Politécnico
Castelo Branco
Escola Superior Agrária

Validação e Otimização do Parâmetro Analítico de Proteína no Controlo de Qualidade de Produtos Lácteos

Catarina Tomaz Flauzino

Orientadores

Professora Doutora Ana Rita Ferraz

Mestre Bruno Lopes

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 Ana Rita Ferraz, do Instituto Politécnico de Castelo Branco, e do Mestre Bruno Lopes do departamento de Qualidade da Schreiber Foods.

Outubro de 2025

Dedicatória

Aos meus pais e à minha irmã.

Agradecimentos

Chegada ao fim desta etapa tão importante da minha vida académica, não poderia deixar de dedicar algumas palavras a todos aqueles que, de uma forma ou de outra, contribuíram para que todo este percurso fosse possível e enriquecedor. A realização deste relatório de estágio representa não apenas a conclusão de um ciclo de estudos, mas também o culminar de desafios superados, aprendizagens adquiridas e laços construídos ao longo do tempo.

Em primeiro lugar, expresso o meu profundo agradecimento à minha orientadora interna Professora Doutora Ana Rita Ferraz por toda a sua disponibilidade, orientação e conselhos ao longo de todas as etapas deste trabalho. Mencionar também a Professora Maria Cristina Canavarro por toda a sua ajuda e disponibilidade na análise de dados.

Agradeço também à Schreiber Foods Portugal, S.A., que me proporcionou a possibilidade de realização do meu estágio e que me acolheu durante o mesmo, fornecendo-me uma oportunidade única de crescimento profissional e pessoal. Agradeço em especial ao meu orientador externo, Mestre Bruno Lopes, pela amizade, confiança, paciência e aprendizagens ao longo destes meses.

O meu profundo reconhecimento a toda à equipa do laboratório, pelo acompanhamento dedicado, pela partilha de conhecimentos, pela atenção e por todo o carinho. Adriana, Anabela, Celsa, Jéssica, Liliana, Maria José, Miguel, Nuno e Paula, um grande obrigada.

O Instituto Politécnico de Castelo Branco, e em particular a Escola Superior Agrária, desempenharam um papel essencial na minha preparação académica, fornecendo-me os conhecimentos e ferramentas necessárias para encarar com confiança esta etapa determinante da minha formação.

Por fim, mas nada menos importante, queria deixar o meu maior e mais especial agradecimento à minha família que sempre me acompanharam em todas as etapas da minha vida, sempre me apoiaram e sempre acreditaram em mim. Mãe, Pai e Rita, não teria sido o mesmo sem vocês.

Resumo

O presente relatório descreve o estágio curricular realizado no Departamento de Qualidade da Schreiber Foods Portugal S.A., centrado na validação e otimização do parâmetro analítico de proteína no controlo de qualidade de produtos lácteos. O principal objetivo consistiu na calibração e ajuste do equipamento MilkoScan™ FT3, garantindo a fiabilidade das medições face ao método oficial de referência — o método Kjeldahl.

O estudo foi desenvolvido em três fases: (1) seleção das pastilhas catalisadoras mais adequadas para a digestão de amostras lácteas; (2) calibração e validação do destilador Kjeldahl através de ensaios interlaboratoriais com o CATAA; e (3) comparação entre os resultados obtidos pelo MilkoScan™ FT3 e pelo método Kjeldahl.

Os resultados evidenciaram que, após o ajuste do equipamento Kjeldahl, as medições internas da fábrica e as do laboratório externo passaram a ser estatisticamente equivalentes. No entanto, verificou-se que o MilkoScan™ FT3 apresenta um limite de quantificação fiável acima de 3% de proteína bruta, sendo necessária atenção especial na leitura de amostras com teores inferiores. Este trabalho contribuiu para o reforço da padronização e fiabilidade das análises de proteína no controlo de qualidade da unidade fabril, promovendo maior eficiência e rigor no processo produtivo.

Palavras chave

Iogurte; Proteína; MilkoScan™ FT3; Kjeldhal; Validação; Controlo de qualidade

Abstract

This work describes the work carried out in the Quality Department of Schreiber Foods Portugal S.A., focusing on the validation and optimization of the analytical protein parameter in the quality control of dairy products. The main goal was the calibration and adjustment of the MilkoScan™ FT3 to ensure reliable measurements when compared with the official Kjeldahl reference method.
The study was divided into three stages: (1) selection of the most suitable Kjeldahl catalyst tablets for dairy sample digestion; (2) calibration and validation of the factory's Kjeldahl distiller through interlaboratory tests with CATAA; and (3) comparison between MilkoScan™ FT3 readings and Kjeldahl results.
Results showed that, after calibration, the factory and external laboratory readings became statistically equivalent. However, the MilkoScan™ FT3 proved to be reliable for protein contents above 3%, indicating a lower detection limit below that threshold.
This study contributed to improving accuracy and consistency in protein determination, reinforcing the analytical reliability and quality control efficiency of the production process.

Keywords

Yogurt; Protein; MilkoScan™ FT3; Kjedhal method; Validation; Quality control

Índice geral

1. Introdução 1
2. Local de estágio – Schreiber Foods Portugal 2
3. Iogurte 3
3.1. Classificação de iogurtes 4
3.2. Matéria-Prima 4
3.3. Culturas láticas 5
3.4. Características nutricionais 5
3.4.1. Gordura do iogurte 6
3.4.2. Extrato seco total 6
3.4.3. Proteínas do leite e implicações tecnológicas 7
4. Processo de fabrico 8
4.1. Seleção das Matérias-Primas 8
4.2. Receção de Leite 9
4.3. Normalização 9
4.4. Processos 10
4.5. Enchimento 11
4.6. Paletização 11
4.7. Arrefecimento e armazenamento 12
4.8. Controlo de qualidade 12
4.9. Expedição 12
5. Materiais e métodos 13
5.1. Recolha de amostras 13
5.2. Determinação do teor de proteína por MilkoScan™ FT3 15
5.3. Validação do processo de digestão do método de Kjeldahl – seleção de pastilhas catalisadoras 16
5.4. Calibração do método Kjeldahl 17
5.5. Calibração do Milkoscan™ FT3 18
6. Resultados e discussão 18
6.1. Seleção de pastilhas de Kjeldahl 18
6.2. Calibração do destilador Kjeldahl 20
6.2.1. 1ª Calibração 20

6.2.2. 2ª Calibração 22
6.3. Calibração de Milkoscan 23
7. Considerações finais 25
8. Referências bibliográficas 26
Anexo I ……. 29
Anexo II 31

Índice de figuras

Figura 1 — Representação gráfica mundial da Schreiber Foods (Schreiber, 2024). *2*

Figura 2 — Representação gráfica mundial da produção de iogurte (AtlasBig, 2025).. *3*

Figura 3 — Representação gráfica do processo de fabrico do iogurte. *8*

Figura 4 – Análises laboratoriais realizadas no produto acabado. *12*

Figura 5 — Gráfico de linhas de médias marginais estimadas de medições entre os dois tipos de pastilhas. *19*

Figura 6 – Teor de proteína bruta (%) de produto acabado resultante do ensaio inter-laboratorial. *20*

Figura 7 – Diferenças entre as médias do teor de proteína bruta das amostras analisadas pelo CATAA e SF-Schreiber Foods na 1ª Calibração, para um intervalo de confiança de 95%. *21*

Figura 8 – Diferenças entre as médias do teor de proteína bruta das amostras analisadas pelo CATAA e SF-Schreiber Foods na 2ª Calibração, para um intervalo de confiança de 95%. *22*

Figura 9 – Diferenças entre as médias do teor de proteína bruta das amostras analisadas pelo CATAA e SF-Schreiber Foods ANTES e Depois da 2ª Calibração, para um intervalo de confiança de 95%. *23*

Figura 10 – Comparação do teor de Proteína Bruta (%PB) obtidos pelo Milksocan vs Kjeldahl para a receita A (teste t-Student amostras emparelhadas; p-value = 0,133 > 0,05)..... *24*

Figura 11 – Comparação do teor de Proteína Bruta (%PB) obtidos pelo Milksocan vs Kjeldahl para a receita B (teste t-Student amostras emparelhadas; p-value = 0,133 > 0,05)..... *25*

Lista de tabelas

Tabela 1 – Amostras utilizadas e analisadas em cada etapa do estudo. *13*

Tabela 2 – Composição química das amostras da receita A utilizadas na seleção das pastilhas Kjeldahl..... *17*

Tabela 3 – Composição química das amostras utilizadas na calibração do Milkoscan. *18*

Lista de abreviaturas

ES – Extrato seco

G - Gordura

LD – Leite Desnatado

P – Proteína

PB – Proteína Bruta

1. Introdução

O iogurte é um alimento cujas propriedades nutricionais lhe conferem características que o tornam único. O consumo de iogurte é inversamente associado a vários fatores de risco cardiovascular, mesmo em versão completa e a um padrão alimentar e estilo de vida saudável, por isso é sugerido que o iogurte para além do seu valor nutricional seja também um indicador da qualidade da dieta (Babio, 2017).

A produção de iogurte tem uma grande importância económica, tanto a nível mundial como a nível nacional. O mercado mundial ultrapassa os 110 mil milhões de dólares, com forte crescimento impulsionado pela procura de produtos funcionais, probióticos e de origem vegetal (Mordor Intelligence, 2025). Em Portugal, o setor dos lacticínios representa cerca de 8,6% da produção agrícola nacional, com um elevado grau de autoaprovisionamento em leite, embora a produção de iogurte não cubra totalmente o consumo interno uma vez que grande parte é suprida por importações sobretudo de Espanha (Observatório Agroalimentar, 2024). O consumo nacional mantém-se elevado e os consumidores demonstram preferência por iogurtes líquidos e batidos, refletindo estilos de vida dinâmicos e uma crescente valorização por opções mais sustentáveis e saudáveis.

