, apresentaram baixa rejeição, sendo inferiores a 4% a proporção de indivíduos que manifestaram nunca comprar o produto.

Características físico-químicas e atividade antioxidante total

Na Tabela 2 são apresentados os resultados das determinações físico-químicas e atividade antioxidante total de formulações de bebida láctea fermentada com diferentes proporções de infusão de *C. sinensis*, em três períodos de armazenamento (tempo inicial, 15 e 30 dias), sob refrigeração (4°C).

TABELA 2 – Características físico-químicas e atividade antioxidante total de bebida láctea fermentada, formulada com *Camellia sinensis*, em três períodos de armazenamento (tempo inicial, 15 e 30 dias), refrigerado a 4°C.

Parâmetro	Tempo (dias)	% infusão <i>Camellia sinensis</i>					CV	R ²	Equação
		C	10	20	30	40			
Acidez	0	0,54	0,51	0,51	0,52	0,52	10	85	Y= 0,52100 + (0,00238*T ₂) + (0,00001667*T ²)
	15	0,59	0,55	0,55	0,56	0,54			
	30	0,63	0,57	0,61	0,61	0,61			
Proteína	0	4,25	3,84	3,55	3,52	3,27	7	82	Y= 4,26190-(0,03730*CS)+ (0,00035119*CS ²)
	15	4,30	3,97	3,60	3,57	3,32			
	30	4,27	3,97	3,57	3,60	3,27			
Gordura	0	3,2	2,7	2,4	1,4	1,0	14	88	Y= 3,40476-(0,07095*CS)+ (0,00035714*CS ²)
	15	3,0	2,6	2,2	1,4	0,8			
	30	3,0	2,6	2,3	1,1	0,9			
Sódio	0	5,57	5,64	5,40	5,30	5,45	2	90	Y= 5,58167-(0,00392*CS)- (0,00004167*CS ²)
	15	5,52	5,67	5,57	5,30	5,37			
	30	5,50	5,60	5,50	5,37	5,45			
ATT (%)	0	4,99	40,7	52,7	68,0	75,9	13	79	Y= 7,79716+(3,53347*CS)- (0,64487*T)- (0,04998*CS ²)+ 0,02628*T ²) - (0,02863*CS*T)
	15	4,88	40,7	48,6	43,5	42,9			
	30	4,85	39,9	40,4	46,8	44,0			
Massa seca	0	19,3	18,5	17,4	19,2	19,2	8		
	15	18,9	19,4	19,9	19,2	19,2			
	30	19,5	18,6	19,8	19,3	19,3			
Umidade	0	80,7	81,6	80,5	80,8	80,5	2		
	15	81,1	80,6	80,1	81,1	80,9			
	30	80,7	81,3	80,9	80,8	80,7			
RMF	0	0,67	0,69	0,65	0,68	0,68	5		
	15	0,67	0,63	0,66	0,66	0,67			
	30	0,69	0,70	0,66	0,64	0,68			

ATT: atividade antioxidante total; RMF: resíduo mineral fixo; C: Controle; CV: coeficiente de variação; R²: coeficiente de determinação.

Os teores de massa seca, de umidade e resíduo mineral fixo não se alteraram de forma significativa ($P>0,05$), seja em função da quantidade de infusão adicionada, seja em função do período de armazenamento avaliado. Entretanto, quanto maior a quantidade de infusão adicionada, significativamente menores ($P<0,05$) foram os quantitativos de proteína, gordura e sódio, o que pode ser entendido como a consequência de diluição.

Thamer e Penna (2006) descrevem a redução do teor de gordura e proteínas de bebidas lácteas como consequências da adição de maiores proporções de soro lácteo. Thamer e Penna (2006) observaram que, embora o soro apresente menor teor proteico, ainda assim, sua importância nutricional é indiscutível, sendo este fonte de β -lactoglobulina, α -lactoalbumina, soroalbumina, imunoglobulinas, proteose-peptonas, lactoferrina, transferrina, vitaminas hidrossolúveis (tiamina, riboflavina, ácido pantotênico, vitamina B6 e B12), minerais (cálcio, magnésio, zinco e fósforo) e lactose. Caldeira et al. (2010), relata redução significativa dos quantitativos de proteínas e lipídios, a medida em que se aumentou a concentração de soro adicionado em formulações de bebida láctea com leite bubalino, não observando, entretanto, alterações significativas sobre o teor de massa seca, umidade e resíduo mineral fixo.

Havendo interesse em se produzir este produto e necessidade técnica de se elevar e padronizar seu teor proteico, pode-se considerar o prévio enriquecimento de sólidos lácteos do leite a ser beneficiado.

Mesmo havendo a redução do teor de proteínas, há de se considerar que as formulações atenderam ao requisito oficial para este parâmetro, o qual prevê teor mínimo de $1,7\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de proteína láctea (Brasil, 2005).

