

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

RANGEL ZAGHETI DOS REIS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA ALCOÓLICA  
FERMENTADA A BASE DE SORO DE LEITE**

MEDIANEIRA

2019

RANGEL ZAGHETI DOS REIS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA ALCOÓLICA  
FERMENTADA A BASE DE SORO DE LEITE**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado como Requisito parcial para a conclusão do curso de Tecnologia em alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Medianeira.

Orientador: Prof. Dr. William A. P. L. N. Terroso M. Brandão.

MEDIANEIRA

2019



---

## TERMO DE APROVAÇÃO

**Título do Trabalho:**

### **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA ALCOÓLICA FERMENTADA A BASE DE SORO DE LEITE**

---

**Aluno:**

Rangel Zagheti dos Reis

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado às 11:10 horas do dia 29 de novembro de 2019 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo no Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Medianeira. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Professor Dr.: William A. P. L. N. Terroso M.  
Brandão.

UTFPR – Câmpus Medianeira  
(Orientador)

---

Professor Dr.: Valdemar Padilha Feltrin

UTFPR – Câmpus Medianeira  
(Convidado)

---

Professora Dr(a): Rosana Aparecida da  
Silva Buzanello

UTFPR – Câmpus Medianeira  
(Convidada)

-----  
Prof.º Fábio Avelino Bublitz Ferreira

UTFPR – Câmpus Medianeira  
(Responsável pelas atividades de TCC)

O termo de aprovação original assinado encontra-se na Coordenação de curso.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, onipotente e onipresente, de generosidade infinita, símbolo mor de justiça e sapiência, à Ele toda a honra e toda a glória, agora e para sempre.

Agradeço aos meus pais, por serem um esteio tão forte para mim, pela paciência e compreensão que sempre tiveram em todos os momentos de minha vida.

Agradeço às técnicas de laboratório da UTFPR, campus Medianeira, em especial à Marci Ewerling e Paula Marasca Oro, por tornarem possível o desenvolvimento da parte prática desse estudo.

Agradeço aos professores do Departamento de Alimentos da UTFPR Campus Medianeira, em especial ao meu orientador, Prof. Dr. William A. P. L. N. Terroso M. Brandão, pelos conhecimentos passados e por ter aceitado o desafio do desenvolvimento desse estudo.

Agradeço também aos meus amigos, por todo apoio e companheirismo prestado nesses momentos desafiadores, cabendo aqui um agradecimento especial à Elisandra Vanessa de Moura, por todo espécime de ajuda prestada ao longo desses árduos anos.

A todos vocês, minha sincera gratidão!

## RESUMO

REIS, Rangel Zagheti dos. **Desenvolvimento e caracterização de bebida alcoólica fermentada a base de soro de leite.** 2019. 39f. Trabalho de Conclusão de Curso. Curso Superior de Tecnologia em Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2019.

O soro lácteo é o produto líquido obtido através da coagulação do leite, em geral realizada por meio de ação enzimática, o que gera um soro de pH próximo da neutralidade, levando nome de soro doce. O descarte inadequado desse material gera um severo impacto ao ecossistema do local, já que é uma matéria rica em nitrogênio orgânico e açúcares, que são compostos bioquimicamente difíceis de serem digeridos. O objetivo deste estudo foi o desenvolvimento e caracterização de uma bebida alcoólica fermentada feita a partir de soro lácteo, bem como caracterizar os parâmetros físico-químicos, microbiológicos, além da aceitação sensorial do produto final. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi utilizada para a fermentação do soro de leite. As formulações foram adicionadas de sacarose além de polpa de morango, para avaliar sensorialmente o produto final. E por fim foram adicionados teores de 6% de sacarose em todas as quatro amostras, para também melhorar a palatabilidade do produto. O grau alcoólico encontrado no estudo foi similar a outros produtos fermentados como a cerveja. A acidez e o pH analisados, foram similares ao preconizado pela legislação de produtos lácteos, estando dentro do limite da referida legislação. A aceitação do produto pelos julgadores demonstrou aceitação entre gostei ligeiramente e gostei regularmente, notas 6 e 7, respectivamente, nas quatro amostras e em sete atributos, o que demonstra a potencialidade desse produto.

Palavras-chave: *Sacharomyces cerevisiae*, Graus dornic, Kjeldahl clássico.

## ABSTRACT

REIS, Rangel Zagheti dos. **Development and characterization of whey-based fermented alcoholic beverage.** 2019. 39f. Trabalho de Conclusão de Curso. Curso Superior de Tecnologia em Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2019.

Milk whey is a product of cheese production, obtained through the coagulation of milk, usually performed by enzymatic action, which generates a serum of pH close to neutrality, and takes the name of sweet whey. Inadequate disposal of this material has a severe impact on the local ecosystem, as it is a matter rich in organic nitrogen and sugars, which are biochemically difficult compounds to digest. The main objective of the present study was the development and characterization of a fermented alcoholic beverage made from whey, as well as to characterize the physicochemical, microbiological quality parameters, besides the acceptance of the final product. The serum used by this study was provided by Alibra company, located in the municipality of Marechal Cândido Rondon, in western Paraná. The other products were purchased in local commerce in the municipality of Medianeira, also located in western Paraná. Commercial *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains were used to make the development of the fermentation operation possible. In addition to the addition of 8 and 10% sucrose in the formulations, strawberry pulp was also added to sensorially evaluate the final product. Finally, 6% sucrose contents were added to all four samples to also improve the palatability of the product. The alcoholic degree found in the study is similar to other fermented products such as beer, the acidity and pH analyzed here were similar to that recommended by the dairy product legislation, being within the limit of the said legislation. The acceptance of the product at the judges level showed good acceptance, attesting grades around 6 to 7 in the four samples and seven attributes, which demonstrates the potentiality of this product.

Keywords: *Sacharomyces cerevisiae*, Dornic Degrees, Classic Kjeldahl.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Formulações desenvolvidas.....	20
Tabela 2: Caracterização físico química do mosto.....	28
Tabela 3: Caracterização físico química de bebida fermentada.....	30
Tabela 4: Resultados da avaliação microbiológica da bebida alcoólica.....	31
Tabela 5: Valores de média e desvio padrão para os atributos e amostras.....	33

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Sistema de fermentação em anaerobiose.....	21
Figura 2: Demonstrativo de frequência de notas da amostra 683 para os respectivos atributos avaliados.....	35
Figura 3: Demonstrativo de frequência de notas da amostra 683 para os respectivos atributos avaliados.....	35
Figura 4: Demonstrativo de frequência de notas da amostra 925 para os respectivos atributos avaliados.....	36
Figura 5: Demonstrativo de frequência de notas da amostra 051 para os respectivos atributos avaliados.....	36

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2 OBJETIVO.....</b>	<b>12</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	12
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	12
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>13</b>
3.1 SORO.....	13
3.2 <i>Saccaromyces cerevisiae</i> .....	14
3.2.1 Subprodutos da fermentação.....	16
3.3 ANÁLISE SENSORIAL.....	17
3.3.1 Definições e histórico.....	18
3.3.2 Estrutura do laboratório e disposição das amostras.....	18
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>19</b>
4.1 MATERIAL.....	19
4.2 MÉTODOS.....	19
4.2.1 Elaboração do produto fermentado.....	19
4.2.2 Comitê de ética em pesquisa.....	21
4.2.3 Local.....	22
4.2.4 Análises físico químicas.....	22
4.2.4.1 pH.....	22
4.2.4.2 Sólidos solúveis em graus por refratometria.....	22
4.2.4.3 Determinação de acidez em grau dornic.....	22
4.2.4.4 Determinação de resíduo mineral fixo (cinzas).....	23
4.2.4.5 Secagem direta em estufa 105 °c (umidade).....	23
4.2.4.6 Grau alcoólico.....	23
4.2.4.7 Análise de proteína.....	24
4.2.5 Caracterização físico-química da bebida fermentada.....	24
4.2.6 Análises microbiológicas.....	26
4.2.7 Análises sensorial.....	26
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>28</b>
5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA DO MOSTO.....	28

5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA DO SORO FERMENTADO.....	29
5.3 CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO SORO FERMENTADO.....	31
5.4 ASPÉCTOS ÉTICOS.....	32
5.5 ANÁLISE SENSORIAL DE BEBIDA ALCOÓLICA FERMENTADA DE SORO DE LEITE.....	33
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>39</b>
<b>APÊNDICE A: FICHA DO TESTE DE ESCALA HEDÔNICA.....</b>	<b>44</b>
<b>APÊNDICE B: PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS DA UTFPR.....</b>	<b>45</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O soro é um produto oriundo da produção de queijos, a partir da coagulação do leite. Se tem uma fração sólida, que é a massa constituinte do queijo, e uma fase líquida, que é o chamado soro. Esse processo pode se dar através de dois modos: por meio da acidificação da amostra, se alcança o ponto isoelétrico das proteínas, forçando assim sua coagulação, já o outro modo é através de ação enzimática, também gerando duas fases, a sólida, constituinte da massa do queijo, e a líquida, chamada soro. O soro do primeiro caso, é chamado soro ácido, e o do seguinte é denominado soro doce.

O descarte desse tipo de material, que assim era feito anteriormente, gera diversos impactos ambientais. O soro tem elevados teores de proteínas, que é, em geral, um composto de difícil assimilação pelo meio ambiente, pois contém nitrogênio, o qual tem alto poder contaminante, e demanda uma larga quantidade de oxigênio para a sua degradação, além dos carboidratos ali constituídos aumentarem ainda mais a chamada demanda bioquímica de oxigênio, que é quanto de oxigênio é necessário para digerir bioquimicamente determinada amostra, com o auxílio de microrganismos.