O iogurte é um alimento funcional de grande relevância nutricional, sendo uma fonte importante de proteínas de alto valor biológico. Segundo Gómez *et al.* (2018), o aumento do teor proteico no iogurte contribui não apenas para os benefícios nutricionais, mas também para as propriedades sensoriais do produto.

As proteínas predominantes no iogurte são a caseína e as proteínas do soro do leite. A caseína representa cerca de 80% das proteínas do leite e é caracterizada pela digestão lenta, enquanto as proteínas do soro do leite representam cerca de 20% e são absorvidas rapidamente (Boirie *et al.,* 1997; Dalziel *et al*., 2017; Mulet-Cabero *et al.,* 2020).

A determinação do teor de proteína é habitualmente realizada pelo método de Kjeldahl, considerado o método convencional de referência, baseado na quantificação do azoto total e posterior conversão em proteína através de um fator específico para produtos lácteos. Este método convencional apesar de apresentar resultados fiáveis, é um pouco dispendioso, sendo útil para ajustar equipamentos analíticos. Dada a importância do valor nutricional dos produtos para a indústria láctea, a utilização de equipamentos analíticos de alta precisão como o MilkoScan™ FT3, torna-se essencial. A calibração e ajuste deste equipamento permitem garantir resultados fiáveis na determinação da composição do leite e do iogurte, assegurando o controlo de qualidade e a padronização industrial, de forma mais rápida e eficaz.

O presente trabalho, realizado no Laboratório de química do Departamento de Qualidade da Schreiber Foods Portugal S.A., teve como objetivo a calibração e ajuste do equipamento MilkoScan™ FT3 com foco no controlo do parâmetro proteína através do método convencional – método Kjeldahl. Este objetivo deve-se à possibilidade de desvios de leituras devido ao desgaste do equipamento/alterações de receitas, podendo assim levar a erros durante o processo produtivo.

Além do trabalho de estágio, durante este período foram também desenvolvidas outras atividades no contexto do laboratório, que se encontram listadas no Anexo II.

2. Local de estágio – Schreiber Foods Portugal

A Schreiber Foods é uma empresa multinacional americana, fundada em 1945 em Green Bay (Wisconsion, EUA), que se destaca no setor agroalimentar pela produção de uma ampla variedade de produtos lácteos, incluindo queijos, iogurtes, cremes e bebidas lácteas.

Esta empresa tem um forte compromisso com a segurança alimentar, a qualidade e a inovação dos seus produtos, adotando o slogan “Doing Good Trough Food” que reflete a sua missão de contribuir de forma positiva para a sociedade através da alimentação, mediante de práticas rigorosas que minimizam os riscos e promovem qualidade ao longo de toda a cadeia alimentar.

Ao longo das décadas, a empresa expandiu a sua presença internacional, estabelecendo unidades industriais em vários países da Europa, Ásia, África e América, contando atualmente com mais de 40 locais em todo o mundo e mais de 10 000 funcionários (Schreiber Foods, 2024).



Figura 1 — Representação gráfica mundial da Schreiber Foods (Schreiber, 2024).

Em Portugal, a Schreiber Foods está presente em Castelo Branco, na antiga unidade fabril da empresa Iophil, fundada em 1979 para o fabrico de iogurtes. Dez anos mais tarde, em 1989, o Grupo Danone adquiriu cerca de 70% das instalações à Iophil lançando a sua marca em Portugal (Danone Portugal, 2025).

Em 2014, a Schreiber Foods adquiriu a fábrica à Danone, entrando assim no mercado europeu de fabrico de iogurtes até aos dias de hoje.

A unidade fabril de Castelo Branco tem vindo a integrar processos inovadores, participando em programas de inovação e de desenvolvimento tecnológico em Portugal, como o Compete 2020 (Schreiber Foods, 2024).

3. Iogurte

O iogurte faz parte da alimentação humana há milhares de anos. Os pastores do Médio Oriente transportavam leite em sacos feitos de tripas de animal. O contacto com o leite com enzimas intestinais levou a que este coalhasse e acidificasse, preservando-o e permitindo a conservação de um produto lácteo por longos períodos. Acredita-se que a palavra “iogurte” deriva de uma palavra turca, que significa “engrossar, coagular ou coalhar” (APN, 2021).

Em Portugal, segundo a Portaria nº 742/92 de 24 de julho, o iogurte é “o produto coagulado obtido por fermentação láctica devido à ação exclusiva do *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e do *Streptococcus thermophilus* sobre o leite e produtos lácteos (...) devendo a flora específica estar viva e abundante no produto final”.

A popularidade dos iogurtes tem vindo a crescer. A diversificação de oferta, que inclui produtos com frutas, com aromas, sem lactose, enriquecidos com compostos funcionais, tem favorecido a sua aceitação e preferência por parte dos consumidores, consolidando o iogurte como um dos produtos lácteos de maior relevância no setor alimentar.

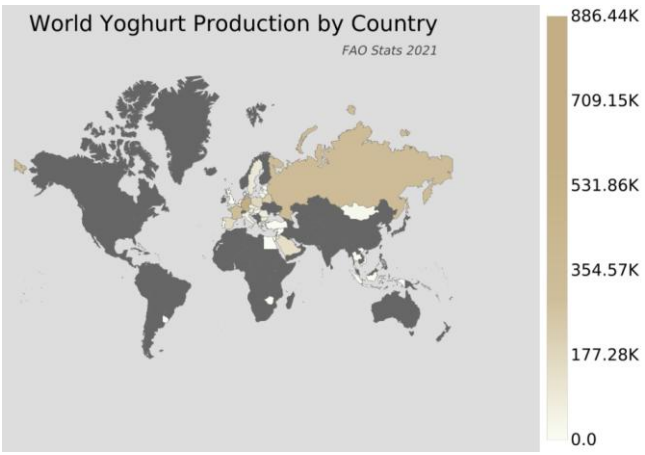


Figura 2 — Representação gráfica mundial da produção de iogurte (AtlasBig, 2025).

Segundo AtlasBig (2025), a produção de iogurte varia significativamente a nível mundial. A Alemanha destaca-se por ser o país com o maior nível de produção de iogurte do mundo, com 886400 toneladas de produção por ano. Em seguida, destacam-se também a Federação Russa e a França, com produções de 530000 toneladas e de 460020 toneladas por ano, respetivamente.

3.1. Classificação de iogurtes

Os iogurtes podem ser classificados com base em diferentes caraterísticas, tais como a composição, matéria gorda e consistência, segundo a Portaria nº 742/92 de 24 de julho.

Em relação à composição, o iogurte pode ser considerado natural, açucarado ou aromatizado. O iogurte natural distingue-se por não conter quaisquer ingredientes adicionados além das matérias-primas, culturas microbianas e ingredientes facultativos. Já o iogurte açucarado corresponde ao iogurte natural, com a adição de sacarose ou açúcares ou edulcorante com o objetivo de modificar o seu perfil sensorial, particularmente o sabor doce. O iogurte aromatizado, por sua vez, é obtido através da adição ingredientes aromatizados ou aditivos alimentares. Em algumas versões podem ainda ser adicionados pedaços de fruta ao iogurte, sendo este aromatizado ou não.

Relativamente ao teor de matéria gorda, o iogurte pode ser classificado em três categorias. O iogurte gordo apresenta um teor mínimo de matéria gorda na parte láctea de 3,5% (m/m). O iogurte meio gordo possui um teor mínimo de 1,5% (m/m) e máximo de 1,8% (m/m). Por sua vez, o iogurte magro caracteriza-se por um teor máximo de matéria gorda de 0,3%.

No que diz respeito à consistência, o iogurte pode ser caracterizado conforme o seu processo de produção e características físicas. O iogurte sólido distingue-se pela sua textura firme resultante da sua coagulação direta nas embalagens individuais de venda a retalho. Por outro lado, o iogurte batido possui uma textura cremosa, uma vez que sofre uma prévia coagulação e só posteriormente é embalado. Já o iogurte líquido apresenta uma textura fluida obtida através da liquefação após a sua coagulação, seguindo-se a etapa de embalamento.

3.2. Matéria-Prima

A produção do iogurte depende de diversas matérias-primas, sendo o leite a base principal usado em diferentes formas – inteiro, desnatado ou em pó.

Para além das matérias-primas obrigatórias para a produção do iogurte, ainda podem ser adicionados outros ingredientes facultativos, tais como: leite em pó, leite em pó parcial ou totalmente desnatado, leitelho não fermentado, soro concentrado,

soro em pó, proteínas de soro, proteínas concentradas de soro, proteínas hidrossolúveis de leite, açúcares e edulcorantes (Portaria nº742/92 de 24 de Julho).

Podem ainda ser adicionados preparados de fruta e aromas, que contribuem para a polivalência destes produtos em aspetos como a cor, o sabor, a textura e os pedaços, tornando-se assim mais apelativos para o consumidor. Além disso, a adição de frutas é bastante aceite pelo público, uma vez que as frutas são reconhecidas como um ingrediente saudável. Cada ingrediente é dosificado de acordo com o produto final a ser preparado.

3.3. Culturas láticas

As culturas láticas são fundamentais na produção de iogurte, uma vez que são responsáveis pela fermentação do leite e pela formação das características sensoriais e nutricionais do produto final. As culturas láticas são utilizadas para aumentar a vida-de-prateleira do leite, devido à formação de componentes metabólicos como o ácido lático (Garcia, 2023).

A proporção, geralmente utilizada destas culturas é de 1:1 (cocos/bacilos), que definem as características reológicas e aromáticas ideais (Rodas, 2001).

As principais bactérias utilizadas são *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus.* As interações entre *Lb. bulgaricus* e *S. thermophilus* são descritas como proto cooperação, que consiste numa relação simbiótica entre as duas espécies. *S. thermophilus* produz CO_2 e ácido fórmico que estimulam o crescimento de *Lb. bulgaricus*, enquanto este hidrolisa proteínas do leite libertando peptídeos e aminoácidos que melhoram o crescimento do primeiro (Uriot *et al.,* 2017).