A quantidade de infusão adicionada não afetou significativamente ($P>0,05$) a acidez das formulações, entretanto seus valores foram significativamente influenciados ($P<0,05$) pelo período de armazenamento do produto, fato descrito na literatura como pós-acidificação (Rocha et al., 2008; Vahedi et al., 2008). Sobre isto Kauser et al. (2011) e Zacarchenco e Massaguer-Roid (2004) relatam que, em lácteos fermentados, mesmo quando estocados sob condições de temperatura bacteriostáticas a micro-organismos termófilos, ainda assim, se observa atividade microbiana fermentativa, suficiente para alterar a acidez do produto ao longo de sua vida útil.

A atividade antioxidante total, avaliada como o percentual de inibição da atividade da enzima DPPH, foi significativamente maior ($P < 0,05$), quanto maior a quantidade de infusão adicionada, que se deve à maior inserção de constituintes de ocorrência natural da *C. sinensis* com capacidade para captação de radicais livres, com destaque a catequinas (Zhang et al., 2013). Morais et al. (2009) descrevem os flavonoides, a cafeína, catequina, epicatequina e epigallocatequina galato como principais bioativos do chá verde.

Observa-se que a atividade antioxidante das formulações com 10%, 20%, 30% e 40% de *C. sinensis* foram, em média, 8, 11, 14 e 15 vezes superiores, respectivamente, que aquela observada no controle.

Confrontando-se os resultados obtidos com dados publicados na literatura, observa-se que a atividade antioxidante da bebida láctea foi superior aos dados obtidos por Kodama et al. (2010), os quais obtiveram atividade antioxidante de 44% em amostras comerciais de chá verde. Chan et al. (2007), constataram atividade antioxidante de 85% em brotos de *Camellia sinensis* e o máximo de 44% em plantas adultas.

Houve redução significativa ($P < 0,05$) da atividade antioxidante das formulações de bebida láctea com *C. sinensis* ao longo do período de armazenamento. Este fato pode ser justificado pela degradação de moléculas e perda de bioatividade, bem como pela própria reação entre os componentes antioxidantes e radicais livres porventura formados no produto ao longo de sua vida útil, como oxigênio, hidroperóxidos, radicais alquila e peroxila.

Dentre os mecanismos de consumo de antioxidantes, Castelo-Branco e Torres (2011), mencionam a degradação auto-oxidação de lipídeos, que podem iniciar, espontaneamente, e ser acelerada por pró-oxidantes, como metais de transição, exposição à luz UV ou visível na presença de fotossensibilizador, em elevadas temperaturas ou concentrações de oxigênio.

Bactérias lácticas

Na Tabela 3 é apresentada a quantificação de bactérias lácticas em bebida láctea, fermentada, com diferentes proporções de infusão de *C. sinensis*, em três períodos de

armazenamento (tempo inicial, 15 e 30 dias), sob refrigeração (4°C).

TABELA 3 – quantificação de bactérias lácticas em bebida láctea fermentada, formulada com *Camellia sinensis*, em três períodos de armazenamento (tempo inicial, 15 e 30 dias), refrigerado a 4°C.

Parâmetro	Tempo (dias)	% infusão <i>Camellia sinensis</i>					CV
		C	10	20	30	40	
CBL	0	7,3	7,4	7,91	7,8	7,74	15
logUFC.g ⁻¹	15	7,47	7,3	7,85	7,9	7,62	
	30	7,85	7,69	7,9	7,6	7,6	

CBL: contagem total de bactérias lácticas; UFC: unidades formadoras de colônia; CV: coeficiente de variação.

A contagem total de bactérias lácticas não se alterou de forma significativa ($P>0,05$), seja em função da quantidade de infusão adicionada, seja em função do período de armazenamento pesquisado. Um dos principais parâmetros de qualidade de bebidas lácteas fermentadas consiste na sobrevivência e viabilidade de bactérias lácticas durante a vida útil do produto. Por esta razão, ao se pesquisar novos aditivos e ingredientes, deve-se avaliar a sua ação perante estes micro-organismos benéficos. Constatou-se, nas condições deste trabalho, que as concentrações de infusão de *C. sinensis* avaliadas não exerceram efeito deletério sobre a viabilidade destes micro-organismos. Todas as formulações estiveram conformes ao padrão oficial para bebidas lácteas (Brasil, 2005), que estabelece valor mínimo de 6 Log UFC.g⁻¹.

Viscosidade aparente

Na Tabela 4 é apresentada a viscosidade aparente de formulações de bebida láctea, fermentada com diferentes proporções de infusão de *C. sinensis*, em três períodos de armazenamento (tempo inicial, 15 e 30 dias), sob refrigeração (4°C).

TABELA 4 – Viscosidade aparente de bebida láctea fermentada, formulada com *Camellia sinensis*, em três períodos de armazenamento (tempo inicial, 15 e 30 dias), refrigerado a 4°C.

