

UFRRJ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DISSERTAÇÃO

**Processamento de Bebida à base de Soro de Queijo Minas
Frescal e Uva por Alta Pressão Hidrostática**

Ana Carolina Nunes de Moraes

2015



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS**

**PROCESSAMENTO DE BEBIDA À BASE DE SORO DE QUEIJO
MINAS FRESCAL E UVA POR ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA**

ANA CAROLINA NUNES DE MORAIS

Sob a Orientação de
Amauri Rosenthal

e Co-orientação de
Elisa Helena da Rocha Ferreira

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos

Seropédica, RJ
Junho de 2015

664
M827p
T

Morais, Ana Carolina Nunes de, 1988-
Processamento de bebida à base de soro
de queijo minas frescal e uva por alta
pressão hidrostática / Ana Carolina Nunes
de Moraes. - 2015.
98 f.: il.

Orientador: Amauri Rosenthal.

Dissertação (mestrado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos, 2015.

Bibliografia: f. 78-95.

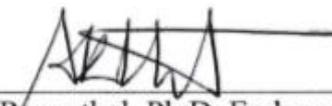
1. Tecnologia de alimentos - Teses. 2.
Queijo-de-minas - Teses. 3. Soro de leite -
Teses. 4. Bebidas - Conservação - Teses. 5.
Bebidas - Análise - Teses. 6. Polpa de
frutas - Teses. I. Rosenthal, Amauri,
1960- II. Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos. III.
Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

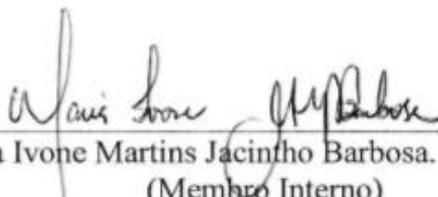
ANA CAROLINA NUNES DE MORAIS

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Ciência de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 16 / 06 / 2015



Amauri Rosenthal, Ph.D. Embrapa CTAA
(Orientador)



Maria Ivone Martins Jacintho Barbosa, Dr^a. UFRRJ
(Membro Interno)



Karina Maria Olbrich dos Santos, Dr^a. Embrapa CTAA
(Membro Externo)

*Dedico este trabalho às pessoas mais importantes da minha vida:
À minha mãe Janete Nunes de Moraes (**in memorian**) e à minha avó
Lêda de Carvalho Nunes (**in memorian**), com muito amor, gratidão e
saudades, tendo a certeza de que de onde estão, comemoram comigo a
conclusão de mais esta etapa.*

*Ao meu pai Luiz Carlos de Moraes, com muito carinho, respeito e
admiração, agradecendo por sempre me incentivar a seguir adiante,
encarando de frente as batalhas da vida.*

Amo vocês!

Tudo passa...

*Todas as coisas na Terra passam.
Os dias de dificuldade passarão...
Passarão, também, os dias de amargura e solidão.*

*As dores e as lágrimas passarão.
As frustrações que nos fazem chorar... um dia passarão.*

A saudade do ser querido que está longe, passará.

*Os dias de tristeza...
Dias de felicidade...
São lições necessárias que, na Terra, passam, deixando no espírito imortal
as experiências acumuladas.*

*Se, hoje, para nós, é um desses dias,
repleto de amargura, paremos um instante.
Elevemos o pensamento ao Alto
e busquemos a voz suave da Mãe amorosa,
a nos dizer carinhosamente: 'isto também passará'*

*E guardemos a certeza pelas próprias dificuldades já superadas que não há mal que dure
para sempre,
semelhante à enorme embarcação que, às vezes, parece que vai soçobrar diante das
turbulências de gigantescas ondas.*

*Mas isso também passará porque Jesus está no leme dessa Nau
e segue com o olhar sereno de quem guarda a certeza de que a
agitação faz parte do roteiro evolutivo da Humanidade
e que um dia também passará.*

*Ele sabe que a Terra chegará a porto seguro
porque essa é a sua destinação.*

*Assim, façamos a nossa parte o melhor que pudermos,
sem esmorecimento e confiemos em Deus,
aproveitando cada segundo, cada minuto que, por certo, também passará.*

*Tudo passa...
exceto Deus.
Deus é o suficiente!*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), minha querida segunda casa, por ter me "recebido" mais uma vez, agora na Pós-Graduação.

À Embrapa Agroindústria de Alimentos, pela concessão de suas dependências e apoio técnico para a execução deste trabalho.

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

Ao Professor Amauri Rosenthal, por ter me acolhido desde o início de maneira tão afetuosa e ter aceitado me orientar. Obrigada por esta oportunidade de aprendizado e crescimento profissional; pelo constante incentivo, pela confiança e credibilidade e por ser tão humano.

À Professora Elisa Helena Rocha, por ter aceitado ser minha co-orientadora, e assim me incentivado a seguir em frente, sendo sempre otimista e acreditando que no final tudo daria certo! Obrigada pela confiança e incentivo.

À Professora Rosires Deliza, pelo valioso auxílio nas etapas de análise sensorial do experimento. Foi uma honra poder compartilhar dos seus conhecimentos. Agradeço pela disponibilidade, presteza, apoio e incentivo.

Aos demais docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelos conhecimentos transmitidos.

À banca examinadora pela disponibilidade e sugestões.

À Julia Hauck, a quem "fica até difícil agradecer", por tanto que me ajudou. Obrigada pela paciência, pelos ensinamentos teóricos e práticos, pelas conversas, pelas caronas, pela dedicação e sobretudo, amizade. O Mestrado não seria o mesmo "sem ti".

Aos colegas de orientação, Fernando Morais, Thayrine Rodrigues e Marcio Andrade, pela amizade, pelas conversas, e pela ajuda imprescindível. Agradeço por terem se dedicado às atividades deste experimento como se fossem as dos seus próprios projetos. Foi um prazer trabalhar em equipe junto a vocês.

A Otávio Cabral, pelas conversas, apoio e por muitas vezes ter facilitado (e muito!) a minha vida com as caronas até Itaguaí.

À Dra. Caroline Mellinger, ao Dr. André Dutra e ao Dr. Eduardo Miranda pelas ideias e contribuição para o desenvolvimento deste projeto.

À Cooperativa Boa Nova® e ao Sr. Silas, por disponibilizarem o leite, matéria-prima deste experimento, sempre que solicitados.

Ao Sr. Hildomar Vicente, pelas viagens da Embrapa até a CADEG em busca da polpa de uva a ser utilizada neste experimento.

Aos funcionários das Plantas I e II, Agnelli, William, "Chorão" e "Filé" pela ajuda durante os processamentos e ao "Já É" por toda simpatia e ajuda durante ou após os processamentos.

Aos estagiários das Plantas I e II, pela agradável convivência, conversas, almoços em equipe e auxílio nas análises. Em especial às queridas Náatali, Jéssica, Luana, Bianca e Luci e a Leilson e André, por terem me permitido acompanhar suas atividades e me orientado no que necessário.

A todos os funcionários e estagiários do Laboratório de Análise Sensorial, em especial Claudinha, Zé Carlos, Fernanda, Felipe, Raquel, Mayara, Carol Claudio e Louise. Muito obrigada por sempre me receberem tão bem e me auxiliarem na condução dos testes sensoriais.

Aos funcionários e estagiários dos Laboratórios de Microbiologia de Alimentos, Laboratório de Físico-Química e de Minerais da Embrapa Agroindústria de Alimentos pelo apoio técnico para a execução das análises.

À Dina Rodrigues, pelo valiosíssimo auxílio na realização das análises na Rural.

Ao Jhony Willian Vargas, pelo auxílio na análise estatística.

Aos funcionários e estagiários da Embrapa Agroindústria de Alimentos e Embrapa Agrobiologia, que participaram como consumidores nos testes sensoriais.

À Professora Valéria Moura, do Instituto de Veterinária da UFRRJ, por ter concedido um espaço em sua Disciplina para que eu realizasse o Estágio em Docência. Obrigada pela experiência inspiradora.

Aos colegas de turma, pela ótima convivência e por terem dividido esta oportunidade de aprendizado.

Aos meus avós Juciel (*in memorian*) e Lêda (*in memorian*), Paulo (*in memorian*) e Sílvia por sempre terem me incentivado a estudar e oferecido a mim as oportunidades que não tiveram. Aos meus tios e primos, em especial à minha tia Maria de Lourdes, primas Marlou e Fernanda e madrinha Maria Emília, pelo apoio e força que transmitiram a mim e aos meus pais ao longo dos últimos meses.

A todos os amigos - Aline, Güínever, George, Robertinho, Márcia, Priscila, Jaque, Natália, Renata, Vivian Gonzalez, Simone, Naíra, Lívia, Thamires, "Dona" Regina e amigos do Instituto "Jorge Vaitsman", pela amizade e apoio. Em especial, à Danielle Regis, grande amiga e "fiel escudeira". Obrigada por dividir comigo os "dramas" da vida acadêmica desde 2006, as alegrias e tristezas do dia-a-dia e acima de tudo por ter me permitido saber o que é ter uma irmã.

De forma mais do que especial, aos meus amados pais Janete (*in memorian*) e Luiz Carlos e à minha querida avó Lêda (*in memorian*). Jamais conseguiria agradecer a vocês por tudo o que fizeram por mim. Ser filha e neta de vocês é um privilégio e motivo de orgulho. Obrigada por sempre estarem presentes e nunca terem medido esforços para me educar e por terem me oferecido muitas das oportunidades que não tiveram. Pela dedicação, incentivo, apoio, confiança, proteção, preocupação e acima de tudo pelo AMOR que sempre nos uniu e continua nos unindo, porque ele é ETERNO!

Ao meu querido "cãopanheiro" Nego, que com apenas um olhar é capaz de mudar meu estado de espírito e assim tornar meus dias mais doces.

Àqueles que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse até aqui, com uma atitude, um incentivo ou uma oração, e que porventura eu tenha esquecido de citar.

E acima de tudo, a Deus, por me abençoar com cada uma destas pessoas e oportunidades e por me conceder forças e entendimento para seguir em frente, o meu MUITO OBRIGADA!

RESUMO

MORAIS, Ana Carolina Nunes de. **Processamento de bebida à base de soro de queijo Minas frescal e uva por Alta Pressão Hidrostática**. 2015. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

O soro de queijo é um resíduo proveniente da indústria queijeira utilizado por vários segmentos da indústria alimentícia graças às suas características nutricionais, versatilidade e baixo custo. A formulação de bebidas contendo soro é uma das principais estratégias de aproveitamento deste material. O tratamento térmico comumente é utilizado como método de conservação de alimentos, no entanto, o processamento por Alta Pressão Hidrostática (APH) é capaz de inativar microrganismos e enzimas responsáveis pela deterioração, além de manter atributos sensoriais e nutricionais, uma vez que não há emprego de calor, produzindo assim alimentos com alta qualidade. O objetivo do presente estudo foi desenvolver uma bebida não fermentada à base de soro de queijo Minas frescal e polpa de uva e investigar os efeitos da APH na conservação do produto. O trabalho foi realizado na Embrapa Agroindústria de Alimentos (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). A proporção de soro e uva e a doçura ideal foram determinadas através de testes sensoriais preliminares utilizando a escala hedônica e a escala do ideal. A bebida foi processada utilizando diferentes níveis de pressão e tempos de retenção, seguindo delineamento do tipo composto central. Foram realizadas análises físico-químicas (pH, acidez total, sólidos solúveis e turbidez), microbiológicas (para coliformes a 45°C e a 35°C, aeróbios mesófilos, fungos filamentosos e leveduras e *Salmonella* spp.), teor de fenólicos totais e de antocianinas, capacidade antioxidante e cor instrumental. As características sensoriais das bebidas pressurizada, pasteurizada e da comercial foram avaliadas através da escala hedônica e da metodologia *check-all-that-apply* (CATA). Os dados foram analisados através da Análise de Variância (ANOVA), teste de médias de Tukey, Análise Múltipla de Fatores (AMF) e Teste Q de Cochran, utilizando os *softwares* Statistica® e XLSAT®. De acordo com os testes sensoriais, a bebida com 70% de soro, 30% de polpa de uva, 4,3% de sacarose e pH igual a 3,8 foi considerada ideal. O processamento da bebida por APH manteve a condição higiênico-sanitária adequada e não houve efeito negativo no teor de fenólicos, antocianinas e na capacidade antioxidante. Não houve diferença significativa no pH e embora a APH tenha influenciado a acidez e o teor de sólidos solúveis, os resultados foram muito próximos aos da amostra não processada. A tecnologia interferiu na turbidez das amostras, bem como na cor. A aceitação da bebida pressurizada foi inferior ($p < 0,05$) à amostra comercial que também apresentou média intermediária na escala hedônica de nove pontos. O questionário CATA foi uma importante ferramenta para identificar as características sensoriais que dirigiram a preferência e, desse modo, contribuir nos estudos futuros.

Palavras-chave: Alta Pressão Hidrostática, aproveitamento de resíduos, bebida de soro e uva

ABSTRACT

MORAIS, Ana Carolina Nunes de. **High pressure processing of *Minas frescal* cheese whey-grape juice beverage**. 2015. 98 f. Dissertation (Master in Food Science and Technology). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

Whey is a waste product from cheese production, used by various segments of the food industry due to its nutritional characteristics, versatility and low cost. The use of whey in beverage formulations is one of the major strategies to use this material. Heat treatment is commonly used as a food preservation method; however, High Hydrostatic Pressure (HHP) processing can be an alternative, because it is capable of inactivating deteriorating microorganisms and enzymes, while maintaining the sensory and nutritional attributes. Since heat is not used, food products with higher quality can be obtained. The aim of this study was to develop a nonfermented beverage using *Minas frescal* cheese whey and grape juice and to investigate the effects of HHP on the conservation of this product. The study was conducted at Embrapa Food Technology (Rio de Janeiro, RJ, Brazil). Whey and juice ratio and the ideal sweetness were determined by primary sensory tests using hedonic scale and the “just about right scale”. The beverage was processed using different pressure levels and holding times, following a Central Composite Design. Physicochemical (pH, total acidity, soluble solids and turbidity) and microbiological analyses were performed (coliforms at 45 ° C and at 35 ° C, mesophilic aerobic, yeasts and moulds and *Salmonella* spp.) as well as total phenolic content and anthocyanins, antioxidant activity and instrumental color analysis. Sensory characteristics of the pressurized, pasteurized and one commercial beverages were evaluated using hedonic scale and check-all-that-apply methodology (CATA). Data were analyzed by Analysis of Variance (ANOVA), Tukey's tests, Multiple Factor Analysis (MFA) and Cochran's Q test using Statistica® and XLSAT® softwares. According to sensory tests, the formulation with 70% of whey, 30% of grape juice, 4.3% of sucrose and pH 3.8 was considered ideal. HHP was effective in inactivating the initial contamination of the beverage. There were no significant negative effects on the phenolic content, anthocyanins and antioxidant activity. There was no significant difference in pH and although HHP processing influenced the acidity and the soluble solids content, the results were very close to the not processed sample. The technology increased turbidity and influenced the color of the samples. The acceptance of the pressurized beverage was lower than the commercial one ($p < 0,05$), which presented intermediate score in the 9-point hedonic scale. CATA questions were an important approach to identify drivers of liking and to indicate directions for further research.

Keywords: High hydrostatic pressure, waste management, whey-grape juice beverage

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1	Comparação entre a composição nutricional de leite e soro de leite bovino 10
Tabela 2	Composição centesimal de soro doce e soro ácido 10
Tabela 3	Intervalos de estudo para as variáveis experimentais com os limites inferiores e superiores de pressão (MPa) e tempo (min) 38
Tabela 4	Delineamento experimental para o processamento por APH 38
Tabela 5	Intervalos de estudo para as variáveis experimentais com os limites inferiores e superiores de teor de açúcar (%) e pH 43
Tabela 6	Delineamento experimental para o teste de aceitação sensorial 43
Tabela 7	Amostras avaliadas no teste de aceitação e CATA com a formulação final pasteurizada (PAS), pressurizada (APH) e bebida comercial 45
Tabela 8	Composição centesimal e caracterização físico-química de soro de queijo Minas frescal <i>in natura</i> 46
Tabela 9	Composição em minerais do soro de queijo Minas frescal <i>in natura</i> 48
Tabela 10	Caracterização microbiológica de soro de queijo Minas frescal <i>in natura</i> 49
Tabela 11	Composição centesimal e caracterização físico-química de polpa de uva <i>in natura</i> 50
Tabela 12	Composição em minerais da polpa de uva <i>in natura</i> 51
Tabela 13	Caracterização microbiológica de polpa de uva <i>in natura</i> 51
Tabela 14	Caracterização da polpa de uva quanto ao teor de compostos bioativos 52
Tabela 15	Composição centesimal e em minerais das bebidas experimental e comercial de soro e uva 53
Tabela 16	Caracterização físico-química das amostras de bebida de soro e uva 54
Tabela 17	Caracterização quanto à turbidez das amostras de bebida de soro e uva 55
Tabela 18	Avaliação das variáveis do DCCR para a turbidez da bebida de soro e uva 55
Tabela 19	Caracterização microbiológica das amostras de bebida de soro e uva 58
Tabela 20	Caracterização quanto ao teor de fenólicos das amostras de bebida de soro e uva 59
Tabela 21	Avaliação das variáveis do planejamento fatorial para teor de fenólicos da bebida de soro e uva 59
Tabela 22	Caracterização quanto ao teor de antocianinas das amostras de bebida de soro e uva 61
Tabela 23	Caracterização quanto à capacidade antioxidante das amostras de bebida de soro e uva 63
Tabela 24	Avaliação das variáveis do DCCR para a capacidade antioxidante da bebida de soro e uva 64
Tabela 25	Caracterização quanto aos parâmetros de cor das amostras de bebida de soro e uva 65
Tabela 26	Médias da aceitação [§] das bebidas de soro e uva 66
Tabela 27	Efeito das variáveis dependentes e interação na aceitação sensorial da bebida de soro e uva 67
Tabela 28	Média de aceitação [§] global e desvio-padrão (entre parênteses) das bebidas de soro e uva elaboradas com diferentes teores de açúcar (pH 3,8) 68

Tabela 29	Número de consumidores que utilizaram os termos do questionário CATA para a descrição sensorial das seis bebidas de soro e uva e da bebida ideal	70
Tabela 30	Média de aceitação ^s global e desvio-padrão (entre parênteses) das bebidas de soro e uva processadas e comercial	73
Tabela 31	Número de consumidores que utilizaram os termos do questionário CATA para a descrição sensorial das três bebidas de soro e uva processadas (PAS: pasteurizada; APH: pressurizada e C: comercial) e da bebida ideal	74

LISTA DE QUADROS

		Página
Quadro 1	Efeitos da APH sobre características físico-químicas de produtos lácteos e produtos de frutas e vegetais	26
Quadro 2	Efeitos da APH sobre a capacidade antioxidante em produtos de frutas ou vegetais	27
Quadro 3	Análises microbiológicas realizadas na matéria-prima e na bebida	37

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Fluxograma de fabricação de queijo Minas frescal (SILVA, 2005).	6
Figura 2	Principais países e categorias de alimentos envolvidos no lançamento de novos produtos à base de soro no ano de 2008 (adaptado de 3A BUSINESS CONSULTING, 2009).	11
Figura 3	Níveis para agregar valor ao soro de queijo utilizados pela indústria e algumas aplicabilidades (adaptado de 3A BUSINESS CONSULTING, 2009).	12
Figura 4	Percentual de equipamentos de APH em relação a diferentes segmentos da indústria de alimentos (PURROY, 2013).	17
Figura 5	Gráfico que explicita as variáveis que condicionam o processamento por APH, onde P_1 : pressão ambiente; P_4 : pressão final; T_1 : temperatura antes do processo; T_2 : temperatura máxima do processo; T_4 : temperatura final (adaptado de BALASUBRAMANIAM et al., 2004).	18
Figura 6	Alterações em L^* para diferentes produtos após o processamento de APH (adaptado de BARBA et al. 2012a).	29
Figura 7	Etapas para a fabricação de queijo Minas frescal e obtenção de soro. Seleção do leite (A); Aquecimento do leite (B); Adição do coalho (C); Ponto de corte da coalhada (D); Corte da coalhada com as liras (E); Aspecto dos grãos (F); Enformagem (G); Dessora dos queijos (H); Obtenção do soro (I).	34
Figura 8	Fluxograma de obtenção e processamento da bebida de soro e uva.	35
Figura 9	Equipamento de APH <i>Stansted Fluid Power</i> .	40
Figura 10	Bebida de soro e uva em sacos de polietileno antes da pressurização.	40
Figura 11	Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) em função de tempo e pressão para a turbidez da bebida de soro e uva.	56
Figura 12	Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) em função de pressão e tempo para o teor de fenólicos na bebida de soro e uva.	60
Figura 13	Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) em função de pressão e tempo para a capacidade antioxidante na bebida de soro e uva.	64
Figura 14	Determinação da doçura ideal para a formulação de bebida de soro e uva.	68
Figura 15	Termos sensoriais e hedônicos utilizados para descrever as amostras nas duas primeiras dimensões da AMF da contagem do CATA considerando a tabela de contingência com os resultados das seis amostras (a) Representação gráfica dos termos e (b) representação das seis bebidas de soro e uva.	71
Figura 16	Termos sensoriais e hedônicos utilizados para descrever as amostras nas duas primeiras dimensões da AMF da contagem do CATA considerando a tabela de contingência com os resultados das seis amostras e as menções do CATA para a bebida ideal. (a) Representação gráfica dos termos e (b) representação das seis bebidas de soro e uva.	72

LISTA DE SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
Abs	Absorbância
ABTS	2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
Am	Antocianinas Monoméricas
AMF	Análise Múltipla de Fatores
ANOVA	Análise de Variância
AOAC	The Association of Analytical Communities
AOCS	American Oil Chemists' Society
APH	Alta Pressão Hidrostática
AusAID	Agência Australiana para o Desenvolvimento Internacional
BSA	Albumina de Soro Bovino
CADEG	Centro de Abastecimento do Estado da Guanabara (Mercado Municipal do Rio de Janeiro)
CATA	<i>Check-All-That-Aply</i>
DBO	Demanda Biológica de Oxigênio
DCCR	Delineamento Composto Central Rotacional
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DO	Densidade Ótica
DPPH	Radical Scavenging Assay
DQO	Demanda Química de Oxigênio
DTAs	Doenças Transmitidas por Alimentos
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa-CTAA	Embrapa Agroindústria de Alimentos
FAO	<i>Food Agriculture Organization</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FD	Fator de Diluição
FRAP	Ferric-Reducing Antioxidant Power
JAR	<i>Just About Right Scale</i>
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MSR	Metodologia de Superfície de Resposta
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
pH	Potencial hidrogeniônico
PM	Peso Molecular
RIISPOA	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
UFC	Unidade Formadora de Colônia
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo Geral	3
2.2 Objetivos Específicos.....	3
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3.1 Indústria de Laticínios e Geração de Resíduos.....	4
3.1.1 Produção de leite e derivados lácteos no Brasil e no mundo	4
3.1.2 Produção e consumo de queijos no Brasil e no mundo	5
3.1.3 Geração e aproveitamento de resíduos agroindustriais	6
3.1.4 Geração de soro de queijo	7
3.1.5 Aplicações do soro de queijo na indústria.....	9
3.2 Frutas e Compostos Bioativos	14
3.3 Alta Pressão Hidrostática (APH)	15
3.3.1 A produção de alimentos por APH.....	15
3.3.2 Histórico e princípios da APH.....	16
3.3.3 Avanços do processamento de alimentos por APH.....	19
3.3.4 Efeitos da APH sobre constituintes do soro de queijo.....	21
3.3.5 Efeitos da APH sobre segurança microbiológica de produtos lácteos e produtos de frutas e vegetais	22
3.3.6 Efeitos da APH sobre características físico-químicas de produtos lácteos e produtos de frutas e vegetais	26
3.3.7 Efeitos da APH sobre compostos bioativos de produtos lácteos e produtos de frutas e vegetais	27
3.3.8 Efeitos da APH sobre a cor de produtos lácteos e produtos de frutas e vegetais	28
3.4 Análise Sensorial na Inovação de Alimentos.....	30
3.5 Planejamento Experimental	31
4 MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 Material	33
4.2 Métodos	33
4.2.1 Obtenção do soro	33
4.2.2 Obtenção de bebida de soro e uva	34
4.2.3 Determinação da composição centesimal e análise de minerais	35

4.2.4 Determinações físico-químicas.....	36
4.2.5 Análise microbiológica.....	37
4.2.6 Planejamento experimental.....	37
4.2.7 Processamento térmico e por APH.....	39
4.2.8 Quantificação de fenólicos totais.....	40
4.2.9 Determinação de antocianinas pelo método do pH diferencial	41
4.2.10 Determinação da capacidade antioxidante	42
4.2.11 Análise instrumental de cor	42
4.2.12 Análise sensorial.....	42
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1 Caracterização da Matéria-Prima	46
5.1.1 Caracterização do soro de queijo Minas frescal	46
5.1.2 Caracterização da polpa de uva	49
5.1.3 Caracterização centesimal e em minerais da bebida de soro e uva	52
5.2 Efeitos da Alta Pressão Hidrostática (APH) nas Características de Qualidade e Segurança da Bebida de Soro e Uva	53
5.2.1 Efeitos da APH sobre características físico-químicas da bebida de soro e uva	53
5.2.2 Efeitos da APH sobre características microbiológicas da bebida de soro e uva	57
5.2.3 Efeitos da APH sobre o teor de fenólicos totais da bebida de soro e uva	58
5.2.4 Efeitos da APH sobre o teor de antocianinas da bebida de soro e uva.....	61
5.2.5 Efeitos da APH sobre a capacidade antioxidante da bebida de soro e uva	63
5.2.6 Efeitos da APH sobre a cor da bebida de soro e uva.....	65
5.3 Análise Sensorial.....	66
5.3.1 Primeira etapa - Testes sensoriais preliminares.....	66
5.3.2 Segunda etapa - Teste de aceitação, determinação da doçura ideal e caracterização sensorial de bebidas com diferentes teores de açúcar	68
5.3.3 Terceira etapa - Teste de aceitação e caracterização sensorial de bebidas processadas ..	72
6 CONCLUSÃO.....	76
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
8 APÊNDICE	96

1 INTRODUÇÃO

Ao longo das últimas décadas, a questão ambiental transformou-se em uma das principais preocupações da sociedade, graças a mudanças de valores éticos e ideológicos. Organizações governamentais e não governamentais, bem como a população em geral, têm se mostrado cada vez mais conscientes quanto aos danos que atividades econômicas não sustentáveis podem ocasionar ao meio ambiente. Por este motivo, têm crescido os esforços para o aproveitamento de resíduos oriundos da atividade agroindustrial.

A indústria de laticínios é responsável pela geração de resíduos sólidos, líquidos e emissões atmosféricas passíveis de impactar o meio ambiente, com destaque para o soro de queijo. Este subproduto tem recebido atenção tanto por sua disponibilidade e oferecimento a baixo custo, quanto pela capacidade poluente, se descartado sem o tratamento adequado. Durante muito tempo, o soro foi destinado somente à alimentação animal ou à produção de derivados de baixo valor, como a ricota. Hoje, graças ao conhecimento sobre sua composição nutricional, o soro tem sido também utilizado na fabricação de diversas categorias de gêneros alimentícios.

O interesse por alimentos saudáveis, nutritivos e de grande aproveitamento tem crescido mundialmente, o que resulta em diversos estudos na área de produtos lácteos. Há uma crescente parcela da população preocupada em adquirir alimentos que possam não somente suprir requerimentos nutricionais básicos, como também trazer benefícios adicionais à saúde. O uso de alimentos como veículo de promoção do bem-estar e saúde e, ao mesmo tempo, como redutor de riscos de algumas doenças, tem incentivado as pesquisas de novos componentes naturais, possibilitando a inovação e a criação de novos nichos de mercado. Por este motivo, vários estudos buscam desenvolver produtos enriquecidos com o soro, com o intuito de facilitar e expandir seu consumo por grandes grupos populacionais.

Ainda no sentido de suprir tal demanda, a indústria de laticínios têm investido em produtos com frutas. As frutas atuam como flavorizantes, melhorando os atributos sensoriais, favorecendo a aceitação mercadológica e o aporte de nutrientes às bases lácteas tradicionais. Além disso, agregam características bioativas aos alimentos, devido à presença principalmente de vitaminas e minerais, carotenoides e compostos fenólicos.

Outra tendência é o desenvolvimento de alimentos que mantenham características sensoriais semelhantes às do alimento fresco, pois esta tem sido uma exigência frequente do consumidor. O processamento convencional de alimentos comumente emprega calor, que pode ocasionar a deterioração de compostos responsáveis pela cor e sabor ou a perda de valor nutricional, o que pode comprometer a qualidade. Dentre as tecnologias de conservação alternativas ao processamento térmico está a Alta Pressão Hidrostática (APH). A APH é um processo não térmico capaz de inativar microrganismos patogênicos e deteriorantes, assim como ativar e inativar enzimas, minimizando a perda de qualidade em termos nutricionais e sensoriais, frequentemente verificada em processos térmicos. Este método pode ser utilizado para aumentar a vida útil garantindo a segurança microbiológica dos alimentos, por permitir a inativação de microrganismos e enzimas indesejáveis sem afetar, significativamente, o teor de compostos responsáveis pela qualidade sensorial e nutricional do produto. A alta pressão tem sido aplicada a diferentes setores da indústria alimentícia, destacando-se produtos de frutas, produtos cárneos e refeições prontas com diferentes ingredientes.

As inovações na indústria de alimentos são frequentemente destinadas a desenvolver produtos de substituição importantes, seguindo novas demandas, sejam elas nutricionais ou

regulatórias. Os novos produtos podem ser obtidos através de inovações na engenharia de processos, na formulação de alimentos ou nas necessidades do consumidor. O presente estudo surge como uma oportunidade de reunir algumas destas demandas: desenvolver uma bebida não fermentada à base de soro de queijo Minas frescal e fruta e processá-la por uma tecnologia não convencional, visando a conversão de um subproduto em produto de maior valor agregado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Desenvolver bebida não fermentada de soro de queijo Minas frescal e polpa de uva e estudar comparativamente os efeitos da pasteurização térmica e da Alta Pressão Hidrostática (APH) sobre características físico-químicas, microbiológicas, sensoriais, além de determinar os efeitos do tratamento sobre compostos bioativos e capacidade antioxidante do produto.

2.2 Objetivos Específicos

- Obter soro de queijo a partir da fabricação de queijo Minas frescal;
- Determinar a composição centesimal, características físico-químicas e microbiológicas do soro de queijo Minas frescal;
- Determinar a composição centesimal, características físico-químicas e microbiológicas, capacidade antioxidante e teor de compostos bioativos (antocianinas e compostos fenólicos totais) da polpa de uva;
- Formular uma bebida à base de soro de queijo Minas frescal e polpa de uva;
- Determinar o teor de açúcar e o pH ideal do produto formulado;
- Submeter o produto pronto a dois processamentos de conservação: pasteurização térmica e Alta Pressão Hidrostática (APH);
- Estudar os efeitos dos processamentos sobre as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais do produto;
- Estudar os efeitos dos processamentos sobre compostos bioativos (antocianinas e compostos fenólicos totais) e capacidade antioxidante do produto.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Indústria de Laticínios e Geração de Resíduos

3.1.1 Produção de leite e derivados lácteos no Brasil e no mundo

A produção mundial de leite e derivados lácteos tem aumentado progressivamente. Segundo a *Food Agriculture Organization* (FAO), houve aumento da produção em mais de 50,0% ao longo das últimas três décadas, partindo de 482 milhões de toneladas de leite em 1982 para 754 milhões de toneladas do produto em 2012. Um dos fatores que influenciou no aumento da produtividade foi a ampliação da participação dos países em desenvolvimento no mercado mundial de lácteos, que é resultante principalmente do aumento da produtividade dos rebanhos visando atender um mercado consumidor em expansão. O Brasil ocupa a quinta posição no *ranking* dos principais produtores mundiais de leite, perdendo apenas para a Índia, os Estados Unidos, a China e o Paquistão (FAO, 2015a).

Em 2013, a produção leiteira no país foi de 35 bilhões de litros, sendo 35% a mais que os 26 bilhões contabilizados em 2007, e a expectativa era que em 2014 a produção aumentaria em 5%, podendo alcançar 36,75 bilhões de litros em um ano (MILKPOINT, 2014).

O consumo *per capita* de leite e derivados ainda é maior nos países desenvolvidos. Segundo levantamento do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), o consumo *per capita* anual brasileiro é de 172,6 litros, enquanto o recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) é de 200 litros por ano (PRODUÇÃO, 2014). No entanto, esta diferença tende a diminuir. A demanda por tais produtos (principalmente os derivados) nos países em desenvolvimento tem crescido com o aumento da renda da população, urbanização e mudanças nos hábitos alimentares (FAO, 2015b). Por este motivo, as indústrias de laticínios de todo o mundo têm passado por mudanças que as têm forçado a reconsiderar suas estratégias de mercado. O principal desafio é enfrentar a procura por derivados lácteos, cuja demanda mundial é crescente e superior ao suprimento de leite para as indústrias (KNIPS, 2005).

No Brasil, especificamente, a atividade leiteira ainda é bastante heterogênea com relação às técnicas de produção, ao rebanho e aos tipos de produtores. A atividade se iniciou no país com características extrativistas e hoje ocupa posição de destaque no cenário econômico nacional, sendo um dos principais itens do agronegócio. Em 2008, o país produziu 27,5 bilhões de litros de leite, gerando renda de R\$ 17 bilhões, o que correspondeu a 10% do valor gerado pela agropecuária brasileira e 76% do valor gerado pela pecuária (SIQUEIRA et al., 2010). No entanto, nos anos seguintes, o comportamento da balança comercial de lácteos modificou-se e as importações aumentaram consideravelmente por causa do aumento do consumo de lácteos no país (EMBRAPA GADO DE LEITE, 2013). Ainda assim, as projeções de maior crescimento envolvendo a produção de lácteos continuam favoráveis. Segundo o MAPA (BRASIL, 2013a), o leite é considerado um dos produtos que apresenta elevada possibilidade de crescimento até os anos de 2022/2023. Hoje, o leite está entre os seis produtos agropecuários mais importantes da economia brasileira e a atividade leiteira está presente em cerca de 1,3 milhões de propriedades no país, concentrando-se principalmente em pequenas propriedades rurais (BARBOSA et al., 2012).

Com uma produção constante de leite e maiores investimentos, estima-se que a indústria de laticínios brasileira também se beneficie progressivamente. Atualmente, existem

mais de 1500 estabelecimentos de captação de leite e produção de derivados lácteos. Dentre os principais derivados, estão doces, manteigas, bebidas lácteas fermentadas e não fermentadas, iogurtes e queijos (SIQUEIRA et al., 2010).

3.1.2 Produção e consumo de queijos no Brasil e no mundo

Queijo é o nome genérico dado a um grupo de alimentos à base de leite, com grande diversidade de sabor, textura e formas. Trata-se de um concentrado lácteo constituído de proteínas, lipídeos, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas. De acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA),

entende-se por queijo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado) ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, enzimas específicas de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes (BRASIL, 1952).

A fabricação de queijos é uma forma de conservar o leite transformando-o em um produto mais estável e palatável, cujas qualidades são mantidas, podendo ser padronizados ou adaptados de acordo com as necessidades do produto (SANGALETTI, 2007). Os queijos estão entre os derivados lácteos de maior relevância a nível mundial. A União Europeia domina sua produção e consumo, seguida pelos Estados Unidos (CARVALHO et al., 2013).

No Brasil, a produção de leite associada à alta aceitação do consumidor por derivados lácteos, possibilitou o desenvolvimento de diversos tipos de queijos (BARBOSA et al., 2010). De acordo com o *United States Department of Agriculture* (USDA), 670.000 toneladas de queijos foram produzidas no Brasil em 2011, com estimativas do país ter produzido 700.000 toneladas deste produto em 2012 (SIQUEIRA, 2013). Em 2013, os queijos registraram boa performance em termos de vendas, tendo sua comercialização sido responsável pela movimentação de R\$ 16,6 bilhões no país. Este crescimento está relacionado ao aumento do poder aquisitivo da população e ao conhecimento dos benefícios que determinados tipos de alimentos podem trazer à saúde (EUROMONITOR, 2014).

O consumo de queijos, que em 2008 era de 3,5 kg *per capita*, passou a 4,66 kg *per capita* em 2013, o que está abaixo do consumo mínimo recomendado pela FAO, que é de 9,0 kg *per capita* (USDA, 2013). Os queijos fabricados em maior quantidade no Brasil são a muçarela, o prato e o requeijão, seguidos pelo Minas frescal e *petit suisse* (CARTA LEITE, 2010). O queijo Minas frescal, é um dos queijos mais populares e genuinamente brasileiro. Sua fabricação se iniciou no século XVII, em Minas Gerais, em regiões onde o gado de leite era predominante e se expandiu para todos os estados (SANGALETTI, 2007). Hoje, a produção concentra-se principalmente em pequenas e médias propriedades das regiões Sul e Sudeste (MILKPOINT, 2013).

O queijo Minas frescal é o queijo fresco obtido por coagulação enzimática do leite bovino pasteurizado com coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com ação de bactérias lácticas específicas (BRASIL, 1952). É classificado como semi-gordo (25 a 44% de gordura no extrato seco), de muito alta umidade ($\geq 55\%$), a ser consumido fresco, de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. Pode ainda ser apresentado em formato cilíndrico, pesando de 0,3 a 5,0 kg (BRASIL, 1997; BRASIL, 2004).

A tecnologia de fabricação de queijo Minas frescal é considerada relativamente simples, uma vez que são utilizados equipamentos tradicionais no processo. Além disso, o custo de produção é menor, pois não há a necessidade de maturação; por isso, o produtor recebe rápido retorno no investimento realizado (MAGENIS et al., 2014).

Atualmente, o queijo Minas frescal é produzido industrialmente por três processos: pelo método tradicional, que consiste na adição de cultura lática, pela adição direta de ácido láctico e, mais recentemente pelo método de ultrafiltração, que aumenta o rendimento dos queijos a partir da concentração das gorduras e da proteína (CARVALHO et al., 2007). De forma geral, a fabricação deste queijo compreende as etapas sintetizadas na Figura 1.

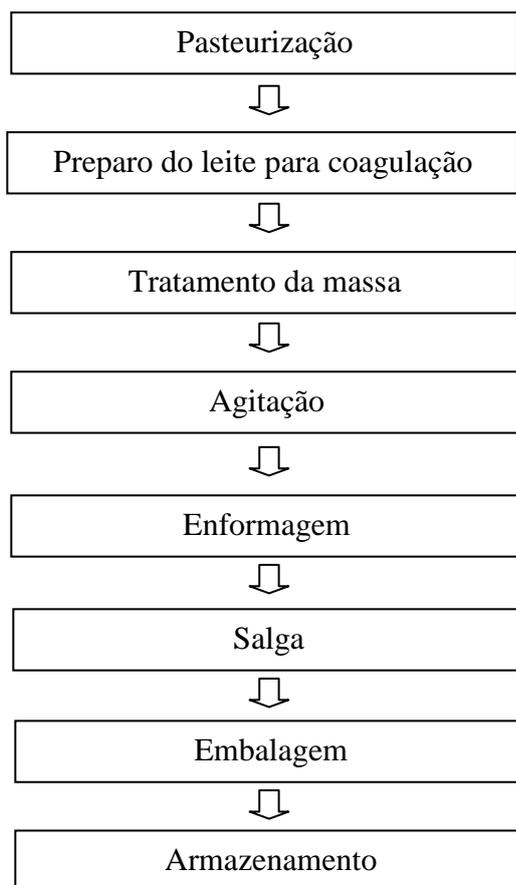


Figura 1. Fluxograma de fabricação de queijo Minas frescal (SILVA, 2005).

3.1.3 Geração e aproveitamento de resíduos agroindustriais

O termo "resíduo" se refere a todo material descartado nas cadeias de produção e consumo que, por limitações tecnológicas ou mercadológicas, não apresenta valor de uso ou de mercado e, quando manejado de forma incorreta, pode resultar em impactos negativos ao ambiente (SUCASAS, 2011). A geração de resíduos é inerente a qualquer processo produtivo. No entanto, as atividades industriais são as maiores responsáveis pela produção de resíduos e pelo comprometimento do ambiente, através da exploração de recursos e da falta de tecnologia adequada, ignorando o impacto ambiental e a escassez de recursos (LIMONGI et al., 2013).

Durante muito tempo, os resíduos industriais foram dispostos em aterros sanitários ou utilizados sem qualquer tipo de tratamento na alimentação de animais ou na produção de

adubo. Com o aumento da demanda da população por produtos industrializados, houve também o aumento de produção de resíduos, pois a taxa de geração passou a ser maior que a taxa de degradação (SUCASAS, 2011). Hoje existe maior consciência da sociedade com relação aos efeitos que a exploração industrial desordenada, aliada ao descarte indiscriminado de resíduos, pode causar ao ambiente. Assim, vários segmentos do mercado tem se mobilizado para cobrar ao setor produtivo uma postura mais responsável, que preze pelo desenvolvimento sustentável (PELIZER et al., 2007; SUCASAS, 2011; LIMONGI et al., 2013).