3.4. Características nutricionais

O iogurte é um produto alimentar que se destaca pela sua elevada densidade nutricional, sendo rico em nutrientes essenciais para a saúde, como proteínas de alto valor biológico, cálcio, potássio, fósforo e vitaminas do complexo B (B2 e B12) (Soustre *et al.,* 2013). A sua composição varia consoante o tipo de leite utilizado, o processo de fabrico e a adição de ingredientes.

Segundo a Associação Portuguesa dos Nutricionistas, o iogurte apresenta algumas vantagens face aos outros laticínios, nomeadamente:

- Maior conteúdo proteico, uma vez que possui leite desidratado na sua composição;
- Melhor digestibilidade devido à degradação parcial das proteínas, lípidos e hidratos de carbono;

- Melhor biodisponibilidade de minerais como o cálcio devido à diminuição do pH;
- Presença de diferentes estirpes de bactérias láticas com os seus respetivos benefícios;
- Lactose parcialmente degradada, o que causa uma diminuição dos sintomas em indivíduos com intolerância.

A composição nutricional do iogurte influencia diretamente as suas propriedades sensoriais, físico-químicas e tecnológicas. Entre os principais constituintes destacam-se a gordura, as proteínas e o extrato seco total, sendo que a fração proteica assume um papel determinante na textura e qualidade global do produto (Jørgensen *et al*., 2019).

3.4.1. Gordura do iogurte

A gordura do leite contribui significativamente para o sabor, a cremosidade e a estrutura do iogurte. Em produtos tradicionais, o teor de gordura varia entre 0 e 10%, sendo mais comum encontrar valores entre 0,5 e 3,5% (Lucey & Singh, 1997). Iogurtes concentrados, como o Labneh ou o Greek-style yoghurt, podem atingir valores entre 6 e 11% (Tamime & Robinson, 2007).

A gordura influencia não apenas o perfil sensorial, conferindo um sabor mais rico e uma sensação de boca mais cremosa (Desai *et al*., 2013), mas também o comportamento reológico do iogurte. O processo de homogeneização aumenta a área superficial dos glóbulos de gordura, promovendo a sua integração na rede proteica e contribuindo para maior firmeza e viscosidade (Lucey *et al.,* 1998). Contudo, em leites não homogeneizados, a gordura tende a atuar como elemento disruptor da estrutura, reduzindo a viscosidade (Schkoda, Hechler, & Hinrichs, 2001b).

3.4.2. Extrato seco total

O extrato seco total (ES) corresponde à soma de todos os constituintes do iogurte, excetuando a água — nomeadamente proteínas, gordura, lactose e sais minerais. O aumento do ES está associado a uma melhoria das propriedades sensoriais e da estabilidade física do iogurte, reduzindo a sinérese (separação de soro) e aumentando a consistência (Tamime *et al*., 2014).

A elevação do extrato seco pode ser obtida por concentração do leite antes da fermentação (por evaporação ou filtração por membranas) ou pela adição de pós lácteos, como leite em pó desnatado ou concentrados proteicos (Agarwal *et al.,* 2015; Bong & Moraru, 2014). No entanto, aumentos excessivos do EST podem

alterar o equilíbrio osmótico do sistema e afetar o crescimento das culturas lácticas, influenciando negativamente a fermentação (Vedamuthu, 2006).

3.4.3. Proteínas do leite e implicações tecnológicas

As proteínas do leite desempenham um papel determinante na formação, estrutura e estabilidade do iogurte, constituindo-se como os principais responsáveis pelas suas propriedades texturais e reológicas (Dalgleish & Corredig, 2012; Lucey & Singh, 1997; Lee & Lucey, 2010). A fração proteica do leite é composta essencialmente por caseínas (aproximadamente 80%) e por proteínas do soro (cerca de 20%), ambas com funções distintas e complementares na formação da rede gelificada característica do iogurte.

As caseínas, organizadas em micelas, são as principais responsáveis pela formação do gel ácido durante a fermentação. À medida que o pH diminui, as micelas de caseína desestabilizam-se e interagem entre si, formando uma matriz tridimensional que confere firmeza e coesão ao produto final (Fox & Kelly, 2004; Jørgensen *et al*., 2017). O tamanho e a distribuição das micelas influenciam de forma significativa as propriedades físicas do iogurte: micelas de menor diâmetro originam géis mais firmes e com maior módulo elástico (G') (Jørgensen *et al*., 2017). Além disso, a relação entre as frações de caseína e proteínas do soro determina a densidade de ligações intermoleculares, afetando diretamente a textura e a consistência do iogurte (Guyomarc'h et al., 2003a; Lucey *et al.,* 1999).

As proteínas do soro, nomeadamente a β-lactoglobulina e a α-lactoalbumina, apresentam elevado valor biológico e funcional. Do ponto de vista nutricional, são fontes de aminoácidos essenciais de rápida absorção, capazes de estimular a síntese proteica muscular e de contribuir para a manutenção da massa magra, sendo particularmente relevantes em produtos destinados a populações idosas ou a desportistas (Boirie *et al.,* 1997; Tipton *et al*., 2007). Sob a perspetiva tecnológica, as proteínas do soro têm um papel fundamental na modulação da textura e estabilidade do iogurte. Durante o tratamento térmico, estas proteínas desnaturam-se parcialmente e interagem com a κ-caseína presente na superfície das micelas, formando pontes intermoleculares que reforçam a rede do gel, aumentando assim a firmeza e a viscosidade do produto (Lucey, Munro, & Singh, 1999; Guyomarc'h *et al.,* 2003b; Jørgensen *et al.,* 2015).

Contudo, níveis excessivos de desnaturação proteica podem conduzir ao aparecimento de defeitos sensoriais, como textura arenosa ou granularidade (Mistry & Hassan, 1992; Jørgensen e*t al*., 2015). A manutenção parcial das proteínas do soro na sua forma nativa tem sido associada a iogurtes com textura mais suave, aparência brilhante e melhor aceitação sensorial (Chever *et al.,* 2014; Jørgensen *et al.,* 2015). Desta forma, o controlo do tratamento térmico e da

proporção entre proteínas nativas e desnaturadas é essencial para equilibrar firmeza, cremosidade e estabilidade no produto final.

Em termos tecnológicos, a modificação controlada da fração proteica do leite — através da fortificação com concentrados proteicos de leite, concentrados micelares de caseína ou por processos de filtração por membranas — permite otimizar as propriedades físicas e sensoriais do iogurte, ajustando parâmetros como a viscosidade, a retenção de soro e a consistência (Agarwal *et al*., 2015; Bong & Moraru, 2014; Jørgensen *et al.,* 2015).

Assim, a análise quantitativa do teor de proteína nas materiais primas do iogurte é um importante parâmetro de controlo de qualidade para a indústria deste tipo de lacticínios.

4. Processo de fabrico

O processo de fabrico do iogurte compreende diversas etapas bem delineadas, com o objetivo de garantir elevados padrões de qualidade e segurança alimentar. A etapa de fermentação sofre alguns ajustes, tendo em conta o produto final pretendido. No entanto, o processo geral envolve as seguintes fases: receção de matérias-primas, receção de leite, normalização, processos, enchimento, paletização, armazenamento, qualidade e expedição (Figura 3).

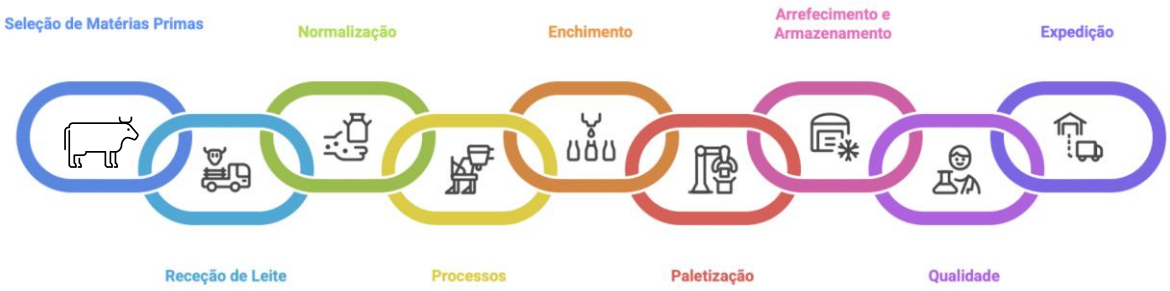


Figura 3 — Representação gráfica do processo de fabrico do iogurte.

4.1. Seleção das Matérias-Primas

Para garantir que os produtos finais mantêm elevados padrões de qualidade, o departamento de compras tem a responsabilidade de selecionar fornecedores que ofereçam a melhor qualidade e o melhor preço. Esta seleção cuidadosa permite assim assegurar que as matérias-primas e os materiais estão sempre disponíveis, contribuindo para um processo produtivo sem falhas.

4.2. Receção de Leite

O leite começa por chegar à fábrica – Schreiber Foods – em camiões-cisterna isotérmicos com certificados de limpeza que garantem a sua qualidade e segurança alimentar.

Na descarga são efetuadas análises físico-químicas ao leite inteiro cru, como a prova do álcool, temperatura, testes de inibidores (pesquisa de antibióticos) e de aflatoxinas e acidez, de forma a assegurar a sua frescura e qualidade.

O leite no seu estado líquido é transferido para depósitos isotérmicos e é arrefecido a uma temperatura de 4±2ºC através de um permutador de placas, sendo que este arrefecimento tem como objetivo baixar a temperatura do leite para valores inibidores do desenvolvimento microbiano (Sequeira, 2014).

Realiza-se também o processo de desnate onde é efetuada a separação da nata do leite, e a sua posterior pasteurização, resultando assim em leite desnatado (LD) e nata. Tanto o LD como a nata são, em seguida, arrefecidos em contínuo a uma temperatura de 4±2ºC, onde são posteriormente enviados para depósitos de inox isotérmicos mantendo-se armazenados até à sua utilização.