Parâmetro	Tempo (dias)	% infusão <i>Camelia sinensis</i>					CV	R ²	Equação
		C	10	20	30	40			
Viscos. aparente (cP)	0	2786	1069	1057	1003	980	18	87	Y= 2587,13324 - (129,13393*CS) + (2,29227*CS)
	15	2735	1063	1051	1012	986			
	30	2753	1055	1049	946	920			

Viscos.: viscosidade; cP: centipoise; C: controle; CV: coeficiente de variação. R²: coeficiente de determinação.

A viscosidade das formulações foi significativamente ($P < 0,05$) menor, quanto maior foram as proporções de infusão adicionadas, fato anteriormente mencionado como limitante a aceitação do produto com 40% de adição.

De acordo Seckin e Ozkilinc (2011) e Grygorczyk et al. (2013), a textura de lácteos fermentados é relevante, tanto para a sua caracterização, quanto para a sua aceitação pelo consumidor, sendo estes bastante sensíveis a ela. Neste contexto, Sandoval-Castilla et al. (2004) relatam que ao se desenvolver um novo produto, é de fundamental importância avaliar o efeito de processos e novos ingredientes sobre estes parâmetros.

A viscoelasticidade e plasticidade do gel de bebidas lácteas são sensivelmente afetadas por diversos fatores, dentre eles o tratamento térmico do leite, o qual promove a desnaturação de proteínas e, conseqüentemente, eleva a sua capacidade de retenção de água (Sandoval-Castilla et al., 2004; Damin et al., 2009). Além disto, a quantidade e o perfil hidrofílico/hidrofóbico dos ingredientes adicionados, o teor de proteína, gordura e a acidez são, também, determinantes para alterar a textura do produto (Hekmat e Reid, 2006; Coda et al., 2012). Como consequência da desestabilização do gel, são ocasionados defeitos, sendo os principais a sinérese excessiva, com formação de fase e surgimento de grânulos, e a baixa viscosidade.

Quanto maior a proporção de infusão adicionada, menores foram os teores de gordura e de proteína e, por fim, menor a viscosidade do produto. Por esta razão, a formulação com 40% de infusão, na qual houve menores teores destes constituintes, a menor viscosidade foi mencionada pelos provadores como um dos fatores para a sua menor aceitação.

Compostos voláteis

Na Tabela 5 são apresentados os compostos voláteis mais frequentes, em diferentes formulações de bebida láctea fermentada, elaborada com infusão de *C. sinensis*, recém-fabricada. Na Tabela 6 são apresentados compostos voláteis menos frequentes.

TABELA 5 – Compostos voláteis identificados em bebida láctea fermentada, formulada com infusão de *Camellia sinensis*, recém-fabricada.

Composto	TR	IK	% área			
			10	20	30	40
3-hidroxiбутанона (ou acetoina)	2,407	838	34,54	20,27	29,34	42,1
Propan-2-ona (ou acetona)	1,25	812	12,86	26,43	34,1	14,22
2,3-pentanodiona (ou acetil propionil)	2,204	834	9,1	8,3	4,9	7,13
2,3-butanodiona (ou diacetil)	1,51	818	3,9	5,26	2,6	4,6
2-heptanona	5,796	918	4,21	3,8	2,47	2,72
Ácido butanoico (ou ácido butírico)	3,433	862	2,64	1,15	2,73	2,81
Ácido hexanoico (ou ácido capróico)	8,652	988	2,53	1,53	1,73	1,35
Hidroxietano	1,185	811	1,95	2,13	2,56	2,94
Linalol	12,577	1090	0,31	0,52	0,82	1,65
2-metilpent-1-eno	1,94	828	0,61	0,83	0,45	0,87
Etanal (ou acetaldeído)	1,059	808	0,15	0,12	0,12	0,12
(3S,4S)-3,4-di(metoximetoxi) pirrolidina	1,12	810	0,13	0,17	0,18	0,17
2,3,4,4-tetrapropil-1-(trimetilsilil)-1-(trimetilsililox)-1,3-diaza-2,4-diborabutano	21,215	1334	0,19	0,23	0,12	0,10
Ácido acético	9,224	0,13	1,35	0,17	1,55	
1-metil-4-(1-metiletenil)ciclohexene	10,191	1027	0,9		0,87	1,58
Ácido benzenoacético	14,934	1154	0,69		0,61	0,53
1-butanol 3-metil	13,008	1101	0,31		0,24	0,14
3-fenilbutan-2-ol	5,201	0,09	0,12	0,68		0,09

TR: tempo de retenção; IK: índice de Kovats; % área: percentagem da área do gráfico.

TABELA 6 – Compostos voláteis, identificados em bebida láctea fermentada, formulada com infusão de *camellia sinensis* recém-fabricada.