Por parte das indústrias, ainda poucas são aquelas que se preocupam efetivamente quanto ao destino correto dos resíduos (SERPA et al., 2009). No entanto, constantes atualizações têm sido realizadas na legislação brasileira, referentes a resíduos e ao meio ambiente, tornando-a mais rígida neste aspecto. Além da preocupação com as questões legais, os empresários consideram a poluição um desperdício e o investimento no meio ambiente uma estratégia para atrair o consumidor preocupado com a aquisição de alimentos de qualidade, provenientes de cadeias produtivas ambientalmente corretas, socialmente justas e economicamente viáveis (SUCASAS, 2011).

Dentro do setor industrial, vale destacar a representatividade das atividades agropecuárias sobre o meio ambiente. As indústrias de beneficiamento de carne, pescado e leite são responsáveis pela poluição de solos, águas superficiais e subterrâneas. Atualmente, têm sido buscadas estratégias para o aproveitamento do material residual proveniente destas indústrias para cumprir a prerrogativa do desenvolvimento sustentável (SUCASAS, 2011).

De acordo com a Organização das Nações Unidas (ONU), a população mundial atingiu 7,2 bilhões em 2013, devendo alcançar 8,1 bilhões de pessoas em 2025 e 9,6 bilhões em 2050, sendo a maior parte deste crescimento principalmente em países em desenvolvimento e áreas urbanas (ONUBR, 2013). Somado ao crescimento populacional, o desenvolvimento econômico e a criação de determinados estilos de vida geram uma tendência de consumo excessivo, conduzindo ao uso indiscriminado de recursos e à geração de grande volume de resíduos (SUCASAS, 2011). Esta situação implica em maior demanda de alimentos, para suprir as necessidades nutricionais básicas. A disponibilidade de proteínas, entretanto, é limitada. Somente o aproveitamento racional e eficiente dos alimentos torna a produção suficiente em quantidade e qualidade para suprir tal demanda.

O aproveitamento de resíduos surge como uma possibilidade de fazer retornar à cadeia alimentar material de excelente qualidade biológica, anteriormente descartado como lixo. Se empregada uma tecnologia adequada, este material pode ser convertido em produtos comerciais ou matérias-primas para processos secundários (PELIZER et al., 2007; FAO, 2013).

3.1.4 Geração de soro de queijo

A indústria de laticínios tem sua atividade baseada na conversão do leite em diversos produtos, como iogurtes, sorvetes, manteiga, sobremesas e queijos. Estes derivados podem ser obtidos por diversos processos, como pasteurização, coagulação, filtração, centrifugação, dentre outros (CARVALHO et al., 2013).

A indústria queijeira, especificamente, é responsável pela geração de três tipos de efluentes: o soro de queijo, resultante da produção deste produto, o soro de queijo secundário, resultante da produção de ricota e as águas residuárias, provenientes da lavagem de dutos, tanques de armazenamento e outros equipamentos (CARVALHO et al., 2013).

O soro é obtido durante a fabricação de queijos ou de caseína, a partir da coagulação do leite, no qual a caseína é insolubilizada pela ação da renina, presente no coalho, que pode

ser de origem microbiana ou vegetal. Para cada 1 ou 2 kg de queijo produzidos, gera-se aproximadamente 8 a 9 kg de soro (CARVALHO et al., 2013; BALSASSO et al., 2011). No entanto, o rendimento é variável, dependendo do tipo de queijo e das condições do processo, que determinam a homogeneidade da dessora (SILVA, 2005).

O soro foi tratado como material de descarte por muito tempo, sendo despejado em solos, águas e na rede pública de esgoto sem qualquer preocupação com o efeito sobre o meio ambiente (SMITHERS, 2008). Posteriormente, foi destinado à alimentação de animais de produção, como ruminantes, suínos e aves, nas formas líquida, condensada, seca ou produtos de soro seco (CIESLAK et al., 1986; MIZUBUTI, 1994; MARTINS, 2008; DAVID, 2010). Também foi utilizado, sob condições controladas, como fertilizante, agindo como fonte de carbono e nutrientes para plantas e microrganismos (PRAZERES et al., 2012). Todas essas abordagens de gestão foram baseadas na premissa do baixo valor econômico do material, o que fazia com que não merecesse atenção por parte da indústria (SMITHERS, 2008).

Estima-se que a produção mundial de soro de queijo seja de 180 a 190 x 10⁶ toneladas por ano. Entretanto, apenas 50% desta quantidade é efetivamente processada e convertida em subprodutos (BALDASSO et al., 2011). O Brasil, mesmo com uma produção significativa de soro, ainda é importador deste material na forma de pó. Em 2008, as importações atingiram 36,2 mil toneladas anuais. De acordo com dados mais recentes, somente em agosto de 2014, o país importou mais de 3 toneladas de soro. Estes dados evidenciam a existência de mercado atrativo para a utilização do soro, considerando somente a questão da substituição da importação. Desta forma, há a possibilidade de transformar este subproduto em uma oportunidade nacional, pois indústrias do setor alimentício e de suplementos alimentares fazem ampla utilização deste material e, para isso, recorrem, em parte, a compras externas (FARIAS, 2012; REVISTA LEITE, 2014).

Hoje, o principal impasse para a utilização do soro está ligado à escala de produção de queijos. Reunir e transportar para uma processadora é condição indispensável para viabilizar a utilização dessa fonte de proteína de forma econômica, criando oportunidade de participação de micro, pequenas e médias queijarias. Além da questão de escala de produção, as tecnologias de armazenamento, conservação e transporte têm implicações diretas sobre os investimentos necessários e os custos da logística de coleta (CORTEZ, 2013).

A dispersão geográfica das indústrias queijeiras e a deficiência de estatísticas de produção dificultam a realização de estudos sobre logística, disponibilidade e aproveitamento do soro de queijo. Entretanto, de acordo com dados censitários, constata-se o potencial de perdas econômicas e os impactos ambientais do descarte do soro. Além da dispersão territorial, a produção de queijo caracteriza-se por duas estruturas básicas distintas: uma de escala industrial, moderna, na qual são usados padrões internacionais de qualidade e outra, artesanal, com produtos sem padrão bem definido, com ampla capilaridade regional. O soro resultante destas últimas estruturas de produção, pelo baixo valor comercial *in natura* e alto custo de captação, é normalmente tratado como dejetos e lançado nos cursos dos rios sem nenhum tratamento prévio, gerando impactos ambientais relevantes (CORTEZ, 2013).

Desde o ano de 2013, a Embrapa Agroindústria de Alimentos, em cooperação com a Agência Australiana para o Desenvolvimento Internacional (AusAID), têm coordenado, no Brasil, um Projeto Internacional para o Aproveitamento de Soro, que visa dar maior competitividade e sustentabilidade a comunidades rurais de baixa renda, como as pequenas queijarias, a partir do aproveitamento do resíduo gerado da produção de queijos. Além de Brasil e Austrália, Colômbia, Uruguai e Argentina também estão inseridos no Projeto, uma vez que são países com cadeias lácteas importantes e com diferentes níveis de organização na América do Sul. No Brasil, especificamente, as atividades consistem em realizar o levantamento da produção do soro de queijo para elaborar a modelagem da captação do

produto, visando definir onde serão instaladas unidades processadoras e o aproveitamento da capacidade ociosa de unidades já existentes, além de alternativas de agregação de valor (GANDRA, 2013). A presente pesquisa é parte integrante deste Projeto, visando contribuir no âmbito das estratégias de aproveitamento racional do soro.

3.1.5 Aplicações do soro de queijo na indústria

O soro de queijo é um líquido opaco, amarelo-esverdeado e algumas vezes pode apresentar tom azulado, estando a cor relacionada com a qualidade e a origem do leite. De acordo com Pescuma et al. (2010), é composto de água (93%), lactose (5%), proteínas (0,85%), gordura (0,36%) e minerais (0,53%), incluindo NaCl e KCl, sais de cálcio (principalmente fosfato) e outros (DRAGONE et al., 2009). É rico em vitaminas hidrossolúveis provenientes do leite, sendo elas tiamina, riboflavina, ácido pantotênico, vitamina B6 e B12 e sais minerais, como cálcio, magnésio, zinco, potássio e fósforo (OLIVEIRA, 2011). A cor amarelada pode ser atribuída à presença de riboflavina (vitamina B2). A composição varia de acordo com a espécie de origem do leite (bovina, ovina, caprina ou bubalina), raça, alimentação, sanidade e estágio de lactação dos animais (PRAZERES et al., 2012), pelo tipo de queijo produzido ou o método para precipitação da caseína, por variações no tratamento térmico do leite ou pela manipulação (MIZUBUTI, 1994).

Por conta de sua composição, rica em lactose, proteínas e gorduras, o soro apresenta alto poder poluente, aproximadamente 100 vezes maior que o esgoto doméstico (SIQUEIRA et al., 2013). De acordo com Carvalho et al. (2013), o soro apresenta Demanda Biológica de Oxigênio (DBO) > 35.000 ppm e Demanda Química de Oxigênio (DQO) > 60.000 ppm, devido a seu elevado conteúdo de material orgânico, principalmente lactose e lipídeos. Em outras palavras, quando disposto indiscriminadamente no ambiente, microrganismos aeróbios passam a utilizar o oxigênio dissolvido no meio aquático para estabilizar o material orgânico, baixando a concentração do gás na água, podendo provocar eutrofização de rios e lagos, morte de organismos aquáticos, surgimento de odores fétidos e dificultando o tratamento de água para abastecimento público (SUCASAS, 2011). Além disso, a elevada salinidade deste material pode afetar negativamente a estrutura dos solos, diminuindo sua permeabilidade e aeração (PRAZERES et al., 2012). O tratamento do soro é oneroso para a indústria, principalmente para os pequenos produtores, e consiste em processos biológicos que devem ser cuidadosamente controlados. O alto percentual de água presente no soro de queijo *in natura* torna dispendiosa sua desidratação e impossibilita o armazenamento prolongado (SIQUEIRA et al., 2013).

Aproximadamente 50% dos sólidos presentes no leite estão no soro. O alto teor de sólidos está diretamente relacionado não somente ao elevado poder poluente do material, mas também à sua boa qualidade nutricional, devido principalmente à presença de açúcares e proteínas. A lactose representa em torno de 75% dos sólidos do soro. As proteínas correspondem a aproximadamente 50% β -lactoglobulina, 20% α -lactoalbumina, 15% glicomacropéptido e 15% proteínas menores e peptídeos mais simples (imunoglobulina, lactoferrina, lactoperoxidase, albumina de soro bovino, lisozima e fatores de crescimento). Na Tabela 1 é ilustrada a composição nutricional do leite e do soro de leite bovino.

Tabela 1. Comparação entre a composição nutricional de leite e soro de leite bovino

Componente	Conteúdo (% m/v)	
	Leite	Soro
Caseína	2,8	<0,1
Proteínas do soro	0,7	0,7
Lipídeos	3,7	0,1
Cinzas	0,7	0,5
Lactose	4,9	4,9
Sólidos	12,8	6,3

Fonte: SMITHERS, 2008.

Sob o ponto de vista industrial, há dois tipos principais de soro: doce e ácido, classificados pela acidez total ou conteúdo em ácido láctico. O soro ácido é obtido pela acidificação direta do leite, como no caso da produção de queijo *cottage*, apresentando pH entre 4,3 a 4,6. O soro doce apresenta pH de 6,3 a 6,6 e é obtido por coagulação enzimática do leite, pela adição da renina, que tem a propriedade de coagular a caseína. É um soro resultante da produção de certos tipos de queijos, como o *Cheddar*, *Emmental* ou o queijo Minas frescal. O soro doce tem maior teor de lactose quando comparado ao soro ácido, pois neste último uma parcela da lactose é transformada em ácido láctico durante a fermentação. Por outro lado, o soro ácido possui maior concentração de sais minerais (MADUREIRA et al., 2007; PELEGRINE; CARRASQUEIRA, 2008; ALVES et al., 2014).

A busca por novos produtos fez a indústria de alimentos perceber que os consumidores estão cada vez mais preocupados com a saúde, e que desejam ingerir alimentos saudáveis e, de preferência, capazes de prevenir doenças. A indústria reconheceu que o soro de queijo é bastante versátil em sua aplicação e que, além disso, apresenta propriedades funcionais. Os produtos à base de soro são de grande importância para o setor industrial, incluindo o segmento de alimentos nutracêuticos ou funcionais (THAMER; PENNA, 2006).

Quanto às aplicações industriais, o soro ácido pode ser utilizado como realçador de sabor de molhos cremosos para saladas, retentor de água, emulsificante e como fonte de cálcio. O soro doce é utilizado em produtos de panificação, salgadinhos, sorvetes e sobremesas lácteas (PELEGRINE; CARRASQUEIRA, 2008). Estes soros apresentam composições diferentes, conforme a Tabela 2 .

Tabela 2. Composição centesimal de soro doce e soro ácido

Componente (%)	Soro doce	Soro ácido
Proteína	0,8	0,7
Lactose	4,9	4,4
Minerais	0,5	0,8
Gordura	0,2	0,04
Água	93,0	93,5

Fonte: ORDÓÑEZ, 2005.

A Figura 2 mostra os países que mais lançaram novos produtos com soro na composição no ano de 2008 e as principais categorias de alimentos envolvidas.

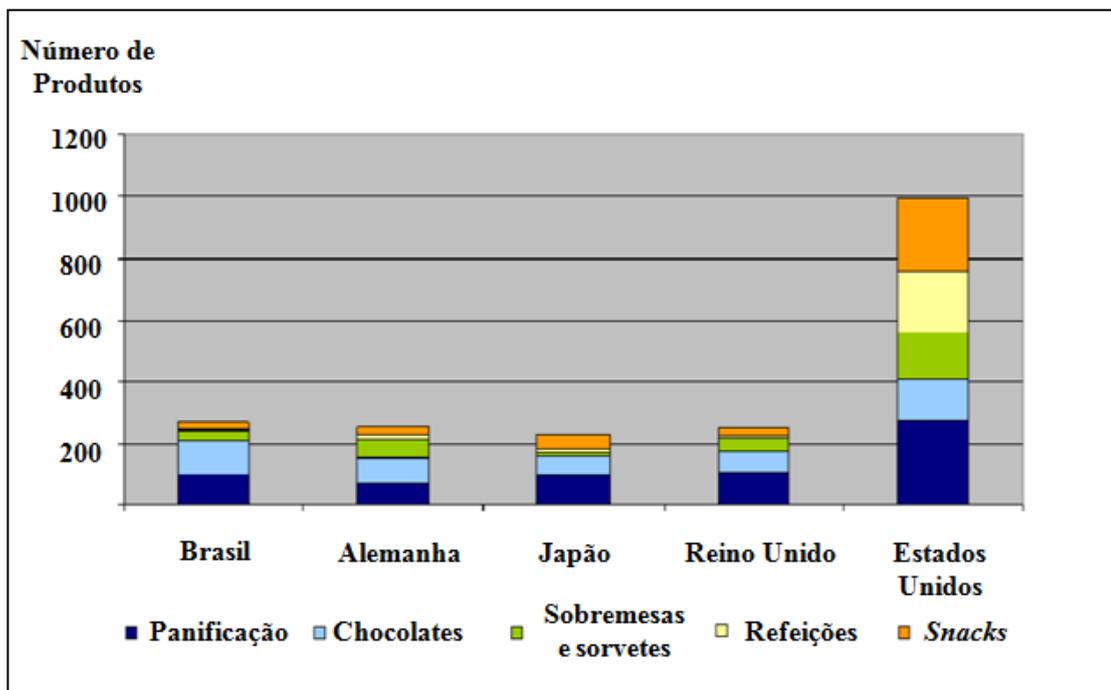


Figura 2. Principais países e categorias de alimentos envolvidos no lançamento de novos produtos à base de soro no ano de 2008 (adaptado de 3A BUSINESS CONSULTING, 2009).

As proteínas do soro têm recebido atenção, pois apresentam valor biológico superior à caseína e às proteínas do ovo e da soja, principalmente devido ao alto conteúdo de aminoácidos essenciais de cadeia ramificada (isoleucina, leucina e valina). Além do valor biológico, possuem peptídeos bioativos, que podem atuar como agentes antimicrobianos, anti-hipertensivos, anti-tumorais, antioxidantes e imunomoduladores (PESCUMA et al., 2010). No âmbito da indústria de alimentos, elas recebem atenção em virtude de suas propriedades físicas, como solubilidade, ligação e absorção de água, viscosidade, geleificação, elasticidade, emulsificação e formação de espuma. Por isso, o soro é utilizado na produção de concentrados e isolados proteicos, que são aplicados a diversos gêneros alimentícios (produtos lácteos, cárneos, panificação, sopas e sobremesas) (MARQUES, 2012; ALVES, 2014).

Pode-se, portanto dizer que o soro foi "redescoberto" pela indústria e que a gestão deste material tem sido realizada buscando sua valorização. Existem tecnologias de diferentes complexidades para a obtenção de subprodutos oriundos do soro, que por sua vez também apresentam valor agregado de níveis distintos, conforme demonstra a Figura 3. Os processos de valorização vão desde a sua incorporação em bebidas ou outros alimentos, até e a aplicação de processos fermentativos para obter produtos como ácidos orgânicos, biopolímeros e bacteriocinas (MOLLEA et al., 2013).

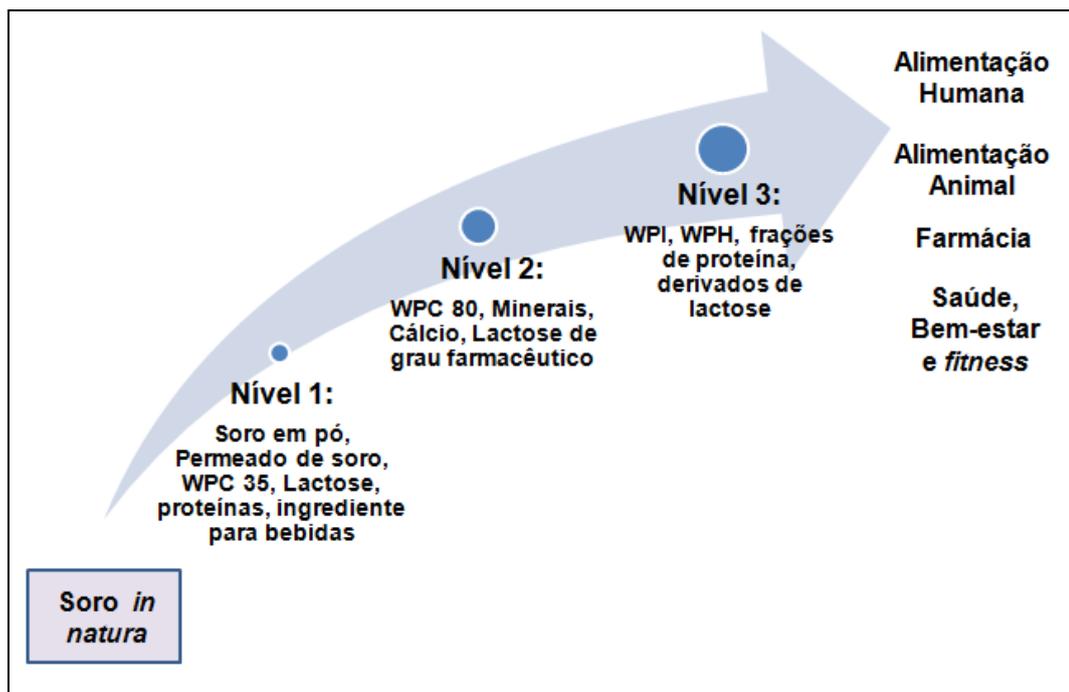


Figura 3. Níveis para agregar valor ao soro de queijo utilizados pela indústria e algumas aplicabilidades (adaptado de 3A BUSINESS CONSULTING, 2009).

A utilização do soro em sua forma líquida para a produção de bebidas é uma opção de aproveitamento do soro, bastante viável por sua praticidade (SERPA et al., 2009). O mercado de bebidas de base láctea e frutas tem crescido, pois além de apresentarem características sensoriais favoráveis, possuem o apelo da saudabilidade (SIQUEIRA et al., 2013). Uma das principais alternativas de utilização do soro no Brasil compreende a formulação de bebidas lácteas, que, de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2005), é o produto resultante da mistura de leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado, parcialmente desnatado ou desnatado) e soro de queijo (líquido, concentrado ou em pó), adicionado ou não de produto(s) ou substância(s) alimentícia(s), gordura vegetal, leite(s) fermentado(s), fermentos lácteos selecionados ou outros produtos lácteos, e cuja base láctea represente no mínimo 51% dos ingredientes. A aromatização das bebidas é normalmente melhorada com o acréscimo de polpas de frutas, tornando a aceitação do produto mais representativa, além de ser uma solução para o problema do excedente de produção e/ou pouco aproveitamento de frutas, que não estão aptas ao consumo “de mesa” ou para exportação (SIQUEIRA et al., 2013).

Embora, por muito tempo, o soro tenha sido tratado como material de descarte, durante a década de 70, alguns pesquisadores começaram a avaliar a possibilidade de incorporação do mesmo a bebidas. Desta forma, algumas formulações foram desenvolvidas buscando seu aproveitamento integral, combinando-o principalmente com frutas cítricas, consideradas mais compatíveis com o sabor do soro. Deste período, vale destacar o estudo de Holsinger (1974), que discorreu sobre as primeiras bebidas à base de soro e fruta. Os autores agruparam as bebidas em (1) bebidas de soro integral, (2) bebidas não alcoólicas a partir de soro desproteinado, (3) bebidas alcoólicas a partir de soro e (4) bebidas proteicas. O grupo de bebidas não alcoólicas de soro desproteinado agrupou duas subclasses: as fermentadas e as não fermentadas. No grupo das bebidas alcoólicas, foram consideradas as bebidas contendo menos de 1% de álcool, cervejas de soro, vinhos de soro e bebidas alcoólicas contendo

proteínas. As bebidas proteicas de soro foram assemelhadas a leite ou refrigerantes, se carbonatadas. Analisando esta amplitude de tipos de bebidas à base de soro em uma época em que o material era majoritariamente descartado como resíduo, tem-se a dimensão das possibilidades de desenvolvimento de novos produtos com este importante subproduto da indústria queijeira. Segundo os autores o método mais barato e eficiente de preparar bebidas de soro consiste em drenar o soro do tanque de queijo, pasteurizar, desodorizar se necessário, saborizar apropriadamente e embalar para consumo posterior.

Há estudos recentes envolvendo o desenvolvimento de bebidas de soro em vários países. Sikder et al. (2001) formularam *blends* de soro, utilizando diferentes teores de polpa de manga (8 a 12%). Yadav et al. (2010) desenvolveram uma bebida de soro, banana e extrato de plantas medicinais (*Mentha arvensis*), que apresentou características sensoriais favoráveis até o 15º dia de armazenamento sob refrigeração. Já Singh e Singh (2012) formularam uma bebida energética pronta para consumo a partir de soro e polpa de manga. Baccouche et al. (2013) desenvolveram uma bebida de soro ácido e *Opuntia* spp., uma fruta nativa da Tunísia, variando concentração de açúcar, pectina e tratamento térmico do soro.

No Brasil, Pelegrine e Carrasqueira (2008) desenvolveram refresco de inhame enriquecido com proteínas e sais minerais do soro e um suco de abacaxi, enriquecido apenas com sais minerais, para beneficiar as pessoas alérgicas às proteínas do soro. Ambos os produtos apresentaram boa aceitabilidade sensorial. Cruz et al. (2009) formularam bebida de soro de queijo manteiga e acerola, que demonstrou ter bom potencial comercial, devido à qualidade nutricional diferenciada (alto teor de aminoácidos e vitamina C). Guedes et al. (2013) produziram bebidas à base de soro oriundo de queijo coalho com frutas e hortaliças. Na formulação das bebidas, foram utilizadas diferentes proporções de soro, frutas e hortaliças, com adição de 10% de açúcar. Seis bebidas foram formuladas e submetidas a um teste de preferência, e as três primeiras colocadas foram submetidas a um segundo teste, de aceitação sensorial, sendo a bebida de soro e graviola considerada a mais gostada.

A possibilidade de mistura do soro de queijo com frutas e/ou hortaliças para a obtenção de bebidas, produtos lácteos, sopas e sobremesas tem como benefício um produto constituído de fibras, vitaminas e sais minerais, sendo uma alternativa na composição de dietas de grupos institucionais incluindo asilos, hospitais, creches, merenda escolar, entre outros, além de atender à demanda do mercado por uma variedade maior de produtos dessa natureza (GUEDES et al., 2013).

As empresas Batavo® e Tirol® já inseriram no mercado produtos que definem como sendo à base de nutrientes do soro e suco de fruta (Hidra® e Frutein®), que se enquadram na categoria de "bebida composta de fruta", descrita pelo Decreto n. 6.871, de 2009 e pela Instrução Normativa n. 19, de 2013. Para que o produto seja considerado bebida composta de fruta, de polpa ou de extrato vegetal, o ingrediente de origem vegetal deve predominar sobre o ingrediente de origem animal, o que é obtido pela maior proporção quantitativa de sucos de frutas, vegetais, polpa de frutas ou extratos vegetais, ou de qualquer associação destes. Bebidas compostas de frutas resultam da mistura de suco, polpas e extratos vegetais isoladamente ou combinados, com produto de origem animal, adicionadas ou não de açúcar e contando com pelo menos 10% de fruta (BRASIL, 2009; REVISTA BRF ONLINE, 2012; REVISTA LATICÍNIOS, 2012; BRASIL, 2013b).

Estas bebidas são práticas e comercializadas em embalagens do tipo Tetra Pack®. No entanto, apresentam em sua composição vários aditivos, como aromatizantes, acidulantes, estabilizantes, conservantes, corantes e espessantes. Hoje, a tendência é que o consumidor opte por alimentos mais saudáveis, frescos, palatáveis e livres de aditivos, o que estimula a pesquisa por produtos mais naturais. Por este motivo, as pesquisas na área visam o

desenvolvimento de alimentos inovadores com estas características, seja por causa de sua formulação ou pelo processo tecnológico empregado.

3.2 Frutas e Compostos Bioativos

Atualmente, doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como diabetes, câncer e doenças cardiovasculares, são apontadas como a principal causa de morbimortalidade no mundo. Evidências epidemiológicas sugerem que dietas ricas em frutas e vegetais diminuem o risco de incidência destas patologias, pois os compostos bioativos presentes nestes alimentos são associados com benefícios à saúde (ZHANG et al., 2013).

O maior conhecimento do consumidor sobre o valor nutritivo e efeitos terapêuticos de frutas tem feito com que seu consumo aumente, direta e indiretamente. Na última década, surgiram novos produtos à base de leite e frutas no mercado europeu e norte-americano, com boa aceitação e alto valor nutricional, o que pode ser atribuído ao conteúdo de compostos bioativos (BARBA et al., 2012a). As frutas agregam valor, favorecem a aceitação mercadológica, pois muitas pessoas não apreciam o sabor de leite puro, e aumentam o aporte de nutrientes às bases lácteas tradicionais (SIQUEIRA et al., 2013).

Frutas e vegetais contêm fitoquímicos, como compostos fenólicos, carotenoides, ácido ascórbico e tocoferóis. Os fitoquímicos são antioxidantes naturais, devido à capacidade de retardar ou inibir a oxidação resultante da ação dos radicais livres (BURIN et al., 2010).

Compostos fenólicos são metabólitos secundários dos vegetais, envolvidos na reprodução, defesa contra radiação ultravioleta e patógenos. Apresentam atividade antimicrobiana, antialérgica, antiaterogênica, anti-inflamatória, antitrombótica, efeitos cardioprotetivos, vasodilatadores e atividade antioxidante. Quimicamente, os compostos fenólicos apresentam um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, variando de moléculas simples até estruturas altamente polimerizadas. Os compostos fenólicos de maior ocorrência na natureza apresentam-se conjugados com monossacarídeos e polissacarídeos, através de um ou mais grupos fenólicos, e podem também ocorrer como derivados funcionais, como ésteres e metil-ésteres (BALASUNDRAM et al., 2006).

A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos depende da sua estrutura, particularmente do número e posição dos grupos hidroxila e da natureza das substituições nos anéis aromáticos. Existem cerca de 8.000 compostos fenólicos na natureza, divididos em classes de acordo com a estrutura química: flavonoides, ácidos fenólicos, taninos e estilbenos. Flavonoides e ácidos fenólicos são os de maior relevância com relação à dieta (BALASUNDRAM et al., 2006).

O suco de uva é rico em compostos fenólicos, responsáveis por muitas características sensoriais, como cor, sabor, acidez e adstringência. Dentre eles, estão os flavonoides (flavanois, flavonóis e antocianinas), além dos compostos não flavonoides, como os ácidos fenólicos e o estilbeno resveratrol. Os flavonóis são representados principalmente pelo kaempferol, quercetina e miricetina, além de derivados metilados, como a isoramnetina, de grande interesse pela elevada capacidade antioxidante. Entre os flavanois, catequinas, epicatequinas e procianidinas ganham destaque, pelo potencial antimicrobiano e antifúngico. Quanto às antocianinas, as principais encontradas em sucos são malvidina, cianidina, delphinidina, petunidina, peonidina e pelargonidina (LIMA et al., 2014).

As antocianinas são um grupo de pigmentos vegetais hidrossolúveis, cujo espectro de cor vai do vermelho ao azul, apresentando-se também como uma mistura de ambas as cores, resultando em tons de púrpura. Merecem destaque, pois além de estarem relacionadas à atividade biológica (antioxidante) e à prevenção de doenças cardiovasculares, despertam atenção na tecnologia de alimentos, pela conferência de coloração adequada. As antocianinas

são moléculas relativamente instáveis e sua cor é dependente do pH do meio, da temperatura, da presença de luz, do oxigênio, de enzimas e de interações com outros componentes do alimento (ácido ascórbico, íons metálicos, açúcares e copigmentos). Em meios ácidos e neutros, quatro espécies de antocianinas ocorrem em equilíbrio: base quinoidal (A), cátion *flavilium* (AH⁺), pseudobase carbinol (B) e chalcona (C). As antocianinas exibem coloração vermelha intensa apenas em uma faixa limitada de pH (1,0 a 3,0), que corresponde ao equilíbrio entre o cátion *flavilium* (vermelho) e a base carbinol (incolor). Se o pH aumenta, o cátion perde um próton e ganha uma molécula de água para formar a pseudobase carbinol. Esta, por sua vez, pode se equilibrar com a forma incolor de chalcona. Em pH de 4,0 a 6,5 o cátion *flavilium* perde um próton, formando uma base quinoidal de cor púrpura clara, que lentamente se hidrata para a pseudobase carbinol, com desaparecimento progressivo da cor. Todas as reações são endotérmicas, logo qualquer aumento de temperatura favorece a formação de chalcona e, portanto, a descoloração (ALIBERTI, 2009).

Os ácidos fenólicos, como os ácidos gálico, cafeico e clorogênico, são derivados dos ácidos hidroxibenzoico e hidroxicinâmico, e têm sido estudados por sua ação antioxidante e vasodilatadora. Também os estilbenos, principalmente o trans-resveratrol, são associados a benefícios à saúde (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004; BURIN et al., 2010; LIMA et al., 2014). Devido às propriedades biológicas e nutricionais da uva, e ao fato destas características estarem presentes em seus derivados, os produtos à base desta fruta têm conquistado o mercado consumidor (MONARETTO, 2013).

3.3 Alta Pressão Hidrostática (APH)

3.3.1 A produção de alimentos por APH

O mercado consumidor está cada vez mais consciente com relação à qualidade geral dos alimentos e a requisitos de segurança alimentar. A crescente demanda por produtos mais saudáveis e nutritivos estimula a indústria a investir em novos produtos e novas tecnologias, ditas não convencionais e caracterizadas pela não utilização do tratamento térmico (DELIZA et al., 2003).

Devido à pasteurização e esterilização muitas vezes não satisfazerem a demanda por produtos que mantenham tais atributos de qualidade, vários estudos buscam a utilização de tecnologias diferenciadas para a produção de alimentos. Processos que fazem uso do calor de forma não convencional, tais como o aquecimento ôhmico e por micro-ondas, e processos não térmicos como irradiação, alta pressão hidrostática (APH), ultrassom, filtração por membranas, pulsos elétricos, pulsos de luz e campo de ondas magnéticas, são pesquisados como alternativas para a conservação de alimentos (SMELT, 1998).

A tecnologia de APH oferece diversas vantagens para a conservação de alimentos, dentre as quais se pode citar (1) homogeneidade do tratamento, uma vez que a pressão é aplicada uniformemente e ao redor de todo o alimento, (2) impacto mínimo pelo calor, (3) vida de prateleira dos produtos semelhante a dos alimentos tratados por pasteurização térmica, mantendo parâmetros de qualidade nutricional e sensorial e (4) pequena quantidade de energia necessária para comprimir um sólido ou líquido a 500 MPa, em comparação com o aquecimento a 100°C. Assim, a tecnologia de pasteurização a frio está ganhando aplicabilidade no processamento de alimentos, principalmente aqueles que apresentam elevada acidez. Além dos benefícios para o consumidor e para o meio ambiente, devido à necessidade reduzida de energia, a metodologia de APH é aplicável para alimentos embalados, tornando obsoletos os esforços para prevenir recontaminação ou o uso de processos de enchimento assépticos (PEREIRA; VICENTE, 2010).

3.3.2 Histórico e princípios da APH

Os primeiros estudos referentes ao emprego da APH foram realizados ao final do século XIX, na França. Certes (1883) encontrou bactérias viáveis em amostras de água obtidas de 5.100 metros de profundidade (equivalente a aproximadamente 50 MPa) e estudou a resistência destes microrganismos à alta pressão, utilizando um aparelho que poderia alcançar pressões de até 650 MPa (CERTES, 1884 *apud* KNORR, 1995). Já as primeiras pesquisas referentes à APH e a preservação de alimentos se deram em 1899, com o pioneiro estudo de Bert Hite, que foi o primeiro a relatar o efeito da APH sobre o leite, submetendo-o a uma pressão de 650 MPa e obtendo redução significativa no número de microrganismos viáveis, o que consequentemente demonstrou um aumento da vida de prateleira do produto (HITE, 1899). Em 1914, Bridgman publicou um trabalho sobre a coagulação de albumina de ovo pela aplicação de alta pressão, observando que as propriedades eram diferentes dos géis obtidos pela coagulação pelo calor (BRIDGMAN, 1914).

Nas décadas seguintes foram escassas as pesquisas sobre APH na área de alimentos, o que pode ser atribuído à falta de um equipamento adequado para as operações (HUPPERTZ et al., 2002), além do amplo desenvolvimento e aplicação industrial dos processos térmicos a produtos alimentícios, devido notadamente a garantia de sanidade e extensão de vida de prateleira, a despeito de limitações de qualidade sensorial e nutricional. Ao longo desse período, merecem destaque a pesquisa de Payens e Heremans (1969), que avaliaram o efeito da alta pressão sobre a β -caseína do leite, e de MacFarlane (1973), que avaliou o efeito da pressão sobre o amaciamento de carne.

Por muitos anos, a APH manteve-se restrita a outros setores industriais, como a produção de cerâmicas, materiais compostos, grafite e plásticos. Entretanto, foi a intensa aplicação deste método durante as décadas de 1970 e 1980 nestas indústrias que fomentou a possibilidade de aplicação na área alimentos a nível industrial (SMELT, 1998). Os primeiros produtos alimentícios processados por APH e destinados ao comércio surgiram no Japão, no ano de 1991, como consequência da implementação do Programa Japonês em Tecnologia de Alta Pressão aplicada a alimentos processados (TRUJILLO et al., 2002).

Produtos elaborados a partir da APH, incluindo preparados de frutas, bolinhos de arroz e lula crua foram inicialmente disponibilizados no mercado japonês. Posteriormente, vários produtos pressurizados passaram a ser comercializados, como sucos de frutas na França, arenque, salmão e ostras no Japão e EUA; carnes de porco na Espanha e EUA; presunto cozido fatiado na Espanha; *roast beef* e salsichas, espaguete com molho de carne e produtos a base de arroz, purê/pasta de abacate nos EUA e iogurte com frutas no Japão, Itália e EUA (SMELT, 1998; TRUJILLO et al., 2002). Na Figura 4, é ilustrada a representatividade de cada segmento de produtos na indústria de alimentos pressurizados.

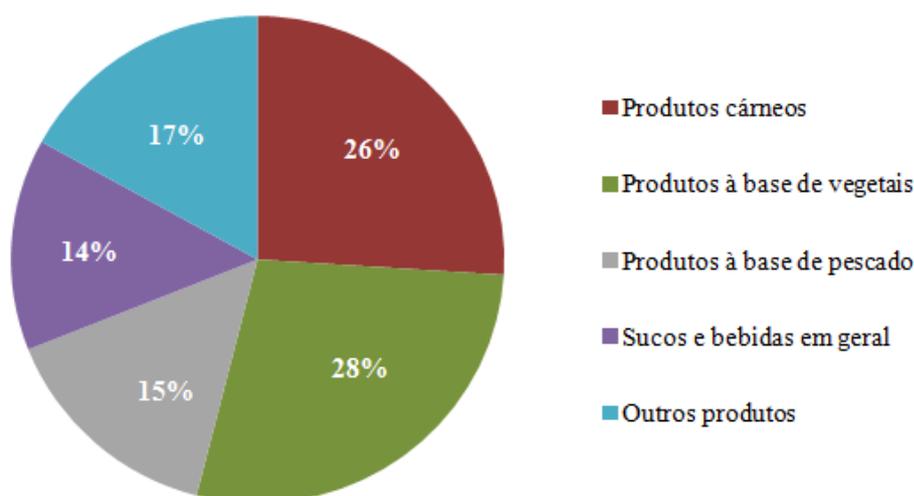


Figura 4. Percentual de equipamentos de APH em relação a diferentes segmentos da indústria de alimentos (PURROY, 2013).

A conservação de alimentos utilizando APH é uma tecnologia de grande potencial. Consiste em submeter alimentos líquidos ou sólidos a pressões entre 100 MPa e 800 MPa, associada ou não com certa elevação da temperatura, podendo o alimento estar ou não embalado (FDA, 2011). Alguns autores relatam que a pressão aplicada no processo pode variar de 100 a 1000 MPa, ou além deste valor, dependendo do microrganismo que se deseja inativar (CHEFTEL, 1995; SMELT, 1998).

O processo de APH segue o princípio isostático, ou princípio de Pascal, em que a pressão é transmitida uniformemente e quase que instantaneamente por todo o alimento, independente de sua massa, tamanho ou composição. Sob pressão, as biomoléculas obedecem ao princípio de *Le Chatelier-Braun* que favorece as reações que promovem a diminuição de volume do alimento. O processo afeta substancialmente ligações não covalentes, graças à sensibilidade destas perante a pressão. Os compostos de baixo peso molecular, como compostos voláteis, pigmentos e vitaminas, responsáveis pelas características sensoriais e nutricionais, não são afetados, porém os componentes de alto peso molecular, como as proteínas, responsáveis pela estrutura e funcionalidade em alimentos, são mais suscetíveis à pressão (CHAWLA et al., 2011).

A condição adiabática do processo faz com que, independentemente do tamanho e do formato do alimento, exista pouca variação de temperatura com o aumento da pressão (na água, em sucos de fruta e no leite, a temperatura aumenta aproximadamente 3°C, a cada 100 MPa), o que, em baixas pressões, previne que o alimento seja substancialmente deformado ou aquecido (TOEPFL et al., 2006). Uma das principais vantagens do emprego da APH se refere a não utilização intensiva do calor, o que permite que os atributos sensoriais e nutricionais do produto permaneçam praticamente inalterados. Além disso, o método promove injúria celular a bactérias presentes em alimentos crus, estendendo a vida de prateleira dos produtos e transformando favoravelmente características de textura e outros atributos desejáveis, como digestibilidade, gerando alimentos com melhor qualidade do que os processados pelos métodos tradicionais (CHAWLA et al., 2011, RENDUELES et al., 2011). Além disso, a alta pressão pode ser utilizada como método complementar ao congelamento, descongelamento e armazenamento em condições extremas (sub-zero), aproveitando a condição da água manter-se em estado líquido a temperaturas negativas, sob certos níveis de pressão. Outra

possibilidade é sua utilização como pré-tratamento para favorecer a extração de compostos bioativos (BARBA et al., 2012a).

A Figura 5 relaciona as variáveis típicas do processo - pressão, tempo e temperatura. Balasubramaniam et al. (2004) definem *come up time*, *holding time/processing time* e tempo de descompressão como os parâmetros importantes durante o tratamento experimental com APH. *Come up time* é o tempo necessário para aumentar a pressão da amostra a partir da pressão atmosférica e depende da taxa de compressão, da pressão transmitida pelo fluido e da proporcionalidade da potência da bomba e o processo de pressão requerido. *Holding time/processing time* é o tempo de processo propriamente dito, durante a pressão constante estabelecida para o processo, entre a compressão e o início da descompressão, e o tempo de descompressão é o tempo que reduz a pressão submetida ao alimento processado por APH para próximo à pressão atmosférica.

