Politécnico
Castelo Branco
Escola Superior Agrária

Schreiber

Melhoria dos iogurtes aromatizados sólidos

Letícia Goulart Pereira

Orientadores
Professora Doutora Ofélia Maria Serralha dos Anjos
Doutora Soraia Inês Pedro
Técnica de I&D Ana Rodrigues

Relatório de Estágio apresentado à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciatura em Biotecnologia Alimentar, realizada sob a orientação científica da Professora Doutora Ofélia Maria Serralha dos Anjos do Instituto Politécnico de Castelo Branco e da Técnica Ana Rodrigues do departamento de I&D da Schreiber Foods.

outubro de 2025

Dedicatória

A Deus, aos meus pais, ao meu irmão e ao meu padrasto.

Agradecimentos

A realização deste relatório é fruto de muito esforço, dedicação e do apoio de pessoas especiais que me acompanharam ao longo deste percurso.

Agradeço aos meus pais, ao meu irmão e ao meu padrasto pelo amor, confiança e apoio incondicional, que me permitiram chegar até aqui. Ao meu namorado, pelo carinho, incentivo e paciência, por acreditar em mim e me motivar a seguir sempre em frente. Às minhas amigas, pelo apoio constante, pela amizade e por estarem sempre presentes nos momentos bons e nos desafios.

Sou muito grata à Schreiber Foods Portugal, S.A., pela oportunidade de realizar o estágio nas suas instalações, pela orientação técnica, e pela forma cordial como me integraram na equipa.

Às minhas orientadoras internas, Professora Doutora Ofélia Maria Serralha dos Anjos e Doutora Soraia Pedro, agradeço pela orientação, paciência e pela transmissão de conhecimentos ao longo de todo o trabalho.

À minha orientadora externa, Ana Rodrigues, agradeço pelo profissionalismo exemplar, generosidade e dedicação, por estar sempre disponível para ajudar, e, sobretudo, por se ter tornado uma amiga.

À Inês, sou grata pelo companheirismo, pela amizade, pelos conhecimentos partilhados e por se ter tornado alguém especial.

A todas as pessoas que conheci na fábrica e ao pessoal do laboratório, o meu agradecimento pelo auxílio, pelos ensinamentos e pelos momentos de descontração que tornaram os dias mais leves.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para esta etapa da minha vida, deixo o meu mais sincero obrigada.

Melhoria dos iogurtes aromatizados sólidos

Letícia Goulart Pereira

Resumo

Com o crescimento da inovação no setor alimentar, torna-se essencial garantir a qualidade dos produtos.

O presente relatório descreve o trabalho desenvolvido durante o estágio curricular na Schreiber Foods Portugal, S.A., com foco na melhoria de iogurtes aromatizados sólidos. O estudo envolveu a seleção e avaliação de diferentes fermentos e aromas, com o objetivo de otimizar os atributos sensoriais e físico-químicos dos produtos, nomeadamente textura, força gel, pH e acidez. Foram realizadas fermentações piloto, análises laboratoriais e ensaios sensoriais com um painel não treinado, complementados por espectroscopia vibracional (FTIR-ATR) para examinar a variabilidade global entre os fermentos.

Adicionalmente, foi conduzido um estudo de vida útil ao longo de 56 dias, com medições em ambiente industrial e académico. Os resultados demonstraram que o tipo de fermento é o principal fator determinante da textura e da estrutura gelificada, com impacto crescente ao longo do armazenamento. A formulação proposta apresentou desempenho superior face ao produto atual, evidenciando melhorias significativas em termos de estabilidade, aceitação sensorial e adequação tecnológica.

Palavras-chave

Iogurte Aromatizado; Fermento lácteo; Textura; Força gel; pH; Acidez; Análise sensorial, FTIR-ATR, Vida útil.

Improvement of flavoured yogurts solids

Letícia Goulart Pereira

Abstract

With the growth of innovation in the food sector, ensuring product quality has become essential, especially in sensitive categories such as solid yogurts.

This report describes the work carried out during the curricular internship at Schreiber Foods Portugal, S.A., focusing on the improvement of flavoured solid yogurts. The study involved the selection and evaluation of different starter cultures and flavourings, aiming to optimize sensory and physicochemical attributes of the products, namely texture, gel strength, pH, and acidity. Pilot fermentations, laboratory analyses, and sensory tests with an untrained panel were conducted, complemented by vibrational spectroscopy (FTIR-ATR) for biochemical characterization of the cultures.

Additionally, a shelf-life study was carried out over 56 days, with measurements taken in both industrial and academic settings. The results showed that the type of starter culture is the main determining factor for texture and gel structure, with increasing impact throughout storage. The proposed formulation demonstrated superior performance compared to the current product, showing significant improvements in terms of stability, sensory acceptance, and technological suitability.

Keywords

Flavoured Yogurt; Lactic Ferment; Texture; Gel Strength; pH; Acidity; Sensory Analysis; FTIR Spectroscopy; Shelf Life.

Índice geral

1. Introdução 1

2. Schreiber Foods Portugal, S. A. 2

3. Iogurte 3

3.1. Matérias-Primas 4

3.2. Culturas Lácteas 5

3.3. Processo de fabrico 5

4. Análise sensorial 6

5. Espectroscopia de infravermelho 6

6. Material e Métodos 7

6.1. Seleção dos iogurtes 7

6.2. Matérias-primas 7

6.3. Fase exploratória: seleção dos ingredientes e parâmetros de fermentação 7

6.4. Análises ao produto acabado 8

6.4.1. Determinação da Textura e Viscosidade/ Força Gel 9

6.4.2. Determinação do pH 10

6.4.3. Determinação da Acidez 10

6.4.4. Análise Sensorial 11

6.4.5. Espectroscopia vibracional 11

7. Análise de dados 11

8. Resultados e Discussão 12

8.1. Análise de produtos comerciais 12

8.2. Estudo de vida útil 13

8.2.1. Textura 13

8.2.2. Força Gel 18

8.2.3. pH 20

8.2.4. Acidez 23
8.3. Análise Sensorial Comparativa 23
9. Espectroscopia 25
10. Considerações Finais 27
11. Referências Bibliográficas 28
Anexo I 31

Índice de figuras

Figura 1 - Representação do plano de projeto. 2

Figura 2 - Representação gráfica mundial da Schreiber Foods. Fonte: (Schreiber 2023).. 3

Figura 3 - Resultado da preferência dos consumidores em relação às amostras testadas. Colunas escuras correspondem a uma maior preferência e colunas claras correspondem a uma menor preferência..... 13

Figura 4 - Evolução da textura nos iogurtes gelificados. Os valores correspondem à média de 3 repetições ± desvio padrão. 14

Figura 5 - Evolução da textura nos iogurtes gelificados avaliados em dois equipamentos. 14

Figura 6 - Evolução da força gel nos iogurtes gelificados. Os valores correspondem à média de 3 repetições ± desvio padrão. 18

Figura 7 - Evolução do pH nos iogurtes gelificados. Os valores correspondem à média de 3 repetições ± desvio padrão. 20

Figura 8 - Evolução da acidez nos iogurtes gelificados. 23

Figura 9 - Comparação entre duas formulações, atual e proposta de melhoria. A1 corresponde ao aroma de melhoria e A2 corresponde ao aroma atual. Barras escuras correspondem a uma maior preferência e barras claras a uma menor preferência. 25

Figura 10 - Espectro obtido em FTIR-ATR para as os fermentos estudados 25

Figura 11 - Análise dos componentes principais efetuada a partir dos dados de FTIR-ATR para amostras de fermentos analisadas. 26

Figura 12 - Processo de Fabrico do Iogurte 31

Figura 13 - Receção do Leite 32

Figura 14 - Normalização 33

Figura 15 - Pasteurização. 34

Índice de tabelas

Tabela 1 - Tipos de iogurte (Adaptado: Portaria nº 742/92) 4

Tabela 2 - Classificação dos iogurtes quanto à sua composição e aromatização (Adaptado: Portaria nº 742/92) 4

Tabela 3 - Classificação dos iogurtes quanto ao teor de matéria gorda (Adaptado: Portaria nº742/92) 4

Tabela 4 - Resultados da ANOVA dos fatores aroma do iogurte (A), tipo de fermento usado (F), Seguimento (S) e respetiva percentagem de variação para o parâmetro textura fábrica. .. 14

Tabela 5 - Resultados da ANOVA dos fatores aroma do iogurte (A), tipo de fermento usado (F) e percentagem de variação explicada para o parâmetro textura fábrica 15

Tabela 6 - Resultados da ANOVA dos fatores aroma do iogurte (A), tipo de fermento usado (F), Seguimento (S) e percentagem de variação explicada para o parâmetro textura escola ... 16

Tabela 7 - Resultados da ANOVA dos fatores aroma do iogurte (A), tipo de fermento usado (F) e percentagem de variação explicada, para o parâmetro textura escola 17

Tabela 8 - Resultados da ANOVA dos fatores aroma do iogurte (A), tipo de fermento usado (F), Seguimento (S) e percentagem de variação explicada, para a força gel do iogurte. 18

Tabela 9 - Resultados da ANOVA dos fatores aroma do iogurte (A), tipo de fermento usado (F) e percentagem de variação explicada, para o parâmetro força gel 19

Tabela 10 - Resultados da ANOVA dos fatores aroma do iogurte (A), tipo de fermento usado (F), Seguimento (S) e percentagem de variação explicada, para o parâmetro pH 21

Tabela 11 - Resultados da ANOVA dos fatores aroma do iogurte (A), tipo de fermento usado (F) e percentagem de variação explicada, para o parâmetro pH 22

Índice de abreviaturas

A - Aroma

BL - Bolacha

BN - Banana

C - Coco

D+1 - 1 Dia Após Produção

D+15 - 15 Dias Após Produção

D+7 - 7 Dias Após Produção

DLC+30% - Data-Limite De Consumo Acrescida De 30 % Desse Limite

EVU - Estudo De Vida Útil

F - Fermento

M - Morango

NA- Natural Açucarado

PCA - Análise De Componentes Principais

S - Seguimento

TF - Tutti-Frutti

TH - Tempo De Hidratação

1. Introdução

Os produtos alimentares fermentados existem há milhares de anos e desempenharam um papel importante na dieta humana. O iogurte é um dos produtos lácteos fermentados mais populares, conhecido por diferentes nomes e formas (Routray; Mishra, 2011). A popularidade do iogurte deve-se a várias alegações de benefícios para a saúde e propriedades terapêuticas (Routray; Mishra, 2011). Neste contexto, surgem os alimentos denominados funcionais (Pedro, 2018).

A definição de alimentos funcionais com maior aceitação é a do ILSI (*International Life Sciences Institute*), no documento de consenso *Functional Food Science in Europe (*FUFOSE). Estabelece que um alimento pode ser considerado funcional se foi satisfatoriamente demonstrado que possui um efeito benéfico numa ou em várias funções específicas do organismo, além dos efeitos nutricionais habituais, que seja relevante para a melhoria do estado de saúde e bem-estar, ou para a redução do risco de doença. Deve ser um alimento propriamente dito quanto às suas características, forma de consumo, valor nutritivo e demonstrar os seus efeitos em quantidades normalmente consumidas na dieta; não poderão ser um comprimido, cápsula ou qualquer forma de suplemento alimentar (Mendes, 2014).

Para além da crescente sensibilização dos benefícios do iogurte para a saúde, a inovação de produtos, e a disponibilidade de diferentes sabores e tipos de iogurte contribuíram significativamente para o aumento do consumo de iogurte nas últimas décadas (Pinto, 2024).

Neste sentido, as empresas enfrentam uma nova série de desafios que exigem agilidade, eficiência e rapidez no lançamento de novos produtos. Esta realidade deve-se não apenas à saturação do mercado, repleto de oferta de produtos semelhantes, mas também às expectativas do consumidor atual, altamente exigente na procura por soluções inovadoras, práticas e de alta qualidade.

Assim, o presente trabalho, desenvolvido na Schreiber Foods Portugal, S.A., mais especificamente no departamento de Investigação e Desenvolvimento (I&D), teve como objetivo avaliar o posicionamento do mercado de iogurtes e propor novos conceitos aromáticos, bem como otimizar a textura e o sabor dos produtos já existentes. A espectroscopia vibracional (FTIR-ATR) foi utilizada como ferramenta para analisar a variabilidade entre os diferentes fermentos, permitindo uma avaliação rápida e não destrutiva.

Para tal, foi feito um plano de projeto estruturado (Figura 1), que seguiu uma metodologia em seis etapas principais:

1. Identificação da oportunidade;
2. Definição dos objetivos;
3. Planeamento;
4. Desenvolvimento;
5. Validação;
6. Lançamento.

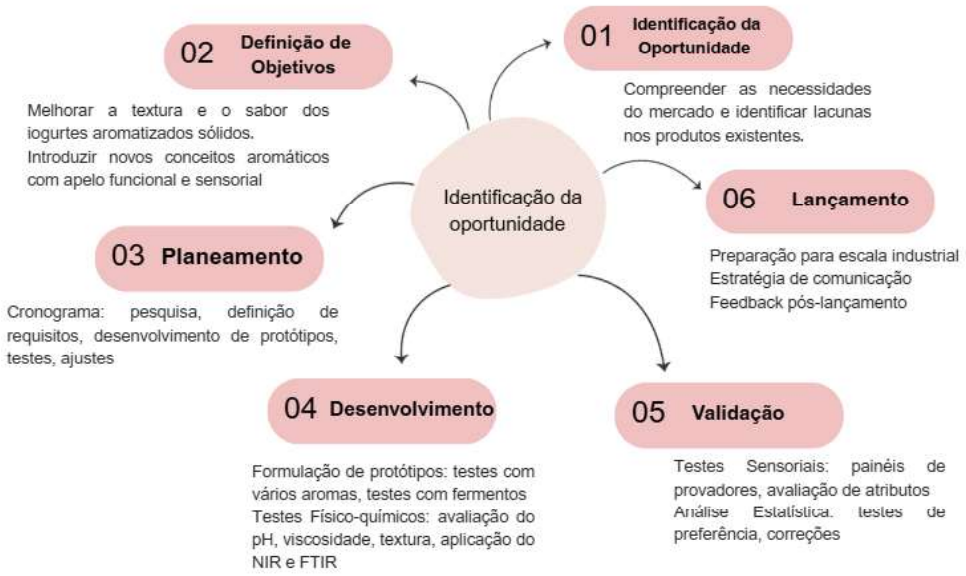


Figura 1 - Representação do plano de projeto.

2. Schreiber Foods Portugal, S. A.

Situada na Zona Industrial de Castelo Branco, a fábrica atualmente operada pela Schreiber Foods tem uma trajetória marcante no setor dos laticínios em Portugal. Fundada em 1979 pela família Gomes Filipe com o nome Iophil, destacou-se como pioneira na produção nacional de iogurtes.