Composto	TR	IK	% área			
			10	20	30	40
Butiraldeído	1,596	819	2,16			
Ciclotrisiloxano hexametil	4,102	877	0,45			
Etanol 2-(2-ciclohexen-1-ylidene)-acetato-2-(ciclohex-2-enilideno) etilenoato	4,806	899	0,30			
Hexahidro-3-hidroxi-1H-azepin-2-ona	3,785	869	0,95	0,35		
Etenilacetato	1,528	822	4,26	6,06		
1-hexanol	5,4	904	0,28	0,46		
3,4-dihidrothieno-(3,4-B)-5-carboxithiofeno	1,636	821	3,33		1,31	
1-hidroxihexano	2,175	828	0,64		0,23	
2-(metoximetil)oxirona	3,936	872	0,66		0,74	
(Diisopropilfosfino)-N,N-dimetilmetanamina	1,318	814		1,1		
Butan-2-ona	1,555	820		2,8		
Ácido propanóico	2,105	832		0,23		
Éter metil-D3-1-dideutério-2-propenil	2,309	839		1,65		
1-butanol 2,3-epoxi-, trans-	3,884	873		0,46		
6,7-diazabicyclo[3,2,2,]nona-3,6-diene	5,207	904		0,55		
Etil hexanoato	9,259	1003		1,37		
Terpinil acetato	10,198	1027		0,7		
Ácido benzóico	4,067	877		0,39	0,26	
Pentan-2-ona	2,12	833		0,24		0,47
Metil laurato	5,004	899			0,41	
1,2-dimetil-benzeno	5,199	904			0,98	
1-propanol 3-metoxi	1,56	819			1,3	4,6
3-pentanol	3,743	869			0,71	1,03
Propilciclopropano	5,245	905			0,14	0,37
3-pentanona 2,2,4,4-tetrametil	2,101	832				0,21
1-nonaldeído	3,677	868				0,09
1-metoxiacetona	3,893	872				0,74
Dodecahidro-6H-pirido[1,2-b]isoquinolin-6-ona	4,062	877				0,18
1-propen-2-ol	5,005	899				0,17
Ácido 1H-pirrole-3-propanóico	9,223	1003				0,13

TR: tempo de retenção; IK: índice de Kovats; % área: percentagem da área do gráfico.

A combinação de compostos voláteis, principalmente daqueles presentes em maior quantidade, contribui à determinação do flavour característico de um alimento (De Maria et al. 1999; Moreira et al. 2000). Os compostos voláteis, associados ao sabor e ao aroma de bebidas lácteas, podem estar naturalmente presentes no leite, serem formados durante a sua fermentação e pela posterior atividade microbiana, bem como agregados ao produto por adição de ingredientes, como a infusão de *C. sinensis*.

Os compostos 3-hidroxiбутан-2-eno (ou acetoina); propano-2-ona (ou acetona); 2,3-pentadiona (ou acetil propionil); 2,3-butanodiona (ou diacetil); 2-heptanona; ácido butanoico (ou ácido butírico); ácido hexanoico (ou ácido capróico); hidroxietano; e linalol estiveram, majoritariamente, presentes nas formulações de bebida láctea fermentada, elaborada com *C. sinensis* e, por esta razão, talvez sejam os que mais se destacam na formação de seu flavour.

Resultados de pesquisas demonstram a ocorrência de alguns compostos identificados neste trabalho, tanto no leite quanto em diferentes tipos de lácteos, principalmente naqueles obtidos por fermentação (MACCIOLA et al., 2008; CODA et al., 2012; CHAMMAS et al., 2006; JANDAL, 1996). Observa-se, inclusive, semelhança entre a percentagem de área de alguns compostos desta pesquisa e de outras.

Licón et al. (2012), relatam a associação do flavour de queijo produzido com leite de ovelha à ocorrência de 2,3-pentanodiona; propanol; 2-butanona; nonanal; acetona; e benzeno. Servili et al. (2011), descrevem a 2-pentanona e 2-heptanona como importantes compostos formadores do aroma em bebidas lácteas fermentadas, sendo a sua formação atribuída a β -oxidação de ácidos graxos saturados livres e descarboxilação de ácidos ceto-beta. Magalhães et al. (2011) mencionam a ocorrência dos álcoois superiores 3-metil-1-butanol; 1-hexanol; e 1-propanol como formadores de flavour em kefir, produzido com soro lácteo. Gran et al. (2003), relatam a ocorrência de etanal e ácido acético em Amsi, produto obtido pela fermentação espontânea do leite cru, típico do Zimbábue. Estes autores informam que estes compostos são naturalmente formados durante a fermentação do soro do leite. Gallardo-Escamilla et al. (2007) mencionam a ocorrência de acetaldeído; etanol; acetona; butadieno; acetoina; e 2-furfural em produto elaborado a partir da fermentação do soro do leite bovino.

Zhang et al., 2013, descrevem a acetoina como um dos principais componentes do leite e lácteos.