O LD e a nata são submetidos ainda a análises extras. O LD é colocado num silo onde são realizadas análises ao teor de gordura, de proteína e acidez, enquanto a nata é colocada num tanque refrigerado onde é analisada a gordura e a proteína.

4.3. Normalização

Depois das análises serem efetuadas e do leite ser desnatado, este passa para a normalização. A normalização é uma etapa bastante importante na produção de iogurte, uma vez que permite corrigir as mudanças na composição natural do leite que são causadas por mudanças sazonais e genéticas, promovendo assim o seu enriquecimento (Desmazeaud, 1989).

Nesta etapa, de acordo com a necessidade de produção e de fabrico, são preparadas as receitas assegurando a pesagem e a adição correta dos ingredientes, líquidos e sólidos, de acordo com a receita a ser preparada, com o objetivo de ajustar os parâmetros de gordura (G), proteína (P) e de extrato seco (ES). O leite normalizado, designado de semielaborado, constitui a base sobre o qual incidem os vários tratamentos tecnológicos subsequentes ao fabrico do iogurte (Sequeira, 2014).

Após a adição e mistura dos ingredientes, é retirada uma amostra para análises físico-químicas dos teores de G, P e ES, através da utilização do equipamento

MilkoScan™ FT3, que permite validar se estes valores estão de acordo com a receita.

No final desta fase, o semielaborado é submetido a um arrefecimento a uma temperatura de 4±2ºC durante um tempo mínimo de 120 minutos. Este arrefecimento, denominado de tempo de hidratação, tem como objetivo a inibição do desenvolvimento microbiano contribuindo para a sua conservação. O semielaborado permanece no depósito até à sua posterior utilização, mantendo assim as suas características desejadas.

4.4. Processos

Após as receitas terem sido preparadas, estas passam para os processos. Nesta etapa é onde são realizadas a pasteurização e fermentação do iogurte batido.

A pasteurização é uma etapa bastante importante na produção de iogurte, uma vez que elimina a carga microbiana patogénica do leite. Este processo acontece a uma temperatura de 92 a 95 ± 2 ºC, dependendo do tipo de iogurte pretendido, com uma duração de 8 minutos, em que no início retirada uma amostra para analisar os parâmetros de gordura, proteína e extrato seco.

A homogeneização é uma ação mecânica que tem como propósito fundamental a redução do diâmetro médio dos glóbulos lipídicos, promovendo uma distribuição uniforme de matéria gorda no leite. Este procedimento evita a ocorrência de separação de fases durante a fase de fermentação, assim como a diminuição de microrganismos do fermento e outros que possam estar presentes.

Após o arrefecimento do leite, procede-se à inoculação dos fermentos. A meio do processo são adicionados os fermentos lácteos (*Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*) dependendo do tipo de produto que se pretende e a lactase. A lactase é adicionada quando se pretendem fabricar iogurtes sem lactose, uma vez que a enzima lactase é responsável por desdobrar a lactose em glicose e galactose, assegurando assim que estes produtos apresentam um teor de lactose igual ou inferior ao limite quantificável, dependendo do método.

A fermentação do semielaborado para iogurte batido acontece em depósitos que garantem todas as condições necessárias para este processo. A coagulação do semielaborado ocorre devido à conversão da lactose em ácido lático a uma temperatura de 35 a 45 ºC, sendo que ao fim de um período de 5 horas é necessário garantir que o pH é inferior ou igual a 5,5. Isto é um ponto crítico de controlo de forma a evitar o desenvolvimento de *bacillus cereus*. Assim que se atinge o pH correto, faz-se um arrefecimento para evitar a acidificação. Nesta fase o produto passa através de um filtro para evitar a presença de objetos estranhos.

No fim, tanto o semielaborado para iogurte batido, como para iogurte gelificado, são colocados em depósitos de stock até ao enchimento.

4.5. Enchimento

Na sala de enchimento, o processo ocorre em várias máquinas, tendo em conta o tipo de produto a ser fabricado. As embalagens utilizadas são testadas com certificados de migração em conformidade com a legislação, e é garantida a qualidade microbiológica do ar das câmaras de fluxo laminar das máquinas. São também efetuados controlos de corpos estranhos – inox, ferro e vidro – através de equipamentos de raio x. Estes equipamentos são usados para inspecionar as embalagens, detetando corpos estranhos, falhas no enchimento ou selagem (através de padrões), garantindo a segurança e a qualidade do produto final.

Neste processo, o produto encontra-se em condições asséticas protegido pela câmara de fluxo laminar, garantido assim uma sobrepressão de ar filtrado no seu interior. Deste modo, o produto evita possíveis contaminações ao longo do processo de enchimento, provocadas pelo ar ambiente.

O produto é dosificado para as embalagens comerciais, dependendo do produto final a ser produzido. As polpas de fruta e as frutas são adicionadas de forma homogénea durante o enchimento, uma vez que a mistura ocorre nas máquinas.

Nas embalagens de iogurtes líquidos (garrafas) e dos iogurtes gregos (copos), a sua esterilização é feita através de peróxido de hidrogénio. No caso dos iogurtes gelificados e batidos, o copo de plástico é moldado e esterilizado através da utilização de calor.

Após o enchimento, as embalagens são seladas, datadas e embaladas em caixas de cartão até ao coletor, seguindo-se a paletização.

4.6. Paletização

Nesta etapa são formadas as paletes, sendo cada uma constituída por 27 pilhas de iogurtes, em caixas de cartão. O trajeto até ao paletizador, demora cerca de 3 a 5 minutos, sem que haja paragens durante o processo.

As paletes dos iogurtes batidos e líquidos, no fim de estarem devidamente etiquetadas, são encaminhadas para o túnel de frio por cerca de 180 minutos a uma temperatura de 0 a 5ºC. As paletes de iogurtes gelificados são primeiramente encaminhadas para a estufa a uma temperatura de 40±1ºC, onde ocorre a fermentação do produto dentro do copo (embalagem comercial). A fermentação ocorre durante algumas horas, onde se vai medindo o pH até que este atinja o valor pretendido para a obtenção do iogurte. Ao atingir este valor (designado de pH de corte), o processo fermentativo é interrompido através de um arrefecimento. Após a fermentação, estes são igualmente encaminhados para o túnel de frio.

4.7. Arrefecimento e armazenamento

A temperatura é um parâmetro crítico para a qualidade organolética e microbiológica do produto.

O produto final é então armazenado em câmaras de frio com temperatura controlada, de 0 a 6 ºC, durante um período de 24 horas denominado de quarentena. Durante este tempo são recolhidas amostras do produto acabado, com o intuito de serem submetidas a análises laboratoriais que integram o controlo de qualidade do produto.

4.8. Controlo de qualidade

O iogurte, designado de produto acabado, é submetido a diversas análises laboratoriais para garantir a sua qualidade e segurança alimentar. São analisadas as propriedades organoléticas, as propriedades físico-químicas, são realizadas análises microbiológicas e testes de temperatura (teste de stress) para garantir que o produto possui todas as características desejadas dentro dos objetivos e que não possui qualquer contaminação ou risco de consumo (Figura 4). Após estas análises, é que o produto é considerado seguro para ser expedido para o mercado e ser consumido.

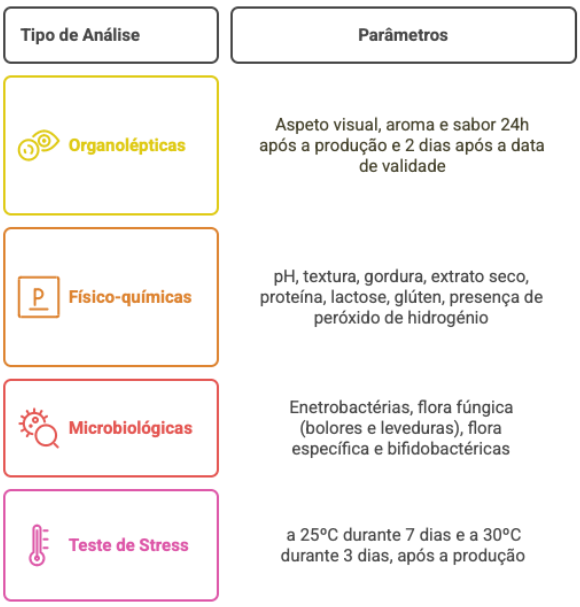


Figura 4 – Análises laboratoriais realizadas no produto acabado.

4.9. Expedição

Após as análises laboratoriais estarem de acordo com os objetivos, o produto acabado está pronto para ser expedido. O produto é expedido em camiões

refrigerados, para garantir as suas propriedades e qualidades microbiológicas e físico-química. Além disso, é efetuada uma inspeção aos camiões antes do carregamento, de forma a certificar a higiene do mesmo e a temperatura adequada.

5. Materiais e métodos

O presente trabalho teve como objetivo a calibração e o ajuste do equipamento MilkoScan™ FT3, como foco no parâmetro de proteína. Para tal, foi realizado o método Kjeldahl como referência utilizando o equipamento da fábrica, aplicado tanto em semielaborados como em produto acabado, com posterior comparação aos resultados obtidos através de um laboratório externo.

5.1. Recolha de amostras

Para a realização deste estudo, foram estudadas diferentes amostras em cada etapa. Na primeira etapa foi estudada uma amostra de uma receita de iogurte, que foi posteriormente dividida em outras três com intenção de alterar os seus valores: A (sem qualquer adulteração), B (com adição de água) e C (com adição de leite em pó, nata e açúcar). Na segunda etapa foram estudadas 30 amostras de produto acabado (iogurte) de diferentes receitas. Na terceira e última etapa foram estudadas duas receitas de iogurte: a mesma da primeira etapa e outra que sofreu as mesmas adulterações.

Tabela 1 – Amostras utilizadas e analisadas em cada etapa do estudo.