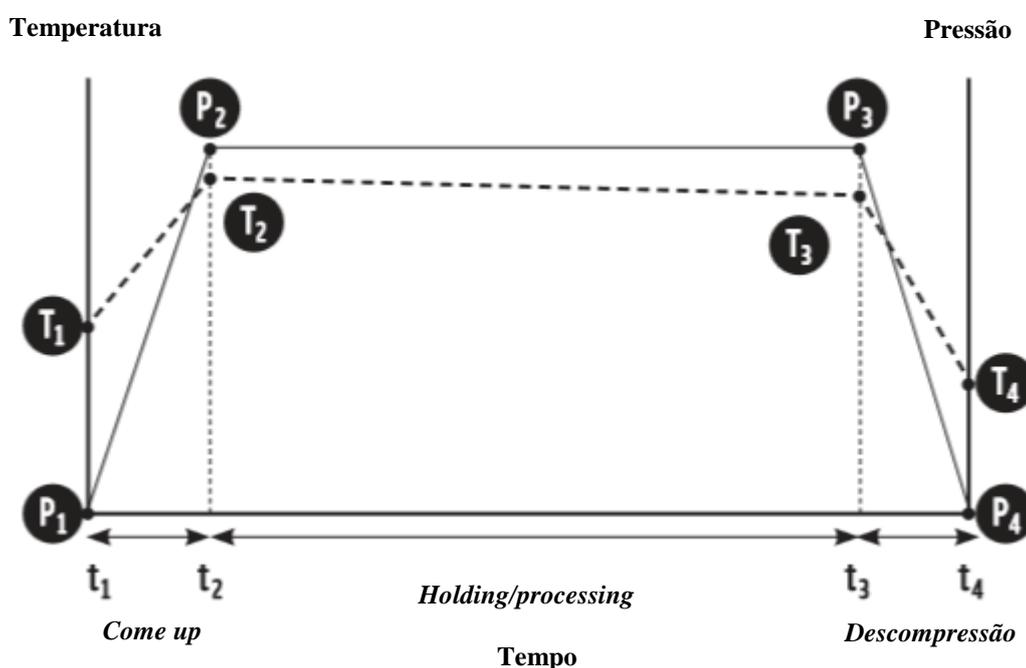


Figura 5. Gráfico que explicita as variáveis que condicionam o processamento por APH, onde P_1 : pressão ambiente; P_4 : pressão final; T_1 : temperatura antes do processo; T_2 : temperatura máxima do processo; T_4 : temperatura final (adaptado de BALASUBRAMANIAM et al., 2004).

A APH pode inativar microrganismos e enzimas responsáveis pela diminuição da vida de prateleira dos alimentos. Além de aumentar o prazo de validade dos produtos, a possibilidade da APH modificar propriedades funcionais de componentes, tais como proteínas, pode levar ao desenvolvimento de novos produtos, sendo também nesse sentido um método promissor (RENDUELES et al., 2011). Além disso, trata-se de uma tecnologia ambientalmente correta, uma vez que pode ser aplicada à temperatura ambiente, reduzindo a quantidade de energia necessária ao processo, em comparação aos métodos térmicos tradicionais. Este processo requer apenas energia elétrica para sua operacionalização e, assim, minimiza a geração de possíveis contaminantes ao ambiente (YALDAGARD et al., 2008).

O sistema completo de APH deve ser composto por recipiente de pressão e seu fechamento, sistema de geração e intensificação de pressão, dispositivo para controle de temperatura e demais variáveis de processo e sistema operacional (HOOVER, 1993). A

pressurização acontece a partir da inserção de alimentos acondicionados em embalagens flexíveis em uma câmara de compressão, que é fechada e preenchida com o meio de transmissão de pressão, expulsando todo o ar. A pressurização é iniciada e ao término do ciclo, a câmara é despressurizada (CHEFTEL, 1995; FARKAS; HOOVER, 2000).

A pressão pode ser transmitida através de dois métodos. No método direto, o meio de transmissão de pressão contido na câmara é diretamente pressurizado por um pistão e gera pressão rapidamente. No entanto, uma limitação deste método é a necessidade de vedações eficientes entre o recipiente de pressão e o pistão, fazendo com que seja restrito a equipamentos de pequeno volume, geralmente utilizados em laboratórios e plantas piloto. No método indireto, utiliza-se um intensificador de pressão para bombear o meio de transmissão de pressão do reservatório para o interior da câmara de pressão já fechada, sendo empregado em nível industrial devido a sua maior capacidade de alcançar níveis mais altos de pressão (SINGH; YOUSEF, 2001).

O processamento por APH pode ser dividido em três categorias operacionais: batelada (descontínuo), semicontínuo e homogeneização (contínuo). O processo por batelada é o mais comum, por conta da simplicidade do equipamento e execução. O alimento é embalado e pressurizado dentro da câmara de pressão, utilizando meio líquido que transfere pressão ao produto. Há baixo risco de contaminação cruzada e de contaminação em caso de falhas operacionais. O processo semicontínuo é utilizado quando se deseja aumentar a produção do sistema por batelada e envolve a combinação de múltiplos recipientes de compressão, dispostos de forma a garantir um fluxo contínuo de pressurização e a recuperação de energia.

Os processos por batelada e semicontínuo podem ser utilizados tanto para alimentos líquidos quanto para sólidos. Em contraposição, o processo por homogeneização (contínuo) tem sido proposto apenas para alimentos líquidos. O equipamento é composto por tubos ou recipientes de retenção que promovem um tempo de tratamento específico para o processo. Após o processamento, o alimento é acondicionado em tanques estéreis para posterior embalagem (FDA, 2011; SINGH; YOUSEF, 2001).

3.3.3 Avanços do processamento de alimentos por APH

Atualmente, diversas empresas têm investido no desenvolvimento de equipamentos de APH, em colaboração com grupos de pesquisa e a indústria de alimentos. Há diferentes tipos de equipamentos, cada qual com uma característica específica de *design* ou funcionalidade. Equipamentos tradicionais podem atingir 600 MPa, mas algumas empresas na Europa (*Stansted Fluid Power*®) desenvolveram equipamentos pilotos capazes de atingir 1400 MPa, a 20 - 150°C, em poucos segundos. Já a *AVURE Technologies*, a *Hiperbaric* e a *Multivac* oferecem equipamentos industriais em *layout* horizontal ou vertical, dependendo do tipo de alimento a ser processado e do espaço disponível. Os equipamentos em escala industrial dessas empresas apresentam capacidade variável, de 35 a 320 litros na câmara de compressão, sendo esta geralmente superior a 150 litros. Há também equipamentos com capacidade de 525 e 687 litros, sendo estes utilizados para o processamento de produtos cárneos e de pescado (BERMÚDEZ-AGUIRRE; BARBOSA-CÁNOVAS, 2011; AVURE TECHNOLOGIES, 2014; HIPERBARIC HIGH PRESSURE PROCESSING, 2014; MULTIVAC BETTER PACKAGING, 2014).

Nos Estados Unidos, o *U.S. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods* listou a APH como uma técnica de pasteurização não térmica que pode substituir a pasteurização convencional. A tecnologia também foi aprovada como método de conservação de alimentos pelo *Food and Drug Administration* (FDA) e pelo *US Department of Agriculture* (USDA) (WANG et al., 2013). O método ainda apresenta entraves no que diz respeito à

implementação na indústria, por ser considerado de alto custo, principalmente no que diz respeito ao alto capital inicial a ser investido. Atualmente, estima-se que o investimento inicial seja de 650 mil a 2,6 milhões de dólares, dependendo da capacidade do equipamento (55 a 425 litros). Ainda assim, espera-se que estes custos tornem-se paulatinamente mais acessíveis, como uma consequência do desenvolvimento tecnológico (SMELT, 1998; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ et al., 2012).

Com relação à fabricação de queijos, especificamente, a APH foi apontada como um processo economicamente favorável para a produção de queijo *cheddar*, sendo responsável pela economia de cerca de 30 dólares/1000 kg de queijo produzido, sugerindo-se que o processo tenha a mesma viabilidade para outros tipos de queijos. Na Espanha, especificamente, a pressurização já foi utilizada para a conservação de queijos e outros recheios de sanduíches, garantindo redução de custos e aumento da vida de prateleira destes produtos. A maturação de queijos é um processo lento e caro, por conta do tempo de armazenamento prolongado. Várias pesquisas têm investigado a capacidade da APH acelerar a maturação. Isto pode ser atribuído à capacidade que a alta pressão tem de alterar a estrutura de enzimas e a conformação espacial da caseína, tornando-a mais sensível à ação de proteases e/ou bactérias, e favorecendo a liberação de substâncias responsáveis por reações bioquímicas responsáveis pela maturação, acelerando o processo e consequentemente reduzindo custos (SERRANO et al., 2005; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ et al., 2012).

O custo médio da APH é de aproximadamente 0,05 a 0,5 dólares por litro ou quilograma de alimento processado. Sob condições específicas, como por exemplo, na fabricação de alimentos prontos para consumo, o custo pode alcançar 0,08 a 0,22 dólares por quilograma, o que faz com que a tecnologia seja recomendável para produtos de alto valor agregado. Ainda assim, sua aplicação é crescente e o mercado de produtos processados por APH já representa aproximadamente 2 bilhões de dólares (CRUZ et al., 2010; BERMÚDEZ-AGUIRRE; BARBOSA-CÁNOVAS, 2011).

Outro entrave para a APH reside no mercado consumidor. Para algumas pessoas, pode parecer duvidoso adquirir um produto dito "pressurizado", uma vez que o termo é novo e desconhecido. Por este motivo as empresas do ramo optam por termos como "*fresh*" e "pasteurizado a frio" para a caracterização de seus produtos (BARBA et al., 2012a).

Mesmo com algumas limitações, dentre as tecnologias não térmicas, a APH tem apresentado alcance no mercado com produtos variados, entretanto ainda não há produtos lácteos pressurizados disponíveis comercialmente (LÓPEZ-FANDIÑO, 2006; KADAM et al., 2012). No Brasil, os primeiros produtos industriais (sucos de fruta) produzidos por APH passaram a ser comercializados no ano de 2013 (NATURAL, 2013). Trata-se de sucos de fruta integrais, nos sabores laranja; limão; maçã e uva, além dos *mixes* de morango e limão; maçã e morango e laranja e maçã, produzidos pela empresa paulista Natural One® (NATURAL, 2013). Recentemente, a empresa Sadia® lançou a linha *Soltíssimo*®, que consiste em produtos cárneos (presunto, peito de peru, mortadela defumada) e queijos (queijo muçarela e queijo prato) fatiados submetidos à pressurização e atmosfera modificada. O *design* da embalagem e o equipamento foram desenvolvidos pela empresa Multivac® Better Packaging do Brasil e os produtos já estão disponíveis no comércio varejista do estado de São Paulo e no município do Rio de Janeiro (MULTIVAC GROUP, 2014; SADIA, 2015).

Embora a APH preserve características nutricionais e sensoriais dos alimentos, prever os efeitos do tratamento exige estudo individual, devido à complexidade de composição de cada alimento e às possibilidades de mudanças e reações que podem ocorrer durante a pressurização. Por isso, várias pesquisas investigam a inativação cinética de microrganismos e enzimas, a estrutura de biopolímeros (proteínas, polissacarídeos), bem como o efeito sobre os constituintes dos produtos alimentícios (sucos, laticínios, carnes,

peixes, frutas e vegetais). A APH mostra-se promissora não apenas por sua capacidade de preservação dos alimentos, mas também pelo seu potencial em promover efeitos nas propriedades tecnológicas funcionais de seus constituintes (FERREIRA et al., 2008).

3.3.4 Efeitos da APH sobre constituintes do soro de queijo

A APH afeta de forma desigual os constituintes do leite, o que pode ter influência direta no processamento de laticínios. No que se refere ao soro, material de enfoque do presente estudo, a pressurização induz a desnaturação de suas proteínas, sendo a β -lactoglobulina, a enzima mais suscetível a pressão, sensível a tratamentos de 100 a 200 MPa, enquanto a α -lactoalbumina e a albumina de soro bovino (BSA) são estáveis a pressões iguais ou superiores a 400 – 500 MPa. De acordo com López-Fandiño (2006), tratamentos de 200 e 400 MPa, à temperatura ambiente, por 15 a 30 min, podem desnaturar 14 - 16% e 82-90% de β -lactoglobulina, respectivamente. Para α -lactoalbumina, é necessário o emprego de 600 MPa para que haja desnaturação de 15 - 33% da proteína, considerando leite bovino processado na mesma condição de tempo e temperatura (LÓPEZ-FANDIÑO et al., 1996; LÓPEZ-FANDIÑO, 2006).

A variação na barorresistência das proteínas está relacionada à espécie de origem do leite, à estrutura molecular mais rígida da α -lactoalbumina, que possui quatro grupos dissulfeto, contra duas ligações dissulfeto e ao grupo sulfidrila livre que a β -lactoglobulina apresenta, tornando-a mais suscetível. A resistência à alta pressão da α -lactoalbumina também é maior na presença de íons de cálcio, que reforçam sua estrutura terciária. A extensão com que ocorre a desnaturação das proteínas do soro pelo tratamento de alta pressão, também é reduzida pela remoção de fosfato de cálcio coloidal. Temperaturas mais altas conferem aumento na desnaturação pela APH da α -lactoalbumina e β -lactoglobulina, indicando um efeito de sinergia entre temperatura e pressão (PFLANZER, 2008).

Investiga-se o efeito da pressurização sobre a produção de isolados de proteínas de soro com menor alergenicidade. Pressões moderadas (400 MPa) têm sido utilizadas como adjuvantes ao tratamento enzimático das proteínas, favorecendo a hidrólise e a obtenção de produtos com reduzido potencial alergênico, expandindo o mercado consumidor (CHICÓN et al., 2008; CHICÓN et al., 2009).

O efeito da APH sobre o teor de lactose é relevante, dada a importância deste carboidrato para a produção de bebidas lácteas fermentadas e não fermentadas. A lactose pode ser isomerizada em lactulose por ação do aquecimento e, em seguida, degradar-se formando ácidos e outros açúcares (CHAWLA et al. 2011). No entanto, poucos trabalhos relacionam a influência da APH sobre este componente. López-Fandiño et al. (1996) relatam ausência de alterações no conteúdo quantitativo e qualitativo de lactose após o tratamento do leite a pressões de 100 a 400 MPa, em 10-60 minutos, a 25°C, sugerindo que não há reação de *Maillard* ou isomerização após o tratamento a alta pressão.

A APH também atua sobre a gordura, com efeito dependente da magnitude da pressão e da temperatura aplicadas no processo. Em estudo conduzido por Gervilla et al. (2001), pressões superiores a 500 MPa, a 25 °C e 50 °C, aumentaram o número de glóbulos de gordura de 1 a 2 μ m e diminuíram os glóbulos de 2 a 10 μ m em leite de ovelha, sem causar dano à membrana. Tal tendência da APH foi inversa ao que ocorre nos processos térmicos tradicionais, que causam modificação da estrutura de membrana, facilitando a ação de lipases sobre o conteúdo de gordura e favorecendo a lipólise. Portanto, sugere-se que a pressurização reduz o teor de ácidos graxos livres, evitando a produção de *off flavours* no leite e consequentemente, garantindo melhor qualidade dos derivados.

Com relação aos componentes responsáveis pelas características nutricionais, a APH a temperaturas moderadas rompe apenas ligações químicas relativamente fracas, ao contrário dos tratamentos térmicos, que podem afetar ligações covalentes e não covalentes dos alimentos. Assim, moléculas bioativas tais como vitaminas, aminoácidos, açúcares simples e compostos responsáveis pelo sabor e odor permanecem inalterados (CHAWLA et al., 2011).

3.3.5 Efeitos da APH sobre segurança microbiológica de produtos lácteos e produtos de frutas e vegetais

O efeito da pressurização sobre os microrganismos depende das condições de processamento, como pressão, tempo, temperatura e número de ciclos. Pressões entre 400 e 600 MPa, por exemplo, são capazes de inativar os principais microrganismos presentes no leite. No entanto, não são suficientes para promover a esterilização, uma vez que esporos bacterianos são resistentes ao processo, podendo ser necessárias pressões superiores a 1000 MPa para destruí-los (TRUJILLO et al., 2002).

A matriz do alimento e suas características físico-químicas também são importantes. O pH influencia o efeito da pressão sobre microrganismos, pois a dissociação iônica da água (e de vários ácidos fracos) aumenta sob pressão, ocasionando diminuição do pH. Esta redução pode promover desnaturação de proteínas e contribuir para a inativação de microrganismos. O pH ácido aumenta a inativação durante o tratamento e inibe o crescimento de células danificadas, pois são mais sensíveis ao ácido do que as células nativas. A atividade de água também afeta a resistência dos microrganismos à pressão, pois quanto menor ela for, mais as células são protegidas da pressão (CHEFTEL, 1995).

Com relação à fisiologia dos microrganismos, de forma geral, eucariotos são mais suscetíveis à pressão que procariotos. Bolores, leveduras e células vegetativas são mais sensíveis que esporos bacterianos e ascósporos. Em geral, pressões em torno de 300 MPa à temperatura ambiente, por poucos minutos, são suficientes para inativar as primeiras formas; no entanto para as formas de maior resistência são necessárias pressões mais altas. Células em crescimento exponencial são mais suscetíveis do que aquelas em fase estacionária, e microrganismos Gram positivos tendem a ser mais resistentes à pressão que os Gram negativos havendo, no entanto, uma variação considerável na resistência entre estirpes da mesma espécie (SMELT, 1998).

Como a APH afeta somente as ligações químicas não covalentes, os microrganismos são inativados sem afetar significativamente as moléculas dos componentes do alimento. As reações bioquímicas da célula são afetadas uma vez que muitas enzimas são inativadas sob altas pressões. A membrana celular é a primeira estrutura a apresentar comprometimento com o aumento da pressão. A APH provoca mudanças na organização molecular da dupla camada de ácidos fosfolipídicos, além de promover a desnaturação parcial ou irreversível de proteínas e enzimas, propiciando a alteração da permeabilidade à passagem de íons. A membrana perde sua funcionalidade, bem como sua integridade estrutural. As modificações na morfologia celular afetam a absorção de nutrientes e as vias metabólicas de eliminação de resíduos. O colapso da membrana favorece, ainda, a perda de proteínas e RNA para o meio extracelular. Com relação ao material genético, a APH inibe reações enzimáticas envolvidas na replicação e transcrição do DNA microbiano (TIBURSKI, 2009; RENDUELES et al., 2011; HUANG et al., 2014).

É necessário salientar que leite e seus derivados, incluindo o soro de queijo, são alimentos ricos em nutrientes, com alta atividade de água e pH próximo à neutralidade, que constituem-se em um excelente meio para o desenvolvimento de microrganismos, como as bactérias ácido-láticas, microrganismos deteriorantes e patogênicos (CORTEZ, 2013).

Segundo Pflanzler et al. (2008), dentre os microrganismos deteriorantes do leite e derivados, bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. são consideradas as mais importantes. Embora não sejam causadoras de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs), têm importância por serem psicrotróficas, ou seja, por sobreviverem à temperatura de refrigeração e assim causar a deterioração de lácteos refrigerados. Com relação aos patogênicos, os principais causadores de DTAs relacionados aos lácteos são *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Listeria* spp.. Por isso, muitos estudos avaliam a inativação de microrganismos patogênicos e deteriorantes (naturalmente presentes ou inoculados no leite) pela APH (TRUJILLO et al., 2002).

Segundo Trujillo et al. (2002), em leite caprino tratado a 250 MPa, 25°C, *P. fluorescens* apresentou cinética de destruição superior a *Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Lactobacillus helveticus* e *Staphylococcus aureus*. A suscetibilidade da bactéria à pressão foi maior quando o experimento foi realizado à temperatura de 4°C do que quando realizado à temperatura ambiente (25°C).

Staphylococcus aureus são microrganismos causadores de DTAs através da produção de toxinas e estão entre as principais bactérias causadoras de mastite em animais de produção. Bozoglu et al. (2004) relataram uma inativação maior que 7 ciclos logarítmicos (log) quando leite UHT foi tratado a 350 MPa, 45 °C por 10 min, tendo sido encontradas células viáveis apenas após 15 dias de estocagem a 4 °C. Huppertz et al. (2006) avaliaram o efeito da APH sobre *S. aureus* NCTC 10652 e encontraram inativação de 5 ciclos log quando leite UHT foi submetido à 600 MPa, 20°C por 30 minutos. Já López-Pedemonte et al. (2007a) inocularam duas linhagens de *S. aureus* (CECT4013 e ATCC13565) em leite pasteurizado destinado à fabricação de queijos e o submetem à pressurização a 300, 400 e 500 MPa, 5°C ou 20°C, por 10 minutos. A contagem de *S. aureus* foi menor quanto maior o nível de pressão aplicado e o tempo de maturação (tempo máximo considerado foi de 30 dias), não havendo influência da temperatura. No entanto, foi possível detectar a toxina em todas as amostras de queijo contendo a linhagem ATCC 13565, antes e depois da APH e 30 dias após a maturação, o que sugere que mais estudos devem ser conduzidos para detectar os efeitos sobre a toxina estafilocócica.

Yersinia enterocolitica é uma bactéria psicrotrófica também relacionada à ocorrência de DTAs. Castellví et al. (2005) inocularam leite UHT desnatado com quatro sorotipos patogênicos de *Y. enterocolitica* e o submetem à pressurização, concluindo que todos os sorotipos foram completamente inativados (redução de 8 ciclos log) quando as amostras foram tratadas a 400 MPa, 20 °C, por 10 minutos.

As salmoneloses estão entre as principais DTAs no mundo, inclusive no Brasil, podendo estar relacionadas a diversos alimentos, dentre os quais produtos lácteos. Guan et al. (2005) demonstraram a inativação de 5 ciclos log de *Salmonella typhimurium* DT 104 em leite UHT integral, utilizando 450 MPa, 21 °C por 30 minutos.

Escherichia coli é o maior indicador sanitário em produção de alimentos, e vários sorotipos podem causar infecções ou intoxicações alimentares. Dentre estes, *E. coli* O157:H7 tem sido relacionado a surtos graves. Huppertz et al. (2006) relataram que em leite UHT experimentalmente inoculado com *E. coli* O157:H7 NCTC 12079, tratamentos por pressurização, a 700 MPa, 40°C por 15 minutos e 200 MPa, 60°C por 15 minutos, foram capazes de reduzir a contagem de bactérias em 8 ciclos log.

Listeria spp. é um patógeno de grande importância na indústria de laticínios, por conta de sua ampla distribuição. Pode manter-se viável inclusive em produtos lácteos mantidos sob refrigeração ou mesmo naqueles que tenham passado por etapas de processamento, e apresentem longa vida de prateleira (LÓPEZ-PEDEMONTE et al., 2007b). Segundo Huppertz et al. (2006), em leite UHT tratado por 700 MPa, 20°C por 10 minutos, foi possível observar

uma redução de 7,5 ciclos log na contagem de *L. monocytogenes* Scott A. No entanto, a maior parte dos estudos têm avaliado os efeitos da APH em queijos para a inativação de *Listeria* spp.. Em pesquisas conduzidas por Szczawinski et al. (1997) e Gallot-Lavallé (1998), a pressurização foi capaz de promover a inativação de *L. monocytogenes* em queijos obtidos de leite bovino e ovino, respectivamente, sem causar prejuízo a suas características sensoriais. Já López-Pedemonte et al. (2007b) relataram que o emprego de APH associado ao aquecimento brando, tempo de maturação adequado e refrigeração foram capazes de garantir a segurança microbiológica de queijos.

Esporos são mais resistentes que células vegetativas, no entanto, também podem ser estimulados a germinar quando expostos a pressões da ordem de 50 a 300 MPa. Os esporos germinados podem ser inativados pela aplicação de calor associada à pressão ou por pressões moderadas (SMELT, 1998; CHAWLA et al., 2011).

Wuytack et al. (1998) avaliaram a indução da germinação de esporos bacterianos por APH e demonstraram que a inativação a 600 MPa foi maior quando havia pré-tratamentos em pressões de até 200 MPa, do que em pré-tratamentos com 500 MPa, sugerindo que baixas pressões ativam um sistema enzimático responsável pela germinação, o que não ocorre em altas pressões. Em termos de inativação, para *Bacillus cereus* o melhor tratamento encontrado propiciou redução superior a 6 ciclos log na contagem de quatro cepas, utilizando duas fases: a primeira a 200 MPa/45 °C/10 minutos e a segunda a 200 MPa/60 °C, também por 10 min. O resultado do tratamento combinado foi melhor que em um único tratamento, a 500 MPa/45 °C/10 minutos (WUYTACK et al., 1998). Aouhadi et al. (2013) avaliaram o efeito da pressurização sobre *Bacillus sporothermodurans*, pela metodologia de superfície de resposta em água destilada e leite. Para a redução de 5 ciclos log na contagem de esporos no leite, as condições ideais foram 495 MPa, 49°C e 30 minutos, demonstrando a eficiência da APH associada à temperatura moderada para a inativação de esporos. Um tratamento como este poderia ser utilizado na indústria de modo a garantir a esterilidade comercial de leite, uma vez que esporos de algumas cepas de *Bacillus* spp. (*Geobacillus stearothermophilus*) são comuns nos produtos lácteos e resistentes ao tratamento UHT.

A maior parte das pesquisas envolvendo APH e lácteos referem-se a microrganismos patogênicos e bactérias ácido-láticas. Poucos estudos trataram do efeito sobre fungos, principalmente no escopo de produtos lácteos. Martínez-Rodríguez et al. (2014) investigaram o efeito da tecnologia em diferentes faixas de pressão (300, 400 e 500 MPa) sobre o desenvolvimento micelial, viabilidade dos esporos e atividade lipolítica e proteolítica de *Penicillium roqueforti* PV-LYO 10D. Os autores demonstraram que a pressurização foi capaz de controlar o crescimento micelial, inativar esporos e modificar a atividade enzimática, o que pode ser interessante para obter queijos e outros produtos com maior vida de prateleira.

É importante destacar que os estudos que envolvem a inativação de microrganismos através da APH podem ser conduzidos em solução tampão, caldo nutriente ou no próprio alimento. De modo geral, a inativação em soluções tampão ou em caldo nutriente é mais eficiente, o que pode ser atribuído a um efeito baroprotetor do leite sobre os microrganismos, devido possivelmente ao teor de gordura, sólidos e carboidratos (USAJEWICZ; NALEPA, 2006; YALDAGARD et al., 2008; AOUHADI et al., 2013).

Frutas e sucos de fruta também são excelentes meios de cultura, principalmente para microrganismos adaptados a ambientes ácidos (pH<4,0), como as próprias bactérias ácido láticas, bolores e leveduras (SCOLARI et al., 2015). A APH é considerada um método confiável e promissor para destruir microrganismos patogênicos e eliminar grande proporção (> 90%) daqueles causadores de deterioração nestes alimentos. Diferente dos lácteos, vários estudos envolvendo alta pressão e produtos de fruta têm avaliado os efeitos da tecnologia também sobre fungos. Sucos de frutas são normalmente processados em pressões iguais ou

maiores que 400 MPa por alguns minutos à temperaturas de 20°C ou inferiores. Este tratamento reduz significativamente o número de fungos filamentosos e leveduras (FERREIRA et al. 2008). No entanto, para esporos ou microrganismos resistentes ao calor, podem ser necessários tratamentos mais intensos, conforme relatado por Hayakawa (1994) e Patazca (2006) para *Geobacillus stearothermophilus*, onde a inativação microbiana só foi possível com o aumento da temperatura e da pressão.

Bayindirli et al. (2006) verificaram completa inativação de *S. aureus*, *E. coli* O157:H7 e *Salmonella* Enteritidis em sucos de maçã, laranja, damasco e cereja tratados a 350MPa a 40°C por 5 minutos. Rosenthal et al. (2002), estudaram a inativação de *Zygosaccharomyces bailii* em sucos de abacaxi, laranja, maçã e tomate e observaram que um tratamento a 300 MPa, por curto período de tempo, foi suficiente para reduzir de 4 a 5 ciclos log nestes substratos. Raso et al. (1999) promoveram uma inativação de 5 ciclos log de *Z. bailii* em diversos sucos de frutas (laranja, abacaxi, maçã, uva e *cranberry*), porém conseguiram uma redução de apenas 2 ciclos log na população de ascósporos no mesmo substrato. Park et al. (2001) investigaram o efeito do tratamento com APH na inativação de *Lactobacillus viridescens*. Foram aplicadas pressões de 400, 500 e 600 MPa por 5 minutos, reduzindo a contagem de células em 2, 7 e 8 ciclos log, respectivamente. A combinação de alta pressão e temperatura apresentou efeito sinérgico na inativação microbiana, assim como no estudo conduzido por Scolari et al. (2015), que investigaram a inativação de *Z. bailii* e *Listeria monocytogenes* em *smoothies* e relataram que, para ambas as espécies, foi observada maior letalidade quando a pressão de 300 MPa foi combinada a temperaturas de -5 e 45°C.

Para polpa de abacaxi, Marcellini (2005) concluiu que o processamento a 300MPa/25°C/5min reduziu a contagem de fungos filamentosos e leveduras a níveis não detectáveis. Avaliando polpa de manga, Kaushik et al. (2014) observaram maior sensibilidade de coliformes e maior resistência de fungos e leveduras à pressão, considerando o grupo de microrganismos estudados (aeróbios mesófilos, coliformes, fungos filamentosos e leveduras, psicrotróficos e bactérias ácido lácticas), em diferentes combinações de tempo e pressão. O tratamento de 600 MPa por 5 min foi o que teve melhor desempenho na redução da microbiota concomitantemente à manutenção de características sensoriais favoráveis. Varela-Santos et al. (2012) demonstraram que, em suco de romã, tratamentos a partir de 350 MPa por 1,5 min foram capazes de reduzir a população de aeróbios mesófilos e bolores e leveduras, para níveis mínimos. Já para Ferrari et al. (2010) e Chen et al. (2013) tratamentos a 400 MPa por 5 min foram suficientes para a inativação microbiana neste mesmo substrato. A redução para níveis mínimos na população de bolores e leveduras também foi relatada por Laboissière et al. (2007) para suco de maracujá processado a 300 MPa/5 min/25°C e por Tiburski (2009) para polpa de cajá processada sob pressão igual ou superior a 300 MPa.

Assim, ressalta-se que à medida que a indústria investe na APH como uma tecnologia substituinte ou complementar aos processos tradicionais, deve-se investir também em novos estudos que investiguem seus efeitos sobre a segurança microbiológica dos alimentos. Há certa complexidade ao considerar tal aspecto, uma vez que a barorresistência dos microrganismos não é uniforme. A aplicação de condições inadequadas de pressão pode ser incapaz de impedir o desenvolvimento microbiano, resultando em falhas na segurança alimentar. Por este motivo, antes de desenvolver um produto por APH, deve-se compreender as características dos microrganismos patogênicos em relação à pressão, assim como seu comportamento após a aplicação da pressão (HUANG et al., 2014).

A principal função da pasteurização é garantir a segurança microbiológica do alimento com a inibição de microrganismos patogênicos, através do emprego de calor. No entanto, é necessário avaliar cuidadosamente as condições do binômio tempo-temperatura para o êxito do processo, a fim de se obter um alimento com a menor carga microbiana possível, evitando

possíveis danos na qualidade por conta das altas temperaturas. A APH surge como uma alternativa viável para inibir patogênicos, mantendo no alimento características de um processamento mínimo (HUANG et al., 2014).

3.3.6 Efeitos da APH sobre características físico-químicas de produtos lácteos e produtos de frutas e vegetais

A determinação das características físico-químicas dos alimentos é importante pois indica a qualidade geral dos produtos, além de fornecer bom indicativo quanto aos atributos sensoriais. No Quadro 1 estão sintetizados alguns estudos que investigaram os efeitos da alta pressão sobre características físico-químicas de produtos diversos. De forma geral, como pode ser observado, a APH mantém as características físico-químicas iniciais dos alimentos.

Quadro 1. Efeitos da APH sobre características físico-químicas de produtos lácteos e produtos de frutas e vegetais.

Produto	Condição de processo	Resultado	Referência
Suco de laranja	400 MPa/40°C/ 1min	pH e acidez não foram afetados; aumento no teor de sólidos solúveis (°Brix)	SÁNCHEZ-MORENO et al., 2005
Suco de limão, laranja e cenoura	500 - 800 MPa/ T°C ambiente/5 min	Sem alterações na em pH, °Brix e acidez total logo após o processamento e durante armazenamento a 4°C por 21 dias	FERNÁNDEZ GARCÍA et al., 2001
Suco de laranja	600MPa/20°C/ 1min	Sem alterações na em pH, °Brix e acidez total logo após o processamento e durante armazenamento a 4°C por 12 semanas	BULL et al., 2004
Polpa de manga	100 - 600 MPa/T°C amb /1 s - 20 min	Sem alterações em °Brix, aumento da acidez total e diminuição do pH	KAUSHIK et al., 2014
Suco de romã	400 MPa/5 min	Sem alterações em pH, °Brix e acidez total	CHEN et al., 2013
Suco de mirtilo	200-600 MPa/5, 9, 15 min	Sem alterações em pH e °Brix	BARBA et al., 2013
Polpa de kiwi	500 MPa/ 3 min	Sem alterações em pH e °Brix logo após o processamento e durante armazenamento a 4°C por 40 dias	FERNÁNDEZ-SESTELO et al., 2013
Bebida mista de leite e laranja	100-400 MPa/ 2 - 9 min	Sem alterações em pH e °Brix. Decréscimo na turbidez para amostras processadas a > 200 MPa	BARBA et al., 2012b
Leite	200 MPa/ - 4°C/ 10 - 30 min	Sem alterações no pH	KIM et al., 2008

3.3.7 Efeitos da APH sobre compostos bioativos de produtos lácteos e produtos de frutas e vegetais

Vários compostos presentes nos alimentos podem agir como antioxidantes, como metais (selênio e zinco), vitamina C, A e E, e compostos fenólicos. O tratamento por APH influencia a estabilidade de vitaminas e o rendimento da extração de compostos bioativos, o que também pode afetar a capacidade antioxidante (OEY et al., 2008).

Não há consenso sobre o método analítico para a determinação da capacidade antioxidante nem para os resultados, sendo estes dependentes do alimento em questão e das condições de processamento e armazenamento. No Quadro 2 estão relatados alguns estudos sobre efeitos da APH sobre a capacidade antioxidante.

Quadro 2. Efeitos da APH sobre a capacidade antioxidante em produtos de frutas ou vegetais

Produto	Condição de processo	Resultado	Método*	Referência
Suco de laranja	400 MPa/42°C/5min	Retenção de ~ 96% da capacidade antioxidante	TEAC	ESTEVE; FRÍGOLA, 2008
Suco de limão, laranja e cenoura	500 - 800 MPa/ T°C ambiente/5 min	Sem alterações na capacidade antioxidante logo após o processamento e durante armazenamento a 4°C por 21 dias	DPPH	FERNÁNDEZ GARCÍA et al., 2001
Polpa de amora	600 MPa/20°C /15 min	Aumento da capacidade antioxidante em 67% com relação a amostras controle	DPPH	PATRAS et al., 2009
Polpa de morango	600 MPa/20°C /15 min	Retenção de aproximadamente 86% da capacidade antioxidante	DPPH	PATRAS et al., 2009
Suco de maçã	600 MPa/60°C /30 min	Retenção de ~ 75% da capacidade antioxidante, com teor inalterado em 4 meses de armazenamento	TEAC	FERNÁNDEZ GARCÍA et al., 2000
Suco de romã	400 MPa/5 min	Retenção de 96 e 95% da capacidade antioxidante, respectivamente para os métodos	FRAP/ DPPH	CHEN et al., 2013
Suco de mirtilo	200 MPa/5 min	Retenção de ~ 100% da capacidade antioxidante	TEAC	BARBA et al., 2013
Smoothie de frutas	450 MPa/1,3,5 min	Redução da capacidade antioxidante em amostras pressurizadas armazenadas por até 30 dias	FRAP/ DPPH	KEENAN et al., 2010
Bebida de leite e laranja	200 MPa/7 min	Retenção de aproximadamente 106 e 104% da capacidade antioxidante, respectivamente para os métodos	TEAC/ ORAC	BARBA et al., 2012b

***TEAC:** Trolox Equivalent Antioxidant Capacity; **DPPH:** Radical Scavenging Assay; **FRAP:** Ferric-Reducing Antioxidant Power; **ORAC:** Oxygen Radical Absorbance Capacity

Embora alguns estudos relatem aumento ou diminuição da capacidade antioxidante, as alterações geralmente são discretas. Em linhas gerais, a capacidade antioxidante é preservada em alimentos pressurizados.

Compostos fenólicos e antocianinas são moléculas que costumam apresentar certa estabilidade ao processamento por alta pressão. Embora ocorra degradação das antocianinas à medida que a pressão aumenta, estes compostos apresentam maior sensibilidade ao calor do que à pressão.

Patras et al. (2009) submeteram polpa de morango e amora à pressurização (400, 500, 600 MPa/15 min/10–30 °C) e relataram que, para ambas, não houve diferença entre o conteúdo de antocianinas das polpas pressurizadas e controle. Levando em consideração os compostos fenólicos, o processamento a 600 MPa permitiu a retenção de aproximadamente 110 e 105% do conteúdo de fenólicos para polpa de morango e amora, respectivamente. Resultados semelhantes foram relatados por Cao et al. (2011), que também avaliaram polpa de morango nesta mesma faixa de pressão, mas por tempos de 5 a 25 min. O teor de fenólicos foi maior a 500 e 600 MPa, não sendo observada diferença para as antocianinas.

Ferrari et al. (2010) investigaram o efeito de tratamentos de 400 - 600 MPa/25, 45, 50 °C/ 5 e 10 min em suco de romã. Para todos os níveis de pressão, a 25 e 45°C, 5 e 10 min, houve redução no conteúdo de compostos fenólicos. Entretanto, para as amostras pressurizadas a 400 MPa/55°C/5 e 10 min, o teor de fenólicos aumentou na proporção de 9 e 41%, respectivamente. O tratamento à temperatura mais elevada também proporcionou maior retenção de antocianinas. Em estudo subsequente, os mesmos autores submeteram *mousses* de frutas vermelhas a 500 MPa/50°C/10 min e observaram aumento do conteúdo de fenólicos logo após o processamento. Entretanto, para suco de romã pressurizado a 400 MPa/25°C/5 min, houve decréscimo deste mesmo parâmetro (FERRARI et al., 2011). Para este mesmo produto processado a 400 MPa/5 min, Chen et al. (2013) obtiveram aproximadamente 103% de retenção para compostos fenólicos e redução de 11% no conteúdo de antocianinas. Varela-Santos et al. (2012) também estudaram suco de romã pressurizado a 350 - 550 MPa/ 30, 90, 150 s. Logo após o processamento, houve aumento no conteúdo de fenólicos para todos os tratamentos, sendo a maior retenção observada a 450 MPa/150 s (~117%). Após 35 dias de armazenamento a 4°C, foi observado comportamento semelhante para as amostras pressurizadas em relação à controle.

Barba et al. (2013) investigaram o efeito do processamento a 200 - 600 MPa/5, 9 e 15 min em suco de mirtilo. Houve aumento no teor de fenólicos de todas as amostras pressurizadas, tendo a melhor retenção ocorrido para a amostra processada a 200 MPa/5 min (128%). Comportamento semelhante foi encontrado para as antocianinas, tendo o processamento a 400 MPa/15 min sido responsável pela retenção máxima (~115%).

3.3.8 Efeitos da APH sobre a cor de produtos lácteos e produtos de frutas e vegetais

A cor dos alimentos é um atributo importante na preferência do consumidor e, por isso, é utilizada como parâmetro de qualidade na indústria de sucos, além de indicar a qualidade sensorial e nutricional durante o processamento e armazenamento. A cor pode ser expressa de diferentes formas, sendo a mais comum através da escala CIE $L^*a^*b^*$ ou CIELAB (BARBA et al., 2012a). O espaço de cor CIELAB está organizado em uma área cúbica onde o eixo L^* é executado de cima para baixo. A máxima é de 100 para L^* , que representa um perfeito difusor refletindo (branco). O mínimo de L^* é igual a zero (preto). Os eixos a^* e b^* não apresentam limites numéricos, porém costuma-se tomar como referência 60 unidades de cor. Para a^* positivo, há uma tendência a vermelho, e negativo, a verde. Para b^* positivo, há uma tendência a amarelo, e negativo, a azul. Outro atributo comumente avaliado

é a diferença total de cor (ΔE), que indica a magnitude da diferença de cor entre amostras processadas e não processadas. Na Figura 6 estão expostas variações no valor de L^* (luminosidade) em diferentes bebidas após o processamento por alta pressão.