Dois pontos também merecem destaque para a justificativa do desenvolvimento desse estudo: um deles é o alto valor nutritivo desse produto, já que, contém consideráveis teores proteicos, além de conter baixo teor de lipídios e carboidratos (BALDISSERA, 2011). Outrossim, a necessidade do desenvolvimento de novos produtos, em especial com a utilização de subprodutos de outros processos, vem sendo amplamente estudados, principalmente à fim de diminuir toda e qualquer forma de desperdício, afim de otimizar os processos atuais.

De acordo com Babor 2005, o continente americano é responsável por uma média de consumo de bebida alcoólica 50% maior que o resto do mundo, e alguns desses países, incluindo o Brasil, têm médias ainda maiores que essa. Dessa forma, torna-se interessante trazer novas opções de consumo para um mercado tão aquecido como esse.

Importante também, é o desenvolvimento físico químico da bebida, proposta neste estudo, já que alguns aspectos sensoriais estão diretamente relacionados com a composição físico química do produto, e ainda não há no mercado um produto igual ou semelhante a este. O pH, fração de carboidratos, fração proteica, grau alcoólico, são alguns dos parâmetros que consolidam as características sensoriais do produto acabado.

Baseado nisso, este estudo propõe a utilização do soro lácteo, como uma alternativa para a elaboração e caracterização de uma bebida por meio da fermentação alcoólica.

## 2 OBJETIVO

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar bebida fermentada alcoólica por meio de *Sacharomyces cerevisiae*, a partir de soro de leite.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Avaliar as características físico-químicas do soro lacteo (pH, acidez, densidade);
2. Realizar a fermentação alcoólica do soro, com uso de diferentes concentrações de açúcar e ver quais são as variações;
3. Realizar a caracterização físico-química do produto obtido, como o teor alcoólico (°GL), pH, densidade, acidez total e extrato seco;
4. Atestar a qualidade microbiológica do produto;
5. Realizar análise sensorial de aceitação dos produtos.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 SORO

De acordo com a Instrução Normativa de N° 16, do ano de 2005: “entende-se por soro de leite o líquido residual obtido a partir da coagulação do leite destinado à fabricação de queijos ou de caseína” (BRASIL, 2005), O soro contém 93,6% de água 6,4% de sólidos. Desidratado, o soro contém 12% de proteínas, 3% de gordura, 10% de minerais e 75% de lactose (WONG, CAMIRAND, & PAVLATH, 1996).

Ainda conforme os autores, Morris et al. (1985), Modler (1987), a composição do soro pode ser demonstrada de outra forma, Carbono orgânico, 25 g/L; Nitrogênio, 0,6 g/L; Potássio, 1,6 g/L, Fósforo, 0,6 g/L ; Calcio, 1,0 g/L, Magnésio, 0,1 g/L, e Enxofre, 0,05 g/L. Isto para o chamado soro ácido, que é aquele no qual as proteínas são coaguladas à partir da redução do pH, porém, como defendido por esses mesmos autores, essa composição não é sensivelmente diferente para o caso do chamado soro doce, que é aquele em que as proteínas são coaguladas por ação enzimática.

HARAGUCHI et al. (2006) concluíram que as proteínas oriundas do soro de leite ( $\alpha$  e  $\beta$ -lactoglobulina, albumina do soro, imunoglobulinas) apresentam um bom perfil de aminoácidos essenciais, definindo assim essas proteínas como de algo valor biológico. Além disso, essas proteínas possuem peptídeos bioativos (exorfinas, imunopeptídeos e fosfopeptídeos) responsáveis por conferir a essas proteínas diferentes propriedades funcionais.

O teor de lactose faz do soro uma matéria prima com alto poder de crescimento de micro-organismos probióticos, aumentando assim ainda mais o leque de aplicações, mas principalmente permitindo a produção de bebidas lácteas fermentadas, conforme defendido por Magalhães et al., (2011), já que o soro *in natura*, por conta de seus altos teores de sais minerais, apresenta baixa aceitação sensorial (SOARES et al., 2011).

Dentro da nova realidade do consumidor na busca por uma alimentação mais saudável, além do fato da sociedade hoje ter um forte esforço no sentido

de otimizar processos e minimizar as perdas, faz-se necessária a busca por novas matérias-primas e novos processos. Justamente nesse sentido é que o soro do leite vem sendo estudado. Sua caracterização, aplicação em processos e formulações, e ainda, desenvolvimento de novos produtos (OLIVEIRA, 2012).

Outro ponto aqui relevante, discutido por Siqueira, (2013) é a larga produção de soro de leite, ou seja, para cada quilo de queijo que se pretenda produzir, são necessários dez litros de leite, se for considerada a produção de 2011, que foi a discutida pelo autor, a quantidade de soro oriunda da produção de 670.000 toneladas de queijo foi de 6,03 milhões de toneladas, dados do *United States Department of Agriculture* (USDA, 2012), sendo o destino dado à esse produto um aspecto de fundamental importância.

Um último ponto relevante é o baixo custo da matéria prima, como o soro é um dos chamados sub produtos, esse material ainda tem uma considerável viabilidade de uso, tanto nutricional, quanto tecnologicamente para outros processos (SIQUEIRA, 2013)

### 3.2 *Saccaromyces cerevisiae*

A levedura *S. cerevisiae* tem seu funcionamento baseado, basicamente, na conversão de açúcares em etanol e CO<sub>2</sub>. As diferenças entre a *Sacharomyces cerevisiae* e as outras espécies podem ser observadas, pela sua estrutura, pelos grupos funcionais presentes na parede celular, em sua área superficial e ainda algumas diferenças morfológicas. Como existe em sua constituição uma gama de constituintes orgânicos, como açúcares complexos, proteínas e lipídios, essa levedura oferece uma gama elevada de grupos funcionais, que conseguem interagir mais facilmente com soluções aquosas, (Aksu, 2005).

Segundo Rosenmann (2017), a *Sacharomyces cerevisiae* vem sendo estudada em diferentes aplicações tecnológicas e biotecnológicas. Separação de misturas, digestão de biomassas são dois dos possíveis exemplos a mencionar.

Um dos maiores avanços da biotecnologia é a produção de etanol pela atuação de leveduras, apesar de já serem conhecidos diversos micro-organismos capazes de realizar esse processo fermentativo. A levedura mais utilizada é a mesma empregada nesse estudo, já que todas as etapas de fermentação, bem como sua demanda de nutrientes, além dos subprodutos e produtos dessa reação já serem amplamente conhecido e discutido, trazendo ainda uma boa conversão pra razão de açúcar:etanol, com todas essas características, essa levedura é amplamente utilizada tanto para a produção de bebidas, quanto para a obtenção de bioetanol para uso como fonte de combustível renovável para transporte (WALKER; WALKER, 2018).

A *Saccharomyces cerevisiae*, se destaca pelo seu rápido crescimento mesmo em condições menos favoráveis, crescendo em uma faixa grande de temperatura, tolerando uma significativa concentração de etanol, níveis de acidez, além de alguns outros inibidores formados durante a fermentação (AMORIM et al., 2018)

A fermentação é um processo biológico que é dado basicamente pela conversão de açúcares chamados fermentescíveis em energia celular, produzindo assim um rejeito de etanol e dióxido de carbono.

Esse processo é dado basicamente em três fases, a primeira é a fase na qual os micro-organismos se adaptam ao meio e inicial sua multiplicação, a fase tumultuosa é onde é percebido o auge do crescimento celular, sendo liberado o dióxido de carbono de forma intensa, nessa etapa é notado um aumento da temperatura. Por fim existe a fase estacionária, onde começa a ocorrer a precipitação das leveduras, ocorrendo o fim do processo biológico das leveduras, bem como sua morte, além ainda de ser cessada a produção do CO<sub>2</sub> (JESUS; COUTO, 2007).

Para um ambiente livre de oxigênio, a levedura objeto desse estudo faz uso do ácido pirúvico gerado pelo catabolismo do açúcar, sendo na sequência convertido via acetaldeído à etanol, regenerando o NAD<sup>+</sup> para viabilizar a glicólise, produzindo assim ATP, chegando assim à ultima etapa do ciclo, onde duas moléculas de etanol são obtidas (AMORIM et al., 2018).

Na produção de etanol por fermentação alcoólica em anaerobiose existem doze enzimas envolvidas, sendo dez responsáveis pela degradação da glicose a piruvato, responsável pela geração de ATP para a multiplicação celular. E

ainda duas que recebem o nome de piruvato descarboxilase e álcool desidrogenase, que possuem íons metálicos, magnésio e zinco respectivamente, dessa forma, a presença de íons nos meios de fermentação pode impactar na eficiência da produção de etanol, servindo assim de substrato para atuação dessas enzimas. (WALKER; WALKER, 2018).

### 3.2.1 Subprodutos da fermentação.

De acordo com Gutierrez (1993), a produção de etanol por via fermentativa, tem, muito além da simples produção de etanol e CO<sub>2</sub>, a produção de compostos com maior complexidade, como gliceróis, ácido succínico, e os chamados álcoois superiores. Esses compostos, para destiladoras, dificultam muito o processo de separação do puro etanol, já que são carregados em ligação ao etanol, tornando o produto da destilação uma mistura, e não o etanol puro, como seria desejado.