Em 1989, com a entrada da Danone no mercado português, a multinacional francesa adquiriu 70% da fábrica Iophil, iniciando a produção local em 1990 e tornando-se líder do setor em 1995 (Danone, 2025). Em 2010, a unidade foi modernizada com equipamentos avançados, tornando o processo produtivo mais automatizado (Pedro, 2018).

A Schreiber Foods ingressou no mercado europeu de iogurtes em 2014 e, nesse contexto, adquiriu a fábrica da Danone em Portugal. Esta operação refletiu a estratégia da Danone de concentrar-se na vertente comercial, transferindo a produção para parceiros especializados.

Fundada em 1945 nos Estados Unidos, a Schreiber Foods tem sede em Green Bay, Wisconsin, e origem na LD Schreiber Cheese Company. Inicialmente dedicada à produção de queijos, expandiu-se para iogurtes e hoje atua principalmente em regime de marca própria (private label). Com presença em vários continentes, a empresa conta com mais de 10 000 colaboradores na sua equipa, com 30 instalações distribuídas por vários países (Dionísio, 2024)

A Schreiber Foods Portugal, S.A. conta com 242 colaboradores (34,3% mulheres e 65,7% homens). A capacidade anual é de 70 mil toneladas, tendo atingido um recorde de 68.592 toneladas. Está prevista uma expansão que permitirá duplicar esse volume para

140 mil toneladas. Entre 2014 e 2024, a produção cresceu 57,2%, distribuída entre iogurtes sólidos (11%), líquidos (46%) e batidos (43%).

Esse crescimento tem sido impulsionado por investimentos em inovação e melhoria contínua, liderados pelo departamento de Investigação e Desenvolvimento (I&D), responsável pela otimização dos métodos de fabrico e criação de novos produtos. A excelência operacional é comprovada pelas certificações IFS Food (versão 8, abril de 2023), com 97,09% de conformidade, ISO 45001:2018 (segurança e saúde no trabalho) e ISO 14001:2015 (gestão ambiental), todas aplicáveis à produção de laticínios frescos fermentados.



Figura 2 - Representação gráfica mundial da Schreiber Foods. Fonte: (Schreiber 2023).

3. Iogurte

O iogurte é um alimento consumido pela humanidade há milhares de anos, sendo valorizado tanto pelo seu sabor e versatilidade, como pelos seus potenciais benefícios para a saúde. Pensa-se que tenha surgido no período do Neolítico, durante o qual, os pastores começaram a domesticar animais mamíferos e a utilizar o seu leite como alimento (Santos, 2011).

Em Portugal, segundo a (Portaria nº 742/ 92 de 24 de julho) o iogurte aromatizado é definido como um produto coagulado obtido por fermentação láctica, exclusivamente pela ação das bactérias *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus e Streptococcus thermophilus*, sobre leite e produtos lácteos (leite pasteurizado, parcialmente desnatado, totalmente desnatado ou nata pasteurizada). A este produto podem ser adicionados os ingredientes como fruta e vegetais, os seus derivados, sementes ou partes comestíveis de sementes, mel, café, cacau, chocolate, especiarias, aditivos alimentares, leite em pó (total ou parcialmente desnatado), leitelho não fermentado, soro concentrado ou em pó, proteínas de soro, proteínas concentradas de soro e proteínas hidrossolúveis do leite, bem como lactose e edulcorantes. A parte láctea deve representar, no mínimo, 75 % (m/m) do produto final, sendo obrigatório que a flora específica esteja viva e em quantidade abundante, apresentando no mínimo 5×10^7 UFC/g no produto final.

Os diferentes tipos de iogurtes e leites fermentados, aromatizados ou não, são classificados em função do seu tipo (Tabela 1), da sua composição (Tabela 2) e quanto ao seu teor de matéria gorda (Tabela 3).

Tabela 1 - Tipos de iogurte (Adaptado: Portaria nº 742/92).

Tipo de iogurte	Processo de coagulação	Textura
Sólido	Coagulado diretamente na embalagem de venda	Firme
Batido	Coagulado em cuba e embalado posteriormente	Cremosa
Líquido	Coagulado, liquefeito e embalado depois	Fluida

Tabela 2 - Classificação dos iogurtes quanto à sua composição e aromatização (Adaptado: Portaria nº 742/92).

Classificação	Composição
Natural	Sem qualquer adição além das culturas microbianas
Açucarado	Produto ao qual são adicionados açúcares, sacarose e/ou edulcorantes
Iogurte Aromatizado	
Aromatizado com pedaços	Adição de pedaços de fruta
Aromatizado	Adição de aromas
Aromatizado com polpa	Adição de polpa de fruta

Outros ingredientes que podem ser adicionados ao iogurte aromatizado são: mel; café; chocolate; cereais; sementes.

Tabela 3 - Classificação dos iogurtes quanto ao teor de matéria gorda (Adaptado: Portaria nº742/92).

Classificação	Teor de matéria gorda (m/m).
Gordo	Mínimo de 3,4% de matéria gorda (m/m).
Meio-Gordo	Teor entre 1,5% e 1,8% de matéria gorda (m/m).
Magro	Máximo de 0,3% de matéria gorda (m/m).

3.1. Matérias-Primas

A matéria-prima mais importante na produção do iogurte é o leite. A composição deste deve ser modificada de forma a possuir as características necessárias para a sua transformação em iogurte, estas alterações podem ocorrer através de processos físico-químicos ou através da adição de ingredientes (Garcia, 2023).

Segundo a (Portaria nº 742/92 de 24 de julho) as matérias-primas obrigatórias utilizadas como ingredientes no fabrico do iogurte são:

- Leite pasteurizado ou leite pasteurizado concentrado;
- Leite pasteurizado parcialmente desnatado ou parcialmente desnatado concentrado;
- Leite pasteurizado desnatado ou pasteurizado desnatado concentrado;

- Nata pasteurizada;
- Mistura das culturas lácteas.

De acordo com a mesma portaria, consideram-se ingredientes facultativos:

- Leite em pó;
- Leite em pó parcial ou totalmente desnatado;
- Leitelho não fermentado;
- Soro concentrado;
- Soro em pó;
- Proteínas do soro;
- Proteínas concentradas do soro e proteínas hidrossolúveis de leite;
- Lactose;
- Edulcorantes.

3.2. Culturas Lácteas

As culturas lácteas são utilizadas para aumentar a vida útil do leite, devido à formação de compostos metabólicos, como o acido láctico, entre outros (Garcia, 2023).

Na produção dos iogurtes, normalmente emprega-se culturas mistas de *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus e Streptococcus thermophilus*. Geralmente, utiliza-se uma proporção de 1:1 (coco/bacilos), que contribui para o desenvolvimento das características reológicas ideais do produto (Garcia, 2023).

Estes convivem em extrema simbiose, no início da fermentação o *Streptococcus thermophilus* cresce mais rapidamente, ascendendo o número de lactobacilos na proporção 3:4:1 após a hora de incubação, isto porque o pH do leite é favorável aos primeiros.

A ação caseolítica do *Lactobacillus e Streptococcus* prolongam a acidificação do leite e este coalha quando a acidez alcança os 90 a 95 Graus Dornic.

A acidez e o armazenamento a valores de temperatura que rondam os 4-5 °C, torna os iogurtes relativamente estáveis, porque inibe o crescimento de outras bactérias prejudiciais para a saúde. Com o aumento da acidificação, ou seja, do teor de ácido láctico a partir da lactose, crescem os *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* (Pinto, 2024).

3.3. Processo de fabrico

O fabrico do iogurte inicia-se com a receção do leite cru, transportado em camiões isotérmicos e sujeito a análises laboratoriais para garantir a conformidade microbiológica e físico-química. Após aprovação, o leite inteiro é pré-pasteurizado a uma temperatura de 75 ºC durante 15 a 20 segundos, arrefecido e separado em nata e leite desnatado.

Na fase de normalização, ajusta-se a composição do leite com a adição de ingredientes líquidos e sólidos, de modo a padronizar os teores de gordura, proteína, lactose e extrato seco. A mistura é depois homogeneizada e mantida a baixas temperaturas, sendo submetida a análises para validação dos parâmetros definidos.

Segue-se uma nova pasteurização (entre 92 - 95 °C), com duração de 5 minutos, é durante esta fase que se submete o semielaborado à homogeneização sob alta pressão (245 a 300 bar) que contribui para a melhoria da textura e viscosidade do produto.

Posteriormente é arrefecido a 4 ºC e são inoculadas as culturas *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*. O produto é aquecido a 40-42 ºC e embalado em ambiente assético, com adição de aromas nos iogurtes aromatizados.

As embalagens são colocadas numa estufa a cerca de 40 °C, onde ocorre a fermentação durante 4 a 5 horas, até atingir um pH aproximado de 4,60. O arrefecimento rápido interrompe a fermentação, e o iogurte é armazenado entre 0 °C e 6 °C. Após 24 horas, e mediante a realização de análises finais de controlo de qualidade, o produto é expedido em veículos refrigerados. Informação complementar sobre o processo de fabrico do iogurte encontram-se no Anexo I.

4. Análise sensorial

A análise sensorial, definida pela Norma Portuguesa 4263 (1994) como a avaliação dos atributos organoléticos de um produto através dos sentidos (Silva, 2023), é atualmente uma ferramenta fundamental na indústria alimentar. Para além de permitir garantir a qualidade, desempenha um papel central no desenvolvimento e aceitação de novos alimentos, uma vez que a perceção do consumidor resulta da interação entre estímulos sensoriais e respostas individuais, frequentemente influenciadas por experiências e memórias anteriores.

Os cinco sentidos estão diretamente envolvidos neste processo. A visão fornece a primeira impressão sobre a cor, forma, tamanho e textura do alimento, podendo, no entanto, induzir julgamentos errados (Rafael, 2017). O olfato, através da deteção de compostos voláteis pela via nasal ou retro nasal, é determinante na perceção do aroma e na evocação de memórias (Costa, 2022). O tato, que inclui recetores na pele e na cavidade oral, permite identificar propriedades mecânicas, geométricas e sensações ligadas à textura, como dureza, viscosidade ou oleosidade (Rafael, 2017). Também a audição participa nesta perceção, uma vez que os sons produzidos durante a mastigação influenciam a avaliação da textura (Costa, 2022). Por fim, o paladar, através das papilas gustativas, deteta os diferentes sabores, transmitindo sinais ao cérebro que os interpreta e reconhece (Costa, 2022).

Na indústria alimentar, a análise sensorial é aplicada no desenvolvimento de novos produtos, no controlo de qualidade, na definição da vida útil e na compreensão das preferências dos consumidores. As metodologias mais comuns incluem testes discriminativos, que avaliam diferenças entre amostras, testes descritivos, que permitem caracterizar detalhadamente atributos sensoriais por provadores treinados, e testes afetivos, que recolhem a opinião direta dos consumidores relativamente à aceitação ou preferência de produtos. Estes procedimentos fornecem informação essencial para ajustar processos e melhorar a experiência final do consumidor.

5. Espectroscopia de infravermelho

As técnicas de espectroscopia vibracional, nomeadamente a espectroscopia Raman com Transformada de Fourier (FT-Raman), a espectroscopia de Infravermelho Próximo (NIR) e a espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR-ATR), têm-se revelado ferramentas poderosas para a análise química e o controlo de qualidade de

diversos produtos, incluindo alimentos e fármacos (Anjos *et al*., 2018; Kizil & Irudayaraj, 2018). Estas metodologias permitem a obtenção rápida e simultânea de múltiplos parâmetros analíticos com elevada precisão e reprodutibilidade, utilizando volumes reduzidos de amostra (Anjos *et al*., 2019).

A espectroscopia FTIR é uma técnica eficaz para o controlo de qualidade e para a análise rápida de componentes qualitativos e quantitativos de diversas amostras de alimentos (Anjos *et al*., 2015). Entre as suas principais vantagens destacam-se a elevada sensibilidade e especificidade (Peets *et al*., 2017), a rapidez na aquisição dos espectros, a elevada relação sinal-ruído, a alta resolução espectral, o carácter não destrutivo e a boa reprodutibilidade (Coates, 2000).

6. Material e Métodos

6.1. Seleção dos iogurtes

Com o objetivo de avaliar o posicionamento do mercado de iogurtes e propor novos conceitos aromáticos, além de melhorar a textura e o sabor dos produtos já existentes, foi realizado um estudo em iogurtes aromatizados sólidos com teor médio de gordura, habitualmente comercializados em embalagens de 16 unidades de 125 g. A metodologia incluiu fermentações e análises sensoriais para avaliar atributos como textura, sabor, aspeto, consistência e acidez. Estas etapas permitiram não só explorar novas possibilidades de desenvolvimento de perfis aromáticos e diversificação da oferta, como também identificar oportunidades de otimização tecnológica dos produtos, reforçando a sua valorização junto do consumidor.

6.2. Matérias-primas

Foram analisados iogurtes aromatizados de seis variedades diferentes: Morango (M), Tutti-Frutti (TF), Bolacha (BL), Coco (C), Banana (BN) e Natural Açucarado (NA). Para além disso, foram utilizados diferentes fermentos (F) e aromas (A), com o objetivo de realizar testes fermentativos que visam a melhoria dos produtos atualmente disponíveis no mercado. Ao todo foram utilizados para as fermentações experimentais 12 fermentos e 14 aromas.

6.3. Fase exploratória: seleção dos ingredientes e parâmetros de fermentação

Primeiramente, realizou-se uma análise sensorial de nove produtos comerciais, para selecionar os produtos com melhor aceitação. Posteriormente foi realizada uma pesquisa interna na fábrica para identificar os (F) e (A) utilizados na produção de iogurtes gelificados, informação essencial para compreender os ingredientes base do processo industrial e definir os parâmetros iniciais das fermentações experimentais. A consulta de ficheiros técnicos e bases de dados internas permitiu identificar oito fermentos (F1–F8) e cinco aromas: Morango (M), Tutti-frutti (TF), Banana (B), Coco (C) e Bolacha (BL).

Numa primeira fermentação experimental, todos os fermentos foram testados mantendo constante o aroma (M), (porque do ponto de vista técnico, não se verificam diferenças significativas nas especificações de viscosidade, acidez ou textura entre os diferentes aromas) avaliando-se acidez, textura, tempo de fermentação, pH de corte e

estabilidade após refrigeração. A partir destes resultados foi selecionado um fermento (F7). Contudo, verificou-se que o aroma (M) apresentava elevada acidez em boca, pelo que se solicitaram novas variantes com potencial para reduzir este efeito.

Na segunda fermentação, realizada com o fermento selecionado (F7) e as diferentes amostras de (M), foi escolhido um aroma mais estável, que passou a ser utilizado nas fases seguintes.