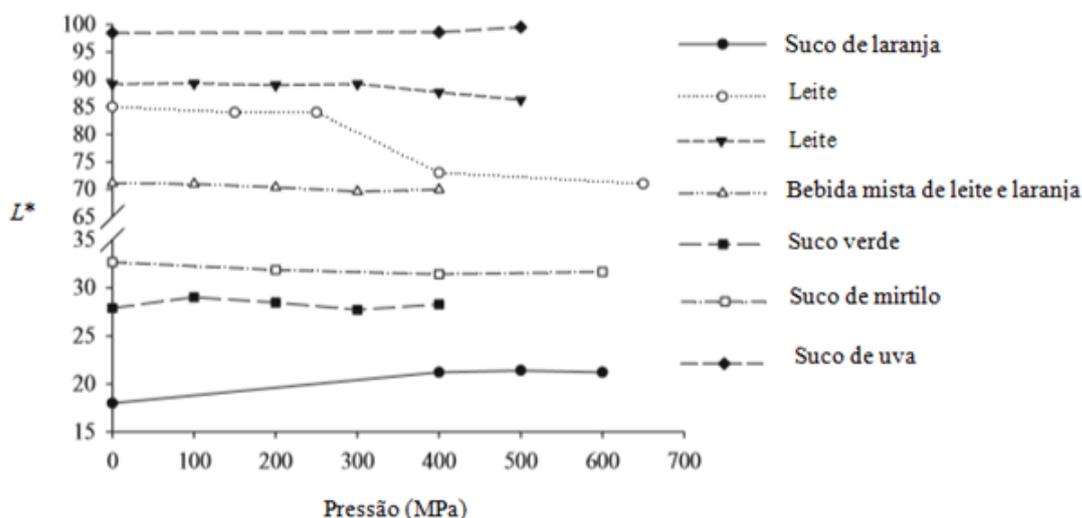


Figura 6. Alterações em L^* para diferentes produtos após o processamento por APH (adaptado de BARBA et al., 2012a).

O tratamento com APH a temperaturas baixas e moderadas tem efeito limitado nos pigmentos responsáveis pela cor de frutas e vegetais (clorofila, carotenoides, antocianinas, etc.), podendo haver estabilidade ou não da cor destes pigmentos após a pressurização. No entanto, podem ocorrer mudanças na cor durante o armazenamento devido à inativação incompleta de enzimas e microrganismos, que podem resultar em reações indesejáveis (OEY et al., 2008).

Suco de laranja (BULL et al., 2004; DONSI et al., 1996; POLYDERA et al., 2005), suco de tomate (HSU, 2013), polpa de cajá (TIBURSKI, 2009), polpa de manga (AHMED et al., 2005; LIU et al., 2014), suco de uva branco (DAOUDI et al., 2002) e suco de abacaxi (MARCELLINI, 2005) são algumas das bebidas para as quais foi demonstrada a estabilidade da cor ao tratamento de APH.

Para leite de ovelha pressurizado a 100 - 500 MPa, 4, 25 e 50°C, durante 10 e 30 min, a diferença total de cor (ΔE) aumentou com a pressão, temperatura e tempo. Foi observado decréscimo em L^* e acréscimo de coloração verde ($-a^*$) e amarela ($+b^*$) (GERVILLA et al., 2001). Barba et al. (2012b) avaliaram o efeito da alta pressão (100, 200, 300, 400 MPa, por 2, 5, 7, 9 min) e do tratamento térmico convencional (90 e 98°C, por 15 e 21s) sobre uma bebida mista de leite e laranja. Os autores verificaram que mudanças na cor foram maiores quando pressão e tempo foram mais altos, com a maior diferença obtida sob 400 MPa/9min. Ainda assim, a pressurização causou menor impacto no ΔE do que a pasteurização.

Para produtos de fruta, Fernández-Sestelo et al. (2013) pressurizaram polpa de kiwi a 500 MPa, 3min e temperatura ambiente e avaliaram a cor durante o armazenamento. As amostras controle apresentaram perda de cor verde (a^*) após o primeiro dia de armazenamento a 4°C, enquanto para as pressurizadas. a perda se iniciou a partir do quinto dia. O escurecimento nas amostras pressurizadas neste experimento foi menor, semelhante ao relatado por Zhang et al. (2011) para suco de melancia. Para polpa de morango e amora, Patras et al. (2009) observaram mudança de cor mínima em amostras pressurizadas (400-600 MPa, 15 min, 10-30°C) e coloração vermelha (a^*) mais intensa nas amostras pressurizadas

que em amostras pasteurizadas, porém menos intensa que nas frescas. O contrário foi observado por Varela-Santos et al. (2012), que submeteram suco de romã a 350-550 MPa por 30, 90 e 150 s e relataram diminuição da cor vermelha (a^*) logo após o processamento, além de aumento de luminosidade (L^*). Já em suco de mirtilo processado a 200, 400 e 600 MPa por 5, 9, 15 min, Barba et al. (2013) observaram decréscimo de L^* em relação às amostras controle. Não foram relatadas mudanças no valor de a^* . Ferrari et al. (2010) sugeriram que a APH à temperatura ambiente aumenta a intensidade da cor vermelha de suco de romã, além de preservar o conteúdo de antocianinas. Para suco de uva, Giménez et al. (2001) também reportaram melhor retenção de cor, devido à melhor extração das antocianinas. Keenan et al. (2010) observaram intensidades de coloração vermelha variável entre amostras de *smoothies* pressurizadas e frescas, tendo aquelas tratadas a 450 MPa por 3 min apresentado maior valor de a^* . No entanto, ao longo do armazenamento por 30 dias, houve perda da cor, que é corroborado por Oey et al. (2008) que relataram a instabilidade de antocianinas durante o armazenamento.

Desta forma, o efeito da APH sobre os pigmentos é muito variável e dependente da matriz alimentícia e das condições de processamento empregadas. Em geral, a pressurização preserva a cor dos alimentos próxima ao natural, enquanto a pasteurização provoca mudanças na cor inicial do produto, por conta da sensibilidade dos pigmentos ao calor.

3.4 Análise Sensorial na Inovação de Alimentos

A análise sensorial é a disciplina usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações às características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição. Em outras palavras, é um método de avaliação que utiliza o homem como instrumento de medida, pois através dos sentidos é que ocorre a avaliação da qualidade e da aceitabilidade de determinados produtos. A análise sensorial investiga as percepções, reações e sensações do consumidor sobre as características dos produtos, incluindo sua aceitação ou rejeição (STONE et al., 2012).

Os métodos sensoriais são divididos em métodos afetivos (testes de aceitação e de preferência) e métodos analíticos (testes discriminativos e descritivos) e sua utilização depende do objetivo do estudo em questão (STONE et al., 2012). Os métodos afetivos têm sido utilizados para obter a percepção global do consumidor sobre o produto. Geralmente requerem grande número de avaliadores, não treinados, selecionados para representar uma população alvo, demandam tempo reduzido (não é necessário treinamento, como nos testes analíticos) e são bastante fidedignos com relação aos resultados (VARELA; ARES, 2012).

A qualidade sensorial de um alimento não é uma característica inerente dele, mas sim o resultado da interação entre ele e o homem. É função dos estímulos provenientes dos alimentos e das condições fisiológicas, sociológicas e contextuais em que o indivíduo avaliador se encontra. Para muitas pessoas, a escolha de um alimento ultrapassa a questão da nutrição e se relaciona ao bem-estar e qualidade de vida (ARES et al., 2014a).

Um ponto a se considerar é que a aceitação de um produto, dito saudável pelo consumidor, está longe de ser incondicional. Mesmo que ele traga benefícios à saúde, estes não vão prevalecer sobre seus atributos sensoriais. A aceitação do produto vai se basear em sua resposta às necessidades do consumidor e no grau de satisfação que é capaz de proporcionar. Por esta razão, a opinião do consumidor deve ser levada em consideração, não apenas para avaliar o produto final, mas em todas as etapas do processo de desenvolvimento (BAYARRI et al., 2011).

Para introduzir um alimento novo com sucesso no mercado consumidor são necessários diversos métodos de análise sensorial. Dentre estes, pode-se destacar o uso de escalas, como a hedônica, escala do ideal e escala de atitude (NOGUEIRA, 2014).

A escala hedônica de nove pontos foi desenvolvida em meados da década de 50, e desde então é um dos principais métodos de análise sensorial para testar a preferência e aceitação dos consumidores, por sua simplicidade e confiabilidade nos resultados. A escala é bipolar e compreende nove categorias relacionadas à magnitude de gostar/desgostar, variando desde "desgostei extremamente" até "gostei extremamente", com uma categoria neutra "nem gostei nem desgostei". A escala hedônica é uma forma de converter para escores numéricos quanto um indivíduo gostou ou desgostou de determinado produto e assim comparar sensações e experiências hedônicas (LIM, 2011).

Outra escala bastante utilizada em testes afetivos é a escala relativa ao ideal (JAR - *just about right scale*). O método visa determinar a adequabilidade de um determinado produto com relação a atributos específicos, combinando a mensuração da intensidade do atributo em questão e a aceitação do consumidor. A escala é bipolar e possui pontos extremos com termos semanticamente opostos, como "muito fraco" e "muito forte", e um ponto intermediário correspondente ao "ideal" ou condição ótima, sob o ponto de vista do consumidor. O teste tem sido amplamente utilizado pela indústria de alimentos em fases iniciais do desenvolvimento de produtos, buscando a otimização dos mesmos (LI et al., 2014).

Escalas de atitude também podem transmitir informações valiosas quanto à disposição do consumidor em adquirir ou consumir o alimento que lhe é oferecido. A escala também é bipolar e possui pontos extremos com termos semânticos opostos como, por exemplo, "certamente compraria"/"compraria sempre" e "certamente não compraria"/"nunca compraria", com número balanceado de categorias entre o ponto intermediário e os extremos (NOGUEIRA, 2014).

Além de métodos que utilizam escalas, outra ferramenta que tem se difundido é o uso do questionário CATA (*check-all-that-apply*) (marque tudo o que se aplica). Neste teste, os participantes são apresentados a um produto e a uma lista de atributos e, após provarem o produto, devem identificar/marcar todos os descritores que considerem adequados para a descrição do produto, não havendo limites no número de características a serem selecionadas. Os descritores não são restritos às características sensoriais, podendo remeter aos aspectos emocionais/sensações, de contexto de uso ou aspectos hedônicos ("suave", "gostoso"). O questionário CATA tem ganhado crescente aplicação por se tratar de um método simples, rápido e confiável para reunir informações sobre a percepção das características sensoriais dos alimentos pelo consumidor, produzindo informação semelhante a de uma análise descritiva realizada por um painel de avaliadores treinados (ARES et al., 2014b).

Através dos resultados destes e outros testes sensoriais é possível identificar quais produtos e quais características dirigem a preferência ou aceitação. Em conjunto com um bom controle microbiológico, físico-químico e nutricional, tais informações podem favorecer o desenvolvimento de alimentos inovadores de sucesso junto ao mercado consumidor.

3.5 Planejamento Experimental

A crescente necessidade de melhoria de produtos e processos, minimizando custos e tempo, maximizando rendimento, produtividade e qualidade de produtos, dentre outros, transforma o planejamento sistemático de experimentos em uma técnica de interesse em diversas áreas do conhecimento. O planejamento experimental é realizado para determinar a influência de diferentes fatores (variáveis independentes) sobre as respostas desejadas (variáveis dependentes), sendo indispensável para obter resultados confiáveis e para que

análises estatísticas consistentes sejam realizadas. Assim, pode-se destacar como vantagens do planejamento experimental aplicado à pesquisa, a possibilidade de redução do número de experimentos ou repetições e a qualidade dos resultados, o que significa sensível diminuição no trabalho, tempo e custo final (RODRIGUES; IEMMA, 2005).

O planejamento fatorial, associado à metodologia de superfícies de resposta (MSR), é uma ferramenta fundamentada na teoria estatística, que fornece informações seguras sobre o processo, minimizando o empirismo que envolve técnicas de tentativa e erro. Os ensaios no ponto central podem fornecer informações úteis sobre o comportamento das respostas entre os níveis atribuídos aos fatores, além de evidenciar a qualidade da repetitividade do processo e da curvatura do plano. A situação ideal é aquela na qual pode-se repetir ensaios nos pontos fatoriais e, além disso, realizar alguns ensaios no ponto central, o que nem sempre é possível quando os ensaios envolvem alto custo e grande demanda de equipamentos e tempo (RODRIGUES; IEMMA, 2005).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Para a fabricação de queijo Minas frescal foi utilizado leite pasteurizado padronizado cedido pela Cooperativa Boa Nova®, situada no município de Valença, Rio de Janeiro. O leite foi adquirido junto a entreposto localizado no Rio de Janeiro, RJ e transportado até as dependências da Embrapa Agroindústria de Alimentos - CTAA (RJ) em caixas isotérmicas, sendo mantido sob temperatura de refrigeração (4 ± 1 °C) até o momento do processamento.

Para a saborização da bebida, foi utilizada polpa de uva pasteurizada (De Marchi®) adquirida no Centro de Abastecimento do Estado da Guanabara - Mercado Municipal do Rio de Janeiro (CADEG). O material foi transportado até a Embrapa-CTAA e mantido sob temperatura de congelamento (-18 ± 1 °C) até o momento do processamento e/ou análises. Para adoçar a bebida foi utilizado açúcar refinado comum (Açúcar União®).

Foi utilizado ácido cítrico anidro P.A. (Alphatec®) para a acidificação das bebidas em quantidade suficiente para alcançar o pH desejado e, quando necessário, citrato de sódio tribásico P.A. (Alphatec®) na proporção de 0,20 g/100 mL de soro, com a função de agente estabilizante.

4.2 Métodos

4.2.1 Obtenção do soro

As embalagens de leite foram higienizadas com água e detergente líquido e o leite foi dispensado em uma panela, onde foi aquecido até 36 ± 1 °C. Em seguida, foi disposto em contentor plástico monobloco, com capacidade para 1.000 litros. Foi adicionado coagulante líquido na proporção de 0,8 mL/L de leite (enzima quimosina para fabricação de queijos - Chr. Hansen®) e cloreto de cálcio (Rica Nata®) na proporção de 0,4 mL/L, conforme recomendação do fabricante. O leite foi deixado em repouso durante 45 minutos para a coagulação. O final da coagulação foi identificado pelo ponto de corte da coalhada, que foi então fragmentada longitudinal e transversalmente com o auxílio de liras (horizontal e vertical) de aço inoxidável, para a obtenção dos grãos. Após o corte, foi realizada a mexedura, de modo a uniformizar o tamanho dos grãos e facilitar a separação entre soro e coalhada. Posteriormente, os grãos foram deixados em repouso por alguns minutos, ainda com o objetivo de favorecer a dessora. Em seguida, foi feita a moldagem em formas plásticas do tipo coador, próprias para a fabricação de queijo Minas frescal de 200-300 g. Foram realizadas três viragens e os queijos foram salgados a seco, acondicionados em embalagens plásticas, devidamente selados e armazenados sob refrigeração (4 ± 1 °C). Todo o soro proveniente do processo foi recuperado. Todos os instrumentos e equipamentos utilizados foram higienizados em água clorada (100 ppm) (SILVA, 2005). A Figura 7 ilustra o processo de fabricação de queijo Minas frescal para a obtenção do soro.



Figura 7. Etapas para a fabricação de queijo Minas frescal e obtenção de soro. Seleção do leite (A); Aquecimento do leite (B); Adição do coalho (C); Ponto de corte da coalhada (D); Corte da coalhada com as liras (E); Aspecto dos grãos (F); Enformagem (G); Dessora dos queijos (H); Obtenção do soro (I).

4.2.2 Obtenção de bebida de soro e uva

A bebida foi formulada a partir da mistura de soro de queijo Minas frescal (cru ou pasteurizado), polpa de uva, açúcar e ácido cítrico. Todos os utensílios utilizados neste processo foram higienizados em água clorada (100 ppm) (SILVA, 2005).

Inicialmente foi realizada a caracterização geral da matéria-prima e, em seguida, testes sensoriais preliminares com pequenos grupos de consumidores foram executados para determinar a proporção de ingredientes a ser utilizada na formulação da bebida de soro e uva. A partir de uma formulação base fixa, foram investigados o pH e a doçura ideal a partir de testes sensoriais com consumidores. A formulação considerada ideal quanto a tais atributos foi submetida aos processamentos de APH e pasteurização térmica. Amostras provenientes de tais tratamentos foram submetidas a análises laboratoriais e, a partir dos resultados destas análises, foi obtida a condição ideal de processamento para o produto final. Por fim, foi realizada uma nova etapa de testes sensoriais com consumidores para avaliar a aceitação do produto final. O processo de obtenção e caracterização da bebida está sintetizado na Figura 8.

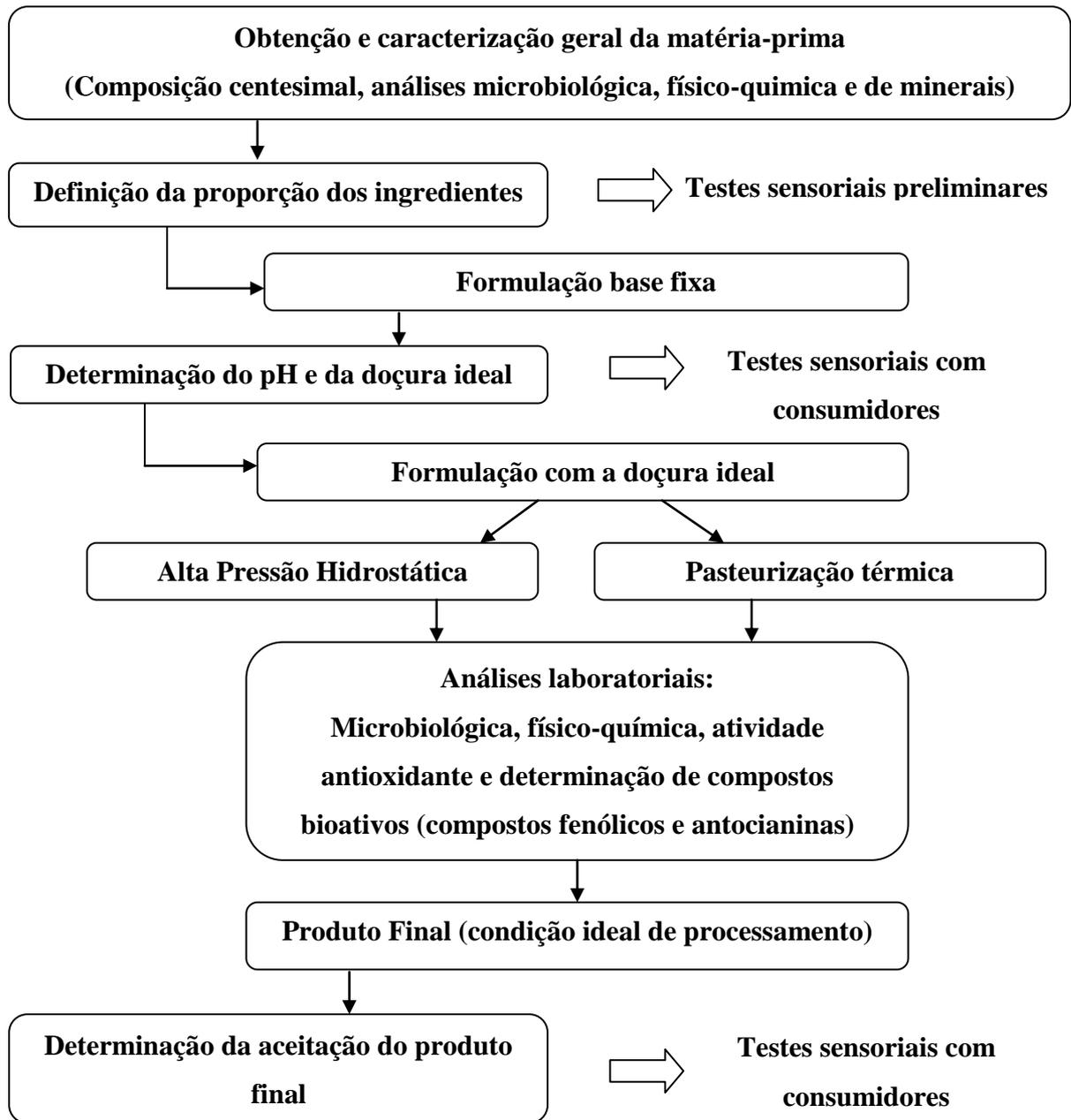


Figura 8. Fluxograma de obtenção e processamento da bebida de soro e uva.

As análises descritas nos tópicos 4.2.3 a 4.2.5 foram realizadas para determinar a qualidade da matéria-prima e do produto final, quando oportuno.

4.2.3 Determinação da composição centesimal e análise de minerais

A determinação da composição centesimal e a análise de minerais foi realizada para caracterizar o soro de queijo Minas frescal e a polpa de uva pasteurizada.

Umidade

O teor de umidade (g água/100 g de soro ou polpa) foi analisado em estufa a vácuo a 70 °C com auxílio de areia, de acordo com AOAC (2005).

Cinzas

A determinação de cinzas (g de cinzas/100 g de soro ou polpa) foi realizada segundo o método de incineração em mufla a 550°C, de acordo com AOAC (2005).

Lipídeos totais (Extrato Etéreo)

A determinação de lipídeos totais (g de lipídeos/100 g de soro) foi realizada por hidrólise ácida em extrator de *Monjonier* destilados com éter de petróleo e éter etílico, segundo AOAC (2005). Para a polpa de uva, a determinação foi feita com extrator automático de gordura, de acordo com método da AOCS Am 5-04 (AOCS, 2005).

Nitrogênio total e proteína bruta

A determinação de nitrogênio total (g de nitrogênio ou de proteína/100 g de soro ou polpa) foi baseada no método de *Kjeldhal* tradicional, de acordo com AOAC (2005). O teor proteico bruto foi calculado pelo produto da quantidade de nitrogênio total (g) pelo fator de conversão 6,38 para o soro e 5,75 para a polpa de uva.

Carboidratos

A quantificação de carboidratos totais foi calculada por diferença em relação à composição centesimal, com base no teor dos demais componentes, segundo a Equação 1, onde:

$$\text{Carboidratos} = 100\% - (\% \text{ Umidade} + \% \text{ Cinzas} + \% \text{ Lipídeos} + \% \text{ Proteína Bruta/Nitrogênio Total}) \text{ (Eq.1)}$$

A análise de fibra alimentar não foi realizada pela irrelevância do conteúdo na matéria-prima.

Análise de Minerais

Analysaram-se os seguintes micronutrientes: sódio, magnésio, potássio, fósforo, cálcio, manganês, cobre, ferro, zinco, alumínio, cromo, cobalto, selênio, chumbo e molibdênio. A digestão da amostra foi feita por mineralização por micro-ondas de cavidade e a quantificação foi realizada em espectrômetro por plasma induzido (Spectro®), conforme AOAC (2005), e o resultado expresso em mg/L.

4.2.4 Determinações físico-químicas

As determinações físico-químicas foram realizadas para caracterizar o soro de queijo Minas frescal, a polpa de uva e a bebida de soro e uva.

pH

O pH médio foi verificado segundo AOAC (2000), empregando-se um eletrodo de um potenciômetro com ajuste automático de temperatura (medidor de pH MPA 210 - MS Tecnopon®), devidamente aferido com soluções tampões de pH 4,0 e pH 7,0.

Acidez titulável

A acidez titulável foi determinada pela titulação de alíquotas de 2,0 mL de soro, polpa ou bebida com NaOH fatorado, em titulador automático Metrohm®, Modelo 785 DMP - Titrino. O resultado foi expresso em g de ácido láctico/100g para o soro e em g de ácido tartárico/100 g de polpa e bebida, conforme AOAC (2005).

Sólidos solúveis

A concentração de sólidos solúveis (°Brix) foi realizada com refratômetro de bancada digital, a 20°C, segundo AOAC (2000).

Relação Brix/acidez (Ratio)

A razão entre os °Brix e a acidez (g ácido tartárico/100 g de polpa), denominada *Ratio*, foi calculada a partir das determinações de acidez e sólidos solúveis (KIMBALL, 1991).

Turbidez (Densidade ótica)

A Densidade Ótica (DO) foi determinada como o aumento da turbidez. 100 µL de amostra foram diluídos em 2900 µL de água destilada e homogeneizados. Foi determinada a absorvância das amostras em comprimento de onda de 650 nm, em espectrofotômetro Biospectro® SP-220 (KEMPKA, 2008).

4.2.5 Análise microbiológica

As análises microbiológicas foram realizadas conforme exposto no Quadro 3, para avaliar as condições higiênico-sanitárias do soro de queijo Minas frescal, da polpa de uva e da bebida de soro e uva. Todas as metodologias foram efetuadas de acordo com o *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (2001) e os resultados expressos em Unidade Formadora de Colônia por grama (UFC/g).

Quadro 3. Análises microbiológicas realizadas na matéria-prima e na bebida

Material	Análises	Referência
Soro de queijo Minas frescal	Contagem padrão em placas de aeróbios mesófilos	MORTON, 2001
	Enumeração de coliformes a 35°C e a 45°C	KOMACKI; JOHNSON, 2001
	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	MIDURA; BRIANT, 2001
Polpa de uva	Contagem padrão em placas de aeróbios mesófilos	MORTON, 2001
	Enumeração de fungos filamentosos e leveduras	BEUCHAT; COUSIN, 2001
Bebidas de soro e uva pasteurizada e pressurizadas	Contagem padrão em placas de aeróbios mesófilos	MORTON, 2001
	Enumeração de fungos filamentosos e leveduras	BEUCHAT; COUSIN, 2001
	Enumeração de coliformes a 35°C e a 45°C	KOMACKI; JOHNSON, 2001
	Detecção de <i>Salmonella</i> spp.	WALLACE et al., 2001

4.2.6 Planejamento experimental

Com o objetivo de estudar os efeitos da pressão e do tempo de retenção nas características da bebida de soro e uva, utilizou-se uma metodologia de superfície de resposta (MSR). Para o estudo de duas variáveis independentes pode ser utilizado um delineamento composto central rotacional (DCCR). Um DCCR pode conter 2^k pontos fatoriais, mais $2 \times K$ pontos axiais, além de um número arbitrário de pontos centrais. Adotou-se um DCCR com duas variáveis independentes (pressão e tempo de retenção). Os níveis dos pontos fatoriais corresponderam a +1 e -1, os do ponto central a zero e os níveis dos pontos axiais foram

calculados a partir de $\pm\alpha$, onde $\alpha = (2^k)^{1/4}$. Assim, para dois fatores $\alpha = 1,4142$, e os valores reais das variáveis independentes foram calculados através da seguinte relação:

$$x_i^* = \frac{x_i - x_{pc}}{\Delta x_i}$$

Onde x_i^* representa o valor codificado da variável independente, x_i o valor real da variável independente, x_{pc} o valor real da variável independente no ponto central, e Δx_i a variação real entre o ponto central e os pontos fatoriais. (Tabela 3).

Tabela 3. Intervalos de estudo para as variáveis experimentais com os limites inferiores e superiores de pressão (MPa) e tempo (min)

Variável		Níveis				
		-1,414	-1	0	+1	+1,414
Pressão (MPa)	x1	210	250	350	450	490
Tempo (min)	x2	3	4	7	10	11

O DCCR foi composto por três partes: ensaio fatorial completo, contendo 4 pontos (2^2); pontos axiais, contendo 4 pontos e análise do ponto central, com 3 pontos (Tabela 4). A Tabela 4 representa a matriz do delineamento experimental para os 11 ensaios. As colunas denominadas x_1 e x_2 representam os valores codificados utilizados no presente estudo e as denominadas por Pressão (MPa) e Tempo (min), os valores reais.

Tabela 4. Delineamento experimental para o processamento por APH

Ensaio	x1	x2	Pressão (MPa)	Tempo (min)
1	-1	-1	250	4
2	+1	-1	450	4
3	-1	+1	250	10
4	+1	+1	450	10
5	0	-1,414	350	3
6	0	+1,414	350	11
7	-1,414	0	210	7
8	+1,414	0	490	7
9	0	0	350	7
10	0	0	350	7
11	0	0	350	7

As variáveis resposta estudadas foram: pH, acidez titulável, teor de sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), turbidez, redução microbiana de aeróbios mesófilos, fungos filamentosos e leveduras, enumeração de coliformes a 35°C e a 45°C e *Salmonella*, teor de compostos fenólicos, de

antocianinas, capacidade antioxidante e cor. Para a MSR foram considerados os resultados dos 11 ensaios, que foram conduzidos à temperatura ambiente.

Utilizou-se um modelo polinomial de segunda ordem para ajustar as respostas experimentais em função das variáveis independentes:

$$y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_{12}x_1x_2 + \beta_{11}x_1^2 + \beta_{22}x_2^2 + \varepsilon$$

onde y representa a variável de resposta, β_0 , uma constante, β_1 , β_2 e β_{12} , os coeficientes lineares, β_{11} , β_{22} , os coeficientes quadráticos da equação, x_1 e x_2 as variáveis independentes (pressão e tempo de retenção, respectivamente) e ε , o erro experimental.

Foi realizada a Análise de Variância (ANOVA), com $p=0,05$, para cada variável resposta, para determinar os coeficientes lineares, quadráticos e de interação, assim como a adequação dos dados ao modelo e o Teste de Tukey para a comparação de médias. Os coeficientes de regressão foram usados para gerar os mapas de contorno e as superfícies de resposta. A análise estatística foi executada nos *Softwares* STATISTICA® (STATSOFT, 2007) e XLSTAT® (ADDINSOFT, 2015).

4.2.7 Processamento térmico e por APH

Para a realização do teste sensorial para a determinação da doçura ideal da bebida de soro e uva, a pasteurização foi realizada em trocador de calor de superfície raspada, modelo ARMFIELD tipo FT 25 D para produtos viscosos. O sistema do pasteurizador é composto por seção de entrada, pré-aquecimento, aquecimento, retenção e resfriamento. O soro foi pasteurizado a 72°C por 30 segundos. O material foi envasado em sistema ultra-limpo, sendo utilizadas garrafas de vidro previamente sanitizadas em água clorada (100 ppm) e esterilizadas em água fervente. O soro foi imediatamente acondicionado sob refrigeração ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) até o momento da formulação da bebida.

Para a realização das análises laboratoriais e da análise sensorial do produto final, a bebida de soro e uva foi pasteurizada a 70°C em fogão convencional. A temperatura foi elevada até atingir 70°C, quando a bebida foi então envasada a quente em garrafas de vidro higienizadas e esterilizadas. Em seguida, o material foi submetido a choque térmico em banho de gelo para o abaixamento da temperatura e, finalmente, armazenado sob refrigeração ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) até o momento das análises.

O tratamento de alta pressão foi realizado em um equipamento marca *Stansted Fluid Power* Ltda., Stansted, Inglaterra, delineado para ambiente laboratorial, para processamento de alimentos ou pesquisa biológica. O aparelho fica localizado em local bem ventilado protegido de temperaturas extremas e de umidade, na Embrapa-CTAA.

O recipiente de pressão, que acomoda a amostra do alimento a ser processado, possui uma dimensão de 37 mm de diâmetro e 246 mm de largura, comportando no máximo 200 mL de alimentos líquidos pré-embalados. Compreende um cilindro vazado com orifícios esféricos por onde circula o fluido pressurizante, que pode ser etanol, óleo de linhaça ou água. A mistura de água e etanol (30/70 v/v) foi utilizada como meio de pressurização, como indicado pelo fabricante do equipamento. O equipamento pode operar com pressões de até 600MPa e tempo de até 30 minutos. O vaso de pressão encamisado é conectado a um banho d'água termostático, permitindo a refrigeração ou o aquecimento durante o processamento. Na Figura 9 está ilustrado o equipamento de APH utilizado no experimento.



Figura 9. Equipamento de APH *Stansted Fluid Power*.

A bebida foi submetida à pressurização conforme delineamento experimental da Tabela 4. Para isto, as amostras foram colocadas em sacos de polietileno estéreis (*Whirl-Pak*, Nasco, EUA) de aproximadamente 200 mL de capacidade e resistentes à pressão. As embalagens foram termosseladas, evitando-se a presença de ar no seu interior e colocadas na câmara de pressão. O equipamento foi fechado e o meio pressurizante (álcool 70%) preencheu a câmara. Após completar o ciclo de pressurização - tempo de retenção - despressurização, o equipamento foi aberto e as embalagens removidas da câmara. Na Figura 10 está ilustrada a bebida de soro e uva embalada, antes de ser submetida à pressurização.



Figura 10. Bebida de soro e uva em sacos de polietileno antes da pressurização.

As análises dos itens 4.2.8 a 4.2.11 foram realizadas na matéria-prima quando conveniente e na bebida processada.

4.2.8 Quantificação de fenólicos totais

A quantificação de fenólicos totais foi realizada na polpa de uva e nas bebidas formuladas e processadas termicamente ou por APH. Para a quantificação de fenólicos totais foi utilizada a metodologia com Reagente de *Folin Ciocalteu*, conforme Georgé et al. (2005). A massa de amostra utilizada para a extração foi definida através de testes preliminares de maneira que a absorbância estivesse dentro dos limites da curva padrão (0,1 a 0,6). Utilizou-se 2,0 e 9,0 gramas de polpa e bebida, respectivamente, para 50 mL de solução de extração

(acetona 70%). A extração foi feita sob agitação magnética por 30 minutos em frascos âmbar. O extrato foi filtrado (papel filtro quantitativo faixa preta *Quanty*®) e 1 mL foi diluído em 10 mL de água. Em um tubo de ensaio, colocou-se 0,5 mL do extrato diluído, adicionou-se 2,5 mL de solução de *Folin Ciocalteu* 10% (Sigma Aldrich®, Alemanha) e agitou-se em *vortex*. Após 2 minutos, adicionou-se 2,0 mL da solução de carbonato de sódio 7,5%. Os tubos foram agitados em *vortex* e colocados em banho de aquecimento a 50°C por 15 minutos. Em seguida, os tubos foram resfriados em banho de gelo até atingir temperatura ambiente. O branco foi feito utilizando acetona 7% ao invés do extrato diluído. A leitura de absorvância foi realizada em espectrofotômetro BioSpectro® SP-220a 760 nm, zerado com água destilada. Todas as análises foram realizadas em triplicata. A curva padrão foi feita com ácido gálico e os resultados expressos em mg ácido gálico equivalente (mg GAE)/100g.

4.2.9 Determinação de antocianinas pelo método do pH diferencial

Para a determinação de antocianinas, inicialmente foram preparadas soluções tampão de pH 1,0 e 4,5. A solução tampão de cloreto de potássio (pH=1,0) foi preparada a partir de 125 mL da solução de KCl 0,2M com 385 mL de HCl 0,2M. A solução de KCl 0,2M foi preparada dissolvendo 3,725g de cloreto de potássio em 250 mL de água destilada e a solução de HCl 0,2M foi preparada diluindo 13,10 mL de ácido clorídrico concentrado em 770 mL de água destilada.

A solução tampão de acetato de sódio (pH=4,5) foi preparada a partir de 400 mL de acetato de sódio 1 M (136 g/L), 240 mL de HCl 1 N (83 mL/L) e 360 mL de água destilada. A solução de acetato de sódio 1M foi preparada dissolvendo 54,40 g de acetato de sódio em 400 mL de água destilada e a solução de ácido clorídrico 1 N foi preparada diluindo 19,90 mL de ácido clorídrico concentrado em 240 mL de água destilada.

A metodologia para a determinação do teor de antocianinas pelo método do pH diferencial foi realizada conforme Markakis (1992) e Klopotek et al. (2005). Foram preparadas duas diluições da amostra, cada uma com 1,0 g para a polpa de uva e 1,5 g para a bebida, diluídas em balão volumétrico de 25 mL, uma com uma solução tampão de cloreto de potássio de pH=1,0 e outra com pH=4,5. O fator de diluição (FD) da amostra foi obtido de modo que a leitura no comprimento de absorvância máxima estivesse dentro da linearidade do espectrofotômetro. As amostras diluídas permaneceram por 15 minutos no escuro e posteriormente foram filtradas com papel filtro quantitativo.

As leituras foram feitas em comprimentos de absorvâncias de 510 e 700 nm em espectrofotômetro BioSpectro® SP-220, após 15 min de preparação das amostras. O espectrofotômetro foi zerado com água destilada em 510 e 700 nm, e todas as amostras foram lidas nestes comprimentos. As análises foram realizadas em triplicata para cada pH. A absorvância da amostra diluída é calculada por:

$$Abs = (A_{510nm} - Abs_{700nm})_{pH1,0} - (A_{510nm} - Abs_{700nm})_{pH4,5}$$

O teor de antocianinas monoméricas (A_m) foi calculado pela Equação 2:

$$A_m \text{ (mg/L)} = Abs \times PM \times FD \times 1000 / \epsilon \quad (Eq.2)$$

O peso molecular (PM) e a absorvidade molar (ϵ) foram referentes à cianidina 3-glicosídeo (PM= 449,2 g/mol e ϵ = 26900 L/cm).

4.2.10 Determinação da capacidade antioxidante

A determinação da capacidade antioxidante foi realizada no soro de queijo, na polpa de uva e nas bebidas formuladas e processadas termicamente ou por APH. Foi utilizado o método de captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) de acordo com metodologia proposta por RE et al. (1999). O radical ABTS foi preparado a partir da reação de 5 mL de solução de ABTS (7 mM) com 88 µL de solução de persulfato de potássio (140 mM) e mantido no escuro por 16 horas (tempo necessário para garantir a formação do radical). O radical foi diluído com álcool etílico (95%) em quantidade necessária para obter-se uma absorbância de 0,70 ($\pm 0,02$) a 734 nm. A extração dos antioxidantes foi realizada em duas etapas, a primeira com metanol (50%) e a segunda com acetona (70%). Para a amostra de soro, polpa de uva e bebida, foram pesados 4,0; 2,0 e 4,0 gramas, respectivamente em balança analítica Shimadzu® AUY 220, utilizada também nas análises discutidas anteriormente. A cada amostra foram adicionados 10 mL da solução de metanol e deixou-se em repouso por 1 hora. Em seguida, a amostra foi centrifugada a 10.000 rpm durante 15 minutos e o sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico. Adicionou-se 10 mL da solução de acetona ao resíduo da centrifugação e deixou-se em repouso por 1 hora. A centrifugação foi repetida e o sobrenadante misturado ao extrato metanólico. A leitura da capacidade foi feita em espectrofotômetro BioSpectro® SP-220, a 734 nm. Trinta microlitros do extrato foram misturados a 3 mL da solução de radical ABTS diluída e a leitura foi realizada após 6 minutos de reação. O branco foi feito com radical ABTS e 30µl de álcool etílico (95%). O ensaio foi calibrado com álcool etílico (95%) e a capacidade antioxidante foi expressa em µmol Trolox/g.

4.2.11 Análise instrumental de cor

A análise de cor foi realizada para a bebida de soro e uva. A análise instrumental de cor foi realizada por transmitância no aparelho *Color Quest XE*, escala CIELAB e CIELCh, com abertura de 0,375mm de diâmetro, com iluminante D65/10. Os parâmetros de cor medidos foram: L^* = luminosidade (0 = preto e 100 = branco), a^* (-80 até zero = verde, do zero ao +100 = vermelho) e b^* (-100 até zero = azul, do zero ao +70 = amarelo). A amostra foi disposta em cubeta de Quartzo de 10 mm para a realização do teste. Foram realizadas quatro repetições de cada amostra.

A diferença total de cor (ΔE) foi calculada a partir da Equação 3:

$$\Delta E = \{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2\}^{1/2} \quad (Eq.3)$$

As diferenças foram classificadas em: não aparente (0 - 0,5), levemente aparente (0,5 - 1,5), aparente (1,5 - 3,0), bem visível (3,0 - 6,0) e grande (6,0 - 12,0) (CSERHALMI et al., 2006).

4.2.12 Análise sensorial

A avaliação sensorial foi realizada em diferentes etapas. Foram convidados a participar dos estudos consumidores de produtos lácteos ou produtos à base de frutas e que não apresentassem quaisquer intolerâncias aos ingredientes das bebidas.

O presente projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto de Neurologia Deolindo Couto (INDC/UFRJ) com processo de número 38718314.80000.5261 e aprovado pelo protocolo de número 1.011.727, de 06 de abril de 2015.

Primeira etapa - Testes sensoriais preliminares

Foram realizados testes sensoriais com pequenos grupos de consumidores para definir a quantidade de ingredientes a ser utilizada na formulação das bebidas. Com base em relatos da literatura sobre formulações de bebidas de soro (HOLSINGER et al., 1954; DJURIC et al., 2004; JELICIC et al., 2008; SINGH; SINGH, 2012; GUEDES et al. 2013), foram testadas formulações com diferentes concentrações de soro (60, 70 e 80%, com ou sem diluição em água filtrada), polpa de uva (em concentrações complementares à quantidade de soro - 20, 30 e 40% de polpa), açúcar (5 e 8% de sacarose), além de diferentes níveis de pH (diferentes valores de pH ajustados com ácido cítrico - pH 3,8, 4,0 e 4,2). As discussões foram abertas e o principal objetivo desta etapa foi investigar a concentração máxima de soro a ser utilizada, de forma a garantir o aproveitamento máximo e o pH ideal.