Apesar da influência negativa desses compostos voláteis para extração de etanol em processos de destilação, conquanto, para a produção de bebidas alcoólicas, ainda segundo Gutierrez (1993), esses compostos são de sensível importância, já que são responsáveis pela construção das características aromáticas do produto.

A formação desses álcoois superiores pela ação da levedura é dado pela descarboxilação de cetoácidos intermediários oriundos da biossíntese de aminoácidos, sendo seguido da redução de aldeídos à partir da desidrogenase alcoólica, tudo isso conforme descrição de Webb e Ingraham (1963).

Ainda conforme o estudo de Gutierrez (1993), existe uma faixa ótima, tanto de pH, temperatura de fermentação e ainda concentração de sacarose, de modo à otimizar a produção desses álcoois superiores. A produção desses álcoois superiores produção é reduzida, mesmo no aumento desses parâmetros, e ainda, se esses parâmetros não forem suficientes para alcançar essa faixa ótima, as quantidades de produção desses compostos também dar-se-ão de maneira reduzida.

### 3.3 ANÁLISE SENSORIAL

#### 3.3.1 Definição e histórico

Segundo definição da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1993) a análise sensorial é definida como a disciplina científica usada para medir, avaliar, analisar e interpretar reações das características dos alimentos como são percebidas pelos sentidos do corpo humano.

O surgimento da análise sensorial é datado da segunda guerra, quando o governo americano tinha de mensurar a qualidade organoléptica dos alimentos produzidos para os militares envolvidos na guerra, à fim de promover um alimento com boa aceitação para seus consumidores (MONTEIRO, 1984)

Assim, surgiu então a necessidade de se estabelecer um método científico à fim de promover um padrão para esse tipo de procedimento. Ou seja, um método que de fato tivesse um valor e que pudesse ser universal, gerando dados fidedignos espelhando assim a fiel representação das propriedades sensoriais da amostra (TEIXEIRA, 1987).

De acordo com Chaves (2001), essa metodologia foi introduzida no Brasil no na de 1954 no Laboratório de Degustação da seção de Tecnologia do Instituto Agrônomo de Campinas, para que fosse possível avaliar a qualidade de cafés.

O mesmo autor (CHAVES, 1980), foi responsável por produzir o primeiro livro sobre a aplicação da análise sensorial pelo setor de controle da qualidade das indústrias de alimentos.

A análise sensorial só se torna possível à partir do conjunto de sentidos do corpo humano, ou seja: olfato; paladar; tato; audição; e visão. Esses sentidos avaliam os atributos dos alimentos (ANZALDÚA - MORALES, 1994).

#### 3.3.2 Estrutura do laboratório e disposição das amostras

A estrutura do laboratório deve contemplar todo o material necessário para o desenvolvimento da análise sensorial, desde louças, vidrarias, eletrodomésticos em geral, balança.

As amostras devem ser apresentadas em recipiente adequado, não cheio, uniforme, e particionados em tamanho conveniente, ou seja, fracionado para que o provador consiga consumir a amostra diretamente, sem realizar cortes, além disso, os julgadores devem ser acomodados em cabines individuais, bem iluminadas, à fim de minimizar as interferências o máximo possível (CHAVES, 1980; MONTEIRO, 1984).

Segundo os autores ainda, as amostras devem ser preparadas de modo a não induzirem o julgador a ser tendencioso, ou seja, não ter uma amostra com dimensões diferentes, ou se ter amostras sempre homogêneas.

Também é importante que o ambiente do teste seja bem ventilado, à fim de promover a circulação de ar, e impedir que o provador seja induzido a realizar uma análise tendenciosa por conta da concentração de odores (TEIXEIRA et al, 1987).

#### **4 MATERIAL E MÉTODOS**

## 4.1 MATERIAL

O soro de leite em pó, do tipo “doce”, ou seja, proveniente de coagulação enzimática, foi fornecido pela empresa ALIBRA Ingredientes Ltda, do município de Marechal Cândido Rondon, no Paraná.

A levedura utilizada, *Saccaromyces cerevisiae*, liofilizada, da marca Fleischmann, e o açúcar em pó, refinado, foram adquiridos em um supermercado local.

Para desenvolver a fermentação foram utilizados garrafões de vidro com volume total de cinco litros, com sistema de vedação e sistema para saída de dióxido de carbono impedindo a entrada de oxigênio.

As amostras foram fermentadas em estufa bacteriológica, com temperatura controlada de 22 °C, até que fosse observado o cessamento da fermentação, ou seja, no momento em que não era mais observado borbulhas no sistema de saída do CO<sub>2</sub>.

Após a operação de fermentação, a bebida foi armazenada em garrafas de cerveja convencionais, devidamente limpas e higienizadas, com tampas também nessas condições.

## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 Elaboração do produto fermentado.

Após a reconstituição do soro lácteo, feito com uma proporção de 7% de soro liofilizado e 93% de água destilada. E a adição dos diferentes percentuais de açúcar refinado, em cada formulação, a mistura foi submetida a pasteurização, feita a 65° C por 15 minutos para que, posteriormente, pudesse ser submetida a fermentação com 2,5 g do fermento para cada formulação. As formulações estão dispostas e descritas na Tabela 1.

Tabela 1: Formulações desenvolvidas.

TRATAMENTOS	Sacarose	Polpa de Morango
1	8%	10%
2	10%	10%
3	8%	-
4	10%	-

Fonte: autoria própria

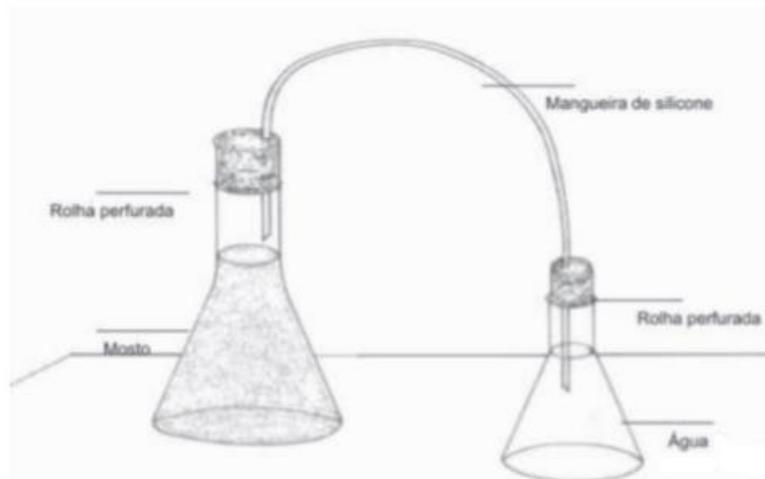
Após a reconstituição do soro lácteo, bem como adição dos diferentes percentuais de açúcar refinado, em cada formulação, a mistura foi submetida a pasteurização, feita a 65° C por 15 minutos para que, posteriormente, pudesse ser submetida a fermentação com o fermento biológico do estudo.

Após o processo térmico, foram adicionados cerca de 1,5 g de fosfato de amônio dibásico em cada um dos quatro tratamentos, à fim de suplementar o mosto, servindo assim como otimizador do processo de fermentação para as reações. Todas as quatro formulações foram fermentadas a 22 °C em equipamento BOD.

Em duas formulações, foi adicionado polpa sabor morango, com proporção 1/10 volume/volume, isso estritamente com o objetivo tecnológico de melhorar as características sensoriais do produto final, imaginando que isso conferiria melhores propriedades sensoriais ao produto, elevando assim seu grau de aceitação.

Para garantir a condição de anaerobiose, o escape do gás carbônico, e a possibilidade de acompanhar o processo fermentativo, foi desenvolvido um esquema igual ao proposto por (MATTIETTO et al., 2006) e apresentado na Figura 1.

Figura 1: Sistema de fermentação em anaerobiose.



Fonte: (MATTIETTO et al., 2006)

Para que se tivesse controle do fim da fermentação, foi promovido um segundo tratamento térmico na bebida, após sua fermentação, seguindo os mesmos parâmetros de tempo *versus* temperatura, respeitados no primeiro tratamento, 65 °C por 15 minutos. Após isso, a bebida seguiu para o engarrafamento, precedido por uma adição de 6% de sacarose, a fim de melhorar o perfil sensorial do produto.

Os efeitos das variações pós fermentação foram verificados sobre as propriedades intrínsecas (grau alcóolico, teor de proteína, grau brix) e ainda a avaliação da aceitação sensorial.

Os tratamentos estatísticos dos dados obtidos, foram tratados pelo software Excel®, utilizando a análise de variância /ANOVA e teste de médias de Tukey.

#### 4.2.2 Comitê de ética em pesquisa

O presente projeto, por haver utilização de técnicas incluindo a análise sensorial, utilizando seres humanos, foi aceito pelo Comitê de Ética em Pesquisa, com vistas a aprovação do mesmo.

#### 4.2.3 Local

Este estudo foi realizado no laboratório de laticínios (j-16) da UTFPR Câmpus Medianeira, com a utilização do equipamento B.O.D à 22 °C. Feito isso, a amostra foi ser acondicionada em estufa, no laboratório de microbiologia, (L-39-C). As demais análises foram procedidas no Laboratório de Análise de Alimentos (L-24-B), todas dentro do mesmo câmpus acima mencionado.