Na terceira fermentação foi testado um conjunto adicional de fermentos (F9–F12), mantendo como base o aroma (M) inicial, com o objetivo de avaliar o impacto exclusivo dos novos fermentos na textura. Foram selecionados dois fermentos (F9 e F10) que demonstraram melhor desempenho.

Na quarta fermentação compararam-se o fermento atual da fábrica (F1), os novos fermentos selecionados (F9 e F10) e os diferentes aromas M (atual e escolhido). Esta etapa permitiu identificar a combinação mais equilibrada em termos de acidez, textura e perfil sensorial. Com base nos resultados foi escolhido um fermento final (F9), adotado em todas as fermentações subsequentes, estabelecendo uma base tecnológica estável para os testes seguintes.

Posteriormente, foram solicitadas novas amostras de aromas (M, C e BL), testadas em fermentações piloto com o fermento selecionado. Os resultados foram avaliados sensorialmente pela equipa técnica, considerando intensidade, naturalidade, equilíbrio com a matriz láctea e estabilidade tecnológica.

Os aromas TF e B foram igualmente submetidos a fermentações experimentais. No entanto, como não se verificaram alterações nos parâmetros de acidez, manteve-se a formulação atual, sem necessidade de desenvolvimento de novas variantes.

Após as fermentações experimentais e a seleção dos aromas mais promissores, todas as amostras foram submetidas a validação sensorial por um painel de 30 provadores não treinados. Cada provador atribuiu classificações de 1 a 10 aos atributos de textura, sabor, aspeto e aceitabilidade global.

Este ensaio, enquadrado nos testes afetivos de aceitação e preferência, mas com componentes descritivos pela avaliação de atributos específicos, permitiu comparar o produto atual com a proposta de melhoria. Os dados recolhidos foram analisados estatisticamente, evidenciando o desempenho sensorial da nova formulação em relação ao produto de referência.

6.4. Análises ao produto acabado

Com o objetivo de avaliar a estabilidade e desempenho dos produtos ao longo do tempo, foi realizada uma nova fase experimental dedicada ao estudo de vida útil (EVU). Esta etapa teve como foco a análise da evolução de parâmetros físico-químicos e sensoriais durante um período de 56 dias, simulando as condições reais de conservação do produto. Nesta fase foram testadas duas combinações principais: fermento atual (F1) da fábrica e fermento selecionado (F9). Cada fermento foi testado com o aroma (TF) e (NA). Para cada combinação F/A, foram preparados 55 copos individuais, totalizando uma amostragem robusta para garantir a fiabilidade dos resultados. O plano de análise contemplou cinco momentos distintos, nos quais foram avaliados os parâmetros textura, força de gel, pH e acidez: 1º dia após a produção (D+1); 7º dia (D+7); 15º dia (D+15); Data-

limite de consumo (DLC – D+43); Data-limite de consumo acrescida de 30% (DLC+30 – D+56).

Esses pontos de análise foram definidos com o objetivo de acompanhar a evolução das características físico-químicas do produto ao longo do seu prazo de validade, garantindo a sua qualidade e aceitabilidade sensorial.

Tendo em conta que o parâmetro textura é considerado um dos mais relevantes neste estudo, devido à sua influência direta na qualidade sensorial e na aceitação do produto pelo consumidor, decidiu-se também realizar esta análise na Escola Superior Agrária de Castelo Branco, mais concretamente no laboratório de Química, com o objetivo de estabelecer um termo de comparação entre os resultados obtidos em diferentes ambientes.

Todas as amostras foram avaliadas diretamente sobre o produto acabado, mantendo-se a uma temperatura controlada de 9 ± 1 °C, de forma a simular as condições reais de conservação. Esta abordagem comparativa permitiu reforçar a fiabilidade dos dados obtidos e aprofundar a compreensão da estabilidade estrutural do produto ao longo do seu ciclo de vida. Todas as amostras foram analisadas em cada período, sempre em triplicado.

6.4.1. Determinação da Textura e Viscosidade/ Força Gel

A textura do iogurte, ou de qualquer produto lácteo fermentado, é um parâmetro importante no que diz respeito à qualidade do produto, estando diretamente relacionada com a perceção sensorial do alimento. As diferenças texturais entre os iogurtes são atribuídas ao tipo de leite utilizado e às suas variações de composição. A textura constitui, portanto, um aspeto crítico na aceitação do iogurte pelo consumidor (Prajapati *et al.,* 2016). Do ponto de vista tecnológico, a consistência do iogurte é tão relevante quanto o sabor ou o aroma. Segundo Rossi (1983) e O'neill *et al*., (1979), o iogurte deve apresentar textura suave e corpo viscoso, além de ser firme e coeso para permitir ser consumido com colher (Pedro, 2018).

A caracterização do perfil de textura das amostras foi efetuada com recurso ao texturómetro TA-XT2i, instalado na unidade industrial. O equipamento estava equipado com uma célula de carga de 5 kg e uma sonda cilíndrica com 2,5 cm de diâmetro. De acordo com as especificações técnicas do equipamento, a sonda realizou uma penetração de 15 mm na amostra, a uma velocidade constante de 0,2 mm/segundo. Os valores obtidos foram registados automaticamente pelo sistema, expressos em grama-força por centímetro quadrado (gf/cm²), permitindo uma avaliação objetiva da firmeza e resistência das amostras analisadas.

Por outro lado, a análise da textura foi também realizada nas instalações da Escola Agrária, com o objetivo de permitir uma comparação entre metodologias, uma vez que foram utilizadas sondas distintas nos ensaios. Para esta análise, recorreu-se ao equipamento CT3 Texture Analyzer da marca BrookField, associado à sonda BROTA54 170° Cone Probe, com diâmetro de 40 mm. Esta sonda foi especificamente selecionada por ser recomendada para a caracterização de iogurtes sólidos, o que proporciona uma elevada precisão e adequação à matriz em estudo. O procedimento experimental seguiu o protocolo descrito pelo fabricante, no qual as amostras de iogurte foram retiradas da refrigeração controlada e testadas ao centro de embalagens de 100 g, à temperatura ambiente de 22 °C. Durante o ensaio, a sonda foi introduzida verticalmente na amostra, sendo registada a resposta mecânica à penetração, permitindo a avaliação objetiva dos

parâmetros de textura. Para garantir a uniformidade e reprodutibilidade dos resultados, foram definidos os seguintes parâmetros operacionais do equipamento: modo de operação normal, força de ativação (trigger) de 4,5 g, distância de penetração de 30 mm e velocidade de ensaio de 1 mm/s.

A viscosidade/força gel é um importante atributo de qualidade, pois permite avaliar a consistência do iogurte. Esta análise pode ser afetada pela temperatura, pelo tempo do tratamento térmico e pelo teor de sólidos solúveis. A determinação da força gel foi realizada pelo viscosímetro Brookfield DV-II. O spindle utilizado foi o nº 93, com uma velocidade de 2,5 rpm. A leitura é feita em 1 minuto, sendo o resultado obtido automaticamente em centipoises (cP) (Pedro, 2018).

6.4.2. Determinação do pH

A medição do pH no fabrico de iogurtes é essencial para garantir a consistência e a qualidade do produto final. O pH, que mede a acidez ou alcalinidade da solução influencia diretamente o sabor característico do iogurte. Durante a fermentação, as bactérias láticas convertem o açúcar em acido lático, reduzindo o pH e conferindo ao iogurte a sua acidez característica (Dionísio, 2024).

O pH das amostras foi determinado por potenciometria, utilizando um potenciômetro da marca Mettler Toledo. Antes das medições, o equipamento foi calibrado utilizando soluções tampão com valores de pH conhecidos, geralmente 7,0 e 4,0, para garantir a precisão dos resultados.

Durante a análise, o elétrodo é imerso na amostra, gerando uma diferença de potencial elétrico (expressa em milivolts), que o equipamento converte automaticamente numa escala de pH entre 0 e 14, permitindo uma avaliação rigorosa do grau de acidez ou alcalinidade do produto.

6.4.3. Determinação da Acidez

A acidez titulável é um parâmetro essencial na avaliação da qualidade dos produtos lácteos fermentados, como o iogurte. Ao contrário do pH, que mede a concentração de iões de hidrogénio livres, a acidez titulável quantifica a quantidade total de ácidos presentes na amostra, sendo geralmente expressa em gramas de ácido láctico por 100 mL de produto.

A determinação da acidez titulável foi realizada de acordo com o protocolo técnico disponível no laboratório da unidade fabril. O equipamento utilizado foi o TitraLab AT1000 Series, em conjunto com uma balança digital de precisão, ambos devidamente calibrados.

Antes do início do processo, procedeu-se à purga do equipamento com o NaOH, conforme indicado no protocolo. Em seguida, introduziu-se um íman magnético no copo de titulação, especificamente utilizado para este tipo de análise, de modo a assegurar a agitação automática da amostra durante a titulação.

Para cada ensaio, pesaram-se 10 g de produto, aos quais se adicionou-se água desmineralizada até perfazer um volume total de 100 mL. O copo foi então colocado corretamente no equipamento, e o processo de titulação foi iniciado conforme o protocolo. O TitraLab AT1000 Series realiza a titulação automática, adicionando diretamente ao copo a substância necessária para a análise da acidez, normalmente hidróxido de sódio (NaOH),

e fornece o resultado da acidez titulável de formato digital, sem necessidade de observação de viragem de cor.

6.4.4. Análise Sensorial

Para este estudo foram avaliadas duas amostras de iogurte: o produto atualmente comercializado e a proposta de melhoria. A prova sensorial foi realizada com um painel composto por 30 provadores não treinados, maioritariamente analistas de laboratório e técnicos especializados da área de desenvolvimento de novos produtos da empresa, habituados à prova diária de iogurtes e derivados.

Cada provador recebeu uma ficha de avaliação individual, atribuindo classificações de 1 a 10 para os seguintes parâmetros: textura de corte, textura em boca, intensidade do sabor, aspeto e aceitabilidade global (considerando de forma integrada textura, aroma e sabor). O ensaio enquadra-se no teste afetivo de aceitação e preferência, dado envolver consumidores não treinados e ter como objetivo principal avaliar o grau de aceitabilidade das amostras. Simultaneamente, pela análise direcionada de atributos específicos, pode ser considerado também um teste descritivo, permitindo identificar diferenças sensoriais entre as formulações com base em critérios definidos.

Os dados recolhidos, foram sujeitos a tratamento estatístico e interpretados de modo a comparar o desempenho sensorial da proposta de melhoria face ao produto atual.

6.4.5. Espectroscopia vibracional

Para a obtenção dos espectros de Espectroscopia Infravermelha por Transformada de Fourier com Reflectância Total Atenuada (FTIR-ATR), foi utilizado um equipamento da marca Bruker, modelo Alpha, equipado com um acessório de refletância total atenuada com célula de cristal de diamante e configuração de reflexão simples.

Os fermentos foram liofilizados utilizando um liofilizador (Mitsubishi Electric Got2000), durante 24 horas, a uma pressão de 0,180 mbar para remover toda a água das amostras. Após este período, os fermentos foram cuidadosamente retirados e transferidos para uma arca de conservação a -80 °C, onde permaneceram armazenados para preservar as suas características físico-químicas até ao momento da análise.

Os espetros de cada amostra foram obtidos com 32 scans, a uma resolução espetral de 4 cm^{-1}, numa faixa de 4000-400 cm^{-1}. As amostras foram colocadas diretamente sobre o cristal de diamante do acessório ATR, assegurando um bom contato para maximizar a qualidade do sinal. Todos os procedimentos foram conduzidos em ambiente controlado, garantindo a reprodutibilidade dos resultados. Para cada análise efetuada, limpou-se cuidadosamente o cristal com isopropanol.

7. Análise de dados

Foram realizadas análises descritivas, nomeadamente cálculo da média e do desvio padrão, com o intuito de caracterizar as preferências comerciais e as preferências expressas pelo painel não treinado. Complementarmente, procedeu-se à aplicação de uma análise de variância (ANOVA), com o objetivo de avaliar a influência do tempo de armazenamento no EVU dos produtos. Esta análise teve como foco principal a identificação

de diferenças significativas na textura percecionada em dois contextos distintos de leitura: ambiente industrial e ambiente escolar.

Todos os cálculos foram realizados utilizando o programa Statistica©, versão 7.0 - Statsoft Inc.Com a informação espectral foi efetuada uma Análise em componetes principais (PCA) com recurso ao software Unscrambler® X (CAMO Software AS, Oslo, Noruega) e OPUS®, versão: 7.5.18 (Bruker Optik, Alemanha).

8. Resultados e Discussão

8.1. Análise de produtos comerciais

Na Figura 3 apresentam-se os gráficos dos resultados das preferências dos provadores, relativamente aos produtos comerciais já disponíveis no mercado permitindo uma visualização clara das variações de aceitação entre os diferentes perfis sensoriais.

Nos gráficos, o eixo x representa as diferentes marcas analisadas e o eixo y a soma das avaliações atribuídas pelos consumidores. As colunas escuras correspondem às marcas de maior preferência, enquanto as colunas mais claras indicam as menores preferências.

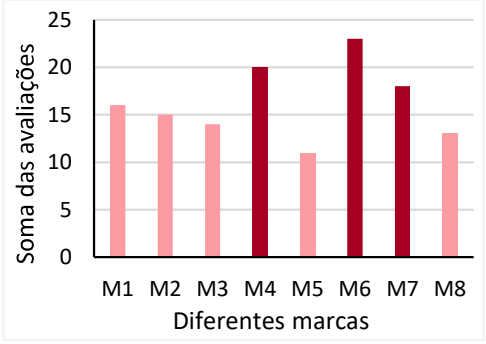
Na Figura 3A, referente à avaliação do aroma de morango, indica que a amostra M6 foi a mais aceite entre os provadores, seguida pelas amostras M4 e M7. As restantes marcas apresentaram níveis de aceitação significativamente inferiores.

Na Figura 3B revela que as amostras M3, M2 e M6 foram as mais apreciadas no aroma de banana, sendo M3 a mais aceite.

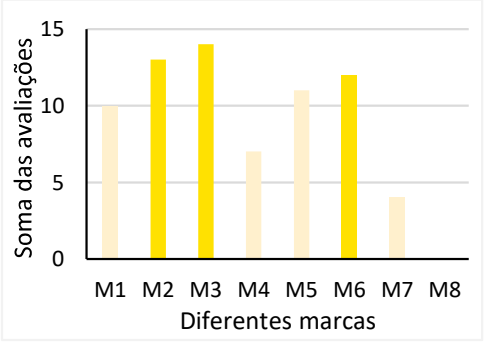
Na Figura 3TF, relativo ao aroma de tutti-frutti, observa-se que M2 e M4 registaram igual nível de aceitação, seguidas pela amostra M5.