A partir dos testes sensoriais preliminares foram identificados os intervalos referentes ao teor de açúcar e o pH ideais para a formulação da bebida cujos níveis propostos são mostrados na Tabela 5 e o delineamento de superfície de resposta (MSR) utilizado, apresentado na Tabela 6. No teste de aceitação, as amostras foram apresentadas monadicamente a 90 consumidores, em duas sessões, para evitar a fadiga sensorial devido ao elevado número de amostras. As mesmas foram servidas em copos plásticos codificados com números de três dígitos e a ordem de apresentação foi balanceada, de acordo com MacFie et al. (1989) para evitar erros de posição. Os testes sensoriais preliminares foram realizados nas dependências da Embrapa - CTAA.

Tabela 5. Intervalos de estudo para as variáveis experimentais com os limites inferiores e superiores de teor de açúcar (%) e pH

Variável		Níveis				
		-1,414	-1	0	+1	+1,414
Açúcar (%)	x1	5,6	6,0	7,0	8,0	8,4
pH	x2	3,7	3,8	4,0	4,2	4,3

Tabela 6. Delineamento experimental para o teste de aceitação sensorial

Ensaio	x1	x2	Açúcar (%)	pH
1	-1	-1	6,0	3,8
2	-1	+1	6,0	4,2
3	+1	-1	8,0	3,8
4	+1	+1	8,0	4,2
5	-1,414	0	5,6	4,0
6	+1,414	0	8,4	4,0
7	0	-1,414	7,0	3,7
8	0	+1,414	7,0	4,3
9	0	0	7,0	4,0
10	0	0	7,0	4,0
11	0	0	7,0	4,0

Foi realizada a Análise de Variância (ANOVA), com $p=0,05$, para a variável resposta, neste caso, a aceitação sensorial, para determinar os coeficientes lineares, quadráticos e de interação, assim como a adequação dos dados ao modelo.

Segunda etapa - Teste de aceitação, determinação da doçura ideal e caracterização sensorial de bebidas com diferentes teores de açúcar

A partir da identificação do pH mais adequado foram preparadas bebidas com seis concentrações de sacarose: 0, 2, 4, 6, 8 e 10% (m/v) para identificar a doçura preferida pelos participantes do estudo. As amostras foram servidas refrigeradas ($12 \pm 2^\circ\text{C}$) em copos brancos descartáveis de 50 mL, codificados com algarismos de três dígitos e apresentadas monadicamente a 104 avaliadores não treinados. Água mineral e biscoito tipo água foram servidos para a limpeza do palato. As amostras foram avaliadas com relação à doçura utilizando a escala do ideal de nove pontos, variando de 1 a 9, sendo 1 correspondente a “muito menos doce do que o ideal”, 5 correspondente ao “ideal” e 9 representando “muito mais doce do que o ideal”. O teste foi realizado em dois dias consecutivos nas dependências da Embrapa Agrobiologia - Seropédica, RJ. As bebidas foram transportadas em caixas isotérmicas até o local de execução do teste e mantidas sob refrigeração.

Além da determinação da doçura ideal foi realizado o teste de aceitação das bebidas utilizando a escala hedônica de nove pontos (PERYAM; PILGRIM, 1957). Também foi realizada a caracterização sensorial através do questionário CATA (*check-all-that-apply*) (ARES; JAEGER, 2015). O levantamento da terminologia sensorial foi realizado no Laboratório de Análise Sensorial e Instrumental da Embrapa - CTAA em discussão aberta com dez avaliadores treinados na qual cada participante descreveu as amostras oferecidas em termos das características sensoriais relacionadas à aparência, aroma, consistência e sabor. Em seguida, por consenso entre os membros da equipe foram definidos os termos mais adequados para expressar os descritores a serem analisados. Assim, 22 termos descritores relacionados aos atributos sensoriais da bebida de uva e soro foram sugeridos pela equipe, a saber: (1) *Quanto à aparência*: cor característica de uva e cor atrativa; (2) *Quanto ao aroma*: aroma doce, aroma de uva, aroma fraco, aroma estranho, aroma de soro de leite/leite, aroma agradável; (3) *Quanto ao sabor*: gosto ácido, gosto doce, gosto salgado, sabor de soro de leite/leite, sabor de uva forte, sabor de uva fraco, sem açúcar/pouco doce, sabor estranho, sabor residual persistente/ruim, tem equilíbrio acidez doçura, não tem equilíbrio acidez doçura, gostoso; (4) *Quanto à consistência*: encorpado e ralo.

Foram preparadas dez fichas diferentes balanceando a ordem de apresentação dos 22 atributos do questionário CATA para evitar vieses na coleta de dados, conforme sugerido por Ares e Jaeger (2013). As fichas utilizadas nessa etapa do estudo estão mostradas no Apêndice A. Os participantes marcaram todos os atributos que consideravam descrever cada amostra. Além disso, após avaliarem as seis bebidas de uva, também foi solicitado que marcassem os atributos esperados em uma bebida de uva ideal. Dados demográficos e relacionados ao perfil de consumo dos participantes também foram coletados.

Os dados do questionário CATA foram analisados através da Análise Múltipla de Fatores (AMF) considerando os dados da preferência como variável suplementar. Para a determinação da doçura ideal os dados foram analisados através de regressão linear simples. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software XLSTAT® (ADDINSOFT, 2015).

Terceira etapa - Teste de aceitação e caracterização sensorial das bebidas processadas

A partir da identificação da formulação mais adequada sob o ponto de vista do consumidor, as bebidas foram submetidas aos processos de pasteurização (PAS) e alta pressão

hidrostática (APH) e, juntamente com uma bebida composta de uva disponível no mercado, avaliadas por 100 consumidores através do teste de aceitação e CATA. Neste estudo foram, portanto, avaliadas três amostras, conforme Tabela 7.

Tabela 7. Amostras avaliadas no teste de aceitação e CATA com a formulação final pasteurizada (PAS), pressurizada (APH) e bebida comercial

Amostra	Descrição
APH	Bebida de soro e uva pressurizada (350 MPa/11 min)
PAS	Bebida de soro e uva pasteurizada (70°C)
C	Bebida composta comercial

As amostras foram preparadas e servidas como descritas na etapa anterior. Os dados foram analisados por meio de ANOVA, teste de médias e teste de Cochran, utilizando-se o programa XLSTAT® (ADDINSOFT, 2015).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da Matéria-Prima

5.1.1 Caracterização do soro de queijo Minas frescal

No presente trabalho, visando maior controle da matéria-prima, optou-se pela obtenção do soro a partir de queijo Minas frescal produzido na Embrapa - CTAA. Em todas as etapas de fabricação de queijo para a obtenção de soro, o rendimento do processo foi de aproximadamente 70% a 75% em relação à quantidade de leite utilizada como matéria-prima. A Tabela 8 apresenta a composição centesimal e a caracterização físico-química do soro de queijo Minas frescal.

Tabela 8. Composição centesimal e caracterização físico-química de soro de queijo Minas frescal *in natura*

Análise	Resultado
Umidade (g/100g)	92,99 ± 0,08
Extrato Etéreo (g/100g)	0,86 ± 0,06
Proteína (F=6,38) (g/100g)	0,89 ± 0,00
Cinzas (g/100g)	0,54 ± 0,01
Carboidratos (g/100g)	4,72 ± 0,04
Sólidos Solúveis (°Brix)	7,00 ± 0,10
pH	6,68 ± 0,01
Acidez em ácido láctico (g/100g)	0,06 ± 0,00

Devido à adoção de diferentes métodos de fabricação, o queijo Minas frescal tornou-se um produto irregular em termos de padrão de consistência, textura, sabor, durabilidade e rendimento (SANGALETTI, 2007). Além disso, apresenta pouca autenticidade, uma vez que há pouco controle de qualidade envolvendo o produto, principalmente no que diz respeito à qualidade da matéria-prima. Em estudo conduzido por Magenis et al. (2014), foi observada grande variação nas características físico-químicas de 21 amostras de queijo Minas frescal comercializados na Região Sudeste do Brasil, e algumas amostras chegaram a ultrapassar os limites estabelecidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) de Queijo Minas frescal.

Os valores de umidade, proteínas, cinzas e carboidratos aqui relatados (Tabela 8) foram próximos aos observados por Ordóñez (2005), Pelegrine e Carrasqueira (2008), Smithers (2008), Teixeira e Fonseca (2008), Pescuma et al. (2010) e Tashima (2015) para soro de leite bovino. No entanto, para lipídeos, o valor foi superior ao relatado pelos mesmos autores, que observaram variações de 0,1 a 0,8 g/100g. A diferença na composição centesimal do soro pode ser atribuída a variações nas condições de processamento, como a variedade de queijo produzido, o tratamento térmico e a manipulação (MIZUBUTI, 1994). Esta diferença também pode ser atribuída a variações na composição centesimal do leite utilizado na fabricação do queijo. Fatores como alimentação, período de lactação, diferenças individuais de cada animal e clima podem influenciar nas características do leite e, conseqüentemente, do soro dele proveniente (ALVES et al., 2014).

Em relação ao teor de sólidos solúveis, os resultados aqui apresentados (Tabela 8) foram superiores aos relatados por Mizubuti (1994) para soro doce líquido (6,35 - 6,90 °Brix), por Brino et al. (2010) para soro doce (6,7 °Brix) e por Teixeira e Fonseca (2008) para soro de queijo muçarela (6,33 °Brix) e minas padrão (6,28 °Brix). Entretanto, foram inferiores aos relatados por Baccouche et al. (2013) para soro de queijo muçarela submetidos a tratamento térmico (8,33 °Brix) ou não (10,67 °Brix). A variação nos valores pode ser atribuída às diferenças na composição centesimal dos soros, uma vez que o Brix está diretamente relacionado ao teor de lactose do material.

Não existe no Brasil uma legislação específica para soro de queijo compatível com a representatividade que este subproduto tem atualmente no setor agroindustrial. O Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) não prevê o uso do soro na alimentação humana e a IN n. 01/1985, ainda válida, discute sobre requisitos para sua obtenção e industrialização, mas de forma incipiente, pois na época em que foi publicada o material ainda era tratado como resíduo. Em 2006, a partir de uma iniciativa do setor privado, foi entregue ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) uma proposta de Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade para Bebidas Lácteas (RTIQ), para regulamentar a utilização do soro como ingrediente deste produto. Em 2012, o MAPA propôs um RTIQ para soro de leite, que veio à Consulta Pública em 2013 a partir da Portaria n. 53/2013 (BRASIL, 1952; BRASIL, 1985; BRASIL, 2013b; MOSQUIM, 2014).

De acordo com esta Portaria, o soro doce deve apresentar pH entre 6,0 e 6,8 e acidez entre 0,08 e 0,14 g de ácido láctico/100 g. O pH (6,68) (Tabela 8) foi concordante com o previsto pela Portaria. Com relação à acidez, o valor (0,06 g de ácido láctico/100 g) (Tabela 8) foi inferior ao estabelecido, no entanto, de acordo com Antunes (2003), o soro doce pode apresentar acidez de 0,05%. Em pesquisa conduzida por Cortez (2013) com 50 estabelecimentos queijeiros do Rio de Janeiro, o pH médio do soro foi de 6,28, atingindo valor máximo de 6,69 e mínimo de 3,52. A acidez média foi de 0,14 %, com valor máximo de 0,58% e valor mínimo de 0,08 %. Os resultados deste estudo descreveram grande variação dos parâmetros físico-químicos do soro, o que reflete a heterogeneidade no processamento de queijos.

Minerais são elementos inorgânicos que permanecem nas cinzas quando um alimento é incinerado. Eles são usualmente divididos em dois grupos – macrominerais e microminerais (ou elementos traço), e ainda em essenciais e não essenciais, dependendo se são ou não necessários para a nutrição humana e se possuem função metabólica. Os macrominerais estão envolvidos na formação dos componentes estruturais do corpo, como o cálcio, magnésio e o fósforo na formação de ossos e dentes; e na manutenção do pH dos fluidos corporais, condução de impulsos nervosos e controle da contração muscular. Já os microminerais geralmente estão envolvidos em funções fisiológicas específicas, como o iodo nos hormônios da tireoide e o zinco como sítio ativo de enzimas (REILLY, 2002). A presença de elementos metálicos nos alimentos varia amplamente, em função de numerosos fatores associados a condições ambientais, às práticas tecnológicas e ao uso indiscriminado de produtos químicos em pratos culturais e na produção animal, e tem provocado o aparecimento de elementos químicos em alimentos, a exemplo do chumbo e cádmio (GONÇALVES et al., 2008). Na Tabela 9 está apresentada a composição de minerais do soro.

Tabela 9. Composição em minerais do soro de queijo Minas frescal *in natura*

Minerais	Teor (mg/L)*
Macrominerais	
Sódio	454,048 ± 1,003
Potássio	1369,084 ± 4,136
Magnésio	67,614 ± 0,139
Fósforo	356,263 ± 1,054
Cálcio	364,798 ± 4,448
Microminerais	
Manganês	0,023 ± 0,001
Cobre	0,360 ± 0,010
Selênio	1,034 ± 0,047

*Média ± desvio-padrão

O estudo da composição inorgânica do soro permite a determinação de espécies metálicas que possuem propriedades nutricionais e outras espécies possivelmente tóxicas. A composição dos diversos tipos de soro varia consideravelmente com a origem do leite e com o processo utilizado na fabricação do queijo (TAVARES; CADORE, 2009). Em geral, o soro apresenta alta salinidade e retém aproximadamente 38% dos minerais presentes no leite, principalmente cálcio, magnésio e fósforo (BALDASSO, 2008). Segundo Prazeres et al. (2012), o soro pode ter 0,46 a 10% de minerais, sendo os principais os cloretos de sódio e potássio (> 50%), além dos sais de cálcio (fosfatos, principalmente). No presente estudo foram encontrados altos teores de sódio, potássio, fósforo, magnésio e cálcio, o que está de acordo com os autores. Os resultados do presente estudo assemelharam-se ainda aos de Atauri et al. (2014), que detectaram em soro doce os mesmos macrominerais aqui informados, porém em quantidades diferentes.

De acordo com Baldasso (2008), além dos principais macrominerais encontrados no leite, há aproximadamente 20 elementos que podem estar presentes em quantidades menores, como cobre, ferro, silício, zinco, iodo, entre outros. Foram quantificados três microminerais essenciais no soro (manganês, cobre e selênio). Não foram detectados ferro, zinco, cobalto, cromo, molibdênio, chumbo e alumínio. Atauri et al. (2014) encontraram zinco, ferro, manganês, mercúrio e estanho em amostras de soro e relataram concentração de manganês ($0,01 \pm 0,00$ mg/L) inferior à aqui exposta. Gonçalves et al. (2008) detectaram concentração média de cobre semelhante à do presente estudo ($0,39 \pm 0,18$ mg/L) em leite bovino pasteurizado, sendo esta quantidade considerada baixa.

Chama atenção a alta concentração de selênio detectada no soro (1,034 mg/L ou 103,4 µg/100g), que foi muito superior ao teor médio encontrado por Ferreira et al. (2002) para amostras de leite bovino integral pasteurizado (1,9 µg/100g) e queijo Minas frescal (9,9 µg/100g). Sugere-se que estes resultados estejam relacionados à alimentação dos animais. Como no Brasil a maioria dos solos apresenta deficiência de minerais, os produtores rurais adotaram a suplementação mineral do rebanho. Entretanto, a prática tem sido realizada indiscriminadamente, enquanto deveria ser fundamentada no fornecimento exclusivo do(s) mineral(is) deficiente(s) e na(s) quantidade(s) necessária(s) (PEIXOTO et al., 2005). Segundo Tokarnia et al. (2000) só devem ser fornecidos os minerais sabidamente deficientes no Brasil: sódio, fósforo, cobre, cobalto e apenas eventualmente selênio e zinco.

Embora o selênio seja um microelemento essencial, agindo associado a selenoproteínas e protegendo o organismo contra a oxidação descontrolada, se ingerido em excesso pode apresentar efeito nocivo. A diferença entre a ingestão recomendada e aquela que

provoca toxidez é muito pequena. Ressalta-se, portanto, a importância do monitoramento do teor de minerais nos alimentos, incluindo leite e derivados, por conta da toxicidade que alguns destes elementos podem apresentar, em especial cobre e selênio.

O soro *in natura* é um material muito perecível, pois apresenta elevada atividade de água, é rico em lactose e outros nutrientes solúveis, propiciando o crescimento de diversos microrganismos que ocasionam alterações sensoriais e químicas, além de estarem associados a riscos para a saúde coletiva devido à presença de microrganismos patogênicos (CORTEZ, 2013). Embora o soro utilizado no presente estudo seja proveniente de leite pasteurizado, existe a possibilidade de recontaminação durante a obtenção e manipulação. A Tabela 10 apresenta o resultado da análise microbiológica do soro de queijo Minas frescal *in natura*.

Tabela 10. Caracterização microbiológica de soro de queijo Minas frescal *in natura*

Análise	Resultado
Aeróbios mesófilos* (UFC/g)	$1,0 \times 10^2$
Coliformes a 35°C (UFC/g)	<3
Coliformes a 35°C (UFC/g)	<3
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (UFC/g)	$<1,0 \times 10^2$

*Resultado em valores estimados; UFC/g - Unidade Formadora de Colônia/grama.

De acordo com a Portaria n. 53/2013, há parâmetros microbiológicos a serem atendidos pelo soro de queijo do tipo doce e do tipo ácido, na forma pasteurizada ou em pó. Esta norma regulamenta ainda soro em pó desmineralizado e reduzido em lactose. Para uma amostra indicativa, o soro pasteurizado deve apresentar valores máximos de $1,5 \times 10^5$ (UFC/g) para contagem de aeróbios mesófilos; $1,0 \times 10^3$ (UFC/g) para coliformes a 35°C; $1,0 \times 10^2$ (UFC/g) para coliformes a 45°C e $1,0 \times 10^2$ (UFC/g) para *Staphylococcus* coagulase positiva (BRASIL, 2013b). Desta forma, pode-se dizer que o soro de queijo Minas frescal utilizado como matéria-prima atendeu aos requisitos estabelecidos pela Legislação Brasileira. Vale ainda destacar a qualidade microbiológica do material, pois apresentou características favoráveis, mesmo sem ser pasteurizado.

Embora o soro de queijo esteja recebendo destaque por conta de seus possíveis benefícios a saúde, a capacidade antioxidante determinada por TEAC foi de $0,05 \pm 0,01$ μmol Trolox/g. De acordo com Hernández-Ledesma et al. (2011), as proteínas intactas do soro podem apresentar alguma atividade biológica, mas na maioria das vezes agem apenas como precursoras de peptídeos bioativos, fragmentos menores liberados pela hidrólise destas proteínas a partir da ação de diferentes enzimas. Desta forma, projeta-se aqui o aprimoramento de estudos que investiguem a capacidade antioxidante de soro hidrolisado e a utilização de outras metodologias capazes de identificar tal propriedade, uma vez que não há consenso sobre o método analítico para a determinação da capacidade antioxidante.

5.1.2 Caracterização da polpa de uva

A Tabela 11 apresenta os resultados referentes à composição centesimal e caracterização físico-química da polpa de uva.

Tabela 11. Composição centesimal e caracterização físico-química de polpa de uva *in natura*

Análise	Resultado
Umidade (g/100g)	81,50 ± 0,00
Extrato Etéreo (g/100g)	0,14 ± 0,01
Proteína - Nitrogênio total (Fator=5,75) (g/100g)	0,02 ± 0,01
Cinzas (g/100g)	0,07 ± 0,01
Carboidratos (g/100g)	18,27 ± 0,01
Sólidos Solúveis (°Brix)	19,50 ± 0,10
pH	3,21 ± 0,01
Acidez Total	6,71 ± 0,04
Acidez em ácido tartárico (g/100g)	0,50 ± 0,00
Ratio (°Brix/Acidez)	39,0

A composição centesimal da polpa de uva demonstra tratar-se de uma bebida com reduzidos teores de lipídios, proteínas e maiores proporções de água, açúcares, e alguns minerais (RIZZON; MENEGUZZO, 2007). Os resultados encontrados no presente estudo para umidade e cinzas foram inferiores aos relatados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (85,1% e 0,2%) (NEPA, 2011) e aos descritos por Santana et al. (2015) (86,49% e 0,22%) para suco de uva concentrado e suco de uva integral. Entretanto, a polpa de uva apresentou maior teor de carboidratos quando comparado aos mesmos estudos (14,7% e 13,11%).

As características físico-químicas das frutas de uma determinada espécie variam, além do fator genético, com o local, época de colheita, estágio de maturação, tratamentos culturais e outros (TIBURSKI, 2009). De acordo com o RTIQ para Polpa de Uva (IN 01/2000), a polpa deve apresentar pH mínimo de 2,9, teor de sólidos solúveis superior a 15 °Brix e acidez total em ácido tartárico maior que 0,41%. Desta forma, a polpa utilizada atende aos requerimentos da legislação (BRASIL, 2000). Os valores para sólidos solúveis e acidez estão dentro da faixa encontrada por Burin et al. (2010) para sucos de uva. O pH (3,21) foi ligeiramente inferior à faixa encontrada pelos autores (3,25 - 3,64) e concordante com a faixa encontrada por Gurak et al. (2008) (2,94 - 3,58) e Munhoz et al. (2014) (3,13 a 3,57) para sucos de uva.

O teor de sólidos solúveis (19,5%) foi superior ao apontado por Gurak et al. (2008) (14,0 - 16,9 °Brix), Santana et al. (2011) (14,21 a 17,30 °Brix), Malacrida e Motta (2006) (13,9 - 18,5 °Brix) e Nagato et al. (2003) (14,0 - 18,9 °Brix), entretanto esteve na faixa (9,5 - 21,5%) apresentada por Burin et al. (2010) para sucos de uva.

A acidez das frutas pode variar consideravelmente de uma espécie para outra, sendo que, enquanto frutas pouco ácidas, como melão, banana e abacate possuem acidez entre 0,1 e 0,3%, as frutas mais ácidas apresentam variação entre 3 a 8% de acidez, como é o caso do limão, do umbu, do maracujá e da uva (TIBURSKI, 2009). A acidez em ácido tartárico aqui relatada (0,50%) foi inferior à faixa observada por Gurak et al. (2008) (0,68 - 1,01%) e por Santana et al. (2008) (0,83 - 0,97%), porém concordante à faixa apontada por Malacrida e Motta (2006) (0,40 - 0,57%) para sucos de uva.

A relação Brix/acidez (*Ratio*) é comumente usada como um indicador da maturação e palatabilidade de frutas, quanto menor, mais ácida e/ou menos doce será a polpa ou suco. O resultado aqui exposto para este parâmetro (39,0) foi superior aos relatados por Burin et al. (2010) (11,0 - 33,4), por Rizzon e Miele (2012) (20,8) e por Munhoz et al. (2014) (12,0 - 22,95) para sucos de uva.

As frutas em geral apresentam grande variedade de vitaminas e minerais essenciais, o que as tornam uma rica contribuição para a dieta humana. A Tabela 12 apresenta a composição em minerais da polpa de uva *in natura*.

Tabela 12. Composição em minerais da polpa de uva *in natura*

Minerais	Teor (mg/L)*
Macrominerais	
Sódio	23,164 ± 0,001
Potássio	351,151 ± 2,712
Magnésio	100,447 ± 0,896
Fósforo	142,122 ± 0,902
Cálcio	123,062 ± 1,301
Microminerais	
Manganês	2,260 ± 0,042
Cobre	1,197 ± 0,008
Zinco	0,800 ± 0,009
Ferro	1,282 ± 0,002

*Média ± desvio-padrão

Com relação ao teor de macrominerais, os resultados aqui encontrados foram superiores aos apresentados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) para cálcio e magnésio para uva Itália (70 e 50 mg/kg), uva rubi (80 e 60 mg/kg) e suco de uva concentrado (90 e 70 mg/kg). Também foram maiores que os apontados por Dani et al. (2012) para magnésio e cálcio em sucos de uva tinto (10,70 e 10,38 mg/kg) e branco (12,88 e 7,45 mg/kg). Os resultados assemelharam-se aos apresentados para umbu (110 e 120 mg/kg).

Foram quantificados quatro microminerais essenciais (manganês, cobre, zinco e ferro), em teores superiores aos relatados por Dani et al. (2012) para o suco de uva tinto. No entanto, para suco de uva branco, os teores de cobre (2,41 mg/kg) e de zinco (1,29 mg/kg) foram superiores. Não foram quantificados cobalto, cromo, molibdênio, selênio, chumbo e alumínio. As variações nos teores de microminerais podem ser atribuídas à variedade de uva, às características do solo e ao uso de substâncias químicas (DANI et al., 2012).

O perfil mineral de uvas e de seu suco é um importante aspecto nutricional e tecnológico. A ingestão diária de 500 mL de suco de uva tinto é capaz de suprir 7 - 14%, 4-8%, 6-9% e mais de 100% das necessidades diárias de ferro, manganês, zinco e cobre, respectivamente, para adultos. Além disso, alguns minerais podem favorecer reações de oxirredução responsáveis por alterações sensoriais em derivados de uva (DANI et al., 2012).

Com relação às características higiênico-sanitárias, na Tabela 13 estão apresentados os resultados das análises microbiológicas realizadas na polpa de uva.

Tabela 13. Caracterização microbiológica de polpa de uva *in natura*

Análise	Resultado
Contagem padrão em placas de aeróbios mesófilos* (UFC/g)	<1,0 x 10 ¹
Contagem de fungos filamentosos e leveduras* (UFC/g)	<1,0 x 10 ¹

*Resultado em valores estimados; UFC/g - Unidade Formadora de Colônia/grama.

De acordo com a IN n. 01/2000, polpas de fruta *in natura* congeladas podem apresentar soma de bolores e leveduras máxima de $5,0 \times 10^3$ /g, valor muito superior ao encontrado no presente estudo. Além desta análise, o documento preconiza a realização da enumeração de coliformes a 45°C. Já a RDC n. 12/2001 prevê a realização desta última análise e a detecção de *Salmonella* sp.. Estas análises não foram realizadas pelo fato da polpa de uva ser pasteurizada e, supostamente, inócua. No entanto, foi efetuada a contagem padrão em placas de aeróbios mesófilos, que é um bom indicativo da qualidade sanitária da matéria-prima. Conforme exposto na Tabela 14, o resultado foi inferior ao limite estabelecido pela metodologia (25 - 250 UFC/g). O processo de obtenção da polpa, a adequada característica sanitária dos frutos, a adequada condição higiênica de manuseio na indústria e, principalmente, o fato de se tratar de uma polpa pasteurizada, são responsáveis por tais resultados.

O suco de uva é uma importante fonte de compostos fenólicos e antocianinas, além de apresentar elevada capacidade antioxidante. O conteúdo de fenólicos totais e de antocianinas nas uvas varia de acordo com a espécie, variedade, maturidade, condições climáticas e cultivar (MALACRIDA; MOTTA, 2005). As características da polpa de uva em relação aos compostos bioativos são apresentadas na Tabela 14.

Tabela 14. Caracterização da polpa de uva quanto ao teor de compostos bioativos

Item	Resultado
Compostos fenólicos (mg GAE/100g)	203,63 ± 6,96
Antocianinas (mg/100g)	29,74 ± 0,31
Capacidade antioxidante (µmol TEAC/g)	11,68 ± 0,90

O teor de fenólicos foi semelhante ao encontrado por Sun et al. (2002) para uva rosada ($201,00 \pm 2,90$ mg GAE/100 g) e superior ao relatado por Sanchez-Moreno et al. (1999) para suco de uva tinto fresco ($172,80$ mg GAE/100 g). O resultado também foi próximo à média do teor de fenólicos encontrado por Burin et al. (2010) para sucos de uva comerciais ($228,26$ mg GAE/100g). Além disso, estes autores encontraram teor médio de antocianinas de $19,25$ mg/100 g para as mesmas amostras, valor inferior ao da polpa. Malacrida e Mota (2005) relataram para este mesmo parâmetro teor de $2,87$ mg/100 g, valor quase 10 vezes mais baixo que no presente estudo. Com relação à capacidade antioxidante, a comparação com outros resultados da literatura é dificultada pela variabilidade de métodos empregados para a mensuração deste parâmetro.

Tais diferenças podem ser ocasionadas pelo tipo de uva, condições de processamento e de armazenamento. Vale ressaltar que a polpa, por ser pasteurizada, provavelmente apresentou variação na quantidade e no tipo de compostos fenólicos em relação à fruta de origem. A extração a quente contribui para uma maior concentração de fenólicos em sucos e polpas, mas o uso de altas temperaturas durante a extração, pasteurização e estocagem pode acarretar perdas na quantidade de compostos fenólicos, principalmente devido à degradação de antocianinas.

5.1.3 Caracterização centesimal e em minerais da bebida de soro e uva

A partir da análise da matéria-prima, a composição centesimal e o teor de minerais da bebida de soro e uva desenvolvida no presente estudo foi calculada e ilustrada na Tabela 15, junto à composição nutricional da bebida composta de uva comercial (Hidra®), fabricada pela empresa Batavo®. As informações referentes ao produto comercial foram reproduzidas a

partir das informações presentes no rótulo. A Ingestão Diária Recomendada (IDR) foi calculada para a bebida desenvolvida na presente pesquisa considerando a mesma apresentação da bebida comercial (330 g).

Tabela 15. Composição centesimal e em minerais das bebidas experimental e comercial de soro e uva

Item	Bebida em estudo	% IDR ^a	Bebida comercial	% IDR ^a
Valor energético ^b (Kcal/100g)	43,44 (602 kJ)	7	47,58 (659 kJ)	8
Umidade (g/100g)	89,54	-	-	-
Gorduras totais ^c (g/100g)	0,64	4	0,00	0
Proteínas ^c (g/100g)	0,63	3	1,00	4
Cinzas (g/100g)	0,40	-	-	-
Carboidratos ^c (g/100g)	8,79	10	10,90	12
Sódio ^c (mg/100g)	32,48	4	40,36	6
Potássio (mg/100g)	106,37	-	100	-
Magnésio (mg/100g)	7,74	10	6,97	9
Fósforo (mg/100g)	29,19	14	36,36	17
Cálcio (mg/100g)	29,23	10	27,27	9
Manganês (µg/100g)	80	11	-	-
Cobre (µg/100g)	60	22	-	-
Selênio (µg/100g)	70	679	3,33	32
Zinco (µg/100g)	20	1	-	-
Ferro (µg/100g)	40	1	-	-

^aIngestão Diária Recomendada para adultos (BRASIL, 2005); ^bBARROS et al. (2010); ^cBRASIL (2003)

A bebida em estudo apresentou composição centesimal e em minerais semelhante à bebida comercial. Merece destaque a melhor contribuição para a IDR com relação ao teor de minerais, pois a bebida de soro e uva aqui desenvolvida apresentou menor teor de sódio além de manganês, cobre, zinco e ferro entre os constituintes minerais, que estiveram ausentes na bebida comercial.

A bebida experimental apresentou alta concentração de selênio, o que já era esperado devido ao alto teor deste mineral no soro, conforme discutido anteriormente. No entanto, o valor do limite superior tolerável (*Tolerable Upper Intake Level/UL*) para o selênio em adultos é de 400 µg/dia. Desta forma, a ingestão de apenas uma porção de bebida (330 g) preparada a partir do soro em questão não traria prejuízos à saúde associados ao risco de selenose, pois apresentaria 231 µg deste mineral. Ressalta-se aqui que esta característica do produto final foi determinada exclusivamente pela composição da matéria-prima.

5.2 Efeitos da Alta Pressão Hidrostática (APH) nas Características de Qualidade e Segurança da Bebida de Soro e Uva

5.2.1 Efeitos da APH sobre características físico-químicas da bebida de soro e uva

As médias das análises físico-químicas realizadas na bebida de soro e uva submetida a diferentes tratamentos de APH e nas bebidas controle (não tratada) e pasteurizada são ilustradas na Tabela 16.

Tabela 16. Caracterização físico-química das amostras de bebida de soro e uva

Tratamentos	pH	Acidez Total (%)	Sólidos Solúveis (°Brix)
C ^a	3,85 ± 0,00 ^a	6,13 ± 0,01 ^{a,b}	14,3 ± 0,1 ^{a,b}
PAS ^b	3,85 ± 0,01 ^a	6,15 ± 0,01 ^a	14,4 ± 0,1 ^a
1 (250 MPa/4min)	3,84 ± 0,00 ^a	6,06 ± 0,05 ^{a,b,c}	14,1 ± 0,1 ^{b,c,d}
2 (450 MPa/4min)	3,84 ± 0,00 ^a	6,03 ± 0,06 ^{a,b,c,d}	14,1 ± 0,1 ^{b,c,d}
3 (250 MPa/10min)	3,84 ± 0,00 ^a	5,99 ± 0,04 ^{c,d}	14,1 ± 0,1 ^{b,c,d}
4 (450 MPa/10min)	3,85 ± 0,01 ^a	5,99 ± 0,06 ^{c,d}	14,1 ± 0,1 ^{b,c,d}
5 (350 MPa/3min)	3,84 ± 0,01 ^a	6,00 ± 0,04 ^{b,c,d}	14,1 ± 0,0 ^{b,c,d}
6 (350 MPa/11min)	3,85 ± 0,00 ^a	6,04 ± 0,01 ^{a,b,c,d}	14,2 ± 0,1 ^{a,b}
7 (210 MPa/7min)	3,85 ± 0,00 ^a	6,06 ± 0,02 ^{a,b,c,d}	14,2 ± 0,1 ^{a,b,c}
8 (490 MPa/7min)	3,84 ± 0,00 ^a	5,93 ± 0,05 ^d	14,2 ± 0,1 ^{a,b,c}
9 (350 MPa/7min)	3,85 ± 0,00 ^a	6,00 ± 0,01 ^{a,b,c,d}	14,1 ± 0,1 ^{b,c,d}
10 (350 MPa/7min)	3,85 ± 0,00 ^a	6,05 ± 0,06 ^{a,b,c,d}	14,0 ± 0,1 ^d
11 (350 MPa/7min)	3,84 ± 0,00 ^a	6,03 ± 0,02 ^{a,b,c,d}	14,0 ± 0,1 ^{c,d}

*Letras iguais em uma mesma coluna não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. a) C: Controle; b) PAS: Pasteurizada.

Os parâmetros do processo, tempo e pressão, não exerceram efeito significativo na caracterização físico-química da bebida de soro e uva de acordo com a metodologia de superfície de resposta (MSR). Em geral, a alta pressão não interfere nos parâmetros físico-químicos dos alimentos, que estão intimamente relacionados à qualidade e aceitação dos produtos. No presente estudo, não foi observada alteração no pH das bebidas pressurizadas, o que é corroborado por Barba et al. (2012), que submetem uma bebida mista de leite e suco de laranja a diferentes níveis de pressão e tempo (100 - 400 MPa/2-9 min) e não relataram interferência do processamento no pH. Tadapaneni et al. (2012) também não encontraram variação significativa no pH de amostras de bebida mista de morango e leite pressurizadas (200 - 800 MPa/1 - 15 min). Em geral, quando pressurizados, os alimentos apresentam efeito tampão por conta dos ácidos fracos presentes em sua composição, e, por este motivo são resistentes à mudança de pH. No entanto, a APH pode causar diminuição do pH acompanhada de aumento da acidez titulável, devido à dissociação de ácidos fracos, o que é variável de acordo com a matriz do alimento em questão (SAMARANAYAKE; SASTRY, 2013).

A acidez total da amostra pasteurizada (6,15 %) foi ligeiramente superior à da amostra controle (6,13 %). A acidez total variou de 5,93 a 6,06 % para as bebidas pressurizadas, valores inferiores às amostras controle e pasteurizada. Em experimento conduzido por Samaranyake e Sastry (2013), alimentos líquidos apresentaram aumento de acidez titulável após submetidos a pressões superiores a 800 MPa, resultados discordantes aos deste estudo.

Para o teor de sólidos solúveis, houve variação de 14,0 a 14,2 °Brix nas amostras pressurizadas, valores ligeiramente inferiores às amostras controle e pasteurizada (14,3 e 14,4 °Brix, respectivamente). Embora tenha sido demonstrada diferença estatística segundo o Teste de Tukey, os valores aqui apresentados para esta análise foram muito próximos. Portanto, pode-se inferir que não haveria diferença entre as bebidas a nível industrial. Supõe-se que a diferença aqui demonstrada possa ser atribuída à variação amostral entre os pontos do processamento durante a execução da análise, e não devido aos diferentes tratamentos.

Baccouche et al. (2013) desenvolveram uma bebida de soro e *Opuntia* spp. (uma espécie de cacto de regiões semi-áridas) e relataram que a estabilidade físico-química do produto foi influenciada pela composição do suco (polissacarídeos, açúcares, proteínas e compostos fenólicos), do soro de queijo (proteínas, minerais e lactose) e pela presença de

aditivos. Açúcares, polissacarídeos, minerais e fenólicos podem interagir com as proteínas do soro por mecanismos variados e influenciar nos atributos físico-químicos da bebida mista. Assim, sugere-se que o entendimento da interação entre os ingredientes seja necessário para a otimização da estabilidade físico-química deste tipo de produto.

Os resultados da turbidez da bebida de soro e uva submetida a diferentes tratamentos de APH e das bebidas controle e pasteurizada são ilustrados na Tabela 17.

Tabela 17. Caracterização quanto à turbidez das amostras de bebida de soro e uva

Tratamentos	Turbidez (absorbância)	% incremento
C ^a	0,213 ± 0,001 ^a	-
PAS ^b	0,318 ± 0,006 ^e	33,02%
1 (250 MPa/4min)	0,272 ± 0,004 ^{b,c}	21,69%
2 (450 MPa/4min)	0,294 ± 0,005 ^{c,d}	27,55%
3 (250 MPa/10min)	0,270 ± 0,010 ^b	21,11%
4 (450 MPa/10min)	0,285 ± 0,009 ^{b,c,d}	25,26%
5 (350 MPa/3min)	0,279 ± 0,007 ^{b,c}	23,66%
6 (350 MPa/11min)	0,285 ± 0,009 ^{b,c,d}	25,26%
7 (210 MPa/4min)	0,269 ± 0,012 ^b	20,82%
8 (490 MPa/4min)	0,307 ± 0,013 ^{d,e}	30,62%
9 (350 MPa/10min)	0,281 ± 0,001 ^{b,c}	24,20%
10 (350 MPa/10min)	0,280 ± 0,001 ^{b,c}	22,55%
11 (350 MPa/10min)	0,275 ± 0,001 ^{b,c}	23,93%

*Letras iguais em uma mesma coluna não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. a) C: Controle; b) PAS: Pasteurizada.

Dentre as amostras estudadas, a controle apresentou a menor turbidez (0,213) e a pasteurizada apresentou o maior valor (0,318) para este atributo, o que representou incremento na ordem de 33,02%. Nas amostras pressurizadas, a turbidez variou de 0,269 a 0,307. Todas as amostras submetidas a processamentos diferiram estatisticamente da controle, o que demonstrou que tanto a pasteurização quanto a pressurização foram capazes de interferir na turbidez. Não houve separação de fases em quaisquer amostras.

Os resultados da influência da pressão e do tempo na turbidez segundo a MSR foram avaliados e os coeficientes de regressão e desvio-padrão com 5% de significância estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 18. Avaliação das variáveis do DCCR[§] para a turbidez da bebida de soro e uva

Variáveis	Efeito	Erro Padrão Erro Puro	t(2)	P
Média*	0,278893	0,001853	150,5179	0,000044
Pressão (L)*	0,022778	0,002284	9,9707	0,009910
Pressão (Q)	0,006857	0,002722	2,5186	0,128052
Tempo (L)	-0,000794	0,002339	-0,3395	0,766555
Tempo (Q)	0,000534	0,002939	-0,1818	0,872465
Pressão(L) x Tempo(L)	-0,003500	0,003215	-1,0888	0,389957

[§] Delineamento composto central rotacional; *Fatores significativos a 95% de confiança; R² ajustado=0,76; (L) = coeficiente linear; (Q) = coeficiente quadrático.

Apenas o efeito da pressão foi significativo ($p < 0,05$), tendo apresentado efeito linear positivo, ou seja, dentro da faixa estudada, a turbidez da bebida de soro e uva tende a aumentar com o aumento da pressão, conforme ilustrado pela Tabela 18. O mesmo pode ser visualizado ao observar as amostras 1 a 4 na Tabela 17, onde nota-se que os maiores valores (0,294 e 0,285) foram alcançados com o nível de pressão de 450 MPa. O modelo gerado explicou 76% da variância do experimento (R^2 ajustado = 0,76).