#### 4.2.4 Análises Físico-químicas

##### 4.2.4.1 pH

A determinação do pH foi realizada conforme com a utilização de equipamento denominado phmetro, à partir da metodologia 017/IV, proposta pelo Instituto Adolfo Lutz, que é baseado na utilização de soluções padrões de pH, e na sequência passando a analisar a amostra em que se deseje realizar a leitura. (IAL, 2008)

##### 4.2.4.2 Sólidos solúveis em graus por refratômetro

A determinação dos sólidos solúveis pode ser estimada pela medida de seu índice de refração e por comparação com tabelas de referência. A determinação foi realizada com o auxílio de refratômetro de abbé, com escala graduada de brix devidamente calibrado, conforme descrito pelo IAL (2008).

##### 4.2.4.3 Determinação de acidez em grau Dornic

A determinação foi realizada por volumetria, com indicador, de acordo com o IAL (2008). O método se baseia na titulação com hidróxido de sódio 0,1N, utilizando cinco gotas de indicador fenolftaleína, em cerca de 10mL de amostra do soro de leite, até o ponto de viragem com o indicador fenolftaleína, seguindo posterior relação para cada 0,1 mL de NaOH, tem-se 1 °D de acidez.

#### 4.2.4.4 Determinação de resíduos mineral fixo (Cinzas)

A determinação do teor de cinzas foi realizada pela incineração em forno mufla a 550 °C, sendo primeiro aferida a massa da amostra, carbonização, em seguida em forno mufla por 6 horas, em temperatura anteriormente citada. Após esse período, a amostra foi armazenada em dessecadores, até estabilização da temperatura, sendo aferida a massa da amostra, seguindo para cálculo da porcentagem do teor de cinzas da amostra, de acordo com metodologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

#### 4.2.4.5 Secagem direta em estufa a 105°C (Umidade)

A umidade ou teor de água presente em um alimento constitui um dos índices mais importantes e avaliadas nos alimentos. Esse método é dado pela diferença de peso da amostra quando passada por condições de aquecimento nas quais a água é removida, a determinação foi realizada por perda por dessecação (umidade), onde foi aferido a massa da amostra. Seguido para secagem direta em estufa a 105°C, na sequência armazenado em dessecador para estabilização da temperatura, seguido de uma nova pesagem, esses dados eram utilizados para cálculo da fração de umidade da amostra, conforme metodologia descrita por IAL (2008).

#### 4.2.4.6 Grau alcoólico

As análises de grau alcoólico foram desenvolvidas com base na metodologia 217/IV do Instituto Adolfo Lutz, (Instituto Adolfo Lutz, 2008), que se baseia na densidade do produto fermentado, conseguindo assim estimar o grau alcoólico da amostra.

#### 4.2.4.7 Análise de proteínas

Para a análise de proteína, a metodologia empregada foi a 036/IV do mesmo manual “Métodos físico-químicos para análise de alimentos” do Instituto Adolf Lutz. (Instituto Adolf Lutz, 2008), denominado método de Kjeldahl clássico.

Que se baseia na extração e quantificação dos teores de nitrogênio presentes na amostra, sendo esse valor, na sequência, convertido para os teores de proteínas da amostra.

#### 4.2.5 Caracterização físico-química da bebida fermentada

A deficiência nutricional do mosto é outro fator limitante da produção de bebidas fermentadas à partir da *Saccharomyces cerevisiae* com a formação de etanol. Uma adequada suplementação do mosto garante uma fermentação com maior rendimento.

A Composição do meio exerce grande influência sobre a capacidade da levedura em fermentar substratos concentrados, a suplementação do meio com fontes protéicas e sais de magnésio ou potássio apresentam efeito positivo sobre a velocidade de fermentação global (FILHO, 2013). O autor ainda defende que a adição de certos ions metálicos pode neutralizar efeitos prejudiciais exercidos na fabricação de bebidas fermentadas.

Os percentuais de proteína encontrados no soro lácteo, naturalmente, influenciaram positivamente a fermentação da bebida pela *Saccharomyces cerevisiae*, promovendo a formação do etanol, como metabolito principal da bebida gerada. Goñi e Azpilicueta, 1999; Julien et al., 2000; Julien et al., 1994, são responsáveis por trazer a essa discussão o embasamento teórico do consumo de nitrogênio pela operação de fermentação. Os referidos autores trazem então que, na fermentação, os compostos nitrogenados são consumidos pela levedura principalmente na fase de crescimento celular, exercendo importante função na biossíntese de proteínas, e ainda cumprindo funções enzimáticas, influenciando diretamente o crescimento e o metabolismo celular.

Ainda neste sentido, Salmon e Barre (1998), trazem que os teores de compostos nitrogenados podem interferir na facilidade da levedura em assimilar os substratos do mosto, bem como seu metabolismo, ou seja, elevando o rendimento da operação, bem como afetar a qualidade do produto final obtido. A partir disso, se baseou a utilização de fosfato de amônia dibásico, ou seja, servindo este sal de nitrogênio como substrato para facilitar o crescimento e o metabolismo celular.

Existe também uma relação com o consumo de minerais, por isso a importância de quantificar os teores de cinzas, sendo esses responsáveis por quantificar os teores gerais dos chamados minerais não voláteis, já que alguns estudos demonstram que também existe consumo de minerais na forma de substrato para as reações de fermentação promovidas pela levedura.

De acordo com Souza (2012) por exemplo, os minerais podem elevar a rentabilidade da taxa de transferência de sacarose em etanol com a adição de minerais. Por exemplo, para as amostras adicionadas de Cálcio, Ureia, Cobre e Ferro, foi possível notar uma redução no consumo de sacarose pelo processo fermentativo, índices esses de -19,8%, -19,2%, -17,1% e -14,5%, respectivamente, elevando assim o rendimento da reação. Porém, segundo os estudos desse mesmo autor, se for observado excesso da concentração de algumas classes de metais, é possível notar uma diminuição na quantidade de etanol obtida pela fermentação, isso foi observado para Cobre (-26%), Cálcio (-16%) e Potássio (-16%).

Claramente o objetivo do estudo de Souza (2012) é diferente daquele proposto aqui, já que para o estudo anterior, o foco era aferir especificamente o grau de interferência causada pelos diversos tipos de metais avaliados, mas serve como discussão aqui para demonstrar na prática, o consumo de minerais pela operação de fermentação, e além disso, serve ainda para demonstrar que, em quantidades adequadas, pode até potencializar o rendimento da operação.

#### 4.2.6 Análises microbiológicas

Foram realizadas análises microbiológicas, nas formulações da bebida elaborada, segundo a legislação vigente de bebidas fermentadas (BRASIL, 2007), como contagem de coliformes a 45 °C e a 35 °C, utilizando-se o método de Número Mais Provável (NMP/mL) e a contagem de bolores e leveduras por plaqueamento em superfície.

Para pesquisa de coliformes a 35 °C, foi utilizado o teste presuntivo, no qual alíquotas de 1 mL de cada diluição foram transferidas para tubos contendo caldo lauril sulfato triptose (LST) (Oxoid) e incubados a 37° C por 48 horas. Após o período de incubação, alíquotas dos tubos positivos (com turvação nítida e formação de gás no interior dos tubos de Durham) foram transferidas para caldo VB (Oxoid) e incubadas a 35 °C por 24 horas (SILVA et al., 1997).

Para pesquisa de coliformes termotolerantes (45 °C) foi utilizado o mesmo teste presuntivo, conforme descrito acima, seguido da incubação a 45° C por 24 horas (SILVA et al., 1997).

Para a determinação de bolores e leveduras, alíquotas de 0,1 mL de cada diluição das amostras foram transferidas para placas de petri com o meio de cultura DRBC, Ágar Dicloran Rosa Bengala Clortetraciclina. As placas de DRBC foram incubadas em estufa bacteriológica, a 25 °C por 5 dias (SILVA, 2007).

#### 4.2.7 Análise sensorial

O objetivo principal da aplicação de um teste de análise sensorial é aferir, o mais realista quanto possível for, o grau de aceitação do produto à nível de consumidor. Muito além da caracterização físico química e microbiológica, a análise sensorial é um dos aspectos decisivos no momento de lançamento de um novo produto alimentício no mercado (FERRAZ, 2015).

No momento da análise, o julgador teve a sua disposição uma cabine individual, bem iluminada, disposta de uma pia para expurga dos dejetos líquidos, um copo com água potável, para se necessário realizar a limpeza dos gostos residuais em sua boca.

O tempo médio que o julgador gastou em toda a operação, desde o deslocamento, até o preenchimento do TCLE e pôr fim a aplicação da análise sensorial foi de em média 20 minutos.

Foi realizada a análise sensorial mediante a aplicação do teste de escala hedônica (DUTCOSKY, 2011), do produto obtido no desenvolvimento desse estudo. A aplicação desse teste foi no Laboratório de Análise Sensorial (L24-B) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) Campus Medianeira.

Foram avaliados os atributos de aparência, cor, aroma, sabor e impressão global através de uma escala de aceitação composta de nove pontos. uma escala que vai de 1 a 9, onde 1 corresponde à desgostei muitíssimo e o 9 à gostei muitíssimo.

As pessoas que participaram desse teste foram recrutadas na própria estrutura da instituição, sendo esse grupo por sua vez constituído por alunos, servidores ou professores da instituição, em um total de cento e vinte (120) julgadores, sendo 59% do gênero masculino e 41% feminino. 75% de jovens compreendidos entre a idade de 18 à 26 anos.

As amostras foram servidas em copos plásticos, aleatorizadas com número composto por três dígitos, aleatorizadas, dispostas em um prato branco. A cabine individual era iluminada com luz branca.