Conforme Monnet e Corrieu (2007), algumas espécies de *Streptococcus thermophilus* sintetizam as enzimas acetohidóxi ácido sintetase e α -acetolactato sintetase as quais envolvidas na formação de 2,3-pentanodiona e 2,3-butanodiona, a partir do piruvato, sendo estes compostos naturalmente encontrados em leites fermentados.

Pelo referencial exposto, observa-se a utilização de infusão de *C. sinensis* para a obtenção do produto, o que não descaracterizou o perfil de voláteis típico de lácteos e de bebida láctea fermentada.

Dentre os demais compostos identificados nesta pesquisa, a atenção deve ser dada ao linalol (álcool monoterpeneo), tendo em vista os relatos de sua ocorrência e associação ao flavour do chá verde, produzido pela infusão de *C. sinensis* (MACHADO et al., 2007).

Kato e Shibamoto (2001), em pesquisa sobre a ocorrência de voláteis majoritários em chás preparados com *C. sinensis*, identificaram hexanal; 1-pentan-3-ol; heptanal; 1-pentanal; (Z)-2-pentan-1-ol; (Z)-3-hexan-1-ol; linalol; e geraniol, dos quais relatam a correlação entre a quantidade de linalol e 2-hexenol sobre o flavour do chá verde. Nesta pesquisa, o linalol foi identificado em todas as formulações de bebida láctea, configurando dentre o grupo de elementos majoritários. Em algumas formulações foi identificado 1-hexanol e o 3-pentanol.

Pelas informações da literatura, ainda escassas, pressupõe-se que o linalol tenha sido o principal composto responsável por conferir o flavour de *C. sinensis* neste produto, sendo observada, inclusive, tendência de aumento na percentagem de área deste composto na medida em que maior foi a proporção de infusão adicionada.

Considerações finais

Pesquisas têm demonstrado diversos benefícios no consumo regular de infusão de *C. sinensis* os quais se traduzem por sua atividade antioxidante perante radicais livres, na redução do percentual de gordura corporal, na inibição de lipases pancreáticas, na redução do

colesterol total e de ácidos graxos livres no plasma sanguíneo e estimulação da termogênese (Nelson-Dooley et al., 2000; Chantre e Lairon, 2002; Wu et al., 2003; Ashida et al., 2004; Khan & Mukhtar, 2007). Por esta razão, ao se considerar a versatilidade das bebidas lácteas fermentadas em veicular componentes naturais da *C. sinensis*, com destaque a catequinas, oferece-se ao indivíduo mais uma alternativa para a ingestão destes constituintes benéficos. Ao setor produtivo, oferece-se oportunidade de agregação de valor, inovação e o atendimento dos crescentes segmentos de mercados demandadores de alimentos funcionais. Ao produto, veiculador de micro-organismos probióticos, agrega-se mais fatores de funcionalidade, o que pode estender o seu ciclo de vida.

CONCLUSÃO

O teor de massa seca, a umidade, resíduo mineral fixo e contagem total de bactérias lácticas de formulações de bebida láctea fermentada não foram afetados pela quantidade de infusão de *C. sinensis* adicionada, entretanto, o conteúdo de proteína, gordura e sódio foram menores, quanto maior a percentagem de infusão incorporada ao produto. Houve redução na viscosidade aparente do produto mediante o aumento da quantidade de infusão adicionada.

A atividade antioxidante total das formulações foi maior, quanto maior a quantidade de infusão adicionada.

A formulação de bebida láctea fermentada, com adição de 30% de infusão de *C. sinensis* em soro lácteo, foi a mais bem avaliada em testes sensoriais, com maior aceitação e maior intenção de consumo.

A utilização de infusão de *C. sinensis*, para a obtenção do produto, não descaracterizou o perfil de voláteis típico de lácteos e de bebida láctea fermentada. Pressupõe-se que o linalol tenha sido o principal composto responsável por conferir o flavour de *C. sinensis* neste produto, sendo observada, inclusive, tendência de aumento na percentagem de área deste composto na medida em que maior foi a proporção de infusão adicionada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 18th. Gaithersburg, 2005.

APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th. Washington, 2001.

ASHIDA, H.; FURUYASHIKI, T.; NAGAYASU, H.; BESSHO, H.; SAKAKIBARA, H.; HASHIMOTO, T.. Anti-obesity actions of green tea: possible involvements in modulation of the glucose uptake system and suppression of the adipogenesis-related transcription factors. **Biofactors**. v.22, p.135-140, 2004.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa nº16, **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea**, 23 de Agosto de 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Regulamento Técnico para Café, Cevada, Chá, Erva-mate e Produtos Solúveis**. Resolução RDC nº 277, de 22 de Setembro de 2005.

BRASIL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4thed. 1th edição digital. São Paulo: IMESP, 2008. Disponível em: <<http://www.ial.sp.gov.br>>. Acessado em: 23 ab. 2011.