O modelo que apresenta a influência da variável independente *Pressão* sobre a variável resposta *Turbidez* é apresentado pela Equação 4 e pela Figura 11.

$$Turbidez = 0,27 - 0,0009 * Pressão \text{ (Eq. 4)}$$

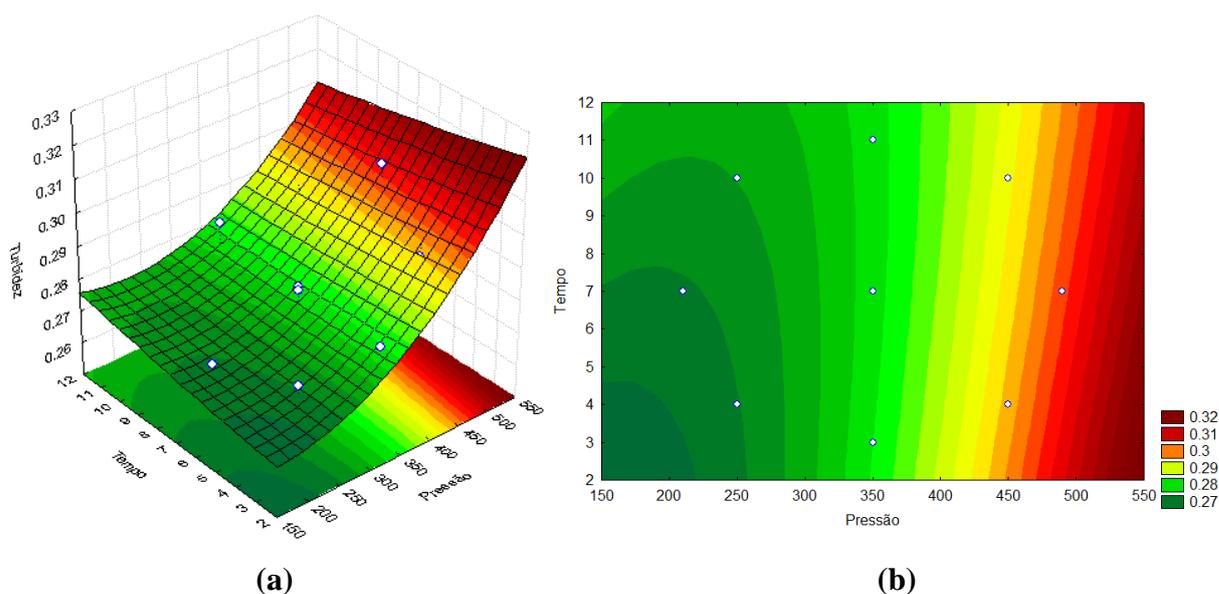


Figura 11. Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) em função de tempo e pressão para a turbidez da bebida de soro e uva.

Em estudo conduzido por Barba et al. (2012b) com uma bebida mista, foi observada redução significativa da turbidez de amostras processadas a pressões superiores a 200 MPa, resultados diferentes aos do presente estudo. No entanto, os autores formularam uma bebida à base de leite e laranja e, sobre o leite, a pressurização causa a dissociação das moléculas de caseína, o que contribui para o decréscimo da turbidez (BARBA et al., 2012b). O soro apresenta constituição proteica diferenciada do leite, o que pode justificar os resultados aqui encontrados.

A funcionalidade das proteínas do soro é demonstrada por meio das interações entre as moléculas formadoras da proteína e o solvente (água), sais (íons) e outros componentes dos alimentos (açúcares). As proteínas do soro apresentam boa solubilidade em ampla faixa de pH (2,0 a 9,0), o que é importante para sua aplicação em bebidas. A maior parte dos alimentos apresenta pH entre 3,0 e 7,0. Em pH 3,0, a β -lactoglobulina possui carga positiva muito alta, o que significa que há forças de repulsão entre as proteínas na solução. Estas forças inibem a interação entre as proteínas, mesmo quando o calor é aplicado. Se o pH é modificado para 4,0 (pH próximo ao da bebida em estudo) a carga positiva é diminuída e há aumento da interação entre as proteínas. Consequentemente, ocorre aumento da turbidez, mesmo sem o aquecimento, devido à atração e agregação de proteínas (BURRINGTON, 2012).

O calor também pode influenciar a solubilidade e estabilidade das proteínas do soro. A β -lactoglobulina e a α -lactoalbumina são as principais responsáveis pela estabilidade. Quando

o calor é aplicado a temperaturas mais elevadas, como por exemplo, superiores à temperatura de desnaturação da β -lactoglobulina (78°C), ocorre agregação de proteínas e precipitação, podendo ocasionar aumento da turbidez, da viscosidade, separação de fases e precipitação (BURRINGTON, 2012). No presente estudo, a amostra pasteurizada foi a que apresentou maior incremento na turbidez, entretanto não houve mudanças perceptíveis a olho nu na aparência da bebida, como por exemplo, separação de fases. Isto provavelmente pode ser atribuído ao tratamento térmico moderado ao qual a amostra foi submetida (70 °C).

A manutenção da estabilidade das proteínas do soro com o processamento térmico é um desafio, já que estas são suscetíveis a alterações como a desnaturação, o que faz com que processamentos como a APH, sejam possíveis alternativas ao nível industrial. As amostras pressurizadas apresentaram resultados de turbidez que diferiram estatisticamente das amostras controle e pasteurizada, demonstrando que o processamento é capaz de aumentar a turbidez, no entanto de forma mais branda que a pasteurização. Entre as amostras pressurizadas, o menor (20,82%) e o maior (30,62%) incremento na turbidez foram observados nas amostras submetidas ao menor (210 MPa) e ao maior (490 MPa) nível de pressão, respectivamente. Tal resultado está de acordo com López-Fandiño (2006), que relatou que o aumento da desnaturação das proteínas do soro é diretamente proporcional ao aumento da pressão, o que influencia a turbidez.

Embora não tenha avaliado efeitos da APH, Baccouche et al. (2013) estudaram a estabilidade físico-química de uma bebida de soro e *Opuntia* spp., semelhante à bebida aqui desenvolvida. Os autores relataram que houve incremento da turbidez durante o armazenamento. O açúcar presente na polpa da fruta e a sacarose adicionada foram hidrolisados na presença de ácido cítrico, produzindo açúcares redutores (glicose e frutose), requeridos para a reação de *Maillard* com as proteínas do soro. Além disso, a formação de complexos entre os compostos fenólicos e as proteínas do soro promoveu o aumento da turbidez, uma vez que esta interação é a principal fonte de turvação em bebidas. Sugere-se que estes mecanismos também tenham influenciado a turbidez das amostras na presente pesquisa.

5.2.2 Efeitos da APH sobre características microbiológicas da bebida de soro e uva

Embora a APH receba destaque por sua capacidade de preservar atributos nutricionais e sensoriais nos alimentos, o principal objetivo desta tecnologia é minimizar os efeitos adversos do calor, ao mesmo tempo em que confere a segurança microbiológica (TADAPANENI et al., 2012).

Bebidas contendo apenas soro de queijo e fruta, como a desenvolvida neste experimento, ainda não possuem RTIQ na Legislação Brasileira. A Portaria n. 53/2013 estabelece parâmetros que devem ser atendidos pelo soro de queijo, mas não regulamenta bebidas contendo soro. Estas bebidas também não se encaixam no RTIQ de Bebidas Lácteas (IN n. 16/2005), pois bebida láctea é definida como o produto lácteo resultante da mistura do leite e soro de leite adicionado ou não de substância alimentícia, gordura vegetal, leite fermentado, fermentos lácteos ou outros produtos lácteos; a base láctea representando pelo menos 51% massa/massa (m/m) do total de ingredientes do produto. Além disso, este tipo de produto, quando adicionado de frutas, deve apresentar teor de proteínas mínimo de 1,0%. As bebidas à base de soro de queijo e suco de fruta disponíveis no mercado enquadram-se na categoria de bebidas compostas e são comercializadas dentro da categoria de sucos. Por este motivo, os valores aqui encontrados para as análises microbiológicas foram confrontados com os parâmetros microbiológicos estabelecidos para o soro, de acordo com a Portaria n. 53/2013 (BRASIL, 2001; BRASIL, 2005; BRASIL, 2013; ZACARCHENCO et al., 2013). Na Tabela

19 são ilustrados os resultados das análises microbiológicas da bebida de soro e uva submetida a diferentes tratamentos de APH e das bebidas controle e pasteurizada.

Tabela 19. Caracterização microbiológica das amostras de bebida de soro e uva

Tratamentos	Coliformes 45°C (UFC/g)	Coliformes 35°C (UFC/g)	Aeróbios Mesófilos* (UFC/g)	Fungos filamentosos e Leveduras* (UFC/g)	<i>Salmonella</i> spp.
C ^a	<3	<3	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausente
PAS ^b	<3	<3	5,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausente
1 (250 MPa/4min)	<3	<3	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausente
2 (450 MPa/4min)	<3	<3	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausente
3 (250 MPa/10min)	<3	<3	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausente
4 (450 MPa/10min)	<3	<3	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausente
5 (350 MPa/3min)	<3	<3	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausente
6 (350 MPa/11min)	<3	<3	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausente
7 (210 MPa/7min)	<3	<3	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausente
8 (490 MPa/7min)	<3	<3	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausente
9 (350 MPa/7min)	<3	<3	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausente
10 (350 MPa/7min)	<3	<3	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausente
11 (350 MPa/7min)	<3	<3	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausente

* Resultado em valores estimados; UFC/g - Unidade Formadora de Colônia/grama a) C: Controle; b) PAS: Pasteurizada.

Todas as amostras apresentaram enumeração de coliformes a 35°C e a 45°C e contagem de aeróbios mesófilos em conformidade com a determinação da Portaria n. 53/2013 para soro pasteurizado. Embora a Portaria não faça menção à detecção de *Salmonella* spp. ou contagem de fungos filamentosos e leveduras, estas técnicas foram incorporadas às análises. *Salmonella* spp. é um importante patógeno causador de infecções alimentares e cuja análise para possível detecção é preconizada pela RDC n. 12, de 2001 para todos os produtos lácteos, incluindo leite pasteurizado, matéria-prima do soro de queijo Minas frescal. Fungos e leveduras, embora não possuam representatividade como microbiota patogênica, constituem-se em agentes deteriorantes de alimentos, afetando a vida útil dos produtos, inclusive sucos de fruta. Não foi detectada a presença de *Salmonella* spp. nas amostras, o que pode ser atribuído à boa qualidade microbiológica do leite. Além disso, o pH da bebida (pH=3,8), não seria favorável para o desenvolvimento deste microrganismo. Com relação à contagem de fungos filamentosos e leveduras, todas as amostras apresentaram contagem em conformidade ao estabelecido pela metodologia (15 - 150 UFC/g).

Analisando a Tabela 19, é possível observar que a amostra controle apresentou boa condição sanitária, o que pode ser atribuído à qualidade da matéria-prima e ao adequado processo de fabricação da bebida. Verificou-se ainda que a condição sanitária da amostra não tratada foi mantida nas amostras processadas, resultado já esperado, indicando que não houve contaminação durante o preparo da amostra para o processamento.

5.2.3 Efeitos da APH sobre o teor de fenólicos totais da bebida de soro e uva

O teor de compostos fenólicos encontrado na bebida de soro e uva submetida a diferentes tratamentos de APH e nas bebidas controle e pasteurizada é ilustrado na Tabela 20.

Tabela 20. Caracterização quanto ao teor de fenólicos das amostras de bebida de soro e uva

Tratamentos	Teor de fenólicos (mg GAE/100g)	% retenção
C ^a	72,75 ± 5,30 ^a	-
PAS ^b	71,33 ± 5,22 ^{a,b}	98,05%
1 (250 MPa/4min)	66,00 ± 2,06 ^{a,b}	90,72%
2 (450 MPa/4min)	63,04 ± 2,26 ^b	86,65%
3 (250 MPa/10min)	69,88 ± 2,55 ^{a,b}	96,05%
4 (450 MPa/10min)	66,50 ± 1,44 ^{a,b}	91,41%
5 (350 MPa/3min)	69,30 ± 1,67 ^{a,b}	95,26%
6 (350 MPa/11min)	66,50 ± 1,44 ^{a,b}	91,41%
7 (210 MPa/4min)	65,54 ± 1,40 ^{a,b}	90,09%
8 (490 MPa/4min)	67,14 ± 1,36 ^{a,b}	92,29%
9 (350 MPa/10min)	66,20 ± 3,16 ^{a,b}	91,00%
10 (350 MPa/10min)	66,98 ± 1,90 ^{a,b}	92,07%
11 (350 MPa/10min)	66,20 ± 2,94 ^{a,b}	91,00%

*Letras iguais em uma mesma coluna não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. a) C: Controle; b) PAS: Pasteurizada.

O teor de fenólicos totais variou de 63,04 a 69,88 mg GAE /100 g nas bebidas pressurizadas. O menor teor de fenólicos foi encontrado na amostra processada por 450 MPa/4 min, enquanto o maior foi referente ao tratamento de 250 MPa/10 min. Os parâmetros do processo, tempo e pressão, não tiveram efeito significativo no teor de fenólicos totais e, portanto, não descreveram o comportamento dos compostos fenólicos em relação aos tratamentos, de acordo com a MSR. Não foi verificado qualquer termo significativo, linear ou quadrático, no modelo ajustado aos dados. O coeficiente de correlação ajustado foi igual a zero (R^2 ajustado= 0,00), resultando na falta de ajuste significativa do modelo ($p < 0,05$).

Na tentativa de ajuste, foram retirados os pontos axiais e os dados foram analisados segundo um planejamento fatorial 2^2 com três pontos centrais (modelo linear). Desta forma, o modelo gerado explicou 96,5% da variância dos dados (R^2 ajustado= 0,9646). Os resultados do delineamento para a influência da pressão e do tempo foram avaliados e os coeficientes de regressão e desvio-padrão com 5% de significância estão apresentados na Tabela 21. Na faixa estudada, pressão e tempo apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) sobre o teor de fenólicos. A pressão teve efeito linear negativo, enquanto o tempo, efeito linear positivo.

Tabela 21. Avaliação das variáveis do planejamento fatorial para o teor de fenólicos da bebida de soro e uva

Variáveis	Efeito	Erro Padrão Erro Puro	t(2)	P
Média*	66,40000	0,170210	390,1064	0,000007
Pressão (L)*	-3,17000	0,450333	-7,0392	0,019590
Tempo (L)*	3,67000	0,450333	8,1495	0,014725
Pressão(L) x Tempo(L)	-0,21000	0,450333	-0,4663	0,686846

*Fatores significativos a 95% de confiança; R^2 ajustado= 0,96; (L) = coeficiente linear; (Q) = coeficiente quadrático.

O modelo que apresenta a influência das variáveis independentes *Pressão* e *Tempo* sobre a variável resposta *Teor de Fenólicos* é apresentado pela Equação 5 e pela Figura 12.

$$\text{Teor de Fenólicos} = 66,81 - 0,134 * \text{Pressão} + 0,73 * \text{Tempo} \text{ (Eq. 5)}$$

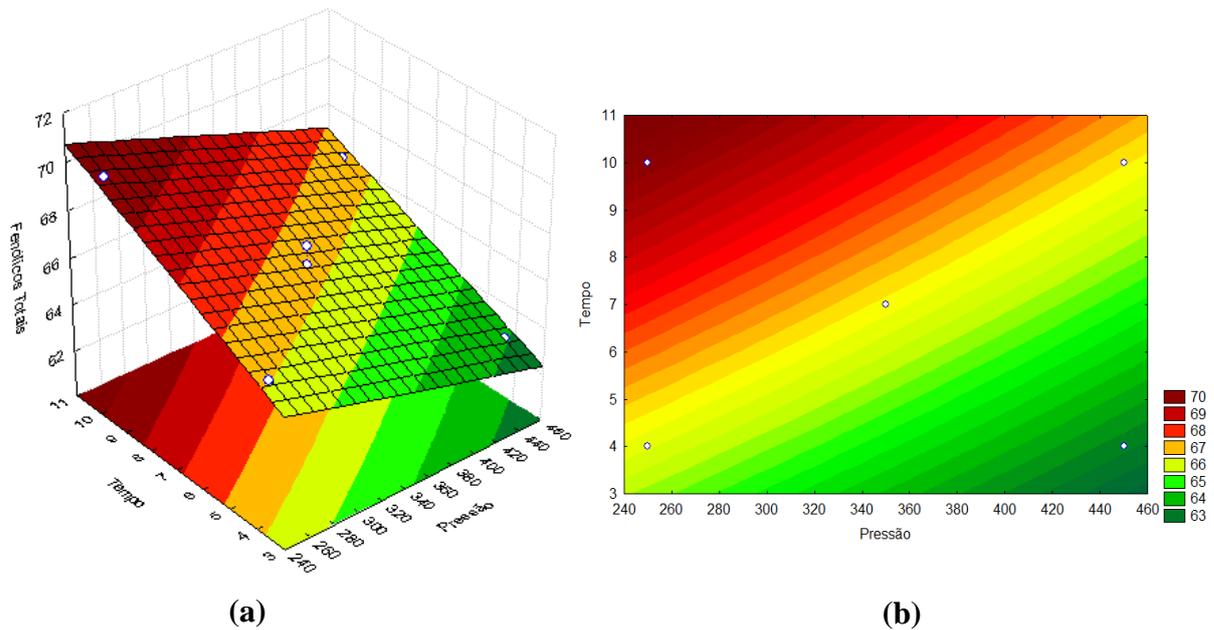


Figura 12. Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) em função de pressão e tempo para o teor de fenólicos na bebida de soro e uva.

Os resultados sugerem que na faixa estudada, o emprego de pressão mais baixa por tempo prolongado resultaria em maior retenção do conteúdo de fenólicos totais na bebida. Barba et al. (2012) encontraram comportamento semelhante em uma bebida mista de leite e laranja, que apresentou maior teor de fenólicos quando submetida à 100 MPa/7 min, correspondendo a uma retenção de aproximadamente 122%.

A amostra pasteurizada apresentou percentual de retenção (98,05%) de fenólicos totais superior às amostras pressurizadas. Entretanto, de acordo com o Teste de Tukey ($p < 0,05$), apenas a amostra referente ao tratamento a 450 MPa/4min diferiu estatisticamente da bebida controle, enquanto as outras amostras pressurizadas não diferiram da amostra controle e pasteurizada, indicando que a APH não teve influência negativa sobre o teor de fenólicos.

Não existe concordância com relação aos efeitos da APH sobre os compostos fenólicos nos alimentos. Em geral, eles costumam ser bastante resistentes à pressão em frutas, sucos e polpas. Romãs são conhecidas por seu alto teor de compostos fenólicos. Ferrari et al. (2010) processaram suco de romã à temperatura ambiente, a 400 - 600 MPa, por 5 e 10 min e observaram redução no teor de fenólicos para todos os tratamentos. Por outro lado, Queiroz et al. (2010) reportaram acréscimo de 17% e 22% no percentual de retenção de fenólicos de suco de caju pressurizado a 250 MPa/5 min e 400 MPa/5 min, respectivamente.

Além das condições do processamento, a matriz do alimento influencia diretamente o comportamento dos fenólicos totais. De acordo com Barba et al. (2012), em bebida de leite e laranja, os níveis de compostos fenólicos aumentaram significativamente em comparação a amostras não tratadas, exceto na condição de pressurização de 400 MPa/9 min, onde houve decréscimo. Segundo os autores, o aumento pode estar relacionado à maior facilidade de extração das amostras após a pressurização.

Por outro lado, Tadapaneni et al. (2012) demonstraram situação oposta, avaliando um produto semelhante ao aqui desenvolvido: uma bebida de leite e morango. A pressurização causou redução no percentual de retenção de fenólicos em relação à amostra controle não tratada. Segundo os autores, é possível que os compostos fenólicos tenham sido degradados

pela atividade enzimática residual de enzimas, como a peroxidase ou a polifenoloxidase, que são típicas de produtos à base de frutas. Outra possibilidade é que os compostos fenólicos tenham formado complexos secundários com as proteínas do leite, açúcares e outras moléculas e que a alta pressão tenha atuado sobre a estrutura destes complexos, diminuindo sua biodisponibilidade. Também é possível que os complexos de fenólicos e proteínas tenham sido retidos na etapa de filtração, quando as amostras foram preparadas para a análise. Todas estas explicações poderiam ser extrapoladas para o presente trabalho, já que o soro retém parte das proteínas do leite e lactose, com as quais os compostos fenólicos da polpa de uva podem apresentar interação. Por este motivo, destaca-se aqui também a necessidade de execução de estudos que investiguem a interação entre fenólicos e bases lácteas, bem como a biodisponibilidade dos compostos fenólicos nestes sistemas.

A bebida de uva apresentou menor teor de fenólicos do que a polpa de uva *in natura* ($203,63 \pm 6,96$ mg GAE/100g), o que já era esperado devido à proporção de soro: fruta (70/30 %), e pelo fato da base láctea atuar neste caso como um interferente (TADAPANENI et al., 2012). Ainda assim, a quantidade de fenólicos encontrada na bebida foi semelhante ao teor de fenólicos apresentado por algumas frutas, como maracujá, manga e mamão papaya (aproximadamente 60 mg GAE/100g) (LUXIMON-RAMMA et al., 2003; TIBURSKI, 2009).

5.2.4 Efeitos da APH sobre o teor de antocianinas da bebida de soro e uva

O teor de antocianinas encontrado na bebida de soro e uva submetida a diferentes tratamentos de APH e nas bebidas controle e pasteurizada é ilustrado na Tabela 22.

Tabela 22. Caracterização quanto ao teor de antocianinas das amostras de bebida de soro e uva

Tratamentos	Teor de antocianinas (mg/100g)	% retenção
C ^a	$8,72 \pm 0,28^a$	-
PAS ^b	$8,53 \pm 0,21^a$	97,82
1 (250 MPa/4min)	$8,91 \pm 0,21^a$	102,18
2 (450 MPa/4min)	$8,80 \pm 0,29^a$	100,92
3 (250 MPa/10min)	$8,89 \pm 0,23^a$	101,95
4 (450 MPa/10min)	$8,88 \pm 0,22^a$	101,83
5 (350 MPa/3min)	$8,75 \pm 0,29^a$	100,34
6 (350 MPa/11min)	$8,83 \pm 0,26^a$	101,26
7 (210 MPa/7min)	$8,71 \pm 0,34^a$	99,89
8 (490 MPa/7min)	$8,80 \pm 0,25^a$	100,92
9 (350 MPa/7min)	$8,82 \pm 0,16^a$	101,13
10 (350 MPa/7min)	$8,84 \pm 0,17^a$	101,38
11 (350 MPa/7min)	$8,79 \pm 0,32^a$	100,80

*Letras iguais em uma mesma coluna não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. a) C: Controle; b) PAS: Pasteurizada.

Dentre as amostras estudadas, a pasteurizada apresentou o menor teor de antocianinas ($8,53 \pm 0,21$ mg/100g), o que pode ser atribuído à alta sensibilidade destes pigmentos ao calor (TADAPANENI et al., 2012). Nas amostras pressurizadas, o teor de antocianinas variou de 8,71 a 8,91 mg/100 g, demonstrando certa estabilidade dos pigmentos à pressão. Os parâmetros do processo, tempo e pressão, não tiveram efeito significativo no teor de antocianinas, de acordo com a MSR. Assim como ocorreu para o teor de fenólicos, não foi

verificado qualquer termo significativo, linear ou quadrático, no modelo ajustado aos dados. Retirando os pontos axiais e analisando os dados segundo um planejamento fatorial 2² com três pontos centrais, foi verificada a falta de ajuste (R^2 ajustado= 0,06), não sendo possível validar o modelo.

Ao comparar-se a média e o desvio-padrão ($8,87 \pm 0,05$ mg/100g) dos experimentos 1 - 4, e os valores ($8,82 \pm 0,03$ mg/100g) obtidos para as três repetições do ponto central (9-11), observou-se que o desvio-padrão para o ponto central foi menor do que o verificado nos experimentos fatoriais. Portanto, a falta de ajuste não pode ser atribuída ao erro experimental. Ela pode ser explicada pela proximidade dos resultados médios para o teor de antocianinas das amostras, o que pode ser atribuído à proximidade dos níveis de pressão e tempo aplicados.

Embora não tenha sido constatada diferença estatística entre as amostras no Teste de Tukey ($p < 0,05$), aquelas processadas por APH apresentaram percentual de retenção de antocianinas levemente superior à amostra pasteurizada. Estudos de cinética têm demonstrado que as antocianinas presentes em frutas, sucos e polpas de fruta são sensíveis ao aumento de temperatura e relativamente resistentes à pressão. García-Palazon et al. (2004) reportaram a estabilidade de antocianinas em morango e framboesa vermelha, mesmo quando processadas em condições extremas de pressão (800 MPa/15 min). Similarmente, Patras et al. (2009) relataram a estabilidade destes compostos em polpa de morango e de mirtilo submetidos a tratamentos de 400 - 600 MPa/15 min. Verbeyst et al. (2010) e Verbeyst et al. (2011) constataram que o efeito da pressurização costuma ser menor em comparação ao térmico e os pigmentos são bastante estáveis a pressões de até 600 MPa, à temperatura ambiente.

Engmann et al. (2014) estudaram os efeitos de quatro variáveis (temperatura, tempo de aquecimento, pressão e tempo de pressurização) no conteúdo de antocianinas de suco de amora e apontaram o maior efeito da temperatura sobre o decréscimo das antocianinas, seguido pelo tempo de aquecimento. Os autores observaram decréscimo de 22% na retenção de antocianinas a 85°C. A retenção de antocianinas relativamente alta aqui observada na amostra pasteurizada pode ser atribuída ao tratamento em condição menos intensa (70°C).

Apenas a amostra processada no nível de pressão menos severo (210 MPa/7 min) apresentou teor de antocianinas ligeiramente inferior ao controle ($8,71 \pm 0,34$ mg/100g). O maior teor de antocianinas foi observado nas amostras processadas a 250 MPa por 4 min ($8,91 \pm 0,21$ mg/100g) e 10 min ($8,89 \pm 0,23$ mg/100g).

Os resultados aqui apresentados assemelharam-se aos relatados por Barba et al. (2013) para suco de mirtilo, cujos teores de antocianinas das amostras pressurizadas a 200-600 MPa por 5 a 15 min foram muito semelhantes ou superiores à amostra controle. Este resultado sugere que nestas condições de processamento a APH modifica o mecanismo de degradação das antocianinas, afetando moléculas envolvidas na cinética de reação, como as enzimas.

Tadapaneni et al. (2012) desenvolveram uma bebida de leite e morango e a submetem a 200 MPa/15 min e 600 - 800 MPa/1 - 15 min. Os autores observaram redução no teor de antocianinas (pelargonina 3-O-glucosídeo, pelargonina 3-malonil-glucosídeo e pelargonina 3-malonil-rutinosídeo) nas amostras pressurizadas em relação ao controle não tratado. No entanto, para a maior parte dos tratamentos, o teor de antocianinas foi superior ao da amostra pasteurizada. No presente estudo, as amostras de bebida apresentaram baixo teor de antocianinas quando comparadas à polpa de uva *in natura* ($29,74 \pm 0,31$ mg/100g), o que pode ser atribuído à menor proporção de fruta (30%) em relação ao soro (70%). Ainda assim, a quantidade aqui encontrada foi superior à observada por Burin et al. (2010) para três sucos de uva comerciais produzidos em Santa Catarina (2,55; 4,25 e 7,99 mg/100g).

5.2.5 Efeitos da APH sobre a capacidade antioxidante da bebida de soro e uva

A capacidade antioxidante da bebida de soro e uva submetida a diferentes tratamentos de APH e nas bebidas controle e pasteurizada é ilustrada na Tabela 23.

Tabela 23. Caracterização quanto à capacidade antioxidante das amostras de bebida de soro e uva

Tratamentos	Capacidade antioxidante ($\mu\text{mol Trolox/g}$)	% retenção
C ^a	1,33 \pm 0,01 ^{a,b,c}	-
PAS ^b	1,10 \pm 0,09 ^a	82,71%
1 (250 MPa/4min)	1,41 \pm 0,03 ^{b,c}	106,01%
2 (450 MPa/4min)	1,24 \pm 0,06 ^{a,b}	93,24%
3 (250 MPa/10min)	1,23 \pm 0,10 ^{a,b}	92,48%
4 (450 MPa/10min)	1,26 \pm 0,03 ^{a,b}	94,74%
5 (350 MPa/3min)	1,32 \pm 0,06 ^{a,b,c}	99,25%
6 (350 MPa/11min)	1,66 \pm 0,01 ^d	124,81%
7 (210 MPa/7min)	1,50 \pm 0,07 ^{c,d}	112,78%
8 (490 MPa/7min)	1,24 \pm 0,07 ^{a,b}	93,24%
9 (350 MPa/7min)	1,67 \pm 0,07 ^d	125,56%
10 (350 MPa/7min)	1,64 \pm 0,11 ^d	123,31%

*Letras iguais em uma mesma coluna não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. a) C: Controle; b) PAS: Pasteurizada.

Da mesma forma como ocorreu para o teor de fenólicos e de antocianinas, a bebida de uva apresentou menor capacidade antioxidante do que a polpa de uva *in natura* (11,68 \pm 0,90 $\mu\text{mol TEAC/g}$), o que era esperado devido à proporção de soro: fruta (70/30 %) e pela interferência da base láctea (TADAPANENI et al., 2012).

A capacidade antioxidante nas amostras pressurizadas variou de 1,23 a 1,67 $\mu\text{mol TEAC/g}$, o que representou uma variação de -7,52% a +25,56% em relação à amostra controle. O menor percentual de retenção de antioxidantes foi observado na amostra pasteurizada, com perda de aproximadamente 18% em relação à amostra controle. Chen et al. (2013) estudaram o efeito da APH na capacidade antioxidante de suco de romã e observaram, assim como no presente estudo, que esta tecnologia preservou melhor o conteúdo de compostos bioativos da bebida que a pasteurização, tendo o mesmo ocorrido para uma bebida mista de leite e laranja (BARBA et al., 2012b).

De acordo com o Teste de Tukey ($p < 0,05$), as amostras pressurizadas a 350 MPa, por 7 e 11 min apresentaram capacidade antioxidante significativamente superior, enquanto as demais não diferiram estatisticamente da amostra controle. Tadapaneni et al. (2012) relataram que o processamento a 200 MPa/15 min e a 600 MPa/ 1 - 15 min causou aumento significativo da capacidade antioxidante (ORAC) de uma bebida de leite e morango, enquanto tratamentos de magnitude superior em tempo e pressão (> 600 MPa) não influenciaram tal atributo, sugerindo que o aumento poderia estar associado com uma possível diminuição de volume decorrente da pressurização ou com alterações na matriz do alimento, o que leva à liberação de compostos capazes de se ligar a radicais livres. Os resultados aqui encontrados para a capacidade antioxidante da bebida de soro e uva foram semelhantes aos relatados por Patras et al. (2009), que reportaram que a APH aumentou ou não afetou o atributo em alimentos líquidos (DPPH). No entanto, estes resultados devem ser discutidos apenas para

efeito de ilustração e não de comparação, pois, para cada um dos estudos, foi utilizada uma metodologia para a mensuração da capacidade antioxidante (TEAC, ORAC e DPPH).

Os resultados da influência da pressão e do tempo na capacidade antioxidante segundo a MSR foram avaliados e os coeficientes de regressão e desvio-padrão com 5% de significância estão apresentados na Tabela 24.

Tabela 24. Avaliação das variáveis do DCCR[§] para a capacidade antioxidante da bebida de soro e uva

Variáveis	Efeito	Erro Padrão Erro Puro	t(1)	P
Média*	1,663855	0,014963	111,1956	0,005725
Pressão (L)	-0,127273	0,015076	-8,4423	0,075058
Pressão (Q)*	-0,363259	0,019874	-18,2779	0,034795
Tempo (L)	-0,077647	0,015435	5,0306	0,124920
Tempo (Q)	-0,272658	0,021525	-12,6669	0,050155
Pressão(L) x Tempo(L)	0,100000	0,021213	4,7140	0,133075

[§] Delineamento composto central rotacional; *Fatores significativos a 95% de confiança; R² ajustado=0,34; (L) = coeficiente linear; (Q) = coeficiente quadrático.

Apenas o efeito quadrático da pressão foi significativo (p<0,05), o que sugere que dentro da faixa estudada, o tratamento a 350 MPa permitiu a retenção máxima da capacidade antioxidante no ponto central (350 MPa/7 min). Desta forma, o aumento da pressão inicialmente permitiu o aumento da capacidade antioxidante, o que não ocorreu de forma progressiva, pois foi verificada menor retenção em tratamentos com pressões inferiores e superiores a 350 MPa.

O modelo que apresenta a influência da variável independente *Pressão* sobre a variável resposta *Capacidade antioxidante* é apresentado pela Equação 6 e pela Figura 13.

$$\text{Capacidade antioxidante} = - 0,76 - 0,00002 * \text{Pressão}^2 \quad (\text{Eq. 6})$$

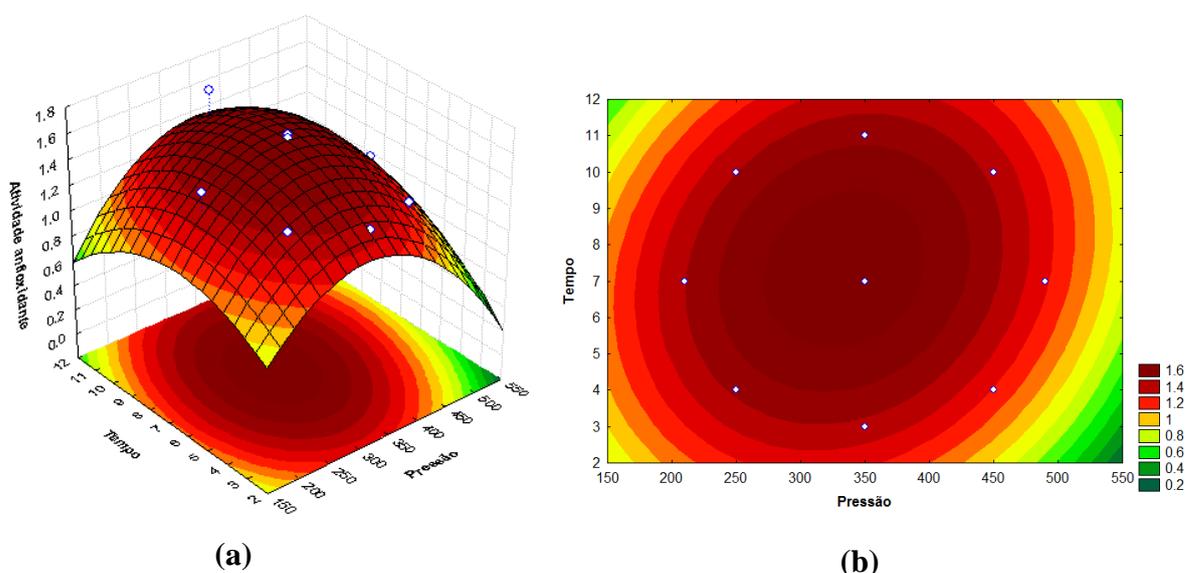


Figura 13. Superfície de resposta (a) e curvas de contorno (b) em função de pressão e tempo para a capacidade antioxidante na bebida de soro e uva.

Os resultados aqui apresentados (Tabela 24 e Figura 13) sugerem uma possível interferência do calor adiabático na extração dos compostos responsáveis pela capacidade antioxidante. A elevação da temperatura com a pressão no início do processo, devido ao calor adiabático, ocasiona incremento de cerca de 3 °C para cada 100 MPa, o que pode ter contribuído para os resultados, pois a elevação da pressão resulta inicialmente em acréscimo e posteriormente em decréscimo da capacidade antioxidante. Desta forma, pode ter ocorrido o efeito antagônico de incremento da extração com a elevação de pressão, mas contrariamente a degradação dos compostos pela elevação de temperatura associada com tal aumento de pressão (TOEPFL et al., 2006; TIBURSKI, 2009).

Outra possibilidade é que a alta pressão tenha inicialmente ocasionado um aumento na permeabilidade da membrana celular e/ou de organelas, ou mesmo uma modificação nas interações entre proteínas e compostos fenólicos, favorecendo a extração dos compostos responsáveis pela capacidade antioxidante do produto, a exemplo do que ocorre em alimentos ricos em carotenoides. Com o decorrer do processo, em virtude do efeito térmico ocasionado pela interferência do calor adiabático, o calor poderia ter inativado a liberação destes compostos e, portanto, a capacidade antioxidante ter diminuído nas amostras (KEENAN et al., 2010).

Não foi encontrada uma correlação (Teste de Correlação de Pearson) entre o teor de fenólicos e de antocianinas e a capacidade antioxidante ($r = - 0,15$). Barba et al. (2012b) encontraram correlação negativa entre o teor de fenólicos e a capacidade antioxidante em uma bebida de leite e laranja, o mesmo sendo observado por Tiburski (2009) para polpa de cajá pressurizada. No entanto, Patras et al. (2009) encontraram correlação positiva entre a capacidade antioxidante e o teor de antocianinas em polpa de morango, o que pode ser justificado pelo fato da pressurização provocar diferentes resultados nos produtos de frutas.

Todas as amostras aqui estudadas apresentaram resultados semelhantes para as análises físico-química, microbiológica e para o teor de compostos bioativos. O critério de escolha do tratamento a ser utilizado na bebida submetida à análise sensorial foi baseado na segurança microbiológica que o mesmo poderia garantir ao produto comercial. Por este motivo, tratamentos com os maiores níveis de pressão (≥ 350 MPa) e maior tempo de retenção (≥ 10 min) foram priorizados. Todas as amostras processadas em tais condições apresentaram a mesma condição microbiológica. Como a amostra pressurizada a 350 MPa/11 minutos apresentou melhor retenção da capacidade antioxidante, este tratamento foi escolhido como condição de processamento da bebida a ser avaliada no teste sensorial com o consumidor.

5.2.6 Efeitos da APH sobre a cor da bebida de soro e uva

A faixa de temperatura (80 - 110 °C) comumente utilizada na indústria para o processamento de produtos à base de frutas pode provocar o escurecimento de sucos, como o de abacaxi, de maçã, pera e ameixa e de laranja (TIBURSKI, 2009). Por este motivo, a preservação da cor nestes produtos é uma das principais vantagens da APH, uma vez que a tecnologia apresenta efeito limitado nos pigmentos responsáveis por esta característica dos alimentos. O efeito da APH e da pasteurização nos parâmetros de cor da bebida de soro e uva é ilustrado na Tabela 25.

Tabela 25. Caracterização quanto aos parâmetros de cor das amostras de bebida de soro e uva

Tratamentos	<i>L</i>*	<i>a</i>*	<i>b</i>*	<i>ΔE</i>
C ^a	30,96 ± 0,13 ^{a,b}	3,22 ± 0,13 ^c	-1,65 ± 0,13 ^a	-
PAS ^b	31,14 ± 0,14 ^{a,b}	3,57 ± 0,14 ^{a,b}	-1,32 ± 0,01 ^f	0,51
1 (250 MPa/4min)	31,17 ± 0,14 ^{a,b}	3,75 ± 0,07 ^{a,b}	-1,53 ± 0,04 ^{b,c,d}	0,58
2 (450 MPa/4min)	30,95 ± 0,15 ^{a,b}	3,64 ± 0,07 ^{a,b}	-1,38 ± 0,05 ^{e,f}	0,50
3 (250 MPa/10min)	31,10 ± 0,04 ^{a,b}	3,59 ± 0,09 ^{a,b}	-1,58 ± 0,08 ^{a,b,c}	0,40
4 (450 MPa/10min)	30,92 ± 0,01 ^{a,b}	3,47 ± 0,09 ^{b,c}	-1,43 ± 0,07 ^{d,e,f}	0,34
5 (350 MPa/3min)	31,27 ± 0,12 ^a	3,87 ± 0,10 ^a	-1,53 ± 0,03 ^{a,b,c,d}	0,53
6 (350 MPa/11min)	31,09 ± 0,06 ^{a,b}	3,74 ± 0,13 ^{a,b}	-1,42 ± 0,03 ^{d,e,f}	0,58
7 (210 MPa/4min)	31,17 ± 0,10 ^{a,b}	3,54 ± 0,06 ^b	-1,64 ± 0,02 ^{a,b}	0,38
8 (490 MPa/4min)	30,80 ± 0,46 ^b	3,72 ± 0,20 ^{a,b}	-1,47 ± 0,09 ^{c,d,e}	0,55
9 (350 MPa/10min)	31,20 ± 0,16 ^{a,b}	3,61 ± 0,15 ^{a,b}	-1,50 ± 0,05 ^{c,d,e}	0,38
10 (350 MPa/10min)	31,16 ± 0,11 ^{a,b}	3,51 ± 0,15 ^{b,c}	-1,50 ± 0,03 ^{c,d,e}	0,48

*Letras iguais em uma mesma coluna não diferem entre si significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey. a) C: Controle; b) PAS: Pasteurizada.