Os tratamentos estatísticos dos dados levantados, foram tratados pelo software Excel®, em especial para os dados da análise sensorial, foi efetuada a análise de variância /ANOVA e teste de médias de Tukey, para um nível de significância de 5%, ou seja, ( $p \leq 0,05$ ).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA DO MOSTO

A caracterização da amostra anterior ao processo de fermentação sempre é fundamental, tanto para que se torne possível conhecer as propriedades intrínsecas da amostra, bem como permitir em momento futuro, realizar as devidas discussões com os resultados obtidos posterior a fermentação. Para tanto, a Tabela 2 expõe os resultados obtidos à partir das análises físico químicas do mosto, antes do processo de fermentação.

Cabe salientar que, antes do processo de fermentação, a única variável era a quantidade de sacarose empregada. Logo, justifica-se assim, a necessidade de realizar análises físico-químicas em apenas dois tratamentos.

Tabela 2: Caracterização físico química do mosto

<b>Análises</b>	<b>Tratamento 1</b>	<b>Tratamento 2</b>
Umidade	86,29 ± 0,09	85,21 ± 0,17
Cinzas	0,39 ± 0,10	0,40 ± 0,019
pH	6,45± 0,00	6,37± 0,00
Sólidos solúveis °Brix	21,25± 0,00	22,25± 0,00
Acidez em °Dornic	11,25 ± 0,70	10,80 ± 0,60
Proteína	1,55 ± 0,14	1,60 ± 0,32

Fonte: Autoria própria (2019).

Todas as análises foram realizadas em triplicatas, De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Soro de Leite, (BRASIL, 2013), os valores de pH encontrados nos tratamentos, estão compreendidos entre os intervalos sugeridos pelo referido regulamento, que são valores entre 6 e 6,8.

O valor do pH em ambos os tratamentos, está próximo da neutralidade, já que o soro utilizado para a pesquisa é um soro oriundo de uma coagulação enzimática. Assim foram encontrados valores de pH em torno de 6,4. Brandão

(2007) encontrou valores de pH próximos a neutralidade em seu estudo, encontrando o valor de 6,30,

Para os valores de acidez, no presente estudo foram encontrados valores em torno à 11 °D. Os valores trazidos pelo regulamento técnico do MAPA, devem estar compreendidos na faixa de 10 - 12 °D. Caldeira et al. (2010) encontraram valores na faixa de 10,9°D, com desvio padrão na ordem de  $\pm 0,994$ , valores esses bastante próximos aos encontrados no presente trabalho

Os valores de proteína estão próximos a 1,55 g/L, sendo pouco diferente pelos encontrados por Brandão (2007), em seu estudo, reportou valores similares ao presente estudo, o autor encontrou índices de proteína na ordem de 1,36.

Se for considerada a adição de sacarose para o desenvolvimento da fermentação, os valores para graus brix encontrados por esse estudo, que foram compreendidos em torno de 22 °B, esses valores são próximos ao encontrado pelo estudo de Ferreira et al (2016), que foram em média em torno à 12°Brix.

Para a quantidade de cinzas, Andrade (2015) conseguiu teor aproximado a 0,34. Valor esse não distante dos 0,38 encontrados no presente estudo. De acordo com Souza (2012), a levedura objeto desse estudo, utiliza como substrato diversos tipos de minerais.

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO QUÍMICA DO SORO FERMENTADO

Na Tabela 3 são demonstrados os valores obtidos para as análises físico-químicas da bebida fermentada. Não foram feitas análises da bebida após a adição da polpa de morango, já que o objetivo das análises seriam avaliar a interferência da fermentação nos parâmetros físico-químicos. A elevação da acidez aqui é demonstrada pela redução do pH, já que a análise de graus Dornic não se aplica para esse tipo de produto fermentado.

Tabela 3: Caracterização físico química da bebida fermentada.

	8%	10%
Umidade	91,31 ± 0,23	89,53 ± 0,058
Cinzas	0,34 ± 0,004	0,31 ± 0,02
pH	4,54 ± 0,00	4,55 ± 0,00
Sólidos solúveis oBrix	16,07 ± 0,00	16 ± 0,00
Proteína	1,20 ± 0,11	1,24 ± 0,08
°Alcoólico	4,11 ± 1,33	4,68 ± 1,2
Densidade	1,097	1,092

Fonte: autoria própria (2019)

Segundo Novaes et al. (1974), durante a fermentação a acidez se eleva, e por conseguinte, o pH diminui, devido à formação de ácidos orgânicos. Assim, quando variações anormais da acidez total e do pH ocorrem, podem ser atribuídas à presença de microrganismos contaminantes. Uma acidez final muito maior que a inicial pode indicar uma má fermentação e cujo valor pode ser relacionado com os valores de pH do mosto.

No caso do presente estudo, não foi feita a acidificação do mosto. Mas o crescimento celular foi facilitado, já que, o pH ótimo para o desenvolvimento celular da *Saccharomyces cerevisiae* é na faixa de 4,5, o qual foi o pH inicial do soro lácteo utilizando neste estudo. De acordo com Jones et al. (1981) a concentração de íons hidrogênio é um fator significativo para o crescimento celular da levedura, visando aumentar a velocidade de fermentação e ainda promover a inibição de alguns tipos de microrganismos.

E por fim, para o grau alcoólico, de acordo com a Instrução Normativa N° 34 (BRASIL, 2012), vários são os produtos alcoólicos que tem faixa de grau alcoólico similar ao produto objeto desse estudo, na faixa de 4,11 a 4,68 °GL. Diversos fermentados de frutas, como fermentado de jabuticaba, o qual possui de 4 a 14% de etanol; a cidra com a faixa de 4 a 8% de etanol; hidromel de 4 a 14% de etanol; ou ainda o fermentado de Cana com 4 a 14% de etanol.

Alguns estudos trazem dados relacionáveis com os encontrados por esse estudo, como por exemplo, Oliveira et al. (2012) em seu estudo de fermentação de calda residual proveniente da desidratação de abacaxi obteve um produto

com cerca de 12% de volume de etanol. Já Andrade et al. (2013), com o desenvolvimento de bebida alcoólica fermentada de morango obteve grau alcoólico na ordem de 9%. Paula et al (2012) com o desenvolvimento de fermentado alcoólico de umbu obteve teor alcoólico na casa dos 11%. Andrade (2003) em desenvolvimento de bebida alcoólica fermentada de pupunha alcançou valores na ordem de 12%. E por fim, Muniz et al. (2002), obtiveram em seu estudo de fermentação de frutas tropicais teores de 8,4 % no caso de fermentação de ata, popularmente conhecida como fruta do conde, 10% para a fermentação de ciriguela e 9,8 para a fermentação de mangaba.

Apesar dos teores demonstrados por esses estudos parecerem distintos dos obtidos por esse estudo, é importante destacar que, o produto desenvolvido por esse estudo é passível de ser tecnologicamente desenvolvido. Otimizando os processos fermentativos, elevando assim os teores alcoólicos se assim for desejado.

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO SORO FERMENTADO

A Tabela 4 demonstra os resultados da avaliação microbiológica da bebida alcoólica fermentada de soro de leite.

Tabela 4 – Resultados da avaliação microbiológica da bebida alcoólica fermentada de soro de leite.

Microrganismos	Critério de aceitação*	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4
Coliformes a 35 °C (NMP/mL)	$10^2$	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
Coliformes a 45 °C (NMP/mL)	$10^1$	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
Bolores e Leveduras (UFC/mL)	$2 \times 10^2$	$3,31 \times 10^6$	$3,54 \times 10^6$	$3,89 \times 10^6$	$1,72 \times 10^6$

\* Segundo a IN 46, de 23/10/2007 (BRASIL, 2007). A amostra 1 representa a com 10% de sacarose sem a adição de polpa de morango. A amostra 2 é a

com 8% de sacarose sem adição da polpa, já as 3 e 4 são as com adição de polpa, sendo a 3 com adição de 10% de sacarose, e a 4 com adição de 8% de sacarose. Fonte: Aatoria própria (2019).

A bebida alcóolica de soro de leite, atualmente, não está caracterizada por nenhuma legislação específica, para todos os parâmetros que o envolvem, nem mesmo para os padrões microbiológicos. Assim, a presente discussão respeitará a Instrução Normativa de Nº 46, de 23 de outubro de 2007 (BRASIL, 2007), que traz consigo os Padrões de Identidade e Qualidade para Leites Fermentados, produtos esses que também passam por processos fermentativos, antecidos por um tratamento térmico.

Para a referida legislação, os limites para bolores e leveduras estão compreendidos por valores inferiores a  $2 \times 10^2$  UFC/g. porém, a contagem apresentou colônias típicas de *Saccharomyces cerevisiae*, e tão somente destas. Conquanto, essa contagem apenas foi desenvolvida com o objetivo de identificar crescimento de células diferentes da *Saccharomyces cerevisiae*, o que não foi percebido, conforme descrito anteriormente. Sendo precedida de uma nova pasteurização, para eliminar essa carga da levedura.

Para o caso das contagens para coliformes a 35 °C e 45 °C pela técnica do número mais provável (NMP/mL) os valores ficaram compreendidos inferiormente ao delimitado pelos padrões máximos da legislação (BRASIL, 2007).

#### 5.4 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo foi avalizado pelo comitê de ética em pesquisa com seres humanos da UTFPR, sendo aprovado com base no parecer consubstanciado de número 3.708.070/2019, que é apresentado no Apêndice B desse trabalho.