A Figura 3C, demonstra que M5 foi a amostra com maior aceitação no aroma de coco, seguida por M4 e M3. As demais marcas apresentaram níveis de preferência reduzidos.

Na Figura 3BL, referente ao aroma de bolacha, inclui apenas três marcas de iogurte. A amostra M2 destacou-se pela maior aceitação, enquanto M1 e M3 registaram níveis inferiores.

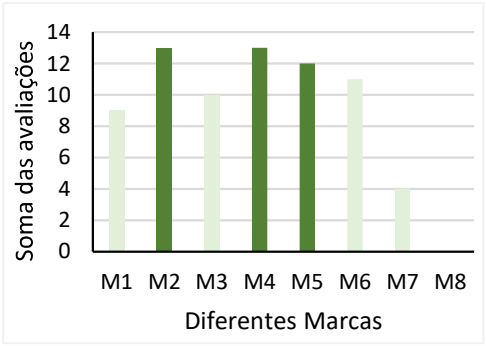


A – Aroma de Morango.

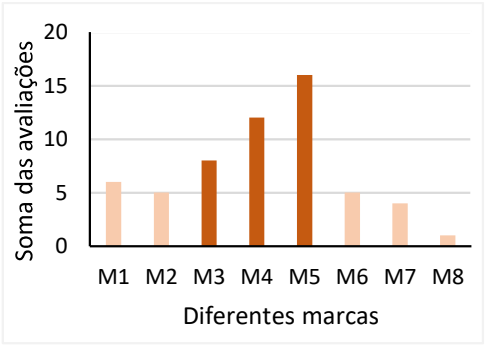


B – Aroma de Banana.

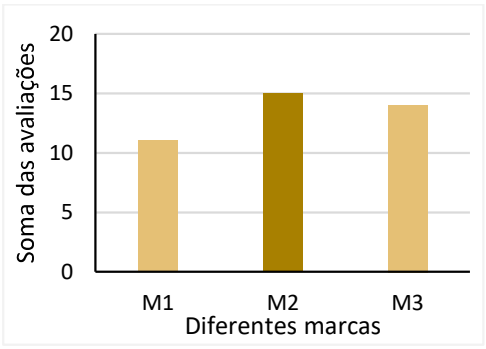
Figura 3 - Resultado da preferência dos consumidores em relação às amostras testadas. Colunas escuras correspondem a uma maior preferência e colunas claras correspondem a uma menor preferência.



TF – Aroma de Tutti-Frutti.



C – Aroma de Coco.



BL – Aroma de Bolacha.

Figura 3 - Resultado da preferência dos consumidores em relação às amostras testadas. Colunas escuras correspondem a uma maior preferência e colunas claras correspondem a uma menor preferência.

8.2. Estudo de vida útil

O estudo de vida útil (EVU) é efetuado pelo seguimento do produto durante as fases pré-estabelecidas na Fábrica, pelo que será denominado de “seguimento”.

8.2.1. Textura

Os valores de textura obtidos no equipamento da fábrica e no da escola encontram-se representados nas Figuras 4 e 5, respetivamente.

Na Figura 4, a amostra TF-F9 destaca-se pela sua estabilidade, mantendo valores relativamente constantes durante todo o período analisado. A amostra TF-F1 apresentou os maiores valores de textura durante todo o período (mais firme). Por outro lado, a amostra NA-F9 teve os menores valores de firmeza.

Na Figura 5, as amostras com o fermento F1 apresentaram valores mais altos de textura em comparação com as que usaram o fermento F9, especialmente a combinação TF-F1, que manteve os maiores valores ao longo de todo o período. Além disso, observou-se que o aroma TF resultou em textura mais firme do que o aroma NA, independentemente do fermento utilizado. No final do estudo (56 dias), todas as combinações mostraram aumento de textura, sendo a TF-F1 a que apresentou o melhor desempenho.

A comparação entre a produção em ambiente industrial e académico evidenciou diferenças adicionais: embora a tendência relativa entre fermentos e aromas se mantenha, o resultado da escola apresentou valores absolutos de textura mais elevados. Este resultado poderá estar associado a diferenças nos parâmetros tecnológicos aplicados, nomeadamente a intensidade do tratamento térmico, a composição do leite (teor de sólidos

totais) ou as condições de fermentação, fatores estes reconhecidos por influenciarem a estrutura reológica dos iogurtes (Chen *et al.,* 2017). Assim, a TF-F1 emerge como a formulação com melhor desempenho tecnológico, sugerindo não só maior robustez da cultura na formação da rede do gel, mas também boa compatibilidade entre o perfil aromático e a matriz proteica.

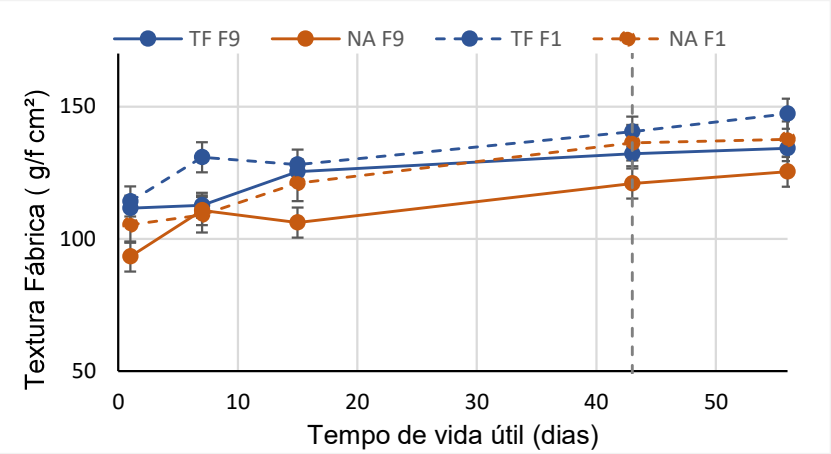


Figura 4 - Evolução da textura nos iogurtes gelificados. Os valores correspondem à média de 3 repetições ± desvio padrão**.**

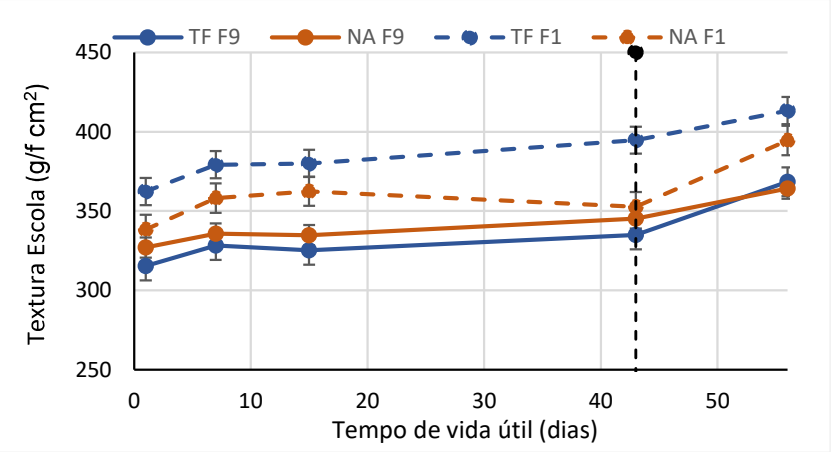


Figura 5 - Evolução da textura nos iogurtes gelificados avaliados em dois equipamentos.

A Tabela 4 apresenta os resultados da análise de variância (ANOVA) referente aos parâmetros de Textura da Fábrica.

Tabela 4 - Resultados da ANOVA dos fatores aroma do iogurte (A), tipo de fermento usado (F), Seguimento (S) e respetiva percentagem de variação para o parâmetro textura fábrica.

Origem da variação	GL	p	Nível de significância	Percentagem de variação
Aroma (A)	1	0,0000	***	21,2
Fermento (F)	1	0,0000	***	16,4
Seguimento (S)	4	0,0000	***	52,1
A x F	1	0,5777	n.s.	0,0
A x S	4	0,6150	n.s.	0,0
F x S	4	0,6765	n.s.	0,0
Erro	44			10,2

GL - graus de liberdade; n.s. - não significativo para p<0,05; *0,01<p < 0,05 - significativo; **0,01<p < 0,001 - muito significativo; ***p < 0,001 - altamente significativo

A análise da variância (ANOVA) mostra que o seguimento (S) é o fator que mais influencia a textura, explicando 52,1% da variação total. Este resultado confirma que a matriz proteica do iogurte continua a reorganizar-se após a fermentação, o que leva ao aumento ou estabilização da firmeza ao longo da vida útil, tal como descrito por Popović *et al.* (2020). O aroma (A) surge como o segundo fator mais relevante (21,2%), o que indica que a sua composição pode interagir com o gel proteico e modificar a firmeza, fenómeno observado por Terzioğlu e Bakirci (2023). O fermento (F), apesar de ter neste caso um impacto inferior ao aroma (A) com (16,4%), continua a ser um fator significativo, uma vez que diferentes culturas iniciadoras possuem perfis metabólicos distintos, capazes de alterar a microestrutura do gel (Gallardo-Escamilla; Kelly; Delahunty, 2005; Chen *et al.,* 2017). As interações entre fatores (A×F), (A×S) e (F×S) não foram significativas, o que significa que os efeitos observados atuam de forma independente ao longo do armazenamento.

Em síntese, esta análise confirma que a textura é principalmente influenciada pelo seguimento (S), seguindo-se o aroma (A) e o fermento (F), sem efeitos combinados entre fatores.

A Tabela 5 apresenta os resultados da análise de variância (ANOVA) para os parâmetros de textura avaliados ao longo do seguimento, permitindo observar a influência dos fatores (A), (F) e a sua interação em cada momento de seguimento.

Tabela 5 - Resultados da ANOVA dos fatores aroma do iogurte (A), tipo de fermento usado (F) e percentagem de variação explicada para o parâmetro textura fábrica.

Seguimento	Origem da variação	GL	p	Nível de significância	Percentagem de variação
D+1	Aroma (A)	1	0,0001	***	62,8
	Fermento (F)	1	0,0039	**	17,1
	A x F	1	0,0311	*	13,2
	Erro	8			6,8
D+7	Aroma (A)	1	0,0005	***	32,8
	Fermento (F)	1	0,0042	**	15,3
	A x F	1	0,0014	**	45,6
	Erro	8			6,3
D+15	Aroma (A)	1	0,0067	**	52,8
	Fermento (F)	1	0,0417	*	21,2
	A x F	1	0,1335	n.s	0,0
	Erro	8			26,1
DLC	Aroma (A)	1	0,0201	*	22,8
	Fermento (F)	1	0,0021	**	58,7
	A x F	1	0,2248	n.s.	0,0
	Erro	8			18,5
DLC+30	Aroma (A)	1	0,0032	**	30,10
	Fermento (F)	1	0,0004	***	58,9
	A x F	1	0,8384	n.s.	0,0
	Erro	8			11,1

GL - graus de liberdade; n.s. - não significativo para p<0,05; *0,01<p < 0,05 - significativo; **0,01<p < 0,001 - muito significativo; ***p < 0,001 - altamente significativo

No D+1, imediatamente após a produção, o (A) é o principal determinante (62,8%), o que indica que, numa fase inicial, a formulação aromática exerce uma influência direta sobre a perceção de textura. Nesta fase, verifica-se também uma interação significativa entre (A) e (F), o que sugere que algumas combinações são mais compatíveis e originam uma matriz proteica mais estável logo após a fermentação. Em D+7, a interação passa a ser o fator mais relevante (45,6%), seguida do (A) com (32,8%) e do (F) com (15,3%). Isto indica um pico de sinergia entre cultura e (A), momento em que a estrutura do gel ainda está em reorganização ativa. Esta evolução confirma a influência combinada entre compostos voláteis e características metabólicas do (F) na fase inicial de estabilização (Terzioğlu; Bakirci, 2023). De seguida em D+15, o (A) volta a assumir o efeito principal (52,8%), enquanto o (F) perde protagonismo (21,2%), o que afirma que, após estabilização da rede proteica, o (A) passa a modular sobretudo a perceção sensorial associada à textura. Este comportamento é coerente com a literatura que descreve que, após a primeira fase de reorganização do gel, o impacto microbiológico diminui e a perceção sensorial torna-se mais influenciada pelos compostos voláteis e interações físico-químicas (Popović et al., 2020). Já em DLC o padrão altera-se novamente, com o (F) a tornar-se o fator dominante (58,7%), ultrapassando o (A) com (22,8%). Isto indica que, perto do fim da validade, a robustez da cultura passa a ser determinante para a manutenção da estrutura. Em produtos fermentados, é comum observar-se que o comportamento mecânico na fase tardia do armazenamento depende da capacidade de a comunidade microbiana manter a rede proteica coesa (Gallardo-Escamilla; Kelly; Delahunty, 2005). Este comportamento mantém-se no DLC+30, onde o (F) continua a ser o fator dominante (58,9%), enquanto o (A) perde importância relativa.

Em síntese, no início domina o (A), no curto prazo domina a interação (A)×(F), a meio domina novamente o (A), e no final domina o (F).

A Tabela 6 apresenta os resultados da análise de variância (ANOVA) referente aos parâmetros de Textura Escola.

Tabela 6 - Resultados da ANOVA dos fatores aroma do iogurte (A), tipo de fermento usado (F), Seguimento (S) e percentagem de variação explicada para o parâmetro textura escola.

Origem da variação	GL	p	Nível de significância	Percentagem de variação
Aroma (A)	1	0,0078	**	2,5
Fermento (F)	1	0,0000	***	45,8
Seguimento (S)	4	0,0000	***	23,1
A x F	1	0,0000	***	17,5
A x S	4	0,7704	n.s.	0,0
F x S	4	0,8057	n.s.	0,0
Erro	44			11,1

GL - graus de liberdade; n.s. - não significativo para p<0,05; *0,01<p < 0,05 - significativo; **0,01<p < 0,001 - muito significativo; ***p < 0,001 - altamente significativo

A ANOVA demonstrou que o fermento (F) é o fator com maior influência na textura do iogurte, explicando 45,8% da variação total. Isto confirma que a escolha da cultura iniciadora é determinante na formação da matriz proteica, uma vez que diferentes estirpes possuem perfis metabólicos distintos ao nível da proteólise e produção de exo polissacarídeos, os quais reforçam a firmeza e coesão do gel (Gallardo-Escamilla; Kelly; Delahunty, 2005; Chen *et al.,* 2017). O seguimento (S) também apresentou um efeito

altamente significativo (23,1%), o que reflete o reforço natural da rede proteica tal como descrito por Popović *et al.* (2020). Embora o aroma (A), isoladamente, explique apenas 2,5% da variação, verificou-se uma interação significativa entre (A) e (F) com (17,5%), indicando que certos aromas (A) potenciam a textura apenas quando combinados com culturas tecnologicamente compatíveis.