Seleção Pastilhas Kjeldahl (1ª Etapa)	**Calibração Destilador Kjeldahl (2ª Etapa)**	**Calibração Milkoscan™ FT3 (3ª Etapa)**
Receita 1: - A (sem adulterações) - B (adição de água) - C (adição de leite em pó, nata e açúcar)	30 amostras de produto acabado	Receita 1 e Receita 2 com o mesmo tipo de adulterações

Para a determinação da proteína foi realizado o método Kjeldahl (NP 1986, 1991). Este método laboratorial permite a determinação do azoto total em materiais biológicos e não biológicos, fundamenta-se na destruição da matéria orgânica com ácido sulfúrico concentrado, em presença de um catalisador e por ação do calor, com posterior destilação e titulação do azoto proveniente da amostra (Sequeira, 2014).

Nesta determinação foram utilizados dois equipamentos: Digestor de Kjeldahl SH420F e Destilador de proteínas VAPODEST 500. O digestor está ligado a um outro aparelho chamado Scrubber S402, que tem como objetivo neutralizar os fumos ácidos e outros gases residuais nocivos gerados pela digestão.

Começou por se ligar o digestor para este ir aquecendo até chegar a uma temperatura de 420ºC, assim como o Scrubber.

Em seguida foram preparadas as amostras. Para tal, foram separados e numerados os tubos conforme a quantidade de amostras a analisar. Efetuaram-se dois testes em branco, onde se adicionaram 2,5 g de água destilada em cada um dos dois tubos.

Inicialmente, procedeu-se à pesagem da seringa numa balança analítica devidamente calibrada, realizando-se posteriormente a tara do equipamento. O produto foi ligeiramente agitado para garantir a homogeneização da amostra, sendo de seguida aspirada a quantidade necessária com a seringa, evitando a formação de bolhas de ar.

A massa da amostra a utilizar foi ajustada de acordo com o teor de proteína indicado no rótulo e com os objetivos analíticos: para produtos com teor proteico superior a 4%, pesaram-se aproximadamente 1,5 ± 0,01 g, enquanto para produtos com teor inferior a 4% foram pesados cerca de 2,5 ± 0,01 g. O valor correspondente à primeira pesagem foi registado, e o conteúdo da seringa transferido cuidadosamente para o tubo de digestão, assegurando que não permanecessem resíduos nas suas paredes.

De seguida, a seringa foi novamente pesada, registando-se o valor da segunda pesagem para determinação exata da massa efetiva de amostra. Este procedimento foi repetido para todas as amostras em análise.

Em cada tubo de digestão foram adicionadas pastilhas catalisadoras de Kjeldahl (*Kjeltabs*), de modo a facilitar a decomposição da matéria orgânica durante a digestão. Por fim, adicionaram-se 15 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 97% a cada tubo, os quais foram colocados no digestor a 420 °C durante 1 hora, assegurando a completa conversão do azoto orgânico em sulfato de amónio.

Após a digestão, estes são deixados a arrefecer e passa-se à destilação e titulação no Destilador de proteínas VAPODEST 500. Este equipamento possui três depósitos de armazenamento importantes para que seja efetuada a destilação e a titulação: um depósito de hidróxido de sódio (NaOH), um depósito com água destilada (H_2O) e um depósito com ácido bórico (H_3BO_3) que é a solução recetora.

Os tubos são colocados no equipamento, é submetido o valor pesado da amostra inicialmente (1ª pesagem a subtrair pela 2ª pesagem) e procede-se à destilação. Após a digestão, o sistema adiciona hidróxido de sódio e ácido bórico, promovendo a libertação ao amoníaco. A titulação é realizada de forma simultânea e automatizada, com deteção do ponto final por elétrodo de pH e dosagem do ácido de titulação. Este processo demora aproximadamente 4 minutos por cada tubo.

O fator de conversão proteico difere conforme a amostra a analisar, no caso do produto acabado (iogurte) é de 6,25 e no caso das receitas é de 6,38, sendo assim apresentado o resultado em % de proteína bruta (PB).

5.2. Determinação do teor de proteína por MilkoScan™ FT3

A composição química das amostras foi determinada utilizando o equipamento MilkoScan™ FT3 (FOSS Analytical, Dinamarca), que funciona com base na espectroscopia de infravermelhos com transformada de Fourier (FTIR – Fourier Transform Infrared Spectroscopy). Este método permite a análise simultânea e quantitativa de diversos constituintes do leite e de produtos lácteos, incluindo proteína, gordura, lactose, sólidos totais (ST), sólidos não gordos (SNG), e adulterantes, como ureia, sem necessidade de pré-tratamento químico das amostras. O princípio de funcionamento do MilkoScan™ FT3 assenta na absorção seletiva da radiação infravermelha pelas ligações moleculares dos compostos presentes, sendo que cada substância apresenta um espectro de absorção característico, funcionando como uma “impressão digital” que permite identificar e quantificar cada constituinte a partir da comparação com curvas de calibração internas.

Para a análise, foram recolhidos aproximadamente 100 mL de cada amostra, correspondentes às diferentes formulações em estudo, que foram acondicionadas em copos estéreis devidamente identificados. As amostras foram homogeneizadas e mantidas em condições controladas até ao momento da análise. Antes da medição, as amostras foram aquecidas em banho-maria a 41 °C durante 30 minutos, assegurando uma temperatura uniforme e viscosidade adequada, além de prevenir a formação de bolhas de ar durante a aspiração automática pelo equipamento.

Durante a análise, cada amostra foi submetida a múltiplas medições consecutivas, fornecendo valores médios para o parâmetro em análise, a % de proteína. Os resultados foram armazenados na memória interna do equipamento e posteriormente exportados para um computador via dispositivo USB, sendo organizados em folhas de cálculo Excel para tratamento e comparação dos dados.

O método FTIR aplicado pelo MilkoScan™ FT3 apresenta vantagens significativas em relação aos métodos analíticos convencionais, destacando-se pela rapidez, precisão, economia de reagentes e de tempo, bem como pela capacidade de detetar adulterações e padronizar a qualidade do leite e de produtos lácteos. Assim, a utilização desta tecnologia é uma necessidade da indústria para a otimização do controlo de qualidade e para a manutenção da consistência dos produtos finais.

Devido à aquisição de um novo equipamento analítico, tornou-se necessária a calibração das metodologias de determinação de proteína, nomeadamente entre o

método de Kjeldahl e o Milkoscan. A calibração visa garantir a comparabilidade e a fiabilidade dos resultados, uma vez que o método de referência (Kjeldahl) se baseia na determinação do azoto total presente na amostra, enquanto o MilkoScan™ FT3 apresenta o resultado através de espectroscopia de infravermelho. Desta forma, foi realizado um estudo de correlação entre ambos os métodos, permitindo assim ajustar a curva de calibração do MilkoScan™ FT3 de modo a assegurar leituras fiáveis e consistentes.

5.3. Validação do processo de digestão do método de Kjeldahl – seleção de pastilhas catalisadoras

A determinação do teor de proteína total em produtos lácteos foi realizada através do método de Kjeldahl, amplamente reconhecido como o procedimento de referência para quantificação de azoto em alimentos. Este método baseia-se na conversão do azoto orgânico presente na amostra em iões amónio (NH_4^+), mediante digestão ácida em meio fortemente oxidante, seguida de destilação e titulação.

A etapa de digestão é particularmente crítica, uma vez que deve assegurar a oxidação completa de toda a matéria orgânica — proteínas, lípidos, lactose e outros constituintes — garantindo que todo o azoto seja convertido em formas quantificáveis e evitando perdas que possam comprometer a exatidão dos resultados (Barbano *et al*., 1990).

Para potenciar a eficiência desta digestão, recorre-se à adição de pastilhas de Kjeldahl, que são misturas sólidas com funções catalisadoras e termorreguladoras. Estas pastilhas são geralmente compostas por sulfato de potássio (K_2SO_4), que eleva o ponto de ebulição do ácido sulfúrico, e por sais metálicos catalisadores, como o sulfato de cobre ($CuSO_4$) ou o selénio (Se), que promovem a oxidação acelerada da matéria orgânica (Grappin & Horwitz, 1988). O aumento do ponto de ebulição proporcionado pelo K_2SO_4 permite que a digestão decorra a temperaturas mais elevadas sem que ocorra evaporação prematura do ácido, assegurando uma degradação mais eficaz de compostos orgânicos complexos, especialmente os de natureza lipídica e proteica. O catalisador metálico, por sua vez, reduz a energia de ativação da reação e acelera a conversão do carbono e do hidrogénio da matéria orgânica em dióxido de carbono e água, promovendo a clarificação do digestato num intervalo de tempo mais curto (Silva *et al*., 2016).

Em matrizes complexas como o leite e os seus derivados, compostas por elevados teores de proteínas e gordura, a eficiência da digestão depende fortemente da composição da pastilha catalisadora. Uma formulação adequada assegura que a digestão seja completa, originando uma solução límpida e incolor — sinal de mineralização total — enquanto composições inadequadas podem gerar resíduos carbonizados ou digeridos escuros, indicadores de oxidação incompleta (Grappin & Horwitz, 1988). Além disso, a proporção entre o sal e o catalisador

metálico influencia significativamente o tempo necessário para a digestão e a recuperação total do azoto. Estudos demonstraram que relações mais elevadas de sal para catalisador, como 20:1, são mais eficazes em amostras com alto teor orgânico, como o leite, uma vez que permitem operar a temperaturas mais altas e com menor formação de espuma ou carbonização superficial (Silva *et al.,* 2016).

Assim, a seleção e a composição das pastilhas de Kjeldahl são determinantes na qualidade e fiabilidade dos resultados analíticos em amostras lácteas. Estas asseguram uma digestão rápida, eficiente e completa, reduzindo o tempo de mineralização e melhorando a precisão das medições de azoto total e, consequentemente, do teor de proteína.