Também é importante salientar que pelo produto desenvolvido por esse estudo apresentarem teores alcoólicos o desenvolvimento da análise sensorial ficou restrita a indivíduos maiores dezoito anos, gestantes e pessoas com

restrições a ingestão de qualquer um dos componentes dessa bebida foram orientados a não participar da análise.

A aplicação da análise sensorial foi aplicada mediante o conhecimento e aceitação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), sendo retida uma via desse documento com rubrica dos participantes, e cedida uma via para cada um dos participantes.

## 5.5 ANÁLISE SENSORIAL DE BEBIDA ALCOÓLICA FERMENTADA DE SORO DE LEITE.

Para o caso da análise sensorial desse estudo, o painel de provadores foi constituído de cento e vinte provadores não treinados e não selecionados. A Tabela 7 demonstra os valores médios obtidos por cada amostra,

Tabela 5: Valores médios para a aceitação entre as diferentes formulações.

Amostra	10S	8C	8S	10C
Impressão global	5,7 ± 1,8 <sup>b</sup>	6,7 ± 1,7 <sup>a</sup>	6,2 ± 1,7 <sup>a</sup>	6,4 ± 1,6 <sup>a</sup>
Cor	5,8 ± 1,8 <sup>b</sup>	6,7 ± 1,6 <sup>a</sup>	6,0 ± 1,8 <sup>b</sup>	6,7 ± 1,5 <sup>a</sup>
Aparência	5,9 ± 1,9 <sup>b</sup>	6,7 ± 1,7 <sup>a</sup>	6,0 ± 1,9 <sup>b</sup>	6,9 ± 1,7 <sup>a</sup>
Aroma	5,5 ± 1,9 <sup>b</sup>	6,7 ± 1,9 <sup>a</sup>	5,8 ± 2,0 <sup>b</sup>	6,8 ± 1,7 <sup>a</sup>
Sabor	5,7 ± 2,0 <sup>b</sup>	6,6 ± 1,8 <sup>a</sup>	6,0 ± 2,1 <sup>b</sup>	6,0 ± 1,8 <sup>b</sup>
Doçura	5,6 ± 2,0 <sup>b</sup>	6,4 ± 1,7 <sup>a</sup>	6,1 ± 2,0 <sup>b</sup>	5,8 ± 1,8 <sup>b</sup>
Consistência	6,3 ± 2,0 <sup>b</sup>	6,6 ± 1,7 <sup>a</sup>	6,4 ± 1,9 <sup>b</sup>	6,5 ± 1,7 <sup>b</sup>

Valores seguidos de letras iguais, na mesma linha, não diferem significativamente entre si para um grau de confiabilidade de ( $p > 0,05$ ) segundo teste Tukey. As notas variavam em uma escala de 1 a 9, onde 1 significava desgostei muitíssimo e 9 gostei muitíssimo. Fonte: Autoria própria (2019).

De imediato, é possível notar que a amostra 10S, que é constituída de 10% de sacarose e sem a adição de polpa de morango, foi a quarta melhor avaliada, com valores de média compreendidos entre 5,53 a 6,3, sendo o atributo aroma avaliado com menor nota, com valores médios de  $5,53 \pm 1,8468$ , e a consistência, que se refere a fluidez, foi o atributo com maiores médias para essa amostra, ficando na casa dos  $6,3 \pm 1,9601$ . Valor este não muito divergente da

consistência das outras amostras, fato que demonstra que a fluidez das amostras foi avaliada bem próxima uma das outras pelos provadores.

Na sequência, a terceira melhor avaliada foi a amostra 8S, respectivamente constituída de 8% de sacarose e sem a adição de polpa de morango, apresentando valores médios de aceitação compreendidos entre 5,76 e 6,43. Novamente sendo o atributo aroma avaliado com menor nota, ficando na casa dos  $5,76 \pm 2,01$ , e a melhor avaliada novamente foi a consistência, se referindo a fluidez, obtendo assim valores médios na ordem de  $6,43 \pm 1,9041$ . Todas essas amostras já citadas foram constituídas apenas de soro reconstituído mais sacarose.

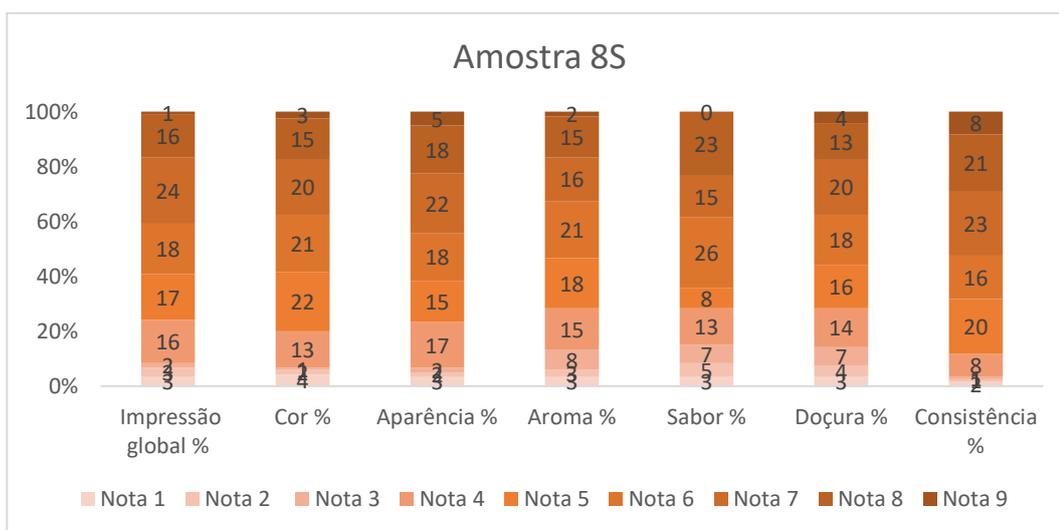
A amostra com segunda melhor avaliação, foi a amostra 10C, com 10% de sacarose e a adição de polpa de morango, os valores aqui partem de 5,78, chegando até a 6,91. Agora o atributo avaliado com menor nota passou a ser a doçura, apresentou valores em torno de  $5,775 \pm 1,7985$ , e o melhor avaliado passou a ser a aparência, tudo isso corroborado pela presença da calda de morango, por que é possível notar uma sensível melhora nas médias para os atributos, coloração, Aparência e Aroma, que anteriormente era o pior avaliado. A aparência ficou então como o atributo melhor avaliado, sendo sua média  $6,9167 \pm 1,6591$ .

A amostra melhor avaliada foi a 8C, com 8% de sacarose e a adição de polpa de morango, essa amostra não teve notas inferiores a 6 em nem um dos quesitos avaliados, sendo a menor nota  $6,3888 \pm 1,7061$ , para o atributo doçura, e o atributo melhor avaliado foi a cor, seguramente pela utilização da calda base de morango, alcançando valores na ordem de  $6,7333 \pm 1,6022$ . Para essa amostra também é possível notar os mesmos pontos de interferência da calda de morango como discutido na amostra anterior, valores superiores para aroma, cor, sabor, e não sendo percebida alterações para o atributo consistência (fluidez), como já discutido anteriormente, para as quatro amostras os valores de consistência pouco variaram, demonstrando que a adição ou não de calda não trouxe interferência na consistência do produto.

Na sequência serão apresentados os gráficos com as notas dadas pelos provadores, divididos por amostra, demonstrando as percentagens de notas dadas para cada conjunto de atributos, como uma distribuição de frequência das notas por cada atributo.

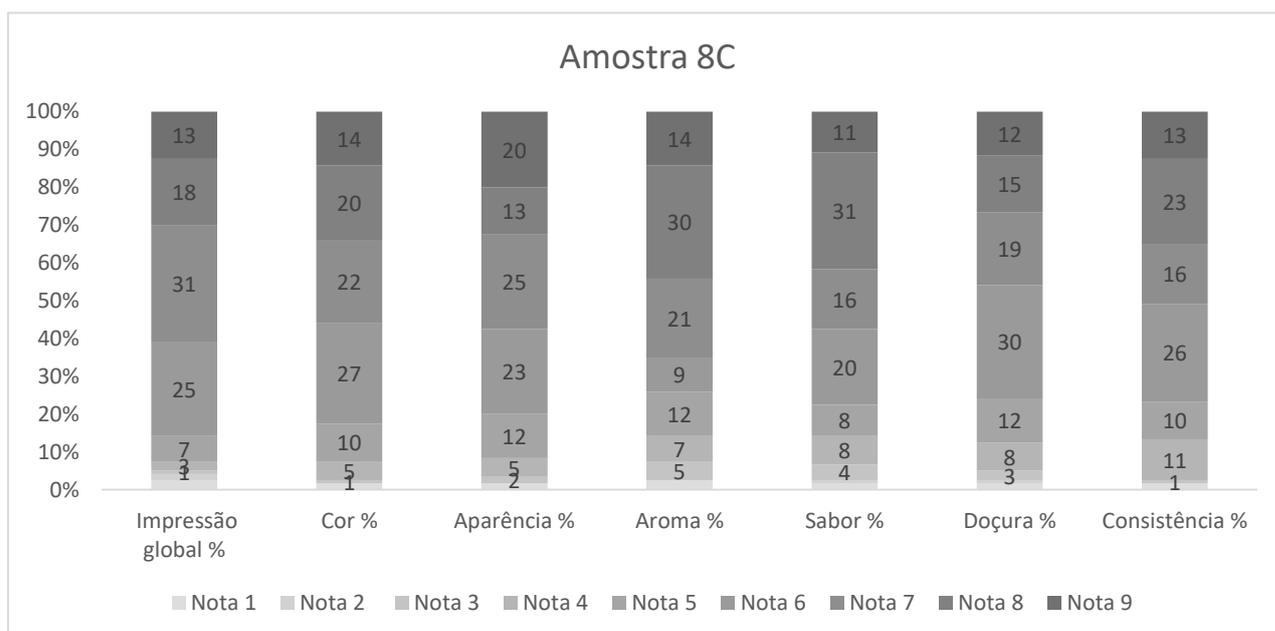
A Figura 2, apresenta a frequência de notas dadas para os respectivos atributos da amostra 10S, seguido pela Figura 3, apresentando a amostra 8C, que é a amostra desenvolvida com calda base de morango e 8% de sacarose, na sequência é apresentada a figura 4, trazendo a distribuição de notas da amostra 8S, é apresentada a figura 5, mostrando os resultados para a amostra 10C.