Tomando como referência a escala CIELAB, observou-se que as amostras pressurizadas, não diferiram estatisticamente da amostra controle. Para todas as amostras pressurizadas houve aumento significativo da coloração vermelha (aumento de a^*) em relação ao controle, além de uma tendência de diminuição da coloração azul (aumento de b^*). Estas modificações podem ser atribuídas a mudanças na isomeria dos pigmentos responsáveis pela cor (BARBA et al., 2012b). A análise através da MSR demonstrou que pressão e tempo de retenção não foram significativos nos modelos gerados, o mesmo ocorrendo com a análise dos dados segundo um planejamento fatorial simples.

Embora o Teste de Tukey tenha apontado diferença estatística entre as amostras com relação aos parâmetros L^* , a^* , b^* , para as amostras PAS, 1, 2, 3, 5, 6 e 8 a diferença foi classificada como "pouco perceptível" ($\Delta E = 0,5$ a $1,5$), enquanto para as restantes, como "não perceptível" ($\Delta E = 0$ a $0,5$), demonstrando certa estabilidade da cor. Daoudi et al. (2002) observaram comportamento semelhante em suco de uva branco pressurizado (400 - 500 MPa/2 °C/ 10 min e 400 MPa/40 °C/10 min), que não apresentou diferença de cor visualmente perceptível imediatamente após a pressurização.

5.3 Análise Sensorial

5.3.1 Primeira etapa - Testes sensoriais preliminares

Não houve consenso entre os participantes do primeiro estudo preliminar em relação ao teor de soro de queijo Minas frescal e polpa de uva a ser utilizado na formulação da bebida. Porém, como o presente estudo visou o aproveitamento máximo do soro, foi utilizada a quantidade intermediária deste ingrediente (70%), uma vez que a concentração superior (80%) foi rejeitada. Desta forma, a formulação base foi fixada em 70% de soro (v/v) e 30% de polpa de uva (v/v).

A partir da formulação base (70% soro: 30% polpa de uva) foi investigada a aceitação das bebidas variando o teor de açúcar e o pH, seguindo a metodologia de superfície de resposta (MSR). As médias de aceitação para cada formulação de bebida de soro e uva são apresentadas na Tabela 26. Não houve diferença entre as bebidas avaliadas quanto à aceitação, porém foi observado efeito significativo do pH na aceitação ($p=0,03$, Tabela 27). O

efeito do teor de açúcar e do pH pode ser observado nos parâmetros estatísticos mostrados na Tabela 27.

Tabela 26. Médias da aceitação[§] das bebidas de soro e uva

Amostras	Teor de Açúcar (%)	pH	Médias (\pm desvio-padrão)
1	6,0	3,8	5,3 \pm 2,00
2	6,0	4,2	5,0 \pm 2,18
3	8,0	3,8	5,3 \pm 2,07
4	8,0	4,2	5,3 \pm 2,22
5	5,6	4,0	5,1 \pm 2,15
6	8,4	4,0	5,6 \pm 1,99
7	7,0	3,7	5,5 \pm 2,10
8	7,0	4,3	4,9 \pm 2,29
9	7,0	4,0	5,3 \pm 1,97
10	7,0	4,0	5,5 \pm 1,92
11	7,0	4,0	5,4 \pm 2,17

[§] Avaliada em escala hedônica de nove pontos variando de 1: desgostei extremamente a 9: gostei extremamente.

Tabela 27. Efeito das variáveis independentes e interação na aceitação sensorial da bebida de soro e uva

Variáveis	Efeito	Erro Padrão Erro Puro	t(2)	P
Média*	5,415226	0,046633	116,1236	0,000074
Teor de Açúcar (L)	0,022727	0,057443	3,8774	0,060538
Teor de Açúcar (Q)	-0,127087	0,069657	-1,8245	0,209636
pH (L)*	-0,287059	0,055448	-5,1771	0,035345
pH (Q)	-0,245698	0,061969	-3,9649	0,058122
Teor de açúcar (L) x pH (L)	0,130000	0,080829	1,6083	0,249027

*Fatores significativos a 95% de confiança; R² ajustado=0,73; (L) = coeficiente linear; (Q) = coeficiente quadrático.

Apenas o efeito do pH foi significativo ($p < 0,05$), tendo apresentado efeito linear negativo, ou seja, dentro da faixa estudada, a aceitação sensorial tendeu a aumentar com a diminuição do pH, conforme ilustrado pela Tabela 27. O modelo gerado explicou 73% da variância do experimento (R² ajustado = 0,73). Embora os dados não tenham se encaixado ao modelo, os resultados sugeriram que fosse utilizado o pH de 3,8 para as próximas etapas de análise sensorial e que outro teste fosse realizado para identificar o teor de açúcar, pois foi encontrado $p > 0,05$ para esta variável.

Resultados da literatura revelaram que não existe padronização com relação à quantidade de soro a ser utilizada no desenvolvimento de bebidas. Para os produtos cuja base láctea é apenas o soro, a quantidade de ingredientes pode variar de acordo com o tipo de soro (doce ou ácido) e a fruta (HOLSINGER et al., 1974). Guedes et al. (2013) variaram a concentração de soro de queijo coalho de 35 a 75% para a elaboração de bebida de soro e fruta. As bebidas preferidas no teste sensorial foram as de graviola, morango e goiaba, nesta ordem. A maior proporção de soro na bebida não foi responsável pela diminuição da

preferência dos avaliadores, pois as bebidas sabor graviola, goiaba e caju, todas com 65% de soro colocaram-se em primeiro, terceiro e quarto lugares, respectivamente. Ainda, comparando o primeiro e o último lugar, a bebida preferida tinha maior quantidade de soro (65%) do que a sexta colocada (45%). Isto demonstra a importância da fruta utilizada na formulação e as proporções entre ela e o soro. Mesmo para as bebidas lácteas, não há uma proporção padrão de leite:soro a ser seguida. Foi estabelecido apenas que a base láctea deve representar no mínimo 51% dos ingredientes; portanto, não se tem conhecimento sobre o que pode ocorrer ao variar a proporção de leite e soro (ALMEIDA et al., 2000), o que ratifica a importância dos estudos sensoriais na avaliação dos produtos.

5.3.2 Segunda etapa - Teste de aceitação, determinação da doçura ideal e caracterização sensorial de bebidas com diferentes teores de açúcar

Como não foi possível concluir sobre a doçura preferida a partir do estudo anteriormente apresentado utilizando a metodologia de superfície de resposta (MSR, resultados mostrados na Tabela 26), foram elaboradas formulações com diferentes teores de sacarose (0 - 10%) e pH 3,8 (identificado como o mais adequado), as quais foram avaliadas quanto à aceitação por consumidores de leite e bebidas lácteas em geral. A Tabela 28 apresenta a média da aceitação dos consumidores (n=104) em relação às bebidas avaliadas.

Tabela 28. Média de aceitação[§] global e desvio-padrão (entre parênteses) das bebidas de soro e uva elaboradas com diferentes teores de açúcar (pH 3,8)

Amostra	Aceitação Global
F1 (0%)	3,9 ^a (2,1)
F2 (2%)	4,9 ^b (2,0)
F3 (4%)	5,5 ^c (2,2)
F4 (6%)	5,6 ^c (2,3)
F5 (8%)	5,6 ^c (2,3)
F6 (10%)	5,7 ^c (2,2)

[§] Avaliada em escala hedônica de nove pontos variando de 1: desgostei extremamente a 9: gostei extremamente.

*Letras iguais em uma mesma coluna não diferem entre si significativamente (p<0,05) pelo teste de Tukey.

As médias de aceitação global para as bebidas variaram de 3,9 a 5,7. Foi observada uma tendência de aumento da aceitação à medida que a doçura das bebidas aumentou. A maior aceitação foi observada para as bebidas com 4, 6, 8 e 10% de açúcar, que não diferiram estatisticamente entre si segundo o Teste de Tukey (p<0,05). No entanto, diferiram das amostras com zero e 2% de sacarose. A amostra sem açúcar foi a que alcançou a menor aceitação, seguida pela amostra com 2% de açúcar.

Assim como ocorreu com a proporção de soro e fruta, não houve consenso quanto à quantidade de açúcar a ser adicionada às bebidas de modo a identificar a sensorialmente mais gostada, sugerindo que a aceitação de um produto depende da interação de diversos fatores, como a fruta utilizada para a formulação, o teor de matéria seca e a acidez da bebida (DJURIC et al., 2004), além, evidentemente, da preferência individual de cada consumidor.

O teor ideal de açúcar a ser adicionado na bebida através da determinação da doçura ideal (JAR) foi realizado a fim de identificar tal parâmetro, cujos resultados são mostrados na Figura 14. Substituindo a variável y por 5 (ideal) na equação obtida a partir da regressão linear: $y = 0,3995x + 3,266$, foi encontrada a concentração de 4,3 % (gramas de sacarose/100 mL de bebida).

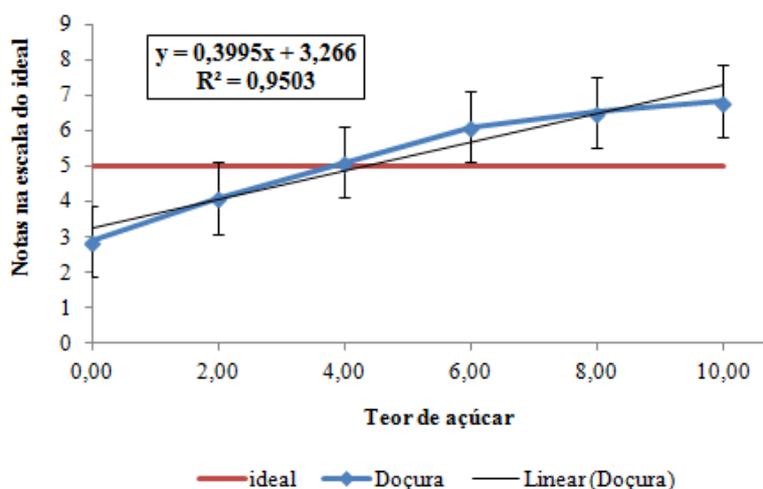


Figura 14. Determinação da doçura ideal para a formulação de bebida de soro e uva.

Em estudo conduzido por Singh e Singh (2012) utilizando a MSR, a proporção de açúcar para a formulação de uma bebida de soro e manga foi de 12%. Yadav et al. (2010) desenvolveram uma bebida de soro, suco de banana e extrato de plantas medicinais com 8% de açúcar, que apresentou características sensoriais favoráveis até o 15º dia de armazenamento sob refrigeração. Guedes et al. (2013) produziram bebidas à base de soro de queijo coalho com frutas e hortaliças, com a constante adição de 10% de sacarose para todas as formulações. Já Djuric et al. (2004) demonstraram que dentre diferentes sabores de bebida de soro e fruta, aquela contendo pêssego e com a menor concentração de açúcar (2%) alcançou melhor performance quando avaliada por uma equipe de avaliadores treinados. Entretanto, nestes estudos a quantidade de açúcar foi estabelecida sem a utilização da escala do ideal. No presente estudo, o teor de açúcar esteve dentro da faixa de valores observada por estes autores.

Com relação à descrição sensorial das bebidas, foi solicitado aos consumidores que marcassem, dentre os 22 termos, todos aqueles que descrevessem o produto (cada uma das seis formulações e a bebida ideal hipotética). Para as seis bebidas experimentais, os atributos citados em maior frequência foram: cor característica de uva; cor atrativa; sabor de uva fraco; gosto doce (citado principalmente para as amostras F5 e F6) e sabor de soro de leite/leite. Isto reflete a semelhança visual da bebida com o suco de uva, o alto teor de açúcar presente em algumas amostras e também a maior proporção de soro em relação à uva, o que possivelmente determinou a escolha dos termos sabor de uva fraco e sabor de soro de leite/leite.

Os descritores marcados com maior frequência para a bebida ideal foram: cor característica de uva; gostosa; aroma de uva; cor atrativa e tem equilíbrio acidez/doçura, o que demonstrou serem estes os principais atributos que ditaram a preferência. Conforme esperado, os termos aroma estranho; sabor estranho; sabor residual persistente/ruim; gosto salgado e não tem equilíbrio acidez/doçura não foram marcados para a bebida ideal.

A Tabela 29 mostra a frequência de uso de cada termo do questionário CATA para a descrição sensorial das seis bebidas de soro e uva e da bebida ideal hipotética. De acordo com o Teste Q de Cochran, houve diferença significativa ($p < 0,05$) na frequência com que 17 dos 22 termos utilizados para descrever as amostras da bebida de soro e uva foram percebidos pelos consumidores, o que sugere que foram detectadas diferenças sensoriais nos produtos avaliados. A diferença não foi percebida apenas para os atributos cor atrativa, aroma agradável, aroma estranho, aroma de soro de leite/leite e sabor de soro de leite/leite.

Tabela 29. Número de consumidores que utilizaram os termos do questionário CATA para a descrição sensorial das seis bebidas de soro e uva e da bebida ideal

Atributo	Amostras						Ideal
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	
Cor característica de uva*	66	68	71	78	71	82	99
Cor atrativa ^{ns}	54	59	58	67	57	63	83
Aroma agradável ^{ns}	16	26	24	27	27	31	70
Aroma de uva**	10	15	18	22	19	29	89
Aroma fraco***	43	47	34	23	29	28	4
Aroma estranho ^{ns}	20	16	21	17	14	9	0
Aroma doce***	12	17	20	35	36	34	27
Aroma de soro de leite/leite ^{ns}	35	37	39	38	31	29	1
Sabor de soro de leite/leite ^{ns}	36	44	37	38	38	37	3
Gosto doce***	6	11	34	58	69	74	39
Não tem equilíbrio acidez/doçura***	44	24	17	23	15	21	0
Tem equilíbrio acidez/doçura***	9	26	39	43	35	32	81
Sabor residual persistente/ruim**	20	18	13	6	9	8	0
Sabor de uva fraco*	46	49	50	37	36	34	4
Sabor de uva forte***	8	10	10	21	13	22	70
Gosto ácido***	42	20	16	11	2	7	11
Sem açúcar/pouco doce***	57	42	15	5	5	2	23
Gosto salgado***	31	27	8	6	4	6	0
Sabor estranho***	39	26	22	15	6	23	0
Ralo**	34	32	19	19	18	11	2
Encorpado***	19	24	30	42	35	36	70
Gostoso***	10	12	31	32	33	32	94

Asteriscos indicam diferença significativa entre as amostras de acordo com o Teste Q de Cochran a ***p ≤ 0,001; **p ≤ 0,01; *p ≤ 0,05; ^{ns} não significativo (p > 0,05). O produto ideal não foi incluído no teste Q de Cochran.

A análise múltipla de fatores (AMF) foi realizada nos dados do CATA em duas condições distintas. A primeira delas considerando apenas a tabela de contingência com os resultados das seis amostras e a segunda, considerando também as menções do CATA para a bebida ideal. Em ambos os casos os resultados da preferência foram considerados como variável suplementar.

Na primeira condição (apenas as seis amostras), as duas primeiras dimensões explicaram 83,35% da variância dos dados experimentais, com 73,43% e 9,92% para a primeira e segunda dimensão, respectivamente, conforme apresentado na Figura 15. A distância entre os pontos correspondentes às amostras é uma medida da semelhança entre elas. Portanto, pode-se observar que dois grupos com características sensoriais e hedônicas

similares foram identificados: bebidas F1, F2 e F3 no quadrante direito foram associadas aos termos ralo, gosto ácido, sem açúcar/pouco doce, gosto salgado, sabor residual ruim, não tem equilíbrio acidez/doçura, sabor estranho e aroma fraco. Por outro lado, o outro grupo compreendeu as formulações F4, F5 e F6 no quadrante esquerdo e descritas com os termos encorpado, gostoso, sabor de uva forte, cor característica, aroma agradável, aroma doce, aroma de uva e gosto doce.

A segunda dimensão foi associada positivamente aos termos aroma de soro de leite/leite e aroma estranho e não foi correlacionada negativamente a quaisquer termos descritores.

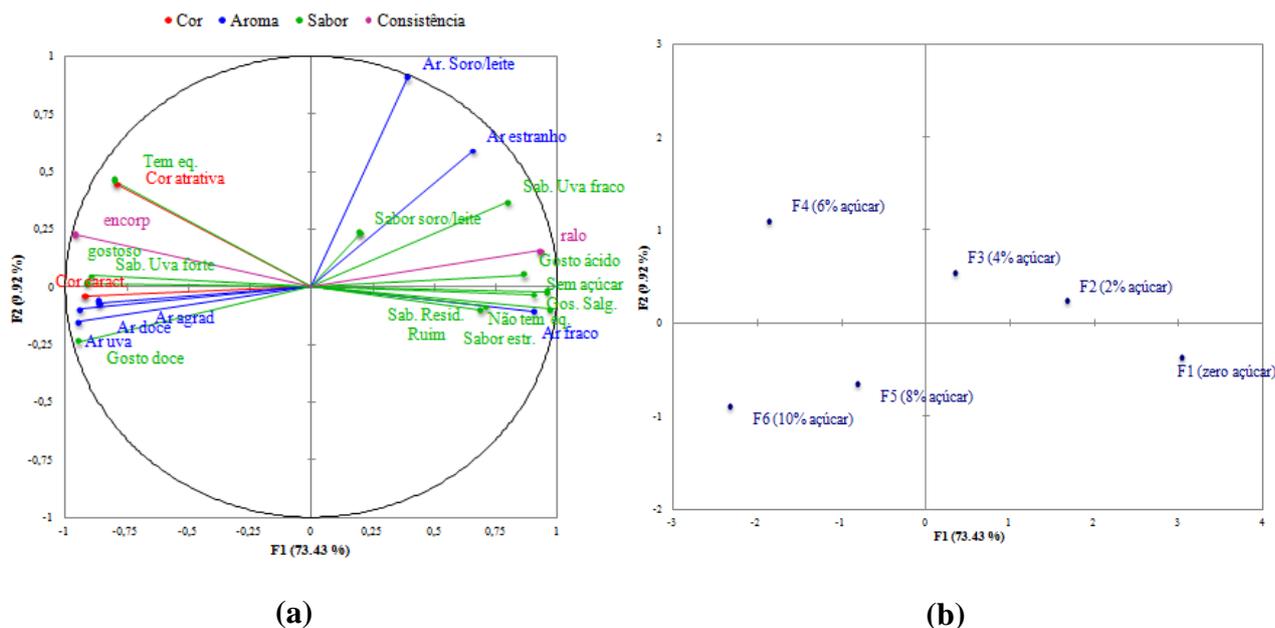


Figura 15. Termos sensoriais e hedônicos utilizados para descrever as amostras nas duas primeiras dimensões da AMF da contagem do CATA considerando a tabela de contingência com os resultados das seis amostras (a) Representação gráfica dos termos e (b) representação das seis bebidas de soro e uva.

Na segunda condição, onde também foi considerada a menção dos termos referentes à bebida de soro e uva ideal, as duas primeiras dimensões explicaram 93,92% da variância dos dados experimentais, com 80,86% e 13,06% para a primeira e segunda dimensão, respectivamente, conforme a Figura 16. A primeira dimensão foi correlacionada positivamente aos termos aroma de uva, sabor de uva forte, aroma agradável, cor atrativa, gostoso, cor característica de uva, encorpado, tem equilíbrio acidez/doçura, ratificando que tais atributos dirigiram a preferência; e correlacionada negativamente aos termos sabor residual persistente/ruim, não tem equilíbrio acidez/doçura, ralo, aroma fraco, aroma estranho, sabor de uva fraco, aroma de soro de leite/leite e sabor de soro de leite/leite, opostos à direção da preferência. A segunda dimensão foi correlacionada positivamente aos termos sem açúcar/pouco doce e gosto ácido e negativamente a aroma doce e gosto doce.

A Figura 16 também ilustra a posição das amostras nas duas primeiras dimensões da AMF. Ao longo da segunda dimensão, as amostras foram separadas em dois grupos de acordo com as impressões sensoriais e hedônicas, ficando as amostras correspondentes às formulações F1 e F2 no quadrante superior e as correspondentes às formulações F3, F4, F5 e F6 no quadrante inferior. As amostras F1 e F2 relacionaram-se aos termos sem açúcar/pouco doce, gosto ácido, gosto salgado, sabor estranho, sabor residual persistente/ruim, não tem

equilíbrio acidez/doçura, ralo e aroma fraco, enquanto as amostras F3 e F5, aos termos aroma estranho, sabor de uva fraco, aroma de soro de leite/leite e sabor de soro de leite/leite. As amostras F4 e F6 foram ainda separadas das demais pela primeira dimensão, e relacionaram-se aos termos aroma doce e gosto doce.

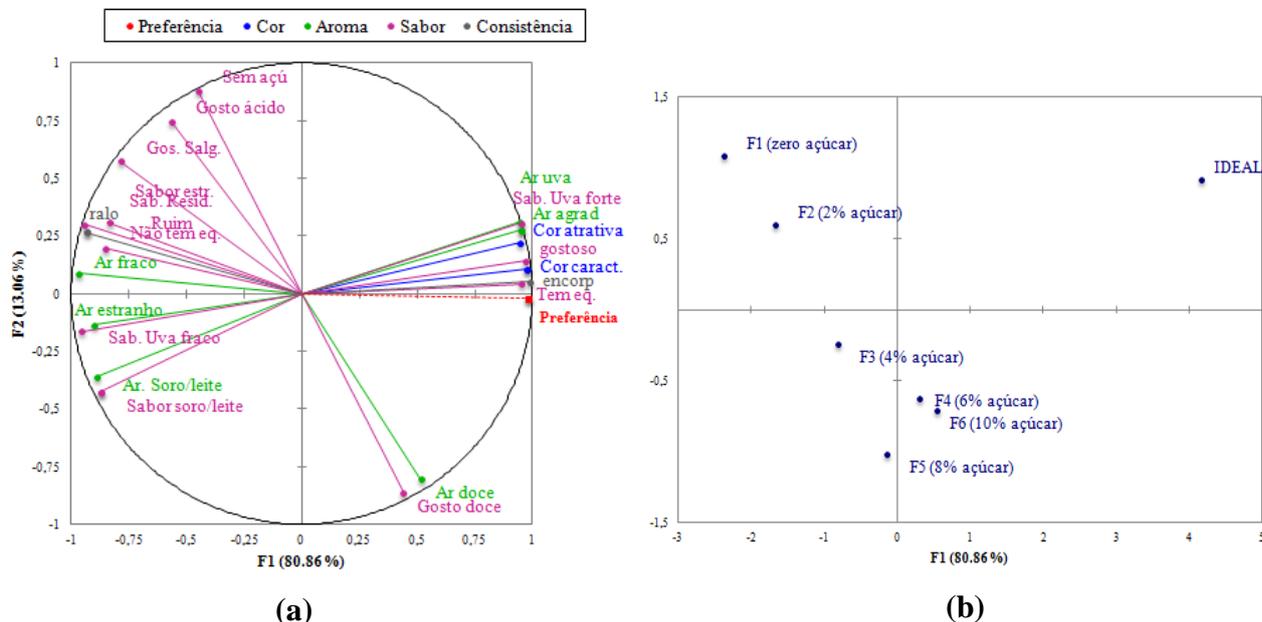


Figura 16. Termos sensoriais e hedônicos utilizados para descrever as amostras nas duas primeiras dimensões da AMF da contagem do CATA considerando a tabela de contingência com os resultados das seis amostras e as menções do CATA para a bebida ideal. (a) Representação gráfica dos termos e (b) representação das seis bebidas de soro e uva.

A escolha da formulação a ser utilizada nas etapas seguintes do experimento foi baseada apenas na determinação do teor de açúcar ideal, o que resultou na indicação de uma bebida formulada com 4,3% de sacarose e, portanto, mais próxima dos atributos sensoriais da formulação F3. Considerando a análise dos dados do CATA com e sem a bebida ideal, a amostra F3 mostrou-se como uma intermediária entre dois grupos, um formado pelas amostras F1 e F2 e outro, pelas amostras F4, F5 e F6. Analisando a correspondência entre os gráficos da análise com a bebida ideal, constatou-se que a preferência foi pautada em atributos que não estiveram relacionados a quaisquer das amostras em estudo, e que a amostra ideal ficou localizada no quadrante superior direito, onde nenhuma amostra esteve posicionada. Desta forma, sugere-se que a variação do teor de açúcar nas amostras não tenha sido determinante para que o consumidor percebesse atributos relacionados ao produto ideal. Além disso, embora a doçura seja uma característica importante para o desenvolvimento de produtos à base de frutas, há outras características sensoriais ou hedônicas que também influenciam a preferência.

5.3.3 Terceira etapa - Teste de aceitação e caracterização sensorial de bebidas processadas

Nesta etapa foram submetidas à análise sensorial as bebidas de soro e uva comercial (C), pasteurizada (PAS) e pressurizada (APH). Ambas as bebidas processadas foram formuladas com 70% de soro, 30% de polpa de uva, 4,3% de açúcar e pH 3,8, ajustado com ácido cítrico. A pasteurização foi realizada com a elevação da temperatura até 70°C seguida

de choque térmico e a pressurização a 350 MPa/11 min. A Tabela 30 apresenta a média da aceitação alcançada por cada amostra avaliada pelos consumidores (n=100).

Tabela 30: Média de aceitação[§] global e desvio-padrão (entre parênteses) das bebidas de soro e uva processadas (PAS e APH) e comercial (C)

Amostra	Aceitação Global
C	5,8 ^a (2,2)
PAS	5,2 ^{a,b} (2,1)
APH	4,8 ^b (2,4)

[§] Avaliada em escala hedônica de nove pontos variando de 1: desgostei extremamente a 9: gostei extremamente.

*Letras iguais em uma mesma coluna não diferem entre si significativamente ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Os dados dos consumidores revelaram que a média de aceitação global para as bebidas variou de 4,8 a 5,8. A maior aceitação foi alcançada pela bebida comercial (5,8), porém, não diferiu da bebida pasteurizada (5,2) e a menor aceitação foi para a bebida pressurizada. Foi observada diferença estatística entre a média de aceitação das bebidas comercial e pressurizada, enquanto ambas não diferiram da bebida pasteurizada ($p > 0,05$). Embora tenha sido apontada diferença estatística, merece destaque o fato de que nem mesmo a bebida comercial apresentou média de aceitação global elevada. Isto pode ser atribuído ao fato da bebida de soro ser um produto novo no Brasil, e como tal, ainda necessita de ajustes na formulação e/ou apresentação. Além disso, o público não possui conhecimento quanto a esse tipo de produto, sua procedência e possíveis benefícios à saúde, os quais poderiam contribuir para a maior aceitação. Outro ponto é que a polpa de uva não é rotineiramente utilizada como flavorizante em bebidas lácteas. Em conjunto, tais fatores podem ter comprometido a aceitação.

Os resultados de aceitação aqui apresentados diferiram dos relatados na literatura para produtos semelhantes. Em 1974, Holsinger discorreu sobre os primeiros estudos sensoriais envolvendo bebidas de soro. Em 1969, pesquisadores da Universidade do Arizona combinaram 25 a 40% de soro com suco de *grapefruit* e 7 a 20% de outros sucos de frutas e avaliaram estas bebidas enviando-as para o domicílio de consumidores na forma de produtos enlatados. Uma combinação de pêssego - *grapefruit* - soro recebeu média 5,9 para o atributo *sabor* em escala hedônica variando de 1 a 7. Uma segunda série de bebidas formuladas com soro e suco de uva também apresentou boa aceitação em estudos preliminares. Uma bebida contendo 33% de soro de queijo *cottage* aromatizada com laranja recebeu nota média de 6,3 após ser avaliada por 51 provadores, que atribuíram nota média de 4,7 para bebida sem soro. Ainda segundo estes autores, bebidas com 80 a 90% de soro e 10% de polpa de morango ou 20% de polpa de pêssego apresentaram boa aceitabilidade em painéis sensoriais.

Algumas estratégias podem ser lançadas para aprimorar a aceitabilidade sensorial de produtos como o desenvolvido neste experimento. A primeira delas refere-se à modificação da formulação. Segundo Holsinger et al. (1974) e Djuric et al. (2004), sabores cítricos são mais compatíveis com o sabor do soro, por este motivo, poder-se-ia substituir a uva por uma fruta cítrica e avaliar a aceitação do produto em nova etapa de análise sensorial. Outra opção é buscar por segmentos de mercado preocupados com a saúde ou bem-estar, que possam apreciar o produto por conta das características nutricionais. Atletas, indivíduos que frequentam academias e que se interessam pelo mercado *fitness* poderiam constituir-se no público-alvo deste produto, por conta do apelo que os produtos à base de soro (*whey*) têm. Além disso, devido ao alto teor de minerais na composição da bebida, a mesma poderia ser indicada como substituto dos isotônicos tradicionais após a prática de atividade física. Desta

forma, sugere-se que se a avaliação sensorial deste produto seja realizada junto a este segmento, informando aos participantes sobre os possíveis benefícios à saúde.

Da mesma forma como no teste anterior, foi solicitado aos consumidores que marcassem, dentre os 22 termos relacionados à bebida, todos aqueles que descrevessem o produto (cada uma das três amostras e a bebida ideal). A Tabela 31 mostra a frequência de uso de cada termo do questionário CATA para a descrição sensorial das três amostras da bebida de soro e uva e da bebida ideal.

Tabela 31. Número de consumidores que utilizaram os termos do questionário CATA para a descrição sensorial das três bebidas de soro e uva processadas (C: comercial, PAS: pasteurizada e APH: pressurizada) e da bebida ideal

Atributo	Amostras			
	C	PAS	APH	Ideal
Cor característica de uva***	3	75	75	86
Cor atrativa ^{ns}	10	65	57	79
Aroma agradável***	39	5	10	65
Aroma de uva ^{ns}	26	14	21	81
Aroma fraco**	15	25	34	0
Aroma estranho ^{ns}	15	20	20	0
Aroma doce***	40	22	17	24
Aroma de soro de leite/leite ^{ns}	39	35	36	7
Sabor de soro de leite/leite*	44	32	27	6
Gosto doce***	64	32	26	43
Não tem equilíbrio acidez/doçura**	7	21	18	0
Tem equilíbrio acidez/doçura ^{ns}	38	25	28	74
Sabor residual persistente/ruim ^{ns}	8	13	14	0
Sabor de uva fraco*	48	30	35	8
Sabor de uva forte ^{ns}	12	14	15	69
Gosto ácido**	6	32	25	11
Sem açúcar/pouco doce***	1	12	18	18
Gosto salgado**	1	12	6	0
Sabor estranho ^{ns}	17	27	29	0
Ralo ^{ns}	13	23	16	3
Encorpado*	29	17	17	49
Gostoso***	38	17	21	76

Asteriscos indicam diferença significativa entre as amostras de acordo com o Teste Q de Cochran a ***p ≤ 0,001; **p ≤ 0,01; *p ≤ 0,05; ^{ns} não significativo (p > 0,05). O produto ideal não foi incluído no teste Q de Cochran.

Os descritores apontados com maior frequência para a bebida ideal foram exatamente os mesmos mencionados no teste anterior. Semelhantemente, os termos não citados no teste anterior também não foram citados aqui, sendo que nesta etapa, o atributo aroma fraco também não foi mencionado. Para as bebidas experimentais, os atributos citados em maior frequência também foram os mesmos, exceto por gosto doce, o que pode ser atribuído à formulação com um único teor de açúcar (4,3%). Na presente etapa também foram citados os termos aroma de soro de leite/leite e aroma fraco. Estes resultados demonstram que mesmo a análise sensorial tendo sido realizada com grupos diferentes e em momentos distintos, houve concordância tanto quanto à expectativa em relação à bebida ideal quanto à avaliação das bebidas experimentais.

De acordo com o Teste Q de Cochran, houve diferença significativa ($p < 0,05$) na frequência com que 13 dos 22 termos utilizados para descrever as bebidas de soro e uva foram percebidos pelos consumidores (Tabela 31), o que sugere que foram detectadas diferenças sensoriais nos produtos avaliados. A diferença não foi percebida para os atributos cor atrativa, aroma de uva, aroma estranho, aroma de soro de leite/leite, tem equilíbrio acidez/doçura, sabor residual persistente/ruim, sabor de uva forte, sabor estranho e ralo.

Analisando a Tabela 31, percebe-se que as bebidas APH e PAS apresentaram-se mais próximas do que o consumidor considera ideal para a aparência de uma bebida de uva (cor característica de uva, cor atrativa), o que provavelmente pode ser atribuído à maior semelhança com a cor do suco de uva do que a bebida comercial. Para as bebidas pressurizada e pasteurizada, 75% dos consumidores consideraram-nas com cor característica de uva. Já 65% e 57% dos consumidores consideraram a bebida pasteurizada e a pressurizada, respectivamente, com cor atrativa, enquanto para a bebida comercial apenas 3% assinalaram o atributo cor característica e 10% cor atrativa.

Considerando o aroma, termos relacionados às características positivas (aroma agradável, de uva e doce) estiveram associados com maior frequência à bebida comercial, o que pode ser devido à utilização de aromatizantes naturais adicionados ao produto, segundo informado no rótulo pelo fabricante. Ainda assim, o termo aroma de soro de leite/leite foi apontado com frequência semelhante (39, 35 e 36%) para as bebidas C, PAS e APH, respectivamente. Provavelmente, foi esta característica que fez com que o termo aroma estranho tenha sido apontado em frequência semelhante para as três bebidas.

Com relação à consistência, nota-se que o consumidor associou um produto ideal com o atributo encorpado e, para tal atributo o produto comercial ficou mais próximo, provavelmente devido aos estabilizantes presentes, como pectina e goma xantana. As gomas, também chamadas de hidrocoloides, são aditivos alimentares que têm função de espessar, estabilizar, encorpar, conferir viscosidade, elasticidade e dar a textura desejada ao alimento. Podem, ainda, ser utilizadas como substituintes de gorduras e influenciar nos atributos sensoriais dos alimentos, contribuindo para o sabor, percepção no aparelho bucal, aparência e aroma (MARUYAMA et al., 2006). Estas características provavelmente contribuíram para a diferenciação sensorial do produto comercial e das bebidas desenvolvidas no experimento, que apresentaram apenas o ácido cítrico como aditivo.

Para os atributos de sabor, percebeu-se que a diferença entre as amostras esteve relacionada principalmente aos atributos gosto doce e sem açúcar/pouco doce, o que pode ser atribuído ao menor teor de açúcar da formulação nesta etapa do experimento (4,3%), enquanto no teste anterior houve variação deste ingrediente (0 a 10%).

6 CONCLUSÃO

O soro produzido a partir da fabricação de queijo Minas frescal apresentou baixa contagem microbiana e atributos físico-químicos em conformidade com a possível Legislação a entrar em vigência no Brasil, tornando viável a sua utilização como matéria-prima para a fabricação de bebidas.

O processo de obtenção da bebida não fermentada à base de soro de queijo Minas frescal e polpa de uva foi simples (em termos de demanda de equipamentos, insumos e utilitários, bem como em termos operacionais) e viável, podendo ser considerada uma opção para o aproveitamento deste resíduo. A bebida em estudo apresentou composição nutricional semelhante à comercial, com maior concentração de sais minerais.

A tecnologia de Alta Pressão Hidrostática (APH) foi capaz de manter a baixa contagem microbiana detectada na bebida controle. A APH não teve efeito significativo no pH das bebidas e, embora tenha influenciado discretamente a acidez e o teor de sólidos solúveis, os resultados de cada um dos tratamentos foram muito próximos entre si e da amostra não processada, o que leva a inferir que provavelmente não haveria diferença relevante entre os tratamentos a nível industrial. A pressurização também interferiu na turbidez das amostras, com tendência semelhante observada para os parâmetros de cor, uma vez que a alta pressão foi capaz de influenciá-los; entretanto as alterações foram classificadas como "não perceptíveis" ou "pouco perceptíveis".

Quanto aos efeitos sobre os compostos bioativos, o tratamento com APH não afetou o teor de antocianinas da bebida, tendo as amostras apresentado retenção de aproximadamente 100% destes compostos. Também não ocasionou efeitos negativos relevantes no teor de compostos fenólicos, sendo a amostra processada a 450 MPa/4 min a única a apresentar quantidade significativamente inferior à amostra controle. Com relação à capacidade antioxidante, as amostras pressurizadas a 350 MPa, por 7 e 11 min apresentaram capacidade antioxidante significativamente superior, enquanto as demais não diferiram estatisticamente da amostra controle.

Ainda são poucas as informações sobre bebidas de soro e fruta na literatura, não tendo sido encontradas informações sobre efeitos da pressurização sobre este tipo de produto. Os valores atribuídos às variáveis independentes (pressão e tempo) no delineamento experimental foram baseados em relatos da literatura sobre sucos de fruta. A metodologia de superfície de resposta (MSR) não foi adequada para descrever os resultados da análise instrumental das bebidas, o que provavelmente pode ser atribuído à proximidade dos níveis de pressão e tempo de retenção utilizados, além do fato das combinações tempo/pressão terem causado alterações brandas nas amostras. Desta forma, a partir da análise dos dados pela MSR não foi possível escolher um tratamento considerado "ideal" quanto à conservação do produto.

A escolha do tratamento a ser utilizado na bebida direcionada à análise sensorial com o consumidor foi baseado na segurança microbiológica que o mesmo poderia garantir ao produto comercial. Como a amostra pressurizada a 350 MPa/11 min apresentou melhor retenção da capacidade antioxidante, este tratamento foi utilizado no processamento.

A análise sensorial em uma primeira etapa permitiu identificar a formulação base do produto, que consistiu de 70% de soro, 30% de polpa de uva e pH igual a 3,8, ajustado com ácido cítrico. Com a escala do ideal foi possível determinar a doçura ideal do produto, estabelecida em 4,3% de sacarose. O questionário CATA revelou que a preferência foi dirigida por atributos que não foram descritos nas amostras em estudo, a saber: cor característica de uva, gostosa, aroma de uva, cor atrativa e tem equilíbrio acidez/doçura. No teste sensorial com as bebidas processadas, a amostra pressurizada teve aceitação (4,8)

inferior à amostra comercial (5,8), a qual também apresentou média intermediária na escala hedônica de nove pontos. Porém, não diferiu da pasteurizada sugerindo que o efeito da formulação da bebida foi mais importante que o efeito do processo na aceitação do consumidor. Tal resultado sugere a necessidade de estudos futuros com maior enfoque no desenvolvimento do produto. Como possíveis estratégias de melhoria, a princípio, poder-se-ia citar modificações na formulação, como a alteração da proporção de soro e fruta, mudança do pH ou mesmo do agente flavorizante, substituindo a uva por frutas de sabores cítricos. Além disso, como perspectiva, sugere-se o estudo de estabilidade do produto sob refrigeração, para avaliar a qualidade do mesmo ao longo da vida de prateleira.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

3 A BUSINESS CONSULTING. **International Whey Market Overview**. 2009. Disponível em: <<http://www.adpi.org/portals/0/pdf/09conference/tageaffertsholt.pdf>>. Acesso em: 06 jan. 2015.

ADDINSOFT. XLSTAT statistical analysis software, versão 2015. Disponível em: <www.xlsat.com> . Acesso em: 07 mai. 2015.

AHMED, J. et al. The effect of high pressure treatment on rheological characteristics and colour of mango pulp. **International Journal of Food Science and Technology**, v.40, p.885-895, 2005.

ALIBERTI, N.C.M. **Influência da homogeneização a alta pressão sobre a retenção de antocianinas presentes na polpa de açaí (Euterpe oleraceae Mart.)**. 2009. 98 f. Tese (Doutorado em Engenharia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

ALMEIDA, K.E. et al. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas com soro de queijo Minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.2, p. 187-192, 2001.

ALVES, M.P. et al. Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 3, p. 212-226, 2014.

ANTUNES, A.J. **Funcionalidade de proteínas do soro de queijo bovino**. Barueri: Editora Manole, 2003, 135 p.

AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. CD-ROM. 17th edition, AOAC International, 2000.

AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. CD-ROM. 18th edition, AOAC International, 2005.

AOCS. American Oil Chemists' Society. **Official Method Am 5-04, Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction**. Urbana: Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 2005.

AOUHADI, C. et al. Inactivation of *Bacillus sporothermodurans* LTIS27 spores by high hydrostatic pressure and moderate heat studied by response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 50-56, 2013.

ARES, G. et al. Food and wellbeing: towards a consumer based approach. **Appetite**, v. 74, p. 61 - 69, 2014a.

ARES, G. et al. Penalty analysis based on CATA questions to identify drivers of liking and directions for product reformulation. **Food Quality and Preference**, v. 32, Parte A, p. 65-76, 2014b.

ARES, G.; JAEGER, S. R. Check-all-that-apply-questions: Influence of attribute order on sensory product characterization. **Food Quality and Preference**, v. 28, n. 1, p. 141 - 153, 2013.

ARES, G.; JAEGER, S. R. Check-all-that-apply (CATA) questions with consumers in practice: experimental considerations and impact on outcome. In: DELAWARE, J.; LAWLOR, B.; ROGEAUX, M. **Rapid Sensory Profiling Techniques and Related Methods**. Cambridge: Elsevier, 2015.