Em síntese, o (F) é o principal fator determinante da textura, seguido do (S) e da interação entre (A) e cultura iniciadora.

Como é sempre espectável que este parâmetro varia ao longo do tempo de vida útil do iogurte foi repetida a ANOVA para cada dia do seguimento (Tabela 7).

Tabela 7 - Resultados da ANOVA dos fatores aroma do iogurte (A), tipo de fermento usado (F) e percentagem de variação explicada, para o parâmetro textura escola.

Seguimento	Origem da variação	GL	p	Nível de significância	Percentagem de variação
D+1	Aroma (A)	1	0,4947	n.s.	0,0
	Fermento (F)	1	0,0094	**	63,7
	A x F	1	0,0715	*	0,0
	Erro	8			36,3
D+7	Aroma (A)	1	0,3016	n.s.	0,0
	Fermento (F)	1	0,0003	***	85,3
	A x F	1	0,0481	n.s.	0,0
	Erro	8			14,7
D+15	Aroma (A)	1	0,4339	n.s.	0,0
	Fermento (F)	1	0,0000	***	78,5
	A x F	1	0,0239	*	14,9
	Erro	8			6,6
DLC	Aroma (A)	1	0,1341	n.s.	0,0
	Fermento (F)	1	0,0078	**	37,4
	A x F	1	0,0249	*	43,0
	Erro	8			19,6
DLC+30	Aroma (A)	1	0,0641	n.s.	0,0
	Fermento (F)	1	0,0001	***	88,8
	A x F	1	0,2160	n.s.	0,0
	Erro	8			11,2

GL - graus de liberdade; n.s. - não significativo para p<0,05; *0,01<p < 0,05 - significativo; **0,01<p < 0,001 - muito significativo; ***p < 0,001 - altamente significativo

No D+1, o (F) explica 63,7% da variação, enquanto o (A) não tem qualquer efeito significativo, o que demonstra que a resposta inicial é determinada pela cultura iniciadora e não pela formulação aromática. Este comportamento acentua-se em D+7, onde o (F) passa a explicar 85,3% da variação, refletindo uma acidificação e estabilização do sistema associada ao metabolismo das bactérias ácido-lácticas (Chen *et al.,* 2017). Em D+15, o (F) continua a ser o fator dominante (78,5%), mas surge uma interação significativa com o (A) de (14,9%), sugerindo que, numa fase intermédia do seguimento, o impacto residual do (A) pode mudar ligeiramente o comportamento da cultura. Próximo da data-limite de consumo (DLC), observa-se um equilíbrio entre estes dois efeitos, com o (F) ainda dominante (37,4%), mas com a interação (A)×(F) a adquirir um papel expressivo (43,0%). Por fim, no DLC+30, o (F) recupera influência quase absoluta (88,8%), confirmando que, em fases tardias, apenas culturas com maior capacidade tecnológica conseguem manter a estabilidade físico-química do produto (Moisseenko *et al.,* 2023). A ausência de efeito

significativo do (A) de forma isolada em todas as etapas confirma que o seu contributo é sempre secundário face ao metabolismo microbiano.

Em síntese, a textura é controlada quase exclusivamente pelo (F), sendo o (A) irrelevante isoladamente, mas podendo ter impacto indireto quando interage com a cultura, sobretudo na fase final de vida útil.

8.2.2. Força Gel

A Figura 6 mostra a variação da força gel (em 10^3 cP) ao longo do tempo de vida útil. No início, todas as amostras apresentaram valores elevados de força gel, mas houve uma queda acentuada nos primeiros dias, principalmente até ao D+15. A partir desse ponto, observou-se uma recuperação gradual em algumas amostras.

A combinação TF-F1 foi a que apresentou os maiores valores de força gel ao longo de quase todo o período, com destaque para o crescimento contínuo após os 10 dias. Já as combinações com o fermento F9, especialmente com o aroma NA, apresentaram os menores valores durante grande parte do tempo. No geral, o fermento F1 resultou em maior força gel em comparação com o fermento F9, e o aroma TF teve desempenho superior ao NA, especialmente na fase final de vida útil. Isso sugere que a escolha do aroma e do fermento influencia diretamente a força gel do produto ao longo do tempo, com a combinação TF-F1 destacando-se como a mais estável e firme.

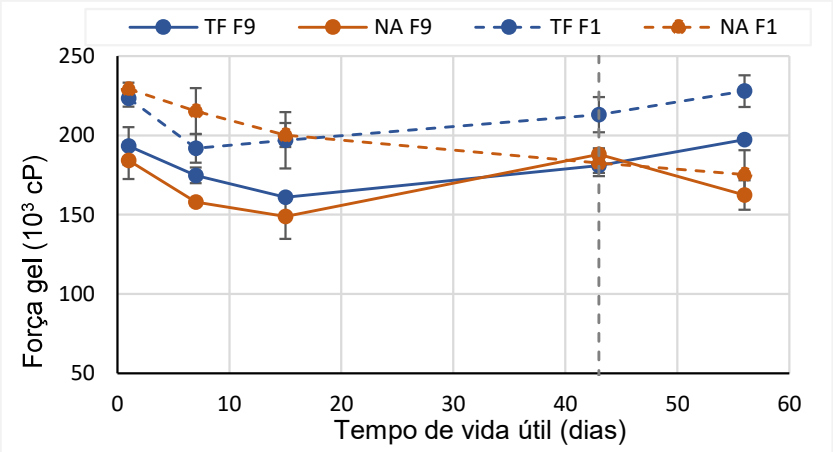


Figura 6 - Evolução da força gel nos iogurtes gelificados. Os valores correspondem à média de 3 repetições ± desvio padrão.

A análise de variância revelou que a força de gel dos iogurtes foi significativamente influenciada pelos fatores avaliados (Tabela 8).

Tabela 8 - Resultados da ANOVA dos fatores aroma do iogurte (A), tipo de fermento usado (F), Seguimento (S) e percentagem de variação explicada, para a força gel do iogurte.

Origem da variação	GL	p	Nível de significância	Percentagem de variação
Aroma (A)	1	0,0000	***	14,8
Fermento (F)	1	0,0000	***	36,8
Seguimento (S)	4	0,0000	***	19,4
A x F	1	0,2942	n.s.	0,0
A x S	4	0,0229	*	9,2
F x S	4	0,8414	n.s.	0,0
Erro	44			17,5

GL - graus de liberdade; n.s. - não significativo para p<0,05; *0,01<p < 0,05 - significativo; **0,01<p < 0,001 - muito significativo; ***p < 0,001 - altamente significativo

Os resultados da ANOVA apresentados nas Tabelas 8 evidenciam que os fatores principais aroma (A), fermento (F) e seguimento (S) exercem um efeito estatisticamente significativo sobre as propriedades de textura do produto. O fermento (F) é o fator com maior contribuição para a variação total (36,8%), seguido do seguimento (S) com (19,4%) e posteriormente do aroma (A) com (14,8%). Esta influência do efeito do fermento (F) é consistente com o que é descrito por Routray e Mishra (2011), uma vez que a atividade metabólica dos microrganismos e a consequente produção de compostos voláteis e ácido-lácticos estão diretamente relacionadas com a estrutura, firmeza e perceção sensorial do produto final. A inexistência de efeito significativo na interação aroma-fermento (A)×(F) sugere que o impacto do aroma (A) na textura ocorra de forma independente do tipo de fermento (F) utilizado. No entanto, a interação aroma-seguimento (A)×(S) apresenta efeito significativo, indicando que a influência do aroma (A) na matriz varia ao longo do tempo de armazenamento, possivelmente devido a fenómenos de libertação e retenção de compostos voláteis dependentes da evolução microestrutural, conforme também discutido por Routray e Mishra (2011), que destacam que a perceção aromática em produtos fermentados está intimamente ligada à modificação da estrutura coloidal durante o armazenamento.

Como é sempre espectável que este parâmetro varia ao longo do tempo de vida útil do iogurte foi repetida ANOVA para cada dia do seguimento (Tabela 9).

Tabela 9 - Resultados da ANOVA dos fatores aroma do iogurte (A), tipo de fermento usado (F) e percentagem de variação explicada, para o parâmetro força gel.

Seguimento	Origem da variação	GL	p	Nível de significância	Percentagem de variação
D+1	Aroma (A)	1	0,0351	*	23,0
	Fermento (F)	1	0,0067	**	51,6
	A x F	1	0,2976	n.s.	0,0
	Erro	8			25,5
D+7	Aroma (A)	1	0,0905	n.s.	0,0
	Fermento (F)	1	0,0149	*	58,7
	A x F	1	0,5892	n.s.	0,0
	Erro	8			41,3
D+15	Aroma (A)	1	0,0260	*	17,4
	Fermento (F)	1	0,0010	**	66,5
	A x F	1	0,4769	n.s.	0,0
	Erro	8			16,2
DLC	Aroma (A)	1	0,8730	n.s.	0,0
	Fermento (F)	1	0,0004	***	84,2
	A x F	1	0,1045	n.s.	0,0
	Erro	8			15,8
DLC+30	Aroma (A)	1	0,0137	*	44,1
	Fermento (F)	1	0,0369	*	26,1
	A x F	1	0,8981	n.s.	0,0
	Erro	8			29,8

GL - graus de liberdade; n.s. - não significativo para p<0,05; *0,01<p < 0,05 - significativo; **0,01<p < 0,001 - muito significativo; ***p < 0,001 - altamente significativo

A ANOVA apresentada na (Tabela 9), revelou que o tipo de (F) foi consistentemente o fator com maior influência sobre a força de gel dos iogurtes em todos os seguimentos

avaliados. Quando analisados separadamente por ponto temporal, verifica-se que o fator (F) apresenta significância em todos os seguimentos, sendo consistentemente o principal determinante da variação textural (51,6% em D+1; 58,7% em D+7; 66,5% em D+15; 84,2% em DLC; e 26,1% em DLC+30). Isto confirma o papel central da fermentação na formação da textura, tal como reportado por Routray e Mishra (2011), que descrevem a síntese de compostos de aroma e a diminuição do pH como responsáveis por alterações estruturais que condicionam a coevidade e perceção sensorial. O efeito do (A) revela-se mais irregular ao longo do tempo, apresentando significância apenas em D+1, D+15 e DLC+30. Esta oscilação pode estar associada à volatilização gradual dos compostos aromáticos, bem como à sua interação com proteínas e gordura presentes na matriz, fenómeno descrito por Routray e Mishra (2011), que referem que a libertação aromática não depende apenas da formulação, mas também da evolução estrutural e da dinâmica de retenção/ligação à matriz.

8.2.3. pH

Na Figura 7 está representada a variação do pH ao longo do tempo. Observa-se que, de modo geral, o pH tende a diminuir ligeiramente com o tempo em todos os tratamentos, o que indica um leve aumento da acidez durante o processo.

O fermento F9 apresenta valores de pH um pouco mais altos do que o F1 em todas as condições, o que sugere que o F1 promove maior acidificação. Entre os aromas, o TF tende a resultar em valores de pH ligeiramente menores do que o NA, tanto para o fermento F9 como para o F1.

Em resumo, o fermento F1, especialmente quando combinado com o aroma TF, gera as condições mais ácidas, enquanto o F9 com o aroma NA mantém o pH mais elevado e estável ao longo do tempo.

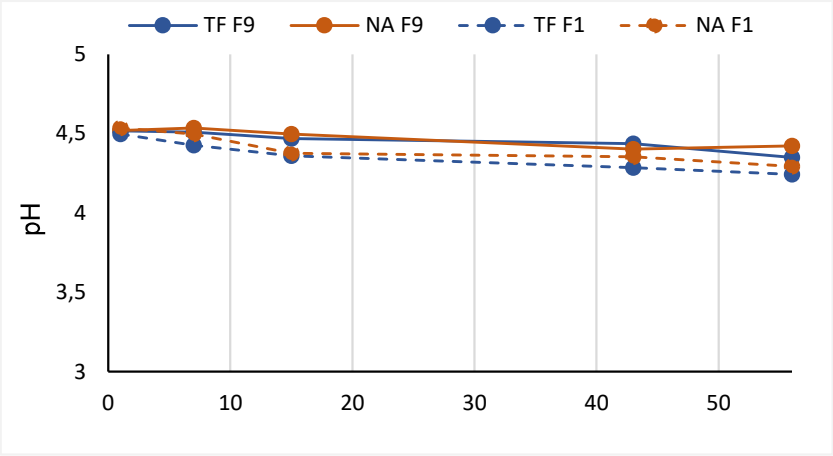


Figura 7 - Evolução do pH nos iogurtes gelificados. Os valores correspondem à média de 3 repetições ± desvio padrão.

A Tabela 10 apresenta os resultados da análise de variância (ANOVA) referente ao parâmetro pH.

Tabela 10 - Resultados da ANOVA dos fatores aroma do iogurte (A), tipo de fermento usado (F), Seguimento (S) e percentagem de variação explicada, para o parâmetro pH.

Origem da variação	GL	p	Nível de significância	Percentagem de variação
Aroma (A)	1	0,0000	***	4,8
Fermento (F)	1	0,0000	***	26,4
Seguimento (S)	4	0,0000	***	53,7
A x F	1	0,0032	**	1,6
A x S	4	0,0132	**	1,2
F x S	4	0,0000	***	9,6
Erro	44			2,8

GL - graus de liberdade; n.s. - não significativo para $p<0,05$; *$0,01<p<0,05$ - significativo; **$0,01<p<0,001$ - muito significativo; ***$p<0,001$ - altamente significativo

A análise da variância mostra que o seguimento (S) é o fator que mais influencia o pH, explicando 53,7% da variação total. Isto confirma que a acidificação do iogurte ocorre sobretudo ao longo do tempo, resultado da continuação da atividade metabólica das bactérias ácido-lácticas após a fermentação principal, o que conduz a uma diminuição progressiva do pH durante o EVU (Popović *et al.,* 2020). O fermento (F) é o segundo fator com maior impacto (26,4%), o que indica que diferentes culturas iniciadoras acidificam a matriz a ritmos distintos, de acordo com o seu perfil metabólico e capacidade fermentativa. Tal comportamento está bem documentado em estudos que demonstram que cada estirpe pode apresentar uma velocidade diferente de produção de ácido-láctico e compostos associados (Chen *et al.,* 2017). O aroma (A), apesar de explicar apenas 4,8% da variação, apresenta significância estatística, o que sugere que alguns aromas podem exercer um ligeiro efeito tampão ou interação com proteínas, influenciando automaticamente o pH. Além disso, verificam-se interações significativas entre fermento-seguimento (F)×(S) de (9,6%), o que mostra que o efeito do fermento (F) no pH se intensifica ou desacelera ao longo do tempo, e entre aroma-fermento (A)×(F) de (1,6%) e aroma-seguimento (A)×(S) (1,2%), ainda que numa percentagem reduzida.