Figura 2: Demonstrativo de frequência de notas da amostra 8S para os respectivos atributos avaliados.



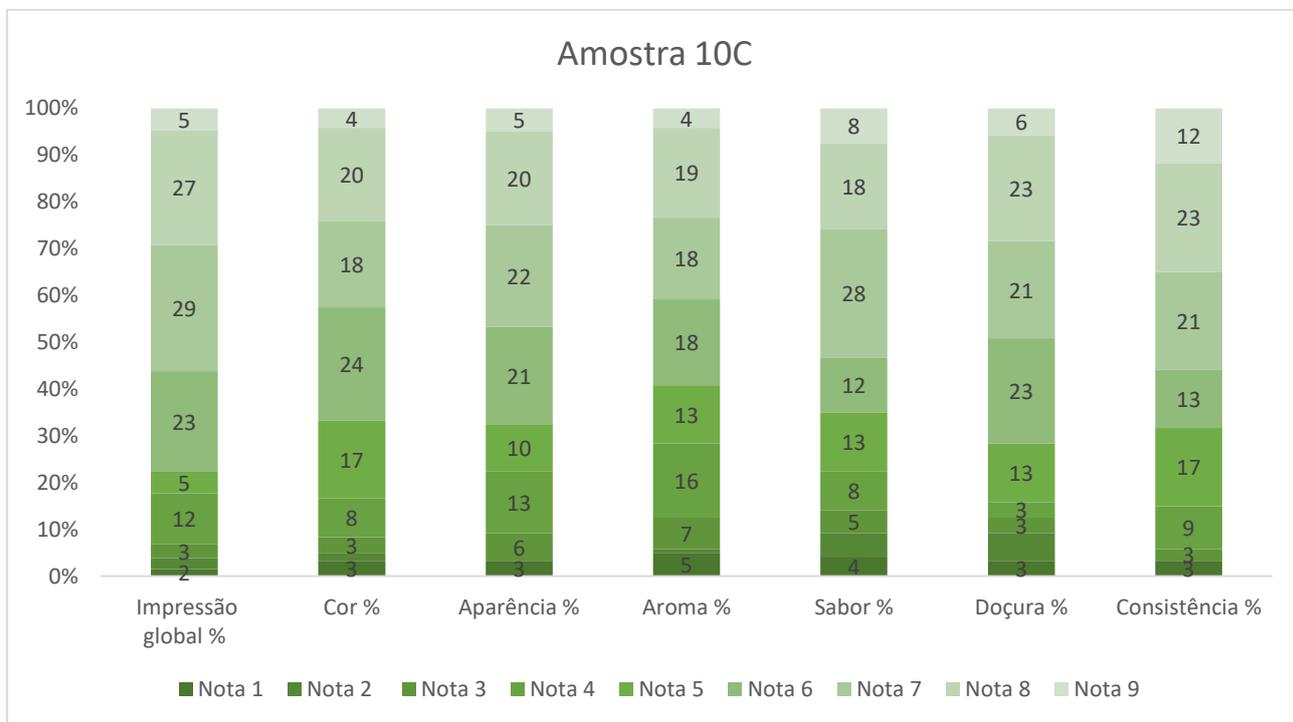
Fonte: Autoria própria (2019)

Figura 3: Demonstrativo de frequência de notas da amostra 8C para os respectivos atributos avaliados.



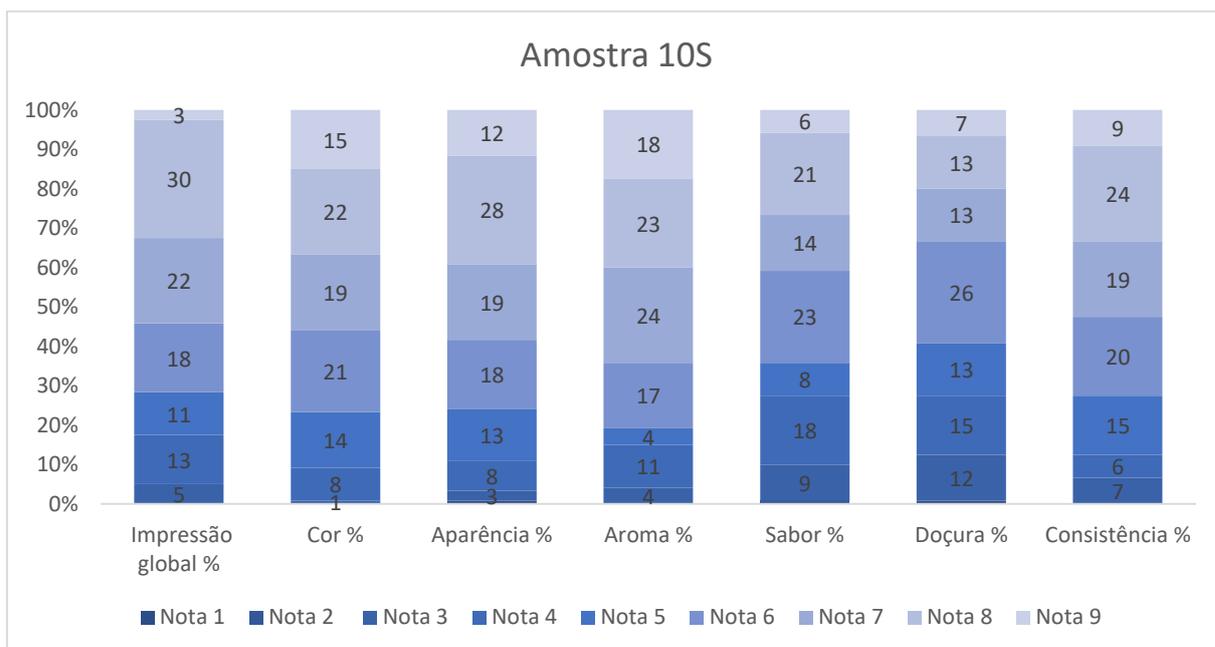
Fonte: Autoria própria (2019)

Figura 4: Demonstrativo de frequência de notas da amostra 10C para os respectivos atributos avaliados.



Fonte: Autoria própria (2019)

Figura 5: Demonstrativo de frequência de notas da amostra 10S para os respectivos atributos avaliados.



Fonte: Autoria própria (2019)

É importante salientar, sobre essa sequência de gráficos, ao menos 60% das notas estão compreendidas entre 6 e 8, mostrando assim que, é possível notar um potencial tecnológico para o produto. Isso tudo é demonstrado pelas Figuras 2, 3, 4 e 5.

Muniz et al. (2002), também obteve a maior parte das avaliações compreendidas entre as notas 6 e 8, cerca de 65% das avaliações, para seu fermentado de frutas tropicais.

E por fim, as amostras do estudo de Oliveira et al. (2012) obtiveram médias que pouco oscilaram da ordem de 7 para todos os atributos avaliados, valores esses também pouco distantes dos obtidos pelos tratamentos objeto desse estudo, que pouco variaram da ordem de 6,5, em média.

## 6. CONCLUSÃO

No desenvolvimento da bebida alcoólica fermentada foi feito com êxito, a operação se deu com sucesso, o grau alcoólico obtido no final da fermentação atende aos teores preconizados pela legislação, e com boas características sensoriais.

Todas as características físico-químicas objetivadas por esse estudo foram quantificadas, e esses valores encontrados foram equivalentes a diversas literaturas discutidas no presente estudo.

A operação de fermentação se deu de forma satisfatória, e os teores de açúcares utilizados para a fermentação, pouco representaram em alterações sensoriais do produto acabado, implicando tão somente em uma pequena variação do grau alcoólico.

Foi interessante notar que a análise sensorial aplicada sob o produto, também trouxe resultados interessantes, sendo 50% dos provadores, em média, depositaram suas notas entre gostei ligeiramente (6) (em média 25%), e gostei ligeiramente (7) (em média 25%), isso para todos os atributos e amostras, demonstrando assim um forte potencial de aplicação e melhoria para o produto.