Foram testados dois tipos de pastilhas da marca FOSS, sendo que a diferença entre si tem por base a sua composição química. Enquanto as pastilhas da escola (ESA) têm uma composição de Cu/3,5, (Cu (3,5 g K_2SO_4 e 0.4 g $CuSO_4$ por pastilha, nº.15270018) as pastilhas utilizadas na fábrica (Schreiber) têm uma composição CT/5 (5 g K_2SO_4 , 0,15 g TiO_2 e 0,15 g $CuSO_4$ x $5H_2O$ por pastilha, nº.60046514). Este estudo teve como objetivo identificar e selecionar as pastilhas mais adequadas aos produtos em análise, nomeadamente o iogurte e o leite.

Para tal foi utilizada uma receita, que foi adulterada para ser possível observar as diferenças em cada análise. A amostra A corresponde à receita no seu estado original sem qualquer adulteração, a amostra B corresponde à receita com adição de água e a amostra C corresponde à receita com adição de leite em pó, nata e açúcar como mostra a tabela 2. O ensaio doi realizado em triplicado.

Tabela 2 – Composição química das amostras da receita A utilizadas na seleção das pastilhas Kjeldahl.

Ingrediente	Amostra A	Amostra B	Amostra C
Matéria Prima	✓	✓	✓
Leite em pó	-	-	2 g
Nata	-	-	2 g
Açúcar	-	-	3,5 g
Água	-	5 mL	-

5.4. Calibração do método Kjeldahl

Para a calibração do destilador interno da fábrica e após a seleção das pastilhas mais adequadas para a digestão das proteínas, foram analisadas 30 amostras distintas de produto acabado. Para isso, foi aplicado o método oficial de Kjeldahl nas instalações da fábrica, sendo posteriormente comparados os resultados obtidos com os de um laboratório externo (CATAA). Esta comparação teve como objetivo verificar se o destilador utilizado na Schreiber realizava corretamente as medições das percentagens de proteína das amostras.

5.5. Calibração do Milkoscan™ FT3

Para a calibração do MilkoScan™ FT3 foi realizada a determinação do teor de proteína no método rápido e comparado com o teor de proteína obtido pelo método convencional. Para isso usou-se a mesma metodologia aplicada na seleção das pastilhas. Analisaram-se duas receitas diferentes: a mesma da primeira etapa (que corresponde a receita A) e outra que sofreu também as mesmas adulterações (receita B) como evidencia a tabela 3.

Tabela 3 – Composição química das amostras utilizadas na calibração do Milkoscan.

	Receita A			Receita B		
Ingrediente	Amostra A	Amostra B	Amostra C	Amostra A	Amostra B	Amostra C
Matéria Prima	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Leite em pó	-	-	2 g	-	-	2 g
Nata	-	-	2 g	-	-	2 g
Açúcar	-	-	3,5 g	-	-	3,5 g
Água	-	5 mL	-	-	5 mL	-

6. Resultados e discussão

6.1. Seleção de pastilhas de Kjeldahl

Primeiramente houve a necessidade de definir as condições de digestão da amostra, nomeadamente quanto às pastilhas de Kjeldahl.

Foram testados dois tipos de pastilhas da marca FOSS, as pastilhas da escola (ESA) e as da fábrica (Schreiber) teste estudo teve como objetivo identificar e selecionar as pastilhas mais adequadas aos produtos em análise, nomeadamente o iogurte e o leite.

Para tal foi utilizada uma receita, que foi adulterada para ser possível observar as diferenças em cada análise. A amostra A corresponde à receita no seu estado original sem qualquer adulteração, a amostra B corresponde à receita com adição de leite em pó, nata e açúcar e a amostra C corresponde à receita com adição de água.

A primeira abordagem estatística consistiu na aplicação da ANOVA (Tabela 1-Anexo I), considerando o tipo de pastilha como fator independente e as medições da proteína como variável dependente. Os resultados indicaram um valor alto de *p-value* = 0,164 > 0,05, o que significa que não existem diferenças significativas. A figura 5 mostra os valores médios e respetivas barras de erro. É possível observar que existe a mesma linearidade, mas que os valores são de facto bastante semelhantes. Assim, aceita-se a hipótese nula de igualdade entre as médias das medições.

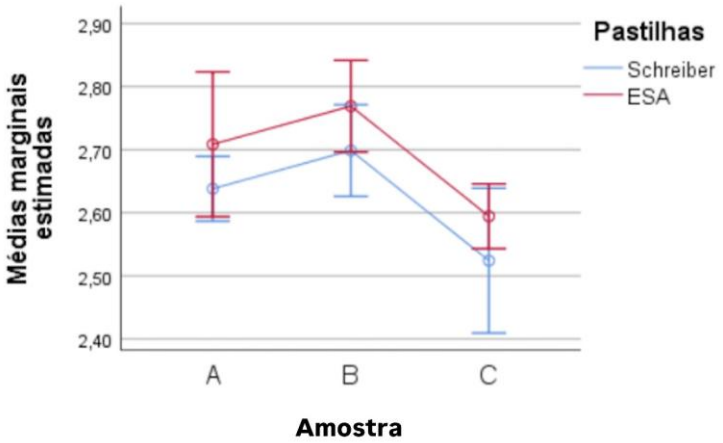


Figura 5 — Gráfico de linhas de médias marginais estimadas de medições entre os dois tipos de pastilhas.

Para reforçar esta conclusão, foi realizado um teste t (Tabela 2 - Anexo I) para amostras independentes, comparando diretamente apenas as pastilhas, desconsiderando as variações da receita. Este teste revelou um resultado exatamente igual, com um valor de *p-value* = 0,89, confirmando que as médias das medições são estatisticamente iguais.

Desta forma, ainda que os resultados sejam estatisticamente iguais (entre medições com os dois tipos de pastilhas), foi optado pelo uso das pastilhas da escola com a composição de Cu/3,5, uma vez que apresentaram um valor médio superior (ainda que não o seja estatisticamente) e iam de acordo com os objetivos apresentados em fábrica, e assim foi feito sempre o uso das mesmas para os testes seguintes.

De acordo com Barbano *et al.* (1990), a utilização de catalisadores à base de cobre, em substituição do mercúrio anteriormente empregado, mostrou excelente reprodutibilidade e exatidão em ensaios colaborativos internacionais com leite fluido, apresentando recuperações de azoto próximas de 100 %. A substituição por cobre não apenas reduziu os riscos ambientais e toxicológicos associados ao uso do mercúrio, como também manteve a eficiência da digestão, assegurando resultados consistentes e comparáveis aos obtidos com o método tradicional.

6.2. Calibração do destilador Kjeldahl

6.2.1. 1ª Calibração

De forma a proceder à calibração do destilador Kjeldahl da fábrica foram analisadas 30 amostras de produto acabado num ensaio paralelo com um laboratório externo. Aos resultados obtidos (figura 6) foi aplicado um teste t de duas amostras emparelhadas.

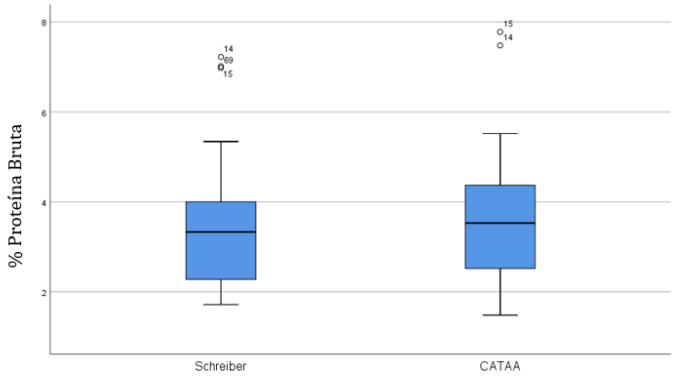


Figura 6 – Teor de proteína bruta (%) de produto acabado resultante do ensaio inter-laboratorial.

Os resultados obtidos, através de um teste t de amostras emparelhadas, mostram que existem diferenças significativas entre os dois ensaios, uma vez que o *p-value*=0,000 (Tabela 3 – Anexo I). É possível afirmar que o valor médio do CATAA é estatisticamente superior ao valor médio da Schreiber, ou seja, 3,55 > 3,31 (Tabela 4 – Anexo I).

A diferença entre as médias dos dois ensaios é bem visível na figura 7.

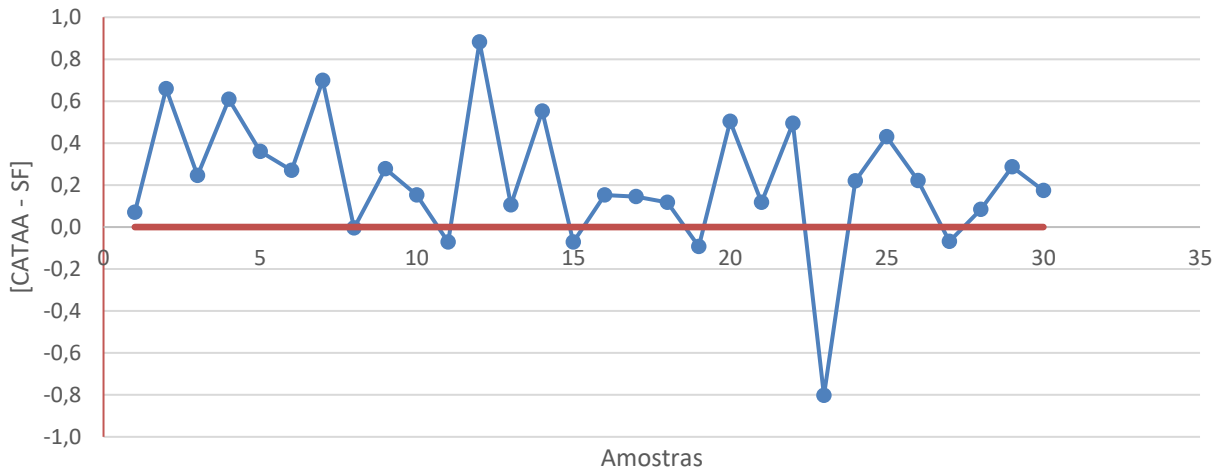


Figura 7 – Diferenças entre as médias do teor de proteína bruta das amostras analisadas pelo CATAA e SF-Schreiber Foods na 1ª Calibração, para um intervalo de confiança de 95%.