O erro residual (2,8%) é muito baixo, o que demonstra que praticamente toda a variação do pH é explicada pelo modelo, reforçando a robustez estatística dos efeitos observados.

Como é sempre espectável que este parâmetro varia ao longo do tempo de vida útil do iogurte foi repetida a ANOVA para cada dia do seguimento (Tabela 11).

Tabela 11 - Resultados da ANOVA dos fatores aroma do iogurte (A), tipo de fermento usado (F) e percentagem de variação explicada, para o parâmetro pH.

Seguimento	Origem da variação	GL	p	Nível de significância	Percentagem de variação
D+1	Aroma (A)	1	0,1148	n.s.	0,0
	Fermento (F)	1	0,8951	n.s.	0,0
	A x F	1	0,1728	n.s.	0,0
	Erro	8			
D+7	Aroma (A)	1	0,0000	***	32,2
	Fermento (F)	1	0,0000	***	52,8
	A x F	1	0,0056	**	12,2
	Erro	8			2,8
D+15	Aroma (A)	1	0,0004	***	3,3
	Fermento (F)	1	0,0000	***	96,1
	A x F	1	0,2165	n.s.	0,0
	Erro	8			0,6
DLC	Aroma (A)	1	0,0133	*	1,6
	Fermento (F)	1	0,0000	***	65,0
	A x F	1	0,0000	***	32,2
	Erro	8			1,1
DLC+30	Aroma (A)	1	0,0001	***	20,5
	Fermento (F)	1	0,0000	***	76,7
	A x F	1	0,2371	n.s.	0,0
	Erro	8			2,8

GL - graus de liberdade; n.s. - não significativo para $p<0,05$; *$0,01<p<0,05$ - significativo; **$0,01<p<0,001$ - muito significativo; ***$p<0,001$ - altamente significativo

A análise de variância (Tabela 11) mostrou que o (F) foi o fator que mais influenciou o pH dos iogurtes em todos os períodos avaliados.

Em D+1, nenhum dos fatores avaliados apresentou efeito estatisticamente significativo sobre o pH, ou seja, a acidificação ocorrida durante a fermentação foi semelhante para todas as amostras. No seguimento D+7, tanto o (F) com (52,8%) quanto o (A) com (32,2%) apresentam efeitos altamente significativos, com a interação (A)x(F) também significativa (12,2%). Isto mostra que, após alguns dias de armazenamento, o pH começa a refletir o metabolismo específico de cada cultura, o qual pode ser ligeiramente potenciado ou atenuado pela presença do aroma (A) (Chen *et al.,* 2017). Em D+15, o (F) manteve efeito altamente significativo (96,1%), sendo o principal determinante do pH nesta fase, o que confirma que a acidificação, nesta fase, depende quase exclusivamente da atividade microbiológica. O efeito do (A) também foi significativo, embora com impacto reduzido (3,3%). No final do prazo de validade (DLC), o (F) continuou a apresentar efeito altamente significativo (65,0%), seguido pela interação (A)×(F) com (32,2%) e pelo (A) com 1,6%, o que sugere que, nesta fase, os fatores atuam de forma combinada sobre a acidez. Finalmente, no DLC+30, o (F) volta a ter um efeito praticamente exclusivo (76,7%), sendo o (A) responsável por 20,5%. Isto confirma que, em fases tardias, a acidificação depende essencialmente da robustez tecnológica da cultura, fator já identificado como determinante da estabilidade final do produto (Moisseenko *et al.,* 2023).

Os resultados indicam que a escolha do (F) é determinante para o controle da acidez (pH) dos iogurtes, principalmente a partir de D+7. O (A) exerce influência em fases

específicas do armazenamento, e a interação entre (F) e (A), quando presente, destaca a importância de avaliar a formulação do produto como um todo.

8.2.4. Acidez

A Figura 8 apresenta a variação da acidez ao longo do tempo. O fermento F1 tende a apresentar valores de acidez mais elevados ao longo do tempo em comparação ao fermento F9, especialmente nas combinações com o aroma NA. Isso sugere que o F1 promove maior acidificação do meio, característica que se torna mais evidente a partir dos 15 dias. Em relação aos aromas, observa-se que o aroma TF promove uma acidez mais elevada quando combinado ao fermento F9, particularmente nos tempos iniciais (0 e 15 dias). Já o aroma NA resulta em menor acidez nas fases intermediárias (15 a 40 dias), com destaque para a combinação NA F9, que atinge os valores mínimos de acidez entre todos os tratamentos no tempo 40. Na fase final, há um aumento expressivo da acidez em todos os tratamentos, sendo mais acentuado nas combinações com o fermento F1. Esse comportamento pode indicar uma reativação microbiana ou intensificação de processos fermentativos nos estágios finais.

Em resumo, a maior acidez ao longo do tempo é observada nas amostras com o fermento F1, especialmente quando associado ao aroma NA, enquanto a combinação do fermento F9 com o aroma NA resulta nos menores valores de acidez, evidenciando uma menor atividade acidificante nesse tratamento.

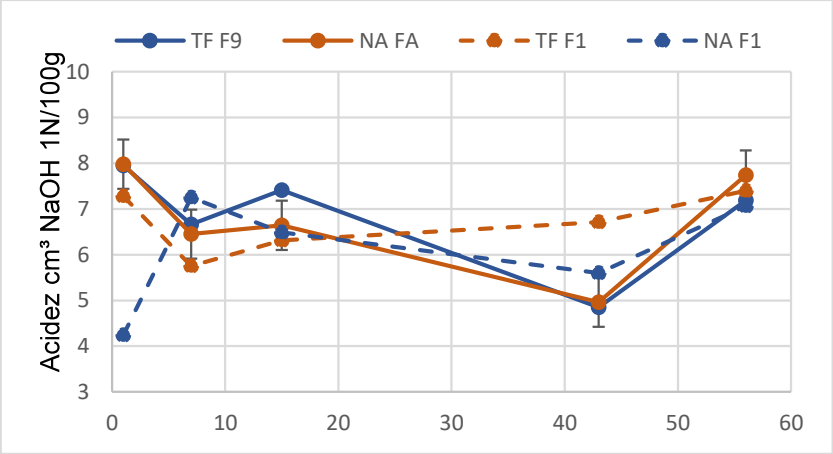


Figura 8 - Evolução da acidez nos iogurtes gelificados.

8.3. Análise Sensorial Comparativa

Os resultados estão representados na Figura 9, permitindo uma comparação direta entre as duas formulações. A1 corresponde ao aroma e fermento de melhoria enquanto A2 corresponde ao aroma e fermento atual.

Na figura 9A observamos que a amostra A1, representada pelas barras escuras, apresenta maior aceitação pelos consumidores nos parâmetros de aceitabilidade, aspeto, textura em boca e textura de corte. A diferença é especialmente evidente no parâmetro de sabor onde A1 supera claramente A2. Estes resultados indicam que, no contexto de aroma a morango, a amostra A1 foi preferida de forma consistente em comparação com A2.

Na figura 9B observamos que a amostra A1, representada pelas barras escuras, obteve maior aceitação pelos consumidores em todos os atributos avaliados: aceitabilidade,

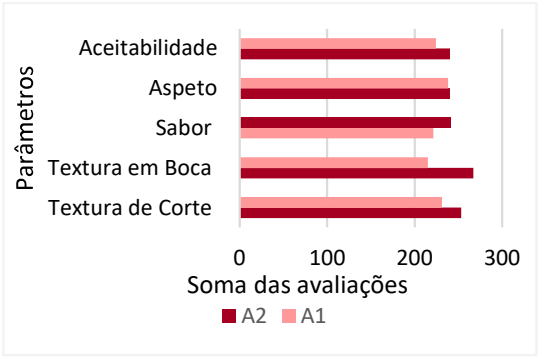
aspeto, sabor, textura em boca e textura de corte. A diferença é mais evidente em sabor e textura em boca, onde A1 supera claramente A2.

Na figura 9TF observamos que a amostra A1, apresenta maior aceitação pelos consumidores nos parâmetros: aceitabilidade, aspeto, textura em boca e textura de corte. No parâmetro de sabor observa-se que uma aceitação equiparada dos consumidores perante as duas amostras. Estes resultados indicam que, no contexto de aroma a tutti frutti, a amostra A1 foi consistentemente preferida.

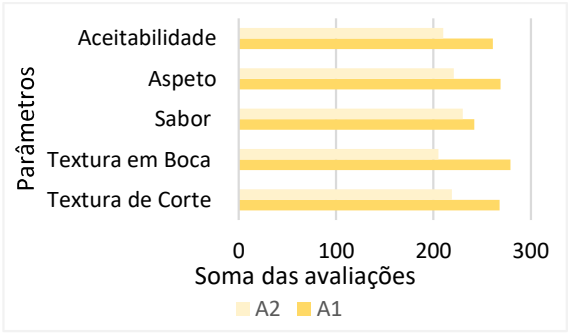
Na figura 9C observa-se que a amostra A1 apresenta maior aceitação pelos consumidores em todos os atributos sensoriais avaliados, com exceção do aspeto. Este resultado indica uma preferência clara e consistente pelo aroma a coco da amostra A1. No entanto, no parâmetro aspeto, a amostra A2 foi ligeiramente mais valorizada, sugerindo que os consumidores consideraram o seu visual mais atrativo.

Na figura 9BL observa-se que a amostra A1 apresenta maior aceitação pelos consumidores em todos os atributos sensoriais avaliados, o que indica uma preferência clara e consistente pelo aroma a bolacha. A superioridade de A1 é especialmente evidente nos parâmetros aceitabilidade, aspeto, textura em boca e textura de corte. Não se verifica qualquer atributo em que A2 tenha superado A1, o que reforça a escolha dos consumidores pela amostra A1 como a mais equilibrada.

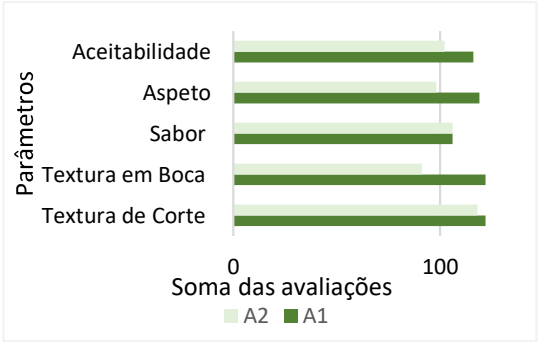
Na figura 9NA observa-se que a amostra A1 apresenta maior aceitação pelos consumidores em todos os atributos sensoriais avaliados, o que indica uma preferência clara e consistente pelo aroma natural açucarado.



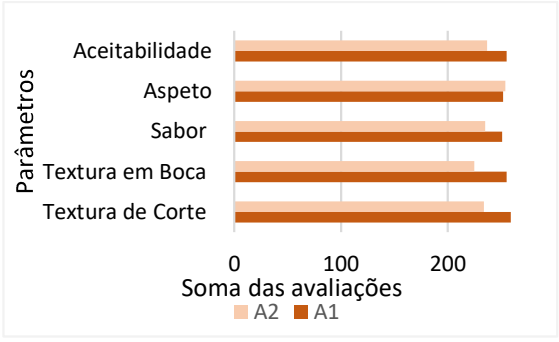
A – Aroma de Morango.



B – Aroma de Banana.

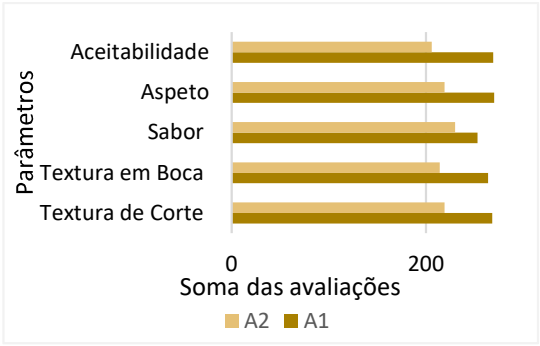


TF – Aroma de Tutti-Frutti.

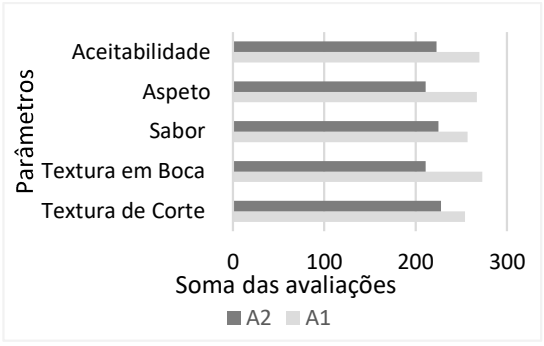


C – Aroma de Coco.

Figura 9 - Comparação entre duas formulações, atual e proposta de melhoria. A1 corresponde ao aroma de melhoria e A2 corresponde ao aroma atual. Barras escuras correspondem a uma maior preferência e barras claras. a uma menor preferência.



BL – Aroma de Bolacha.



NA – Natural Açucarado.

Figura 9 - Comparação entre duas formulações, atual e proposta de melhoria. A1 corresponde ao aroma de melhoria e A2 corresponde ao aroma atual. Barras escuras correspondem a uma maior preferência e barras claras a uma menor preferência.

9. Espectroscopia

Os espectros adquiridos para os diferentes fermentos revelaram um padrão semelhante entre amostras. No entanto, as diferenças relativas na intensidade das bandas associadas a lípidos e açúcares podem ser indicativas de variações metabólicas específicas de cada fermento (Figura 10).