## REFERÊNCIAS

- AKSU, Z. (2005). Application of biosorption for the removal of organic pollutants: A review. *Process Biochemistry*, 40(3–4), 997–1026.  
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.04.008>
- ANDRADE, J. S.; PANTOJA, L.; MAEDA, R. N. MELHORIA DO RENDIMENTO E DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DA BEBIDA ALCOÓLICA DE PUPUNHA (*Bactris gasipaes* Kunth). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 23: 34-38, dezembro, 2003.
- ANDRADE, R. G.; NETO, J. A. A.; LOPES, R. C. S. Q. Valorização biotecnológica de soro de leite por fermentação utilizando *Saccharomyces cerevisiae*. *Estudos Tecnológicos em Engenharia*, 11(2):82-91, julho-dezembro 2015 2015 Unisinos - doi: 10.4013/ete.2015.112.04
- ANDRADE, M. B.; PERIM, G. A.; SANTOS, T. R. T.; MARQUES, R. G. Fermentação Alcoólica e Caracterização de Fermentado de Morango. *BBR – Biochemistry and Biotechnology Reports* - ISSN 2316-5200 Número Especial v. 2, n. 3, p. 265-268, 2013
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 16, DE 23 DE AGOSTO DE 2005.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. Análise sensorial dos alimentos e bebidas: terminologia. 1993. 8 p.
- BABOR T, CAETANO R, CASSWELL S, ESWARDS G, GIESBRECHT N, GRAHAM K, et al. Alcohol: no ordinary commodity: The global burden of alcohol consumption. Oxford: Oxford University Press. p. 57-92.
- BALDISSERA, A. C.; BETTA, F. D.; PENNA, A. L. B.; LINDNER, J. D. D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. *Seminário: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, out./dez. 2011.

BRASIL, Instrução Normativa Número 46, de 23 de Outubro de 2007. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

BRASIL, Portaria Número 53, 2013, Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Soro de Leite. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

BRASIL, Instrução Normativa Número 34, de 29 de Novembro de 2012. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

BORRMANN, D. et al. Avaliação sensorial de bebidas a base de extrato hidrossolúvel de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 20., 2006, Curitiba, PR. SBCTA, 2006.

CALDEIRA, L. A.; FERRÃO, S. P. B.; FERNANDES, S. A. A.; MAGNAVITA, A. P. A.; Desenvolvimento de bebida láctea sabor morango utilizando diferentes níveis de iogurte e soro lácteo obtidos com leite de búfala. Ciência Rural, Santa Maria, v40, n.10, p.2.193 – 2.198, out, 2010.

CHAVES, J. B. P. Avaliação sensorial de alimentos: métodos de análise. Viçosa: Editora UFV, 1980. 69p. (caderno 37).

FERRAZ, Flavio de Oliveira. Estudo dos parâmetros fermentativos, características físico-químicas e sensoriais de hidromel. USP, Lorena (SP) – 2015. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/97/97132/tde-24032015-165257/>>

FERREIRA, A. T. D.; LEVANDOSKI, D. M. Z.; FAVORETO, V. Z.; ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS EM AMOSTRAS DE LEITES SEMIDESNATADOS: COM LACTOSE E SEM LACTOSE, UTFPR, Ponta Grossa, 2016.

FILHO, W. G. V. Bebidas Alcoólicas: Ciência e Tecnologia. 1ª Edição 2010, 2 Reimpressão 2013, Editora Edgard Blücher Ltda. São Paulo, SP.

GUTIERREZ, L. E. PRODUÇÃO DE ÁLCOOIS SUPERIORES POR LINHAGENS DE Saccharomyces DURANTE A FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA. Sci. Agric., Piracicaba, 50(3):out. /dez., 1993

HARAGUCHI, F.K. et al. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. Revista de Nutrição, v.19, n.4, p.479-488, 2006. Disponível em:

[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S141552732006000400007&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S141552732006000400007&script=sci_arttext).

JONES, R. P.; PAMMENT N.; P. F. GREENFIELD. Alcohol fermentation by yeasts: The effect of environmental and other variables. Process Biochemistry, London, 1981. v.16, p. 42-49.

MATTIETTO, R. de A.; LIMA, F. C. C. De; VENTURIERI, G. C.; ARAÚJO, Á. A. De. Tecnologia para obtenção artesanal de hidromel do tipo doce. Embrapa Amazônia, [s. l.], p. 1–5, 2006. Disponível em:

<http://agris.fao.org/agrissearch/search.do?recordID=BR20061903081>>

MAGALHÃES, K.T. et al. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. Food Chemistry, v.126, p.249-253, 2011. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814610014196>>.

MONTEIRO, C. L. B. Técnicas de Avaliação sensorial. 2. ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, CEPPA, 1984. 101 p.

MORRIS, S.; NIXON, J.; KILGON, R. Whey: feed or fertilizer. In: RUAKURA FARMERS' CONFERENCE, 37., 1985, Hamilton. Proceedings... Hamilton: New Zealand Ministry of Agriculture and Fisheries, 1985. p. 113-116.

MUNIZ, C. R.; BORGES, M. F.; ABREU, F. A. P.; NASSU, R. T.; FREITAS, C. A. S. BEBIDAS FERMENTADAS A PARTIR DE FRUTOS TROPICAISB.CEPPA, Curitiba, v. 20, n. 2, p. 309-322, jul./dez. 2002

NOVAES, F. V. STUPIELLO, J. P.; OLIVEIRA, E. R. de; VALSECHI, O. I Curso de extensão em tecnologia de aguardente de cana. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, 1974. 104p

OLIVEIRA, L. A.; LORDELO, F. d. S.; TAVARES, J. T. Q.; CAZETTA, M. L. ELABORAÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA UTILIZANDO CALDA RESIDUAL DA

DESIDRATAÇÃO OSMÓTICA DE ABACAXI (*Ananas comosus* L.). Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial. v. 06, n. 01: p. 702-712, 2012

PAULA, B.; FILHO, C. D. C.; MENEZES, J. S.; LIMA, P. C.; PINTO, C. O.; CONCEIÇÃO, L. E. M. G. Produção e caracterização físico-química de fermentado de umbu. Ciência Rural, Santa Maria, v.42, n.9, p.1688-1693, set, 2012

ROSENMAN, G. C. (2017). Universidade Tecnológica Federal Do Paraná Programa De Pós-Graduação Em Engenharia Mecânica E De. Retrieved from [http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/2630/1/CT\\_PPGEM\\_M\\_Rosenmann%2C Gabriel Chemin\\_2017.pdf](http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/2630/1/CT_PPGEM_M_Rosenmann%2C%20Gabriel%20Chemin_2017.pdf)

SIQUEIRA, A. M. O.; MACHADO, E. C. L.; STAMFORD, T. L. M. Bebida Láctea com soro de queijo e frutas. Ciência Rural, Santa Maria, v.43, n.9, p.1693-1700, set, 2013.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N. F.A, Manual de Métodos de análise microbiológica dos alimentos, São Paulo: Varela, 1997

SOARES, D.S. et al. Aproveitamento de soro de queijo para produção de iogurte probiótico. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.63, n.4, p.996-1002, 2011.

SOUZA, R. B. Análise do desempenho fermentativo da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em resposta a composição mineral do meio. Universidade Nacional de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Programa de pós-graduação em ciências biológicas. Recife, 2012.

WALKER, G. M.; WALKER, R. S. K. Enhancing Yeast Alcoholic Fermentations.[s.l.] : Elsevier Ltd, 2018. v. 105 Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2018.05.003>>

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; BARBETTA, P. A. Análise sensorial de alimentos. Florianópolis: Ed. da UFSC, 1987. 180 p.

AMORIM, T. S.; LOPES, S. de B.; BISPO, J. A. C.; BONAFE, C. F. S.; DE CARVALHO, G. B. M.; MARTÍNEZ, E. A. Influence of acerola pulp concentration on

mead production by *Saccharomyces cerevisiae* AWRI 796. *Lwt*, [s. l.], v. 97, p. 561–569, 2018.

WEBB, A. D., & INGRAHAM, J. L. (1963). Fusel Oil. *Advances in Applied Microbiology*, 5(C), 317–353. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70014-5](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70014-5)

WONG, D. W. S., CAMIRAND, W. M., & PAVLATH, A. E. (1996). *Structures and Functionalities of Milk Proteins. Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 36). <https://doi.org/10.1080/10408399609527751>

## APÊNDICE A: FICHA DO TESTE DE ESCALA HEDÔNICA.

### ANÁLISE SENSORIAL DE BEBIDA FERMENTADA ALCOOLICA DE SORO DE LEITE

Nome:

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Sexo: ( ) Feminino ( ) Masculino

Idade: \_\_\_\_\_

### TESTE DE ESCALA HEDÔNICA

Você está recebendo quatro amostras de bebida fermentada alcoolica de soro de leite. Avalie as amostras utilizando a escala de valores abaixo:

- (9) Gostei extremamente
- (8) Gostei muito
- (7) Gostei moderadamente
- (6) Gostei ligeiramente
- (5) Indiferente
- (4) Desgostei ligeiramente
- (3) Desgostei moderadamente
- (2) Desgostei muito
- (1) Desgostei extremamente

Descreva o quanto você gostou e/ou desgostou, com relação aos atributos:

Amostra	Impressão Global	Cor	Aparência	Aroma	Sabor	Doçura	Consistência
<b>8S</b>							
<b>8C</b>							
<b>10S</b>							
<b>10C</b>							

Comentários:

---

Muito obrigado pela colaboração!

## APÊNDICE B, PARECER CONSUSBTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS DA UTFPR.

UNIVERSIDADE  
TECNOLÓGICA FEDERAL DO



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA ALCOOLICA FERMENTADA A BASE DE SORO DE LEITE

**Pesquisador:** William Arthur Philip L Naidoo Terroso de Mendonça Brandão

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 21097219.7.0000.5547

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANA

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.708.070

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

CURITIBA, 15 de Novembro de 2019

---

**Assinado por:**  
**Frieda Saicla Barros**  
**(Coordenador(a))**