CALDEIRA, L. A.; FERRÃO, S. P. B.; FERNANDES, S. A. A.; MAGNAVITA, A. P. A.; SANTOS, T. D. R. Desenvolvimento de bebida láctea sabor morango utilizando diferentes níveis de iogurte e soro lácteo obtidos com leite de búfala. **Ciencia Rural**, v.40, n.10, p.2193-2198, 2010.

CASTELO-BRANCO, V. N.; TORRES, A. G. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Revista de Nutrição**, v.24, p.173-187, 2011.

CECCHI, H. M. **Fundamentos Teóricos E Práticos em Análise de Alimentos** Ed. UNICAMP. 2 ed. P. 54-55. 2003.

CHAMMAS, G.I.; SALIBA, R.; CORRIEU, G.; BÉAL, C. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from fermented milk “laban”. **International Journal of Food Microbiology**, v.110, p.52-61, 2006.

CHAN, E. W. C.; LIM, Y. Y.; CHEW, Y. L. Antioxidant activity of *Camellia sinensis* leaves and tea from a lowland plantation in Malaysia. **Food Chemistry**, v. 102, p. 1214-1222, 2007.

CHANTRE, P.; LAIRON, D. Recent findings of green tea extract AR25 (Exolise) and its activity for the treatment of obesity. **Phytomedicine**, v.9, p.3-8, 2002.

CODA, R.; LANERA, A.; TRANI, A.; GOBBETTI, M.; CAGNO, R. Yogurt-like beverages made of a mixture of cereals, soy and grape must: Microbiology, texture, nutritional and sensory properties. **International Journal of Food Microbiology**, v.155, p. 120–127, 2012.

DAMIN, M.R.; ALCÂNTARA, M.R.; NUNES, A.P.; OLIVEIRA, M.N. Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v. 42, p. 1744–1750, 2009.

DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C. Componentes Voláteis do Café Torrado Parte I. Compostos Heterocíclicos. Revisão. **Química Nova**, v. 22, p. 209-217, 1999.

FERREIRA, C. L. L. F. **Acidez em Leites e Produtos Lácteos: Aspectos Fundamentais**, Viçosa: UFV, 1999, 26 p.

GALLARDO-ESCAMILLA, F.J.; KELLY, A.L.; DELAHUNTY, C.M. **Mouthfeel and flavour of fermented whey with added hydrocolloids**. **International Dairy Journal**, v.17, p.308-315, 2007.

GRAN, H.M.; GADAGA, H.T.; NARVHUS, J.A. Utilization of various starter cultures in the production of Amasi, a Zimbabwean naturally fermented raw milk product. **International Journal of Food Microbiology**, v.88, p.19-28, 2003.

GRYGORCZYK, A.; LESSCHAEVE, I; CORREDIG, M.; DUIZER, L. Extraction of consumer texture preferences for yogurt: Comparison of the preferred attribute elicitation method to conventional profiling. **Food Quality and Preference**, v. 27, p. 215–222, 2013.

HASSANAIN, E.; SILVERBERG, J. I.; Kevin B. NOROWITZ, K. B.; CHICE, S.; BLUTH, M. H.; BRODY, N.; JOKS, R.; DURKIN, H. G.; SMITH-NOROWITZ, T. A. Green Tea (*Camellia sinensis*) Suppresses B Cell Production of IgE Without Inducing Apoptosis. **Annals of Clinical & Laboratory Science**, v. 40, p. 135-143, 2010.

HEKMAT, S.; REID, G. Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. **Nutrition Research**, v. 26, p. 163–166, 2006.

JANDAL, J.M. Studies on dried fermented dairy products prepared from sheep milk. **Small Ruminant Research**, v.21, p.217-220, 1996.

KAUSER, S., SAEED, A., KALIM, I. et al. Studies on the development and nutritional evaluation of apricot based yoghurt. **Pakistan Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 44, p. 156-159. 2011.

KATO, M.; SHIBAMOTO, T. Variation of major volatile constituents in various green teas from southeast asia. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.1394-1396, 2001.

KHAN, N.; MUKHTAR, H. Tea polyphenols for health promotion. **Life Science**. v.81, p.519-533, 2007.

KODAMA, D. H., GONÇALVES, A. E. S. S., LAJOLO, F. M., GENOVESE, M. I., Flavonoids, total phenolics and antioxidant capacity: comparison between commercial green tea preparations. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 1077-1082, 2010.

LARRAURI, J.A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 45, p. 1390-1393, 1997.

LICÓN, C.C.; MENDOZA, J.H.; MAGGI, L.; BERRUGA, M.I.; ARANDA, R.M.M.; CARMONA, M. Optimization of headspace sorptive extraction for the analysis of volatiles in pressed ewes' milk cheese. **International Dairy Journal**, v.23, p.53-61, 2012.

LIMA, J. M.; MAZZAFERA, P.; MORAES, W. S.; SILVA, R. B. Chá: aspectos relacionados à qualidade e perspectivas. **Ciência Rural**, v.39, p.1270-1278, 2009.