Como o intervalo de confiança da diferença entre as médias não inclui o valor zero, significa que os valores médios obtidos pelo CATAA e pela Schreiber, não são estatisticamente iguais, com 95% de confiança (Tabela 5 -Anexo I).

O objetivo passava por conseguir valores iguais, onde a diferença matemática fosse igual a zero. Neste caso, efetuado o teste estatístico que permitiu averiguar se a diferença entre os valores médios das amostras em par, pode ser igual a zero, (t-Student para uma amostra), chegamos à conclusão que os valores médios das diferenças variam num intervalo de valores que não inclui o zero, IC=[0,1386; 0,3316], logo não são considerados iguais e portanto a calibração do destilador não foi conseguida.

Note-se ainda que, o Intervalo de Confiança (IC) das diferenças foi calculado para [CATAA – SF]. Como no IC os limites são positivos (não inclui o valor zero), significa ainda que a leitura CATAA > Schreiber, reforçando oque foi anteriormente referido.

Desta forma, foi necessário rever outros parâmetros de modo que o equipamento da fábrica estivesse em bom funcionamento. Foram mudados todos os depósitos do equipamento, refeitas novas soluções e uma limpeza profunda.

6.2.2. 2ª Calibração

Após a realização das alterações referidas no ponto anterior, foram novamente analisadas 8 amostras num segundo ensaio inter-laboratorial (CATAA e Schreiber Foods). Para a análise dos dados voltou-se a aplicar um Test t de amostras emparelhadas e a correspondente diferença entre as médias dos dois laboratórios, para um intervalo de confiança de 95% (Tabela 6- Anexo I). Os resultados das diferenças das médias desta 2ª calibração estão apresentados na figura 8.

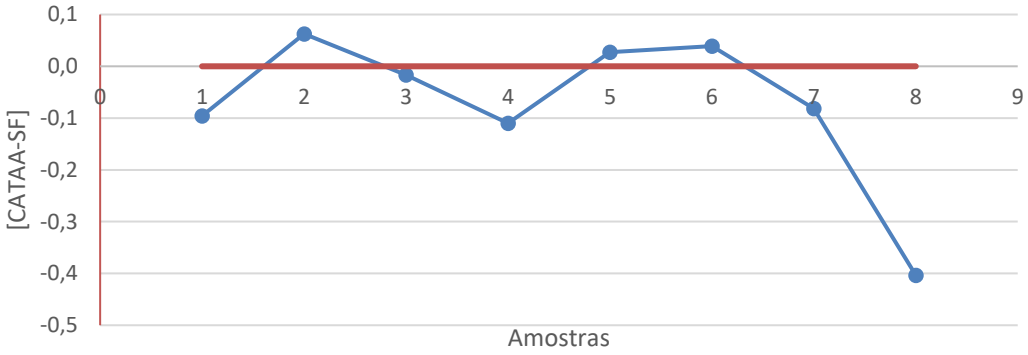


Figura 8 – Diferenças entre as médias do teor de proteína bruta das amostras analisadas pelo CATAA e SF-Schreiber Foods na 2ª Calibração, para um intervalo de confiança de 95%.

Tendo em conta os resultados apresentados na figura 8, verificou-se que o valor zero está incluído neste Intervalo de Confiança IC= [-0,0532; 0,1976], logo podemos considerar que as duas determinações do teor de proteína das amostras analisadas pelo CATAA e Schreiber Foods podem ser consideradas estatisticamente iguais, com 95% de confiança.

Assim, verificou-se que as todas as alterações realizadas para melhorar o desempenho do equipamento da Schreiber Foods, nomeadamente o destilador do método de Kjeldahl para a determinação do teor de proteína bruta foram eficazes e permitiram a calibração do equipamento como mostra a figura 9.

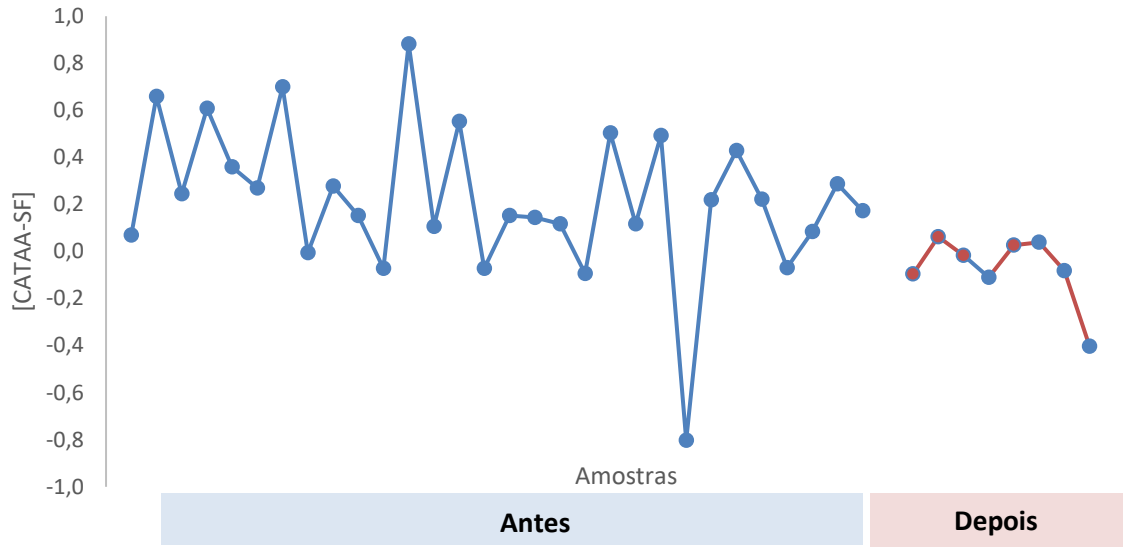


Figura 9 – Diferenças entre as médias do teor de proteína bruta das amostras analisadas pelo CATAA e SF-Schreiber Foods **Antes** e **Depois** da 2ª Calibração, para um intervalo de confiança de 95%.

Após a calibração do método convencional Kjeldhal houve a necessidade de calibrar e validar o MilkoScan™ FT3para o parâmetro teor proteína (%).

6.3. Calibração de Milkoscan

Após o destilador da fábrica estar em bom funcionamento, ajustado, calibrado, validado e a realizar as medições da percentagem de proteína bruta (PB) de forma correta, procedeu-se à comparação dos resultados deste método convencional com as leituras do equipamento Milkoscan. Para tal, foi efetuada uma análise estatística no SPSS para duas receitas diferentes: a mesma da primeira etapa (que corresponde a receita A (maior %PB) e outra que sofreu também adulterações, a receita B (menor %PB).

A figura 10 apresenta os resultados obtidos da comparação da %PB do Milksocan vs Kjeldahl.

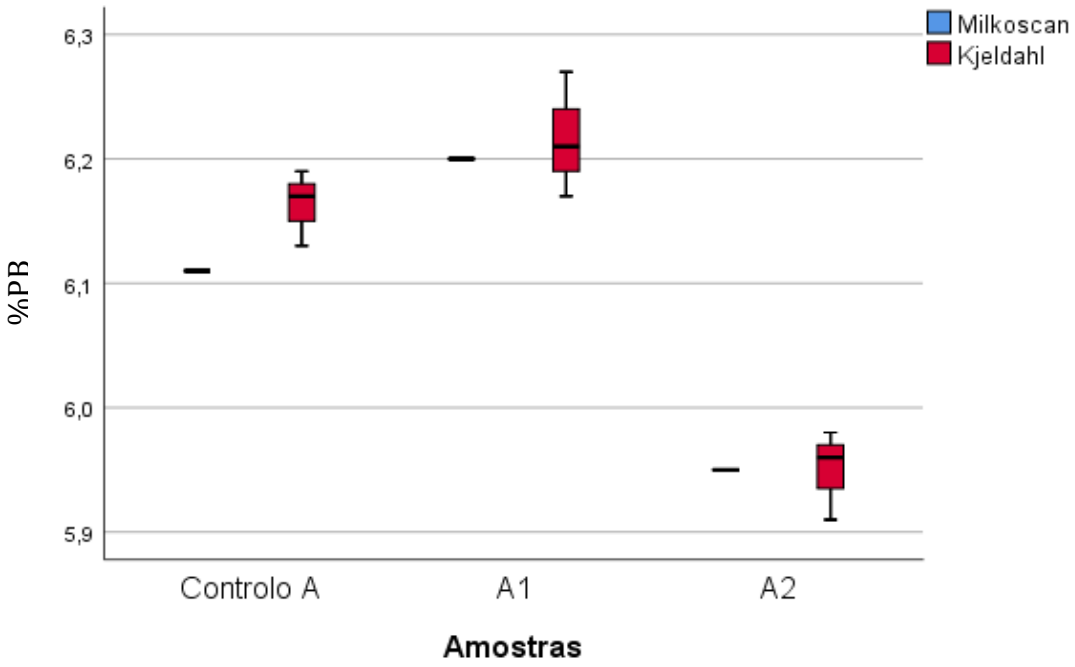


Figura 10 – Comparação do teor de Proteína Bruta (%PB) obtidos pelo Milksocan vs Kjeldahl para a receita A (teste t-Student amostras emparelhadas; p-value = 0,133 > 0,05).

Para a receita A foram usadas amostras cujo teor de PB rondou os 6%. Verificou-se que não existem diferenças significativas entre os pares de observações das amostras (controlo A, A1 e A2), para as leituras do MilkoScan™ FT3e do Kjeldahl (teste t-Student amostras emparelhadas; p-value = 0,133 > 0,05) (Tabela 7 – Anexo I).