ATAURI, G. et al. **Determinação de minerais em soro de leite com espectrometria de emissão óptica em plasma de argônio com acoplamento indutivo (ICP OES)**. 2014.

Disponível em:

<<https://www.prp.rei.unicamp.br/pibic/congressos/xvicongresso/paineis/043789.pdf>>. Acesso em: 17 set. 2014.

AVURE TECHNOLOGIES. **High Pressure Equipment**. 2014. Disponível em: <<http://avure.com/products>> Acesso em: 19 jun. 2014.

BACCOUCHE A. et al. A physical stability study of whey-based prickly pear beverages. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 234 - 244, 2013.

BALASUBRAMANIAN, V.M. et al. Recommended laboratory practices for conducting high-pressure microbial inactivation experiments. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 5, n. 3, p.299-306, 2004.

BALASUNDRAM, N. et al. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191–203, 2006.

BALDASSO, C. et al. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. **Desalination**, v. 278, n. 1–3, p. 381–386, 2011.

BALDASSO, C. **Concentração, Purificação e Fracionamento das Proteínas do Soro Lácteo através da Tecnologia de Separação por Membranas**. 2008. 163 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BARBA, F.J. et al. Physicochemical and nutritional characteristics of blueberry juice after high pressure processing. **Food Research International**, v. 50, n. 2, p. 545 - 549, 2013.

BARBA, F.J. et al. Study of antioxidant capacity and quality parameters in an orange juice–milk beverage after high-pressure processing treatment. **Food Bioprocess Technology**, v.5, n.6, 2222–2232, 2012b.

BARBA, F.J. et al. High pressure treatment effect on physicochemical and nutritional properties of fluid foods during storage: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.11, n.3, p. 307 - 322, 2012a.

BARBOSA, A. F. et al. Perfil sensorial de bebida láctea sabor maçã verde e pêssego utilizando Análise Descritiva Quantitativa. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 386, p. 55-60, 2012.

BARBOSA, A.S. et al. Utilização do soro como substrato para produção de aguardente: estudo cinético da produção de etanol. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.5, n.1, p.7-25, 2010.

BARROS, L. et al. Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 120, n. 1, p. 247 - 254, 2010.

BAYARRI, S. et al. Impact of sensory differences on consumer acceptability of yoghurt and yoghurt-like products. **International Dairy Journal**, v. 21, n. 2, p.111-118, 2011.

BAYINDIRLI, A. et al. Efficiency of high pressure treatment on inactivation of pathogenic microorganisms and enzymes in apple, orange, apricot and sour cherry juices. **Food Control**, v. 17, n.1, p. 52–58, 2006.

BERMÚDEZ-AGUIRRE, D.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. An Update on High Hydrostatic Pressure, from the Laboratory to Industrial Applications. **Food Engineering Reviews**, v.3, n.1, p.44–61, 2011.

BEUCHAT, L.R.; COUSIN, M.A. Yeasts and moulds. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Eds) **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4a ed. Washington, D.C.: APHA, 2001. Cap. 20, p. 209 - 215.

BOZOGLU, F. et al. Injury recovery of foodborne pathogens in high hydrostatic pressure treated milk during storage. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v.40, n.3, p.243-247, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 28 jul. 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RDC n. 269, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1884970047457811857dd53fbc4c6735/RDC_269_2005.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 23 mar. 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RDC n. 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova Regulamento Técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/ec3966804ac02cf1962abfa337abae9d/Resolucao_RDC_n_360de_23_de_dezembro_de_2003.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 13 mar. 2013.

BRASIL. Decreto n. 30.691, de 29 de março de 1952. Aprova o Novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/setor/leite-e-derivados/o-setor/legislacao/RIISPOA-Dec.30691-52.pdf>> Acesso em: 23 jul. 2014.

BRASIL. Decreto n. 6.871, de 4 de junho de 2009. Regulamenta a Lei n. 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm>. Acesso em: 08 ago. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Brasil: Projeções do agronegócio. Brasil 2012/2013 a 2022/2023. Projeções de Longo Prazo.** 2013a. Disponível em http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/projecoes%20-%20versao%20atualizada.pdf >. Acesso em 31 ago. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa Dilei n. 01, de 1985. Estabelece requisitos para obtenção e industrialização de soro de leite. Disponível em: <<portal.mj.gov.br/services/.../FileDownload.EZTSvc.asp?...68F0..>>. Acesso em: 23 jan. 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa n. 01, de 07 de janeiro de 2000. Regulamento Técnico Geral para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para Polpa de Fruta. Disponível em: <http://www.redejucara.org.br/legislacao/IN01_00-MAPA_RegTecGeral_PIQ_PolpaFruta.pdf>. Acesso em: 09 set. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa n. 04, de 01 de março de 2004. Regulamento Técnico Mercosul de Identidade e Qualidade do Queijo Minas frescal. Disponível em: <www.queijosnobrasil.com.br/Legislacao/Queijo%20Minas.pdf>. Acesso em: 07 jul. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). IN n. 16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br/www/legislacoes/popup.php?action=view&idleg=702>>. Acesso em: 07 jul. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). IN n. 19, de 19 de junho de 2013b. Estabelece em todo território nacional a complementação dos padrões de identidade e qualidade para as seguintes bebidas: I - refresco; II - refrigerante; III - bebida composta; IV - chá pronto para consumo; e V - soda. Disponível em: <www.centroflora.com.br/email/02_br/instrucao_normativa_19.pdf>. Acesso em: 08 ago. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria n. 352, de 04 de setembro de 1997. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijo Minas frescal. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 25 mai. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria n. 53, de 04 de setembro de 2013. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Soro de Leite. Disponível em: < <http://www.terraaviva.com.br/clique/minuta.html>>. Acesso em 10 set. 2014.

BRIDGMAN, P.W. The coagulation of albumen by pressure. **Journal of Biological Chemistry**, v. 19, p. 511-512, 1914.

BRINO, L.C. substituição do leite em pó pelo soro de leite em pó na produção de capuccino. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.3, n.2, p. 147-156, 2010.

BULL, M.K. et al. The effect of high pressure processing on the microbial, physical and chemical properties of valencia and navel orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 5, n. 2, p. 135–49, 2004.

BURIN, V.M. et al. Colour, phenolic content and antioxidant activity of grape juice. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 4, p. 1027-1032, 2010.

CAO, X. et al. Effects of high hydrostatic pressure on enzymes, phenolic compounds, anthocyanins, polymeric color and color of strawberry pulps. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 91, n. 5, p. 877–88, 2011.

CARTA LEITE. **Aumenta o consumo de queijo no Brasil**. 2010. Disponível em: < http://www.bovinos.ufpr.br/100921_Aumenta_o_consumo_de_queijo_no_brasil_def.pdf>. Acesso em: 23 jan. 2015.

CARVALHO, F. et al. Cheese whey wastewater: characterization and treatment. **Science of the Total Environment**, v. 445 - 446, n. 15, p. 385 - 396, 2013.

CARVALHO, J.D.G. et al. The quality of Minas frescal cheese produced by different technological processes. **Food Control**, v. 18, n. 3, p. 262–267, 2007.

CASTELLVÍ, S. L. et al. Survival and growth of *Yersinia enterocolitica* strains inoculated in skimmed milk treated with high hydrostatic pressure. **International Journal of Food Microbiology**, v.102, n.2, p.337-342, 2005.

CHAWLA, R. et al. High hydrostatic pressure technology in dairy processing: a review **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 3, p. 260–268, 2011.

CHEFTEL, J. C. Review: High-pressure microbial inactivation and food preservation. **Food Science and Technology International**, v.1, n. 2-3, p.75-90, 1995.

CHEN, D. Comparative study of quality of cloudy pomegranate juice treated by high hydrostatic pressure and high temperature short time. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 19, p. 85-94, 2013.

CHICÓN, R. et al. Antibody binding and functional properties of whey protein hydrolysates obtained under high pressure. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 593–599, 2009.

CIESLAK, D.G., BENEVENGA, N.J.; GRUMMER, R.H. The evaluation of fresh sweet liquid whey as a protein supplement to maize for growing pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v.14, n. 171, p.171-181, 1986.

CORTEZ, N.M.S. **Diagnóstico da produção do soro de queijo no Estado do Rio de Janeiro**. 2013. 96 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2013.

CRUZ, A.G. et al. High pressure processing and pulsed electric fields: potential use in probiotic dairy foods processing. **Trends in Food Science and Technology**, v.21, n. 10, p.483-493, 2010.

CRUZ, A.G. et al. Milk drink using whey butter cheese (queijo manteiga) and acerola juice as a potential source of vitamin C. **Food Bioprocess Technology**, v. 2, n. 4, p. 368–373, 2009.

CSERHALMI, Z. et al. Study of pulsed electric field-treated citrus juices. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 7, n. 1 - 2, p. 49–54, 2006.

DANI, C. et al. Mineral content is related to antioxidant and antimutagenic properties of grape juice. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, n. 3, p. 3154-3163, 2012.

DAOUDI L. et al. Effects of high-pressure treatment on the sensory quality of white grape juice. **High Pressure Research**, v. 22, n. 3-4, p.705–709, 2002.

DAVID, F.M. Efeito da adição de soro de leite sobre a digestibilidade aparente e os parâmetros sanguíneos de vacas secas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.5, p.1183-1190, 2010.

DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DELIZA, R. et al. Consumer attitude towards information on non conventional technology. **Trends in Food Science and Technology**, v. 14, n. 1 -2, p. 43–49, 2003.

DJURIC, M. et al. Development of whey-based beverages. **European Food Research Technology**, v. 219, n. 4, p. 321–328, 2004.

DONSI, G. et al. High pressure stabilization of orange juice: evaluation of the effects of process conditions. **Italian Journal of Food Science**, v. 8, n. 2, p. 99–106, 1996.

DRAGONE, G. et al. Characterization of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation. **Food Chemistry**, v.112, n.4, p.929-935, 2009.

EMBRAPA GADO DE LEITE. **Conjuntura do Mercado Lácteo**. 2013. Disponível em: <http://www.cileite.com.br/sites/default/files/2013_02_Com%C3%A9rcio%20Internacional_Leite.pdf>. Acesso em: 16 jul. 2013.

ENGMANN, F.N. The application of response surface methodology in studying the effect of heat and high hydrostatic pressure on anthocyanins, polyphenol oxidase, and peroxidase of

Mulberry (*Morus nigra*) juice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 11, p.2345-2356, 2014.

ESTEVE, M.J.; FRÍGOLA, A. The effects of thermal and nonthermal processing on vitamin C, carotenoids, phenolic compounds and total antioxidant capacity in orange juice. In: BENKEBLIA, N., TENNANT, P. Editors. **Citrus I**. Tree and foresting science and biotechnology. Isleworth: GSB Publisher, 2008. p 128–34.

EUROMONITOR. **Cheese in Brazil**. 2014. Disponível em: <<http://www.euromonitor.com/cheese-in-brazil/report>>. Acesso em: 24 mai. 2014.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Dairy production and products. **Milk and Milk products**. 2015b. Disponível em: <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/milk-and-milk-products/en/#.UmRI_nDIHxQ>. Acesso em: 09 mar. 2015.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Dairy production and products. **Milk production**. 2015. Disponível em: <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/milk-production/en/#.UmRI_nDIHxQ>. Acesso em: 09 mar. 2015.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Dietary protein quality evaluation in human nutrition**. 2013. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/humannutrition/35978-02317b979a686a57aa4593304ffc17f06.pdf>>. Acesso em: 31 ago. 2014.

FARIAS, O.A.C. **Soro de queijo em Pó: Brasil caminha para autossuficiência**. 2011. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/espaco-aberto/soro-de-leite-em-po-brasilcaminha-para-autossuficiencia-71038n.aspx>>. Acesso em: 12 fev 2015.

FARKAS, D.F.; HOOVER, D.G. High pressure processing. **Journal of Food Science**, v.65, n.4, p.47- 64, 2000.

FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies. High pressure processing**. 2011. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/SafePracticesforFoodProcesses/ucm100158.htm>>. Acesso em: 26 jul.2013.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, A. et al. Antioxidative capacity, nutrient content and sensory quality of orange juice and an orange–lemon–carrot juice product after high pressure treatment and storage in different packaging. **European Food Research Technology**, v. 213, n. 4-5, p. 290–6, 2001.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, A. et al. Does the antioxidant potential of high pressure treated apple juice change during storage? **High Pressure Research**, v. 19, p. 153 - 160, 2000.

FERNÁNDEZ-SESTELO, A. et al. Overall quality properties in pressurized kiwi purée: Microbial, physicochemical, nutritive and sensory tests during refrigerated storage. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 20, p. 64-72, 2013.

FERRARI, G. et al. The application of high hydrostatic pressure for the stabilization of functional food: Pomegranate juice. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n.2, p. 245-253, 2010.

FERRARI, G. et al. The effects of high hydrostatic pressure on the polyphenols and anthocyanins in red fruit products. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 847-853, 2011.

FERREIRA, E.H.R. et al. Efeito da Alta Pressão Hidrostática nos microorganismos. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 135-150, 2008.

FERREIRA, K.S. Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 11, n. 3, p. 172 - 177, 2002.

GALLOT-LAVALLÉE, T. Effectiveness of high pressure treatment for destruction of *Listeria monocytogenes* in raw milk goat cheese. **Sciences des Aliments**, v.18, n.6, p. 647–655, 1998.

GANDRA, A. Embrapa coordena no Brasil projeto internacional para aproveitamento do soro de leite. **Agência Brasil**. Brasília, 02 set. 2013. Disponível em: <<http://memoria.ebc.com.br/agenciabrasil/agenciabrasil/noticia/2013-09-02/embrapa-coordena-no-brasil-projeto-internacional-para-aproveitamento-do-soro-de-leite>> Acesso em: 05 mai. 2015.

GARCIA-PALAZON, A. et al. The effects of high hydrostatic pressure on [beta]-glucosidase, peroxidase and polyphenoloxidase in red raspberry (*Rubus idaeus*) and strawberry (*Fragaria x ananassa*). **Food Chemistry**, v. 88, n. 1, p. 7-10, 2004.

GEORGE, S. et al. Rapid determination of polyphenols and vitamin c in plant-derived products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 1370-1373, 2005.

GERVILLA, R. et al. High hydrostatic pressure effects on color and milk-fat globule of ewe's milk. **Journal of Food Science**, v.66, n.6, p.880-885, 2001.

GIMENEZ, J. et al. A study on the colour and sensory attributes of high-hydrostatic-pressure jams as compared with traditional jams. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, n. 13, p. 1228 - 1234, 2001.

GONÇALVES, J.R. et al. Determinação de metais pesados em leite integral bovino pasteurizado no Estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 2, p. 365-374, 2008.

GUAN, D. et al. Inactivation of *Salmonella typhimurium* DT 104 in UHT whole milk by high hydrostatic pressure. **International Journal of Food Microbiology**, v.104, n.2, p.145-152, 2005.

GUEDES, A.F.L.M. et al. Aproveitamento de soro lácteo na formulação de bebidas com frutas e hortaliças. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.4, p.1231-1238, 2013.

GURAK, P.D. et al. Avaliação de parâmetros físico-químicos de sucos de uva integral, néctares de uva e néctares de uva *light*. **Revista de Ciências Exatas**, v. 27, n. 1-2, p. 00-00, 2008.

HAYAKAWA, I. et al. Oscillatory compared with continuous high pressure sterilization on *Bacillus stearothermophilus* spores. **Journal of Food Science**, v.59, n.1, p.164-167, 1994.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, B. Bioactive components of ovine and caprine cheese whey. **Small Ruminant Research**, v. 101, n. 1 - 3, p. 196 - 204, 2011.

HIPERBARIC HIGH PRESSURE PROCESSING. **Our Equipment**. 2014. Disponível em: <<http://www.hiperbaric.com/en/equipment>> Acesso em: 23 jun. 2014.

HITE, B.H. The effect of pressure in the preservation of milk. **West Virginia Agricultural Experiment Station Bulletins**. v. 58, p. 15-35, 1899.

HOLSINGER, V.H. et al. Whey Beverages: A Review. **Journal of Dairy Science**, v. 57, n. 8, p. 849-859, 1974.

HOOVER, D.G. Pressure effects on biological systems. **Food Technology**, v.47, n.6, p.150-155, 1993.

HSU, K. Evaluation of processing qualities of tomato juice induced by thermal and pressure processing. **LWT—Food Science and Technology**, v. 41, n. 3, p.450–459, 2008.

HUANG, H.W. et al. Responses of microorganisms to high hydrostatic pressure processing. **Food Control**, v.40, p.250-259, 2014.

HUPPERTZ, T. H. et al. High-pressure changes induced changes in bovine milk: a review. **International Journal of Dairy Technology**, v. 59, n. 2, p. 59-65, 2006.

HUPPERTZ, T., FOX, P.F., KELLY, A.L. . Effects of high pressure on constituents and properties of milk. **International Dairy Journal**, v.12, n.7, p.561–572, 2002.

JELICIC, I.; BOZANIC, R.; TRATNIK, L. Whey-based beverages - a new generation of dairy products. **Mljekarstvo**, v. 58, n. 3, p. 257 - 274, 2008.

KADAM, P.S. et al. Review on the High Pressure Technology (HPT) for Food Preservation. **Journal of Food Processing and Technology**, v.3, n.1, p.02-05, 2012.

KAUSHIK, N. et al. Effect of High Pressure Processing on Color, Biochemical and Microbiological Characteristics of Mango Pulp (*Mangifera indica* Cv. Amrapali). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 22, p. 40-50, 2014.

KEENAN, D.F. et al. Effect of thermal and high hydrostatic pressure processing on antioxidant activity and colour of fruit smoothies. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.11, n. 4, p.551–556, 2010.

KEMPKA, A.P. et al. Formulação de bebida láctea fermentada sabor pêsego utilizando substratos alternativos e cultura probiótica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Supl.28, p.170-177, 2008.

KIM, H.Y. et al. The effect of high pressure–low temperature treatment on physicochemical properties in milk. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 11, p.4176–4182, 2008.

KIMBALL, D.A. **Citrus processing: quality control and technology**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991.

KLEPOTEK, Y. et al. Processing strawberries to different products alters contents of vitamin C, total phenolics, total anthocyanins and antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 14, p. 5640 - 5646, 2005.

KNIPS, V. **Developing countries and the global dairy sector**. Part I Global Overview. 2005. Disponível em:

<<http://www.fao.org/ag/againfo/programmes/en/pplpi/docarc/wp30.pdf>>. Acesso em 20 out. 2013.

KNORR, A. Hydrostatic pressure treatment of food: microbiology. **New Methods of Food Preservation**, p.159 – 175, 1995.

KORNACKI, J. L.; JOHNSON, J. L. Enterobacteriaceae, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 2001, Washington, DC: APHA, 2001. Cap. 8, p. 69-82.

LABOISSIÈRE, L.H.E.S. et al. Food processing innovation: a case study with pressurized passion fruit juice. **Journal of Technology Management and Innovation**, v. 2, n. 3, p. 108 - 123, 2007.

LI, B. et al. Just-about-right and ideal scaling provide similar insights into the influence of sensory attributes on liking. **Food Quality and Preference**, v. 37, p. 71 - 78, 2014.

LIM, J. Hedonic scale: A review of methods and theory. **Food Quality and Preference**, v. 22, n. 8, p. 733 - 747, 2011.

LIMA, M.S. et al. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. **Food Chemistry**, v. 161, p. 94-103, 2014.

LIMONGI, B. et al. Sustentabilidade ambiental: estudo em uma indústria de pescados. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 6, n. 1, p. 135-154, 2013.

LIU, F. et al. Effects of high hydrostatic pressure and high temperature short time on antioxidant activity, antioxidant compounds and color of mango nectars. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 21, p. 35–43, 2014.

- LÓPEZ-FANDIÑO, R. et al. The Effects of High Pressure on Whey Protein Denaturation and Cheese-Making Properties of Raw Milk. **Journal of Dairy Science**, v.79, n.6, p.929-936, 1996.
- LÓPEZ-FANDIÑO, R. High pressure-induced changes in milk proteins and possible applications in dairy technology. **International Dairy Journal**, v.16, n.10, p.1119–1131, 2006.
- LÓPEZ-PEDEMONTE, T. High hydrostatic pressure treatment applied to model cheeses made from cow's milk inoculated with *Staphylococcus aureus*. **Food Control**, v.18, n.5, p.441–447, 2007a.
- LÓPEZ-PEDEMONTE, T. Reduction of counts of *Listeria monocytogenes* in cheese by means of high hydrostatic pressure. **Food Microbiology**, v.24, n.1, p.59–66, 2007b.
- LUXIMON-RAMMA, A. et al. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 5, p. 496–502, 2003.
- MACFARLANE, J.J. Pre-rigor pressurization of muscle: effects on pH, shear value and taste panel assessment. **Journal of Food Science**, v. 38, p. 294-298, 1973.
- MADUREIRA, A. R. et al. Bovine whey proteins—overview on their main biological properties. **Food Research International**, v.40, n.10, p.1197-1211, 2007.
- MAGENIS, R.B. et al. Rheological, physicochemical and authenticity assessment of Minas frescal cheese. **Food Control**, v. 45, p. 22 - 28, 2014.
- MALACRIDA, C.R.; MOTTA, S.D. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.659-664, 2005.
- MARCELLINI, A. M. B. **Desenvolvimento de suco de abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merril) através da tecnologia de alta pressão hidrostática aplicada à polpa do fruto.** 2006. 113 p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2006.
- MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as Food Colors**. New York: Academic Press, 1992.
- MARQUES, A.P. **Desenvolvimento de bebida láctea fermentada à base de soro lácteo e café solúvel com atividade probiótica.** 2012. 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.
- MARTÍNEZ- RODRÍGUEZ, Y. et al. High Hydrostatic Pressure Processing of Cheese. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.11, n.4, p.399 – 416, 2012.
- MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, Y. et al. Effect of high hydrostatic pressure on mycelial development, spore viability and enzyme activity of *Penicillium roqueforti*. **International Journal of Food Microbiology**, v.168–169, p.42–46, 2014.

MARTINS, T.D.D. et al. Soro de queijo líquido na alimentação de suínos em crescimento. **Revista de Ciências Agronômicas**, v. 39, n. 2, p. 301-307, 2008.

MARUYAMA, L.Y. Textura instrumental de queijo *petit-suisse* potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 386-393, 2006.

MIDURA, T.F.; BRYANT, R.G. Sampling plans, sample collection, shipment, and preparation for analysis. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Eds) **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4a ed. Washington, D.C.: APHA, 2001. Cap. 7, p. 63 - 67.

MILKPOINT. **Importância da aplicação de ferramentas de qualidade e de controle de processo na produção de queijo**. 2013. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/mypoint/224299/p_importancia_da_aplicacao_de_ferramentas_de_qualidade_e_de_controle_de_processo_na_producao_de_queijo_queijo_minas_qualidad_e_tecnologia_regulamento_tecnico_queijo_fresco_coagulacao_enzimatica_leite_5402.aspx>. Acesso em 25 mai. 2014.

MILKPOINT. **Produção de leite no Brasil deve ser de 37 bilhões de litros em 2014**. 2013. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/producao-de-leite-no-brasil-deve-ser-de-37-bilhoes-de-litros-em-2014-86951n.aspx>>. Acesso em: 25 mai. 2014.

MIZUBUTI, I.Y. Soro de leite: composição, processamento e utilização na alimentação. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 15, n.1, p. 80 - 94, 1994.

MOLLEA, C. et al. Valorisation of cheese whey, a by-product from the dairy industry. **Food Industry**, p. 549 - 558, 2013.

MONARETTO, T. **Avaliação do potencial antioxidante, extração e quantificação de compostos fenólicos em sucos de uva produzidos no sudoeste do Paraná**. 2013. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Universidade Federal Tecnológica do Paraná, Paraná 2013.

MORTON, R.D. Aerobic Plate Count. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Eds) **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4a ed. Washington, D.C.: APHA, 2001. Cap. 7, p. 63 - 67.

MOSQUIM, M.C. **Seminário Internacional de Aproveitamento de Soro de Leite**. Disponível em: <<http://polodoleite.com.br/page/semin-rio-soro-de-leite>> Acesso em: 23 jan. 2015.

MULTIVAC BETTER PACKAGING. **HPP: High Pressure Preservation**. 2014. Disponível em: <<http://www.multivac.com.au/our-products/hpp-high-pressure-preservation.html>> Acesso em: 23 jun. 2014.

MUNHOZ, P. C. et al. **Caracterização físico-química de sucos de uva: integral, orgânico e artesanal da região de Pelotas**. 2014. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/998919>> Acesso em: 25 jan. 2015.

NAGATO, L.A.F. et al. Parâmetros físicos e químicos e aceitabilidade sensorial de sucos de frutas integrais, maracujá e uva, de diferentes marcas comerciais brasileiras. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 6, p. 127-136, 2003.

NATURAL One lança novos sabores. **Frigocenter**. Rio de Janeiro, 27 de junho de 2013. Disponível em: <<http://www.distribuidordealimentos.com/fornecedores/natural-one-lanca-novos-sabores>>. Acesso em 17 nov. 2013.

NEPA-UNICAMP - Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 2006. Disponível em: <http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf?arquivo=taco_4_versao_ampliada_e_revisada.pdf>. Acesso em: 23 jan. 2015.

NOGUEIRA, E.B. **Análises físico-químicas, bacteriológicas, reológicas e sensoriais do queijo marmoreado doce com probiótico**. 2013. 83 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2013.

OEY, I. et al. Effect of high pressure processing on colour, texture and flavour of fruit and vegetable-based food products: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v.19, n.6, p.320-328, 2008.

OLIVEIRA, F.A. **Desenvolvimento de bebida láctea não fermentada com soro de leite ácido**. 2011. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso de graduação (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, 2011.

ONUBR. Nações Unidas no Brasil. **População mundial deve atingir 9,6 bilhões em 2050, diz novo relatório da ONU**. 2013. Disponível em: <<http://nacoesunidas.org/populacao-mundial-deve-atingir-96-bilhoes-em-2050-diz-novo-relatorio-da-onu/>>. Acesso em: 31 ago. 2014.

ORDÓÑEZ, J.A. **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005. v.2, 279 p.

PARK, S. W. et al. High hydrostatic pressure inactivation of *Lactobacillus viridescens* and its effects on ultrastructure of cells. **International Journal of Food Science and Technology**, v.36, p.775-781, 2001.

PATAZCA, E. et al. inactivation kinetics of *Geobacillus stearothermophilus* spores in water using high-pressure processing at elevated temperatures. **Journal of Food Science**, v.71, n.3, p.M110-M116, 2006.

PATRAS, A. et al. Impact of high pressure processing on total antioxidant activity, phenolic, ascorbic acid, anthocyanin content and colour of strawberry and blackberry purée. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, n. 3, p. 308–313, 2009.

PAYENS, T.A.J.; HEREMANS, K. Effect of pressure on the temperature-dependent association of beta- casein. **Biopolymers**, v. 8, p. 335-345, 1969.

PEIXOTO, P.V. et al. Princípios de suplementação mineral em ruminantes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 195-200, 2005.

PELEGRINE, D.H.G.; CARRASQUEIRA, R.L. Aproveitamento do soro do leite no enriquecimento nutricional de bebidas. **Brazilian Journal of Food Technology**, VII BMCFB, p. 145 - 151, 2008.

PELIZER, L.H. et al. Utilização de resíduos agro-industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, v. 2, n. 1, p. 118 - 127, 2007.

PEREIRA, R.N.; VICENTE, A.A. Environmental impact of novel thermal and non-thermal technologies in food processing. **Food Research International**, v.43, n.7 , p.1936–194, 2010.

PERYAM, D.R.; PILGRIM, F.J. Hedonic scale method of measuring food preferences. **Food Technology**, v. 11, Suppl., p. 9 - 14, 1957.

PESCUA, M. et al. Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v.141, n.1–2, p.73-81, 2010.

PFLANZER, S. B. et al. Efeito do processamento por alta pressão hidrostática nas características físico-químicas, microbiológicas e nutricionais do leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.11, n.4, p.241-251, 2008.

POLYDERA, A. C. et al. Quality degradation kinetics of pasteurised and high pressure processed fresh Navel orange juice: Nutritional parameters and shelf life. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 6, n. 1, p.1-9, 2005.

PRAZERES, A.R. et al. Cheese whey management: a review. **Journal of Environmental Management**, v. 110, p. 48 - 68, 2012.

PURROY, F. **Commercial HPP: Evolution of industrial equipment on to automation**. 2013. Disponível em: <http://2013.ifoodconference.com/fileadmin/user_upload/2013/PDF/HPP_evolution_to_automation__Hiperbaric_iFood_Oct_201_Purroy.pdf>. Acesso em: 24 mar. 2015.

RASO, J. et al. Inactivation of *Zygosaccharomyces bailii* in fruit juices by heat, high hydrostatic pressure and pulsed electric fields. **Journal of Food Science**, v.63, n.1, p. 1042-1044, 1998.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, n.9-10, p.1231-1237, 1999.

REILLY, C. Minerals. In: HENRY, C. J. K.;CHAPMAN, C. (Org.). **The nutrition handbook for food processors**. Boca Raton: CRC Press, 2002. p.97-116.

RENDUELES, E. et al. Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v.44, n.5, p.1251-1260, 2011.

REVISTA BRF ONLINE. **Suco Batavo Hidra é a novidade nutritiva do verão.** 2012. Disponível em: <<http://revistabrf.com.br/suco-batavo-hidra-e-a-novidade-nutritiva-do-verao/>>. Acesso em: 02 jul. 2014.

REVISTA LATICÍNIOS. **Tirol amplia sua linha de sucos.** 2012. Disponível em: <<http://revistalaticinios.com.br/noticias/empresas-e-negocios/tirol-amplia-sua-linha-de-sucos>>. Acesso em: 02 jul. 2014.

REVISTA LEITE. **Aspectos das importações de soro de leite no Brasil.** 2014. Disponível em: <<http://revistaleite.com.br/aspectos-das-importacoes-de-soro-de-leite-no-brasil/>>. Acesso em 06 jan. 2015.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. **Suco de uva** (Coleção Agroindústria Familiar). Brasília: Embrapa, 2007.

RIZZON, L.A.; MIELE, A. Analytical characteristics and discrimination of Brazilian commercial grape juice, nectar, and beverage. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 1, p. 93-97, 2012.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos: uma estratégia sequencial de planejamentos.** Campinas: Casa do Pão Editora, 2005.

ROSENTHAL, A. et al. Effect of pressure, temperature, time and storage on peroxidase and polyphenol oxidase from pineapple. In: HAYASHI, R. (Org.). **Trends in High Pressure Bioscience and Biotechnology**: Elsevier, 2002.

SADIA. **Conheça o Soltíssimo. Receitas Sorteadas. Perguntas e Respostas.** 2015. Disponível em: <<http://www.sadia.com.br/soltissimo/>>. Acesso em: 05 mai. 2015.

SAMARANAYAKE, C.P.; SASTRY, S.K. *In-situ* pH measurement of selected liquid foods under high pressure. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 17, p. 22–26, 2013.

SANCHEZ-MORENO, C. et al. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic compounds. **Food Research International**, v. 32, n. 6, p. 407–412, 1999.

SÁNCHEZ-MORENO, C. et al. Impact of high pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice in comparison with traditional thermal processing. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 53, n. 11, p. 4403–4409, 2005.

SANGALETTI, N. **Estudo da vida útil do queijo Minas frescal disponível no mercado.** 2007. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

SANTANA, I. et al. **Composição química e centesimal de suco de uva concentrado por osmose inversa: influência da temperatura do processo**. 2011. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/917017>>. Acesso em: 25 jan. 2015.

SCOLARI, G. et al. Effect of the combined treatments of high hydrostatic pressure and temperature on *Zygosaccharomyces bailii* and *Listeria monocytogenes* in smoothies. **Food Control**, v. 47, p. 166–174, 2015.

SERPA, L. et al. Destino ambientalmente correto a rejeitos de queijaria e análise de viabilidade econômica. In: INTERNACIONAL WORKSHOP - Advances in Cleaner Production, 2., 2009, São Paulo, SP. **Resumos...** São Paulo: IWACP, 2009. p.01-10.

SERRANO, J. Moderately high hydrostatic pressure processing to reduce production costs of shredded cheese: microstructure, texture, and sensory properties of shredded milled curd cheddar. **Journal of Food Science**, v.70, n.4, p.286-293, 2005.

SIKDER, B., et al. Studies on shelf-life of whey-based mango beverages. **Beverage Food World**, v. 28, p. 53-54, 2001.

SILVA, F.T. **Queijo Minas frescal**. Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2005.

SINGH, A.K.; SINGH, K. Utilization of whey for the production of instant energy beverage by using response surface methodology. **Advance Journal of Food Science and Technology**, v. 4, n. 2, p. 103-111, 2012.

SINGH, R.P.; YOUSEF, A.E. **Technical Elements of New and Emerging Non-Thermal Food Technologies**. 2001. Disponível em <http://scholar.google.com.br/acholar_url?hl=pt-BR&q=http://www.worddocx.com/12051/co578.doc&sa=X&scisig=AAGBfm2OYENq7yU8YRgtAnK7ktB7ZMtnhA&oi=scholar&ei=_N-kU-HOCLXJsQSHtIDICQ&ved=0CBsQgAMoADAA>. Acesso em: 13 jun. 2014.

SIQUEIRA, A.M.O. et al. Bebidas lácteas com soro de queijo e frutas. **Ciência Rural**, v.43, n.9, p.1693-1700, 2013.

SIQUEIRA, K.B et al. **O mercado lácteo brasileiro no contexto mundial**. 2010. Disponível em <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/886169/1/CT104Kenya.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2013.

SMELT, J.P.P.M. Recent advances in the microbiology of high pressure processing. **Trends in Food Science and Technology**, v.9, n.4, p.152-158, 1998.

SMITHERS, G.W. Whey and whey proteins: from gutter to gold. **International Dairy Journal**, v.18, n.7, p. 695–704, 2008.

STATSOFT, INC. Statistica (data analysis software system), versão 7.0. 2007.

STONE, H.; BLEIBAUM, R.; THOMAS, H.A. **Sensory Evaluation Practices**. London: Academic Press, 2012. 436p.

SUCASAS, L.F.A. **Avaliação do resíduo do processamento de pescado e desenvolvimento de co-produtos visando o incremento da sustentabilidade da cadeia produtiva**. 2011. 164 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

SUN, J. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 25, p. 7449–7454, 2002.

SZCZAWIŃSKI J. et al. Effect of high pressure on survival of *Listeria monocytogenes* in ripened, sliced cheeses at ambient temperature. In: HEREMANS, K. (Ed.) **High Pressure Research in the Biosciences and Biotechnology**. Leuven: University Press. 1997. p.295–298, 1997.

TADAPANENI, R.K. et al. Effect of High-Pressure Processing and Milk on the Anthocyanin Composition and Antioxidant Capacity of Strawberry-Based Beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 23, p.5795-802, 2012.

TASHIMA et al. **Análise comparativa da composição centesimal do soro de leite bovino, caprino e ovino**. 2015. Disponível em: <<http://www.ital.sp.gov.br/tecnolat/anais/tl230513/Arquivos/TASHIMA.pdf>>. Acesso em: 23 jan. 2015.

TAVARES, S.R.S.; CADORE, S. **Determinação de minerais em soro de leite**. 2009. Disponível em: <<https://www.prp.rei.unicamp.br/pibic/congressos/xviiicongresso/resumos/046445.pdf>>. Acesso em: 17 set. 2014.

TEIXEIRA, L.V.; FONSECA, L.M. Perfil físico-químico do soro de queijos mozzarella e minas-padrão produzidos em várias regiões do estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p. 243-250, 2008.

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.

TIBURSKI, J.H. **Polpa de cajá (*Spondias mombin* L.) processada por Alta Pressão Hidrostática**. 2009. 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2009.

TOEPFL, S. et al. Review: Potential of High Hydrostatic Pressure and Pulsed Electric Fields for Energy Efficient and Environmentally Friendly Food Processing. **Food Reviews International**, v.22, p. 405–423, 2006.

TOKARNIA C.H. et al. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, n. 3, p.127-138, 2000.

TRUJILLO, A.J. et al. Applications of high hydrostatic pressure on milk and dairy products: a review. **Innovative Food Sciences and Emerging Technologies**, v.3, n.4, p.295-307, 2002.

- USDA. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Brazil. Dairy and Products Anual. Annual Daily Report**. 2013. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/data/brazil-dairy-and-products-annual>>. Acesso em 24 mai. 2014.
- USAJEWICZ, I.; NALEPA, B. Survival of *E. coli* O157:H7 in milk exposed to high Temperatures and high pressure. **Food Technology and Biotechnology**, v.44, n.1, p. 33-39, 2006.
- VARELA, P.; ARES, G. Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 893–908, 2012.
- VARELA-SANTOS, E. et al. Effect of high hydrostatic pressure (HHP) processing on physicochemical properties, bioactive compounds and shelf-life of pomegranate juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 13, p. 13-22, 2012.
- VERBEYST, L. et al. Anthocyanin degradation kinetics during thermal and high pressure treatments of raspberries. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 3, p. 513-521, 2011.
- VERBEYST, L. Kinetic study on the thermal and pressure degradation of anthocyanins in strawberries. **Food Chemistry**, v.123, n. 2, p. 269-274, 2010.
- WALLACE, H. et al. *Salmonella*. In: DOWNES, F. P. & ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Washington, D. C.: American Public Health Association, chapter 37, p. 357-380, 2001.
- WANG, C.Y. et al. The relationship between inactivation and morphologic damage of *Salmonella* enterica treated by high hydrostatic pressure. **Food Research International**, v.54, n.2, p.1482 - 87, 2013.
- WUYTACK, E. Y.; BOVEN, S.; MICHIELS, C. W. Comparative study of pressure-induced germination of *Bacillus subtilis* spores at low and high pressures. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 9, p.3220-3224, 1998.
- YADAV, R.B. et al. Development and storage studies on whey-based banana herbal (*Mentha arvensis*) beverage. **American Journal of Food Technology**, v. 5, n. 2, p. 121 - 129, 2010.
- YALDAGARD, M. et al. The principles of ultra high pressure technology and its application in food processing/preservation: A review of microbiological and quality aspects **African Journal of Biotechnology**, v.7, n.16, p.2739-2767, 2008.
- ZACARCHENCO, P.B. et al. Aplicações de soro de queijo em bebidas. **Revista Indústria de Laticínios**, p. 42 - 47, 2013.
- ZHANG, C. et al. Comparison of thermal, ultraviolet-c, and high pressure treatments on quality parameters of watermelon juice. **Food Chemistry**, v. 126, n. 1, p. 254–60, 2011.
- ZHANG, R. et al. Phenolic profiles and antioxidant activity of litchi pulp of different cultivars cultivated in Southern China. **Food Chemistry**, v.136, n. 3–4, 1–15, p. 1169–1176, 2013.

8 APÊNDICE

Apêndice A - Fichas de Avaliação Sensorial

ESTUDO SOBRE BEBIDA DE UVA

Consumidor: _____ Data: _____

Você vai receber amostras de **Bebidas de Uva**. Por favor, prove cada amostra e responda as perguntas solicitadas. Quando terminar cada amostra, tome um pouco de água e depois avalie a amostra seguinte

Quanto gostou dessa bebida?

Desgostei muitíssimo Nem gostei nem desgostei Gostei muitíssimo

O que você **mais** gostou na bebida? _____

O que você **menos** gostou na bebida? _____

Marque **todas as palavras** que você considera adequadas para descrever essa bebida:

Cor atrativa ()	Gosto Ácido ()
Cor característica de uva ()	Tem equilíbrio acidez/doçura ()
Aroma de soro de leite/leite ()	Sabor residual persistente/ruim ()
Aroma agradável ()	Gosto doce ()
Aroma fraco ()	Gosto salgado ()
Aroma estranho ()	Sabor de uva fraco ()
Aroma de uva ()	Sabor estranho ()
Aroma doce ()	Não tem equilíbrio acidez/doçura ()
Sabor de soro de leite/leite ()	Encorpado ()
Sabor de uva forte ()	Ralo ()
Sem açúcar/pouco doce ()	Gostoso ()

ESTUDO SOBRE BEBIDA DE UVA

Consumidor: _____

Data: _____

Por favor, agora marque todas as palavras que descrevam a **bebida de uva ideal para você**:

Cor atrativa ()	Sabor de soro de leite/leite ()
Cor característica de uva ()	Sem açúcar/pouco doce ()
Aroma de uva ()	Gosto Ácido ()
Aroma fraco ()	Gosto salgado ()
Aroma doce ()	Gosto doce ()
Aroma agradável ()	Tem equilíbrio acidez/doçura ()
Aroma estranho ()	Sabor residual persistente/ruim ()
Aroma de soro de leite/leite ()	Não tem equilíbrio acidez/doçura ()
Sabor de uva forte ()	Encorpado ()
Sabor estranho ()	Ralo ()
Sabor de uva fraco ()	Gostoso ()