MACCIOLA, V.; CANDELA, G.; DE LEONARDIS, A. Rapid gas-chromatographic method for the determination of diacetyl in milk, fermented milk and butter. **Food Control**, v.19, p.873-878, 2008.

MACHADO, C. C. B.; BASTOS, D. H. M.; JANZANTTI, N. S.; FACANALI, R.; MARQUES, M. O. M.; FRANCO, M. R. B. Determinação do Perfil de Compostos Voláteis e Avaliação do Sabor e Aroma de Bebidas Produzidas a Partir da Erva-Mate (*Ilex Paraguariensis*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 513-518, 2007.

MAGALHÃES, K.T.; DRAGONE, G.; PEREIRA, G.V.M.; OLIVEIRA, J.M.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J.A.; ALMEIDA E SILVA, J.B.; SCHWAN, R.F. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. **Food Chemistry**, v.126, p.249-253, 2011.

MCKAY, D.L.; BLUMBERG, J.B. The role of tea in human health: an update. **Journal of the American College of Nutrition**, v.21, p 1-13, 2002.

MONNET, C.; CORRIEU, G. Selection and properties of alpha-acetolactate decarboxylase-deficient spontaneous mutants of *Streptococcus thermophilus*. **Food Microbiology**, v. 24, p. 601-606, 2007.

MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E. S. B.; COSTA, S. M. O.; AGUIAR, L. A.. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, p. 315-320, 2009.

MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C.; DE MARIA, C. A. B. Componentes Voláteis do Café Torrado. Parte II. Compostos Alifáticos, Alicíclicos e Aromáticos. **Química Nova**, v. 23, p. 195-203, 2000.

MOSQUIM, M.C.A.V. **Propriedades Funcionais do soro de queijo**. IN: Encontro Digital de Tecnologia de Laticínios, Viçosa, MG, 3, 1996.

NELSON-DOOLEY, C.; DELLA-FERA, M.A.; HAMRICK, M.; BAILE, C.A. Novel treatments for obesity and osteoporosis: targeting apoptotic pathways in adipocytes. **Current Medical Chemistry**, v.12, p.2215-2225, 2005.

PENNA, A. L. B.; THAMER, K. G. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, p. 393-400, 2005.

PHEROBASE. **Pherobase Database of Insect Pheromones and Semiochemicals**. Disponível em: [[http://: pherobase.com](http://pherobase.com)]. Acesso em: 12/09/2012

RATHORE, K.; CHOUDHARY, S.; ODOI, A.; WANG, H. C. R. Green tea catechin intervention of reactive oxygen species-mediated ERK pathway activation and chronically induced breast cell carcinogenesis. **Carcinogenesis**, v. 33, n. 1, p.174–183, 2012

ROCHA, C.; COBUCCI, R.M.A.; MAITAN, V.R.; SILVA, O.C. Elaboração e avaliação de iogurte sabor frutos do cerrado. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 26, p. 255-266, 2008.

Rossetti, D.; Yakubov, G. E.; Stokes, J. R.; Williamson, A. M.; Fuller, G. G. Interaction of human whole saliva and astringent dietary compounds investigated by interfacial shear rheology. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 1068–1078, 2008.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH**.

Comunicado Técnico Online 127. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Fortaleza, Ceará. Julho 2007.

SANDOVAL-CASTILLAA, O.; LOBATO-CALLEROSA, C.; AGUIRRE-MANDUJANO, E.; VERNON-CARTERB, E.J. Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers. **International Dairy Journal**, v.14, p. 151–159, 2004.

SASAZUKI, S.; TAMAKOSHI, A.; MATSUO, K.; ITO, H.; WAKAI, K.; NAGATA, C.; MIZOUE, T. TANAKA, K.; TSUJI, I.; INOUE, M.; TSUGANE, S. Green Tea Consumption and Gastric Cancer Risk: An Evaluation Based on a Systematic Review of Epidemiologic Evidence Among the Japanese Population. **Japanese Journal of Clinical Oncology**, v. 42, p. 335-346, 2012.

SECKIN, A.K.; OZKILINE, A.Y. Effect of some prebiotics usage on quality properties of concentrated yoghurt. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 10, p. 1117-1123, 2011.

SERVILI, M.; RIZZELLO, C.G.; TATICCHI, A.; ESPOSTO, S.; URBANI, S.; MAZZACANE, F.; DI MAIO, I.; SELVAGGINI, R.; GOBBETTI, M.; DI CAGNO, R. Functional milk beverage fortified with phenolic compounds extracted from olive vegetation water, and fermented with functional lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v.147, p.45-52, 2011.

SAS Institute (2002) SAS/STAT® user's guide: **version 6**. 4ed. Cary, NC.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, n. 3, p. 589-595, 2006.