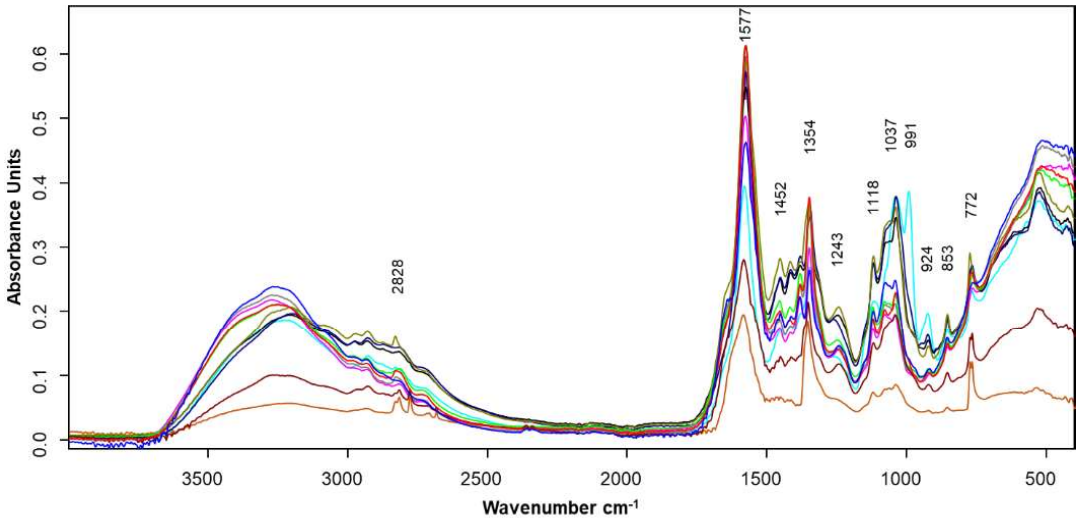


Figura 10 - Espectro obtido em FTIR-ATR para as os fermentos estudados

Na região entre 3700 e 3000 cm^{-1} observa-se uma banda associada ao estiramento O–H e N–H, atribuída maioritariamente à água ligada, grupos hidroxilo dos polissacarídeos da parede celular e grupos amina das proteínas (estes últimos com muito menos expressão) (Kassem *et al.,* 2023; Alonso-Simón *et al.,* 2011). As variações de intensidade nesta zona podem estar relacionadas com diferenças no grau de hidratação celular ou na composição proteica entre as estirpes analisadas (Papadopoulou *et al*., 2021).

A região 3000–2800 cm^{-1} corresponde aos estiramentos assimétrico e simétrico dos grupos CH_2 e CH_3, característicos de cadeias alifáticas dos lípidos, nomeadamente fosfolípidos e ácidos gordos constituintes das membranas celulares (Kosa *et al.,* 2017).

Entre 1700 e 1500 cm^{-1} surgem as bandas relacionadas com a Amida I (~1650 cm^{-1}) e amida II (~1545 cm^{-1}), associadas às vibrações C=O e N–H dos grupos amida das proteínas (Papadopoulou *et al.,* 2021; Kassem *et al*., 2023).

A região compreendida entre 1450 e 1200 cm^{-1} apresenta contribuições de diferentes grupos funcionais, nomeadamente deformações CH_2/CH_3 (lípidos), estiramentos simétricos COO^- (aminoácidos e ácidos gordos) e vibrações P=O (fosfatos presentes em ácidos nucleicos e fosfolípidos). Esta zona é representativa de componentes estruturais e metabólicos essenciais das células bacterianas (Kassem *et al.,* 2023).

Na região denominada "*fingerprint*", entre 1200 e 900 cm^{-1}, observam-se bandas características dos estiramentos C–O–C e C–O de açúcares e polissacarídeos (Alonso-Simón et al., 2011; Largo-Gosens *et al.,* 2014).

A Figura 11 apresenta a Análise de Componentes Principais (PCA) obtida a partir dos espectros de FTIR-ATR dos diferentes fermentos utilizados na produção de iogurtes. Os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) explicam 87% da variância total dos dados, sendo 71% atribuída ao PC1 e 16% ao PC2.

Observa-se uma clara separação entre a maioria dos diferentes fermentos, sugerindo que as amostras apresentam perfis espectrais distintos, possivelmente associados às diferenças na composição bioquímica como por exemplo, variações no conteúdo de proteínas, lipídios, carboidratos e compostos polisacarídicos.

A família de fermentos (F3; F4; F7; F11), (F1; F6; F8; F9; F12), (F10), (F5) e (F2) formam agrupamentos bem definidos, o que reforça a capacidade da técnica de FTIR, associada à PCA, de discriminar amostras de diferentes origens ou formulações. Essa diferenciação pode refletir variações na composição das culturas iniciadoras.

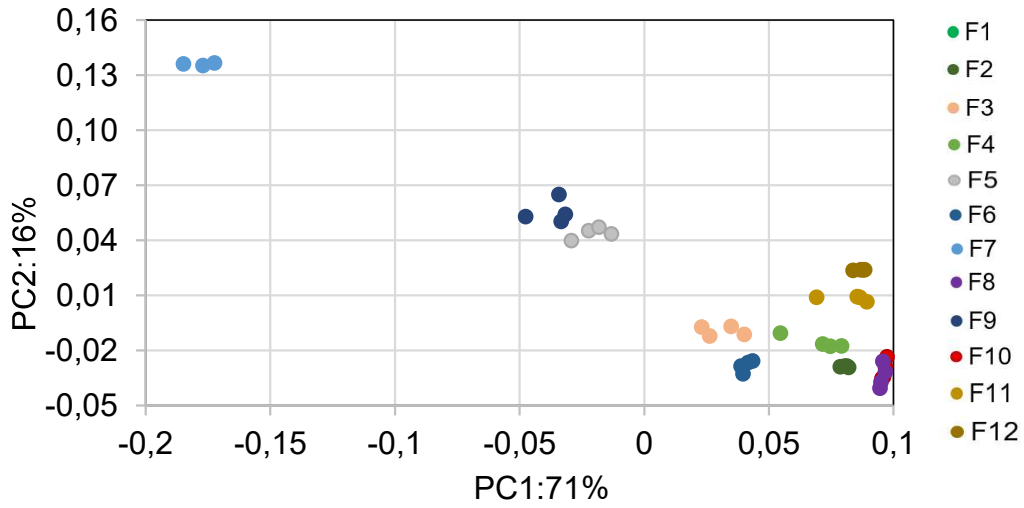


Figura 11 - Análise dos componentes principais efetuada a partir dos dados de FTIR-ATR para amostras de fermentos analisadas.

10. Considerações Finais

A análise integrada dos resultados obtidos ao longo do estudo permite concluir que a formulação do iogurte, bem como a tecnologia aplicada, exercem um papel determinante na sua estabilidade físico-química, estrutural e sensorial ao longo do tempo de vida útil. A avaliação prévia de produtos comerciais permitiu identificar as preferências atuais do consumidor, destacando-se os aromas de morango, banana e coco como os mais apreciados. Esta etapa inicial revelou-se fundamental para orientar o desenvolvimento da nova formulação, garantindo o alinhamento com as expectativas do mercado.

Ao nível do ensaio experimental, verificou-se que a textura é influenciada inicialmente pelo aroma, mas à medida que decorre o armazenamento, o impacto do fermento assume maior relevância. Entre as culturas testadas, o fermento F1 demonstrou o melhor desempenho global, originando produtos com maior firmeza, melhor força gel e maior capacidade de manter a estrutura até ao final do período de validade. Assim, a combinação TF-F1 revelou-se a mais robusta e tecnologicamente estável, constituindo a solução mais adequada para aplicação industrial.

A utilização de dois equipamentos distintos para a medição da textura (o utilizado na fábrica e o utilizado na escola) permitiu uma análise complementar. O equipamento da escola demonstrou maior sensibilidade e capacidade discriminativa, permitindo identificar com maior precisão a influência das diferentes culturas ao longo do tempo de vida útil. Não obstante, o equipamento da fábrica, embora menos sensível, revelou-se adequado para controlo de processo, assegurando consistência tecnológica em ambiente produtivo.

A força gel acompanhou a tendência observada nas medições instrumentais de textura, confirmando a superioridade tecnológica do fermento F1. Verificou-se ainda que o pH e a acidez variaram significativamente com o tempo de armazenamento e com a cultura utilizada, confirmando a influência direta da fermentação na evolução da matriz.

A análise sensorial final confirmou a preferência pela nova formulação (A1), que apresentou melhor desempenho em praticamente todos os atributos avaliados, destacando-se face à formulação de referência (A2). Este resultado valida a otimização proposta e evidencia a sua pertinência tecnológica e comercial.

A caracterização dos fermentos, realizada por espectroscopia vibracional FTIR-ATR, permitiu identificar diferenças estruturais relevantes entre as culturas microbianas testadas, sendo estas confirmadas pela Análise de Componentes Principais (PCA), que demonstrou elevada capacidade discriminativa entre os perfis fermentativos.

11. Referências Bibliográficas

Alonso-Simón, A., Hernández-Altamirano, M., García-Calvo, L., & Acebes, J. L. (2011). *The use of FTIR spectroscopy to monitor modifications in cell wall architecture caused by cellulose biosynthesis inhibitors*. Plant Signaling & Behavior, 6(8), 15793. https://doi.org/10.4161/psb.6.8.15793

Anjos, O., Campos, M. G., Ruiz, P. C., & Antunes, P. (2015). *Application of FTIR-ATR spectroscopy to the quantification of sugar in honey*. Food Chemistry, 169(July), 218-223. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.138

Anjos, O., Guiné, R. P. F., Santos, A. J. A., Paula, V. B., Pereira, H., & Estevinho, L. M. (2021). *Evaluation of FT-Raman and FTIR-ATR spectroscopy for the quality evaluation of Lavandula spp. Honey*. Open Agriculture, 6(1), 47–56. https://doi.org/10.1515/OPAG-2020-

Anjos, O., Santos, A. J. A., Paixão, V., & Estevinho, L. M. (2018). *Physicochemical characterization of Lavandula spp. honey with FT-Raman spectroscopy*. Talanta, 178(June 2017), 43–48. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.08.099

Chen, L. Et Al. *Role Of Lactic Acid Bacteria On The Yogurt Flavour: A Review*. *Journal Of Food Science And Technology, 2017*.

Coates, J. (2000*). Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. Encyclopedia of Analytical Chemistry. Wiley*.

Costa, A. C. P. da. (2022). *Análise descritiva quantitativa para avaliação da qualidade sensorial de néctares e refrigerantes*. Trabalho final de mestrado (Mestrado em Engenharia da Qualidade e Ambiente) – Instituto Superior de Engenharia de Lisboa.

Dionísio, S. T. (2024). *Características físico-químicas que influenciam a qualidade do leite* [Relatório de Estágio de Licenciatura, Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Castelo Branco].

Gallardo-Escamilla, F. J., Kelly, A. L., Delahunty, C. M. (2005). *Influence Of Starter Culture On Flavour And Headspace Volatile Profiles Of Fermented Milk*. Journal Of Dairy Science.

Garcia, C. (2023). *Estudo de possíveis fatores que influenciam a presença de soro em iogurtes líquidos*. Instituto Politécnico de Castelo Branco. The Source: Obtido de (schreiberfoods.com)

História da Danone | Danone. (2025). https://www.danone.pt/sobre-nos/historia-da-danone/

Kassem, A., Abbas, L., Coutinho, O., Opara, S., Najaf, H., Kasperek, D., Pokhrel, K., Li, X., & Tiquia-Arashiro, S. (2023). *Applications of Fourier Transform-Infrared spectroscopy in microbial cell biology and environmental microbiology: advances, challenges, and future perspectives.* Frontiers in Microbiology, 14, 1304081. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1304081

Kizil, R., Irudayaraj, J. (2018). *Spectroscopic Technique: Fourier Transform Raman (FT-Raman) Spectroscopy.* Em Modern Techniques for Food Authentication (2.a ed.). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814264-6.00006-2

Kosa, G., Shapaval, V., Kohler, A., & Zimmermann, B. (2017). *FTIR spectroscopy as a unified method for simultaneous analysis of intra- and extracellular metabolites in high-throughput screening of microbial bioprocesses*. Microbial Cell Factories, 16, 195. https://doi.org/10.1186/s12934-017-0817-3

Largo-Gosens, A., Hernández-Altamirano, M., García-Calvo, L., Alonso-Simón, A., & Acebes, J. L. (2014). *Fourier transform mid-infrared spectroscopy applications for monitoring the structural plasticity of plant cell walls*. Frontiers in Plant Science, 5, 303. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00303

Martins, R. L. (2014). *Fermentação Divertida Introdução À Ciência Através De Atividade Culinária Investigativa* Pricila Veiga-Santos Sarah Gimenez Castilho.

Meilgaard, M., Civille, G., Carr, B. (2016). *Sensory Evaluation Techniques*. 5th Ed. Boca Raton: Crc Press.

Mendes, A. P. (2014). *Alimentos funcionais*. Rof – Revista da Ordem dos Farmacêuticos, (113), out./dez. 2014.

Moiseenko, K. V., Glazunova, O. A., Savinova, O. S., Shabaev, A. V., & Fedorova, T. V. (2023). *Changes in composition of some bioactive molecules upon inclusion of Lacticaseibacillus paracasei probiotic strains into a standard yogurt starter culture*. Foods, 12(23), 4238. https://doi.org/10.3390/foods12234238

Papadopoulou, O. S., Argyri, A. A., Kounani, V., Tassou, C. C., & Chorianopoulos, N. (2021). *Use of Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Monitoring the Shelf Life and Safety of Yogurts Supplemented With a Lactobacillus plantarum Strain With Probiotic Potential*. Frontiers in Microbiology, 12, 678356. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.678356

Pedro, S. (2018). *Desenvolvimento de iogurtes com polpa de figo-da índia*. Instituto Politécnico de Castelo Branco. Obtido de https://repositorio.ipcb.pt/bitstream/10400.11/6151/1/Soraia%2020%20A bril_Final%20%281%29%20Soraia.pdf

Peets, P., Leito, I., Pelt, J., & Vahur, S. (2017). *Identification and classification of textile fibres using ATR-FT-IR spectroscopy with chemometric methods*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 173, 175–181. https://doi.org/10.1016/J.SAA.2016.09.007

Pinto, M. D. (2024). *Estudo de uniformização da avaliação da viscosidade para produto acabado e semi-elaborado de iogurtes* [Relatório de Estágio de Licenciatura, Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Castelo Branco].

Popović, N., Brdarić, E., Đokić, J., Dinić, M., Veljović, K., Golić, N., & Terzić-Vidojević, A. (2020). *Yogurt Produced by Novel Natural Starter Cultures Improves Gut Epithelial Barrier In Vitro*. Microorganisms, 8(10), 1586. https://doi.org/10.3390/microorganisms8101586

Portaria nº 742/92 de 24. Estabelece Regras sobre de produção, Comercialização e Consumo de Iogurtes e de Leites Fermentados. Ministérios da Agricultura e do Comércio e Turismo. Diário da República nº169/1992, série I-B de 1992-07-24

Prajapati, Divyang M., Shrigod, Nehul M., Prajapati, Ravi J., Pandit, Parth D. (2016). *Textural And Rheological Properties Of Yoghurt: A Review*. Advances In Life Sciences, V. 5, N. 13, P. 5238–5254.

Rafael, A. C. D. R. (2017). *Formação de um painel sensorial para avaliação de produtos à base de tomate* (Dissertação de Mestrado, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal).

Routray, W., Mishra, H. N. (2011). *Scientific And Technical Aspects Of Yogurt Aroma And Taste: A Review. Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*, V. 10, N. 4, P. 208-220, Doi: Https://Doi.Org/10.1111/J.1541-4337.2011.00151.X.