Contudo, para a receita B, onde o teor de PB rondou os 2,6% existem diferenças significativas entre os pares de observações das amostras (controlo B, B1 e B2), para as leituras do MilkoScan™ FT3e do Kjeldahl (teste t-Student amostras emparelhadas; p-value = 0,004 < 0,05) (Tabela 8-Anexo I), como mostra a figura 11.

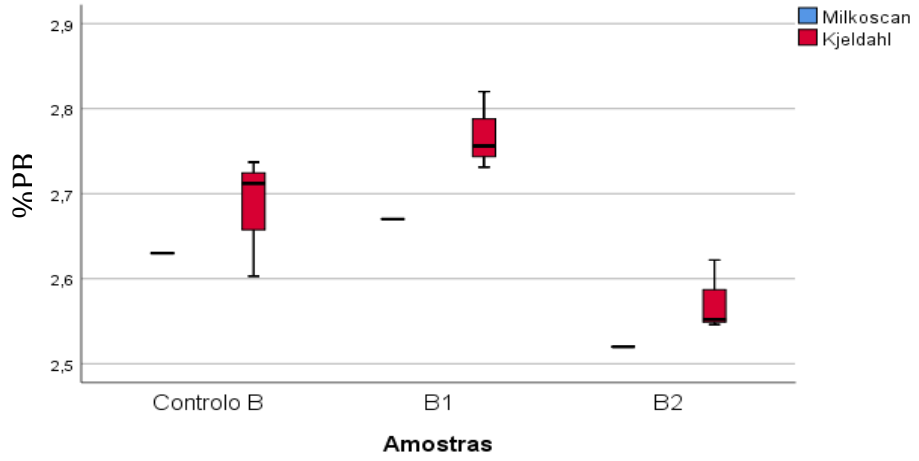


Figura 11 – Comparação do teor de Proteína Bruta (%PB) obtidos pelo Milksocan vs Kjeldahl para a receita B (teste t-Student amostras emparelhadas; p-value = 0,133 > 0,05).

Tendo em conta a comparação entre os obtidos pelo Milksocan vs Kjeldahl para a receita B, verificou-se que os valores do MilkoScan™ FT3mostraram ser significativamente inferiores.

Estes resultados indicam que para valores inferiores a 3% de PB o Milksocan apresenta valores significativamente inferiores que os obtidos pelo método Kjeldahl sugerindo que o MilkoScan™ FT3 apresenta um limite de quantificação de 3% para a proteína bruta e/ou que requer uma calibração e validação para valores de proteína abaixo dos 3%.

7. Considerações finais

O estágio curricular na Schreiber Foods Portugal S.A. permitiu aplicar e consolidar conhecimentos adquiridos ao longo do curso de Biotecnologia Alimentar, integrando-os em contexto industrial.
O trabalho de calibração e validação do parâmetro de proteína revelou-se fundamental para garantir resultados analíticos fiáveis e a uniformização dos controlos de qualidade. A otimização do método Kjeldahl e o ajuste do MilkoScan™ FT3 permitiram aumentar a precisão das medições e reforçar a confiança nos resultados utilizados no processo produtivo.
A realização deste estudo evidenciou a importância da correta calibração dos equipamentos laboratoriais e do cumprimento rigoroso de procedimentos analíticos na indústria alimentar, assegurando a conformidade dos produtos com os padrões de qualidade exigidos.
Para além da vertente técnica, este estágio proporcionou um enriquecimento pessoal e profissional, através da integração numa equipa dinâmica e do contacto

direto com práticas reais da indústria láctea, reforçando a motivação para o futuro exercício da profissão na área da qualidade e segurança alimentar.

8. Referências bibliográficas

Abrahamsen, R. & Holmen T. (1980) *Effect of increased total solids on the viscosity and texture of yoghurt*. Journal of Dairy Research.

Agarwal, S.; Beausire, R. L.; Patel, S. & Patel, H. (2015) *Innovative uses of milk protein concentrates in product development*. Journal of Food Science.

Associação Portuguesa dos Nutricionistas. (2014). *O iogurte no ciclo de vida* (Coleção e-books APN nº 33). https://www.apn.org.pt/documentos/ebooks/Ebook_Iogurte_Ciclo_de_Vida.pdf

Babio N, M.-S. G.-S. (2017) Más allá del valor nutricional del yogur: ¿un indicador de la calidad de la dieta? pp. 26-30. doi: http://dx.doi.org/10.20960/nh.1567

Barbano, D. M., Clark, J. L., Dunham, C. E., & Fleming, J. R. (1990) Kjeldahl method for determination of total nitrogen content of milk: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 73(6), 849–859.

Boirie, Y. *et al.* (1997) *Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 94, p. 14930-14935.

Bong, D. D. & Moraru, C.I. (2014) *Use of micellar casein concentrate to fortify yoghurt: Textural and sensorial properties*. Journal of Dairy Science, 97(3), p. 1189-1201.

Chever, S.; Guyomarch'h, F.; Beaucher, E. & Famelart, M. H. (2014) *Influence of whey protein denaturation on rheological properties of acid milk gels*. International Dairy Journal, 35, p. 65-73.

Dalgleish DG, Corredig M. (2012) The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing. Annu Rev Food Sci Technol. 3:449-67. doi: 10.1146/annurev-food-022811-101214. PMID: 22385169.

Dalziel, J. E., Young, W., McKenzie, C. M., Haggarty, N. W., & Roy, N. C. (2017) *Gastric Emptying and Gastrointestinal Transit Compared among Native and Hydrolyzed Whey and Casein Milk Proteins in an Aged Rat Model*. Nutrients, 9(12), 1351.

Demazeaud, M. (1989) *Influence des traitements technologiques sur les bactéries lactiques. Implications technologiques*. Les laits fermentés. Actualité de la recherché. John Libbey Eurotext Ltd, pp. 119-126.

Desai, N. T.; Shepard, L. & Drake, M. A. (2013) *Sensory properties and consumer perception of Greek yoghurt*. Journal of Dairy Science, 96, p. 7454-7466.

Donovan, S. M. (2014) *Introduction to the yogurt in nutrition initiative and the First Global Summit on the health effects of yogurt.* doi:10.3945/ajcn.113.073429

Fox, P. F. & Kelly, A. L, (2004) *The caseins: Structure, stability, and functionality*. In: Advanced Dairy Chemistry: Volume 1: Proteins. 3.ª ed. New York: Springer.

Garcia, C. (2023) *Estudo de possíveis fatores que influenciam a presença de soro em iogurtes sólidos.* Instituto Politécnico de Castelo Branco pela Escola Superior Agrária. Obtido de https://minerva.ipcb.pt/search?spc.page=1&query=Estudo%20de%20poss%C3%ADveis%20fatores%20que%20influenciam%20a%20presen%C3%A7a%20

Gómez, M., Ledoux, D.R., & Palacios, M. (2018) *Proteins in yogurt: nutritional and functional aspects*. Food Research International, 110, 142–152. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694618302012

Grappin, R., & Horwitz, W. (1988) *Copper catalyst Kjeldahl method for milk protein: collaborative study*. Journal of AOAC International, 71(5), 899–903.

Guyomarc'h, F.; Law, A. J. R. & Dalgleish, D. G. (2003a) *Formation of soluble and micellar complexes between caseins and whey proteins during heat treatment of milk*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, p. 3273-3281. https://www.scielo.br/j/cta/a/hqyRCSyd7JHLf8cs3qwFWxg/?format=pdf&lan

Guyomarc'h, F. Law, A. J. R. & Dalgleish, D. G. (2003b) *Interactions between whey proteins and casein micelles during heat treatment of milk at high temperatures*. International Dairy Journal, 13, p. 655-663.

Jørgensen, C. E. (2015) *Effect of whey protein to casein ratio and heat treatment on the structure and sensory properties of high-protein yoghurt*. International Dairy Journal, 47, p. 78-88.

Jørgensen, C. E. (2017) *Effect of casein micelle size on the gelation properties of milk and yoghurt texture*. International Dairy Journal, 65, p. 56-64.

Jørgensen, C. E. (2019) — *Processing of high-protein yoghurt – A review*. International Dairy Journal, 88, p. 42-59.

Lee, W. and Lucey, J. (2010) *Formation and Physical Properties of Yogurt.* Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 23, 1127-1136. https://doi.org/10.5713/ajas.2010.r.05

Lucey, J. A. & Singh, H. (1997) Formation and physical properties of acid milk gels: A review. Food Research International, 30(7), p. 529-542.

Lucey, J. A.; Munro, P. A. & Singh, H. (1999) *Effects of heat treatment and whey protein addition on the rheological properties and structure of acid milk gels*. International Dairy Journal, 9, p. 275-279.

Ministérios da Agricultura e do Comércio e Turismo Portaria nº742/92. (1992). Diário da República nº169

Mistry, V. V. & Hassan, H. N. (1992) *Influence of milk protein concentrate and nonfat dry milk fortification on the properties of nonfat yoghurt*. Journal of Dairy Science, 75, p. 947-957.

Mordor Intelligence. (2025) *Yogurt Market Size & Share Analysis – Forecasts to 2030*. https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/yogurt-market

Mulet-Cabero, A.-I., Torcello Gomez, M., Saha, S., Mackie, A. R., Wilde, P. J., & Brodkorb, A. (2020) *Impact of caseins and whey proteins ratio and lipid content on in vitro digestion and ex vivo absorption*. Food Chemistry, 319, 126514.

Observatório Agroalimentar. (2024) *Fileira dos Laticínios*. https://observatorioagroalimentar.gov.pt/fileira/laticinios/

Rodas, M. A. (2001) *Caracterização físico-química, histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas.* Campinas. https://www.scielo.br/j/cta/a/hqyRCSyd7JHLf8cs3qwFWxg