VAHEDI, N.; TEHRANI, M.M., SHAHIDI, F. Optimizing of fruit yoghurt formulation and evaluating its quality during Storage. **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science**, v. 3, p. 922-927, 2008.

Zacarchenco PB, Massaguer-Roig S. . Avaliação sensorial, microbiológica e de pós-acidificação durante a vida de prateleira de leites fermentados contendo *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus acidophilus* . **Ciencia e Tecnologia de Alimentos** v.24, p. 674–679, 2004

ZHANG, Y.; LI, S.; LIU, L.; WU, J. Acetoin production enhanced by manipulating carbon flux in a newly isolated *Bacillus amyloliquefaciens*. **Bioresource Technology**, v.130, p.256-260, 2013.

WU, C.H.; LU, F.H.; CHANG, C.S.; CHANG, T.C.; WANG, R.H.; CHANG, C.J. Relationship among habitual tea consumption, percent body fat, and body fat distribution. **Obesity Research**, v.11, p.1088-1095, 2003.

WU, S. Y.; SILVERBERG, J. I.; JOKS, R.; DURKIN, H. G.; SMITH-NOROWITZ, T. A. Green Tea (*Camelia Sinensis*) Mediated Suppression of IgE Production By Peripheral Blood Mononuclear Cells of Allergic Asthmatic Humans. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 76, p. 306-310, 2012.

ANEXO

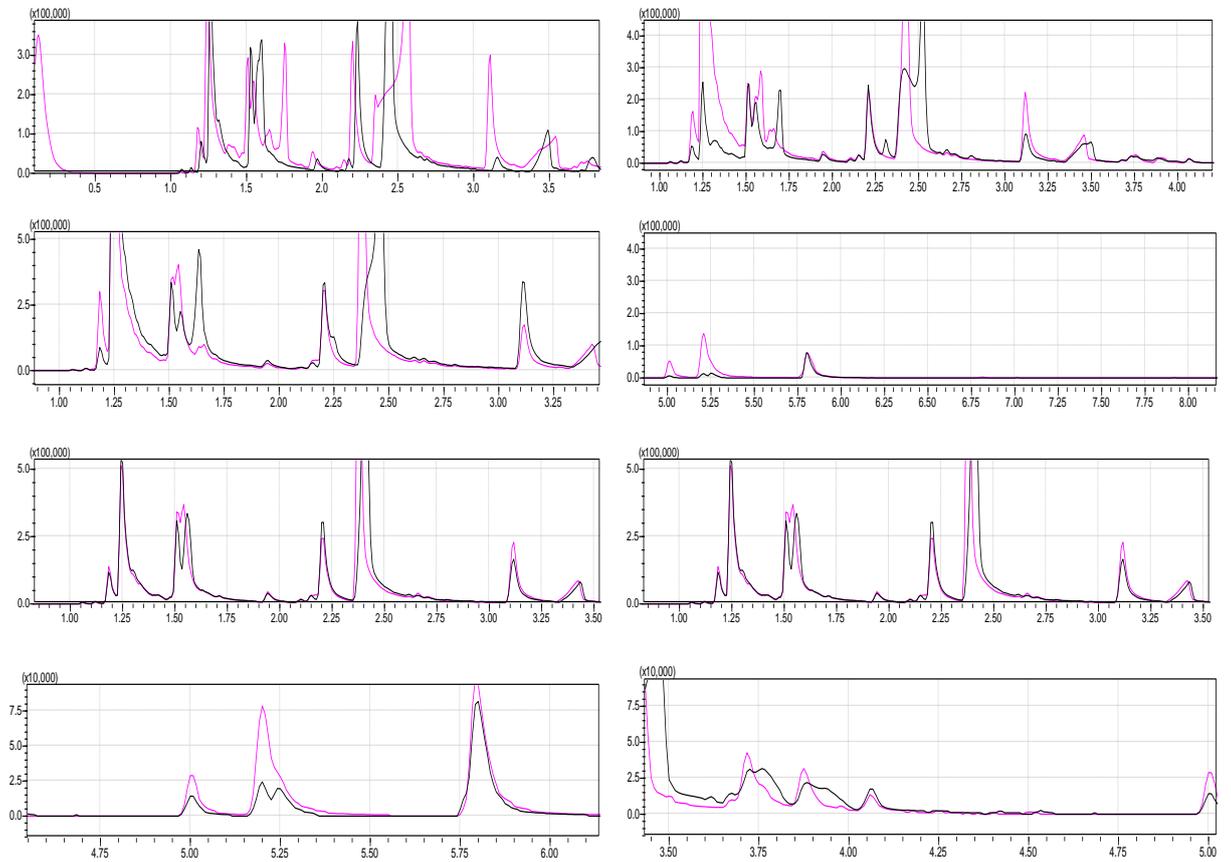


Figura 1 – Cromatogramas de compostos voláteis, presentes em bebida lactea fermentada, formulada com *Camelia sinensis*.