Santos, C. A. F. dos. (2011). *Desenvolvimento de um novo produto: "Fruta com iogurte*" [Dissertação de Mestrado, Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia]. Repositório da Universidade Nova de Lisboa.

Sequeira, A. (2014). *Efeito da utilização de diferentes fontes proteicas no enriquecimento do iogurte batido*. Mestrado em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar, Escola Supeior Agrária de Castelo Branco. Obtido de https://repositorio.ipcb.pt/bitstream/10400.11/2756/1/TM_ANTONIO_SEQU EIRA_.pdf

Terzioğlu, P., Bakirci, I. (2023*). Investigation Of Aroma Profiles And Textural Behaviour Of Yogurts With Various Starter Cultures. Journal Of Dairy Research*.

Anexo I

Processo de fabrico do iogurte

Na fase inicial do processo de produção do iogurte, é fundamental garantir a qualidade dos ingredientes utilizados, pois são eles que irão influenciar diretamente as propriedades sensoriais, nutricionais e a estabilidade do produto final. É nesta etapa que se define o potencial do iogurte para atingir as características desejadas em termos de sabor, textura e valor nutritivo. A Figura 9 representa, no geral, o processo de fabrico do iogurte.

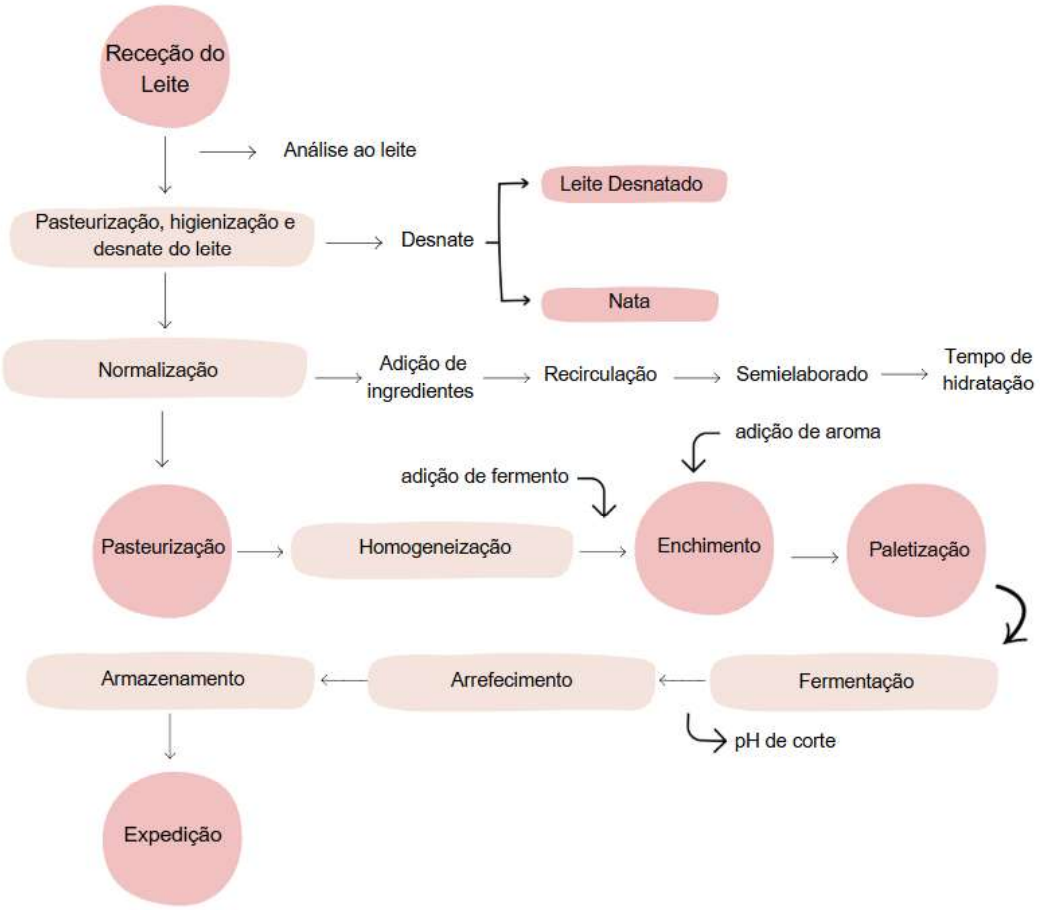


Figura 12 - Processo de Fabrico do Iogurte

1. Receção do leite

O leite inteiro cru é transportado até às instalações da unidade fabril em camiões-cisternas isotérmicos. Assim que chega à fábrica, é rececionado e submetido a diversas análises laboratoriais, com o objetivo de verificar se se encontra em condições adequadas para o processamento. Estas análises incluem:

- Avaliação das condições de transporte (exemplo: existência de fugas);
- A verificação do valor total do leite;
- Verificação da ausência de antibióticos, microrganismos e bactérias que possam comprometer o processo de fabrico do iogurte.

O leite que chega à fábrica no estado líquido é arrefecido a uma temperatura de 4+/- 2 °C através de um permutador de placas. O arrefecimento tem por objetivo baixar a temperatura do leite para valores inibidores de desenvolvimento microbiano (Sequeira, 2014)

Posteriormente, é efetuada a separação da nata do leite, bem como a sua pasteurização que é feita durante 15 a 20 segundos a uma temperatura entre 72-75 ºC. Esta pasteurização serve para reduzir microrganismos patogénicos e permitir que o leite seja depois normalizado sem alteração sensorial significativa.

De seguida são arrefecidos em continuo a 4+/2 °C e enviados para depósitos de inox isotérmicos, onde se mantém armazenados até posterior utilização. O leite desnatado é colocado num silo onde são feitas análises ao teor de gordura, teor de proteína e acidez. A nata é colocada num tanque refrigerado e é analisada a quantidade de gordura e de proteína (Garcia, 2023).

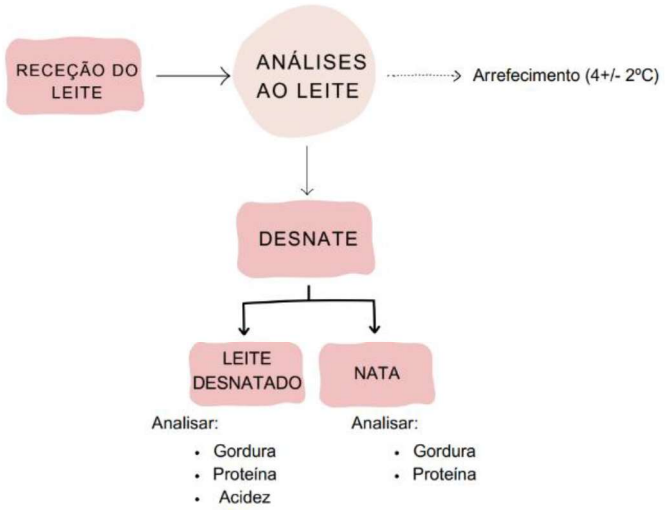


Figura 13 - Receção do Leite

2. Normalização

A normalização do leite permite corrigir as mudanças na composição natural do leite que são causadas por mudanças sazonais e genéticas, enquanto aumenta o enriquecimento do leite.

Nesta etapa é promovida a mistura de vários ingredientes, líquidos e sólidos na proporção considerada correta, por forma a adequar a gordura, proteínas, açucares e extrato seco ao tipo de iogurte que se pretende fabricar. O leite normalizado, designado de semielaborado, constitui a base sobre a qual incidem os vários tratamentos tecnológicos adjacentes ao fabrico do iogurte (Garcia, 2023).

Os ingredientes são adicionados conforme a receita utilizada e, após a mistura completa, é recolhida uma amostra para análises físico-químicas, onde se verifica os valores de gordura, proteína e extrato seco, que são parâmetros essenciais para definir as propriedades do produto final.

No final desta etapa, o leite fica no depósito durante um tempo mínimo de 120 minutos, tempo de hidratação (TH), onde se mantém arrefecido a uma temperatura de 4+/-2 °C, tendo como objetivo inibir o desenvolvimento microbiológico contribuindo, deste modo, para uma melhor conservação do semielaborado.



Figura 14 - Normalização

3. Pasteurização

Seguidamente, o leite passa por uma etapa de pasteurização de 92-95°C (dependendo do semielaborado), durante 5 minutos, do qual uma amostra é retirada para análises de proteína e gordura antes da pasteurização. Durante esta etapa o semielaborado passa por um processo de homogeneização, é arrefecido a 4ºC e segue-se a inoculação do fermento, estando a quantidade adicionada de acordo com o volume de produto a pasteurizar. Nesta etapa do processo apenas dois fermentos são adicionados:

- *Streptococcus thermophilus;*
- *Lactobacillus bulgaricus.*

Após a pasteurização duas amostras são retiradas, uma para realizar as mesmas análises mencionadas acima, a fim de se obter uma confirmação de que o semielaborado continua nas condições exigidas, e outra para analises microbiológicas (Pinto, 2024).

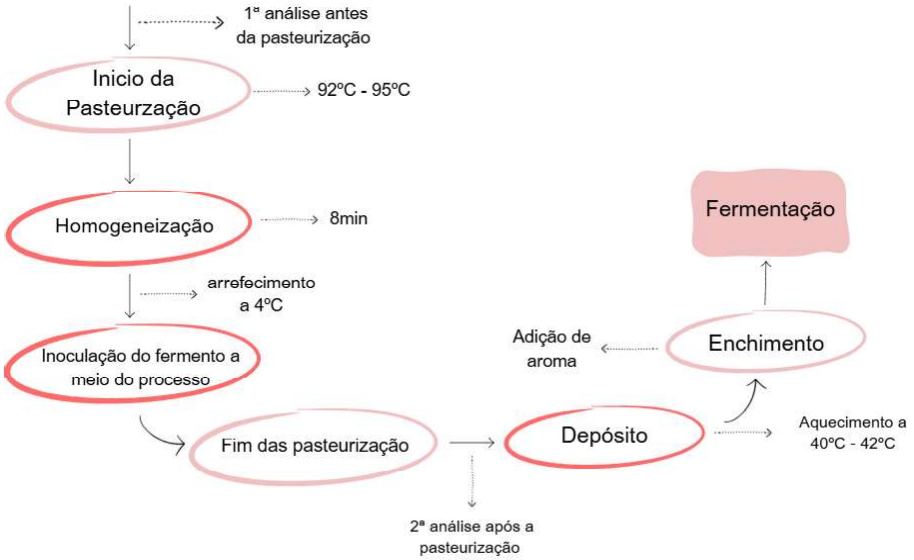


Figura 15 - Pasteurização.

4. Homogeneização

Este processo, de natureza exclusivamente mecânica, fragmenta e reduz o tamanho medio dos glóbulos de gordura presentes na mistura. O resultado é uma distribuição mais uniforme dos ingredientes sólidos, o que contribui para melhorar tanto a textura quanto a viscosidade do iogurte. Alem disso, previne a formação de uma pelicula superficial de gordura e aumenta a retenção de água, garantindo uma textura mais cremosa e suave.

A homogeneização é realizada sob pressões que variam entre 245 e 300 bar, dependendo da textura e qualidade desejada para o produto final.

5. Enchimento

Durante esta etapa de fabrico de iogurtes, a massa branca (semielaborado com culturas lácteas) é aquecido a 40 - 42 ºC e distribuído em embalagens comerciais, geralmente em copos com capacidade de 125g. É precisamente neste momento que se adicionam os aromas aos iogurtes aromatizados sólidos, conferindo-lhes os sabores desejados antes da selagem.

Todo o procedimento decorre em condições asséticas, asseguradas por uma sobrepressão de ar filtrado no interior do equipamento, o que evita qualquer contaminação pelo ar ambiente. A cada 30 minutos é realizado um controlo rigoroso da qualidade. Após esta última verificação, as caixas de cartão são encaminhadas para um empilhador e são transportadas através de um elevador sobre tapetes rolantes até ao coletor, onde ficam à espera da formação das paletes finais.

6. Paletização

Cada palete de Erca é constituída por 108 caixas, organizadas em 12 camadas com 9 caixas por camada, contendo 48 unidades por caixa. Após a sua formação, as paletes são

envolvidas em película plástica e devidamente etiquetadas, garantindo a rastreabilidade e a integridade do produto.

O percurso desde o coletor até ao paletizador tem uma duração média de 10 a 15 minutos, decorrendo de forma contínua e sem interrupções. Após esta etapa, as paletes são cintadas e identificadas, sendo posteriormente encaminhadas para a estufa, cuja temperatura é mantida de forma constante a 40 °C.

Durante cerca de 20 minutos, as paletes percorrem um corredor equipado com ventiladores, cuja função é promover a uniformização térmica do produto. Findo esse percurso, são deslocadas para outra zona da estufa, onde se inicia a fase de fermentação controlada.

7. Fermentação

A fermentação do leite resulta em vários tipos de produtos. Todos eles possuem durabilidade (ou vida de prateleira) mais extensa do que a do leite fresco. Esse fato deve-se à produção do acido lático, que resulta em maior acidez e diminuição do pH do meio, dificultando o crescimento de microrganismos que possam fazer mal à saúde humana ou deteriorar o produto (Martins, 2014).

A fermentação, para alem de permitir a conservação dos principais nutrientes do leite, produz alterações na textura, sabor, viscosidade e características do produto final. O tempo de fermentação pode variar entre 4 e 5 horas com temperaturas ótimas de 40 °C, quando esta temperatura não é atingida a atividade dos fermentos pode ficar comprometida, causando, por exemplo, textura menos consistente e presença de grumos (Garcia, 2023).

Quando o iogurte atinge um pH próximo de 4.60 +/- 0.05, conforme o tipo de produto em preparação, é essencial iniciar imediatamente o processo de arrefecimento para interromper a fermentação. O nível de acidez no qual se decide parar o processo é conhecido como pH de corte.

8. Arrefecimento, Armazenamento e Expedição

O produto paletizado é encaminhado para túneis de refrigeração equipados com esteiras transportadoras e conjuntas de ventiladores, responsáveis por gerar uma circulação forçada de ar frio.

Este sistema tem como objetivo garantir um arrefecimento rápido e uniforme, onde reduz drasticamente a atividade bacteriana. Para alcançar este efeito, o processo de arrefecimento deve ser realizado de maneira progressiva e no menor tempo possível, até que o produto atinja uma temperatura próxima dos 5 °C.

Depois de passar no túnel de frio, o produto deverá ser armazenado em câmaras de frio a temperaturas entre 0 °C e 6 °C (Portaria nº 742/92 de 24 de julho).

A expedição do produto acaba (em camiões refrigerados), é efetuada após ter sido submetido a um período de 24h na câmara. Durante esse período são recolhidas amostras do produto acabado, de acordo com o plano de amostragem, com o intuito de se procederem as análises laboratoriais que integram o controlo de qualidade do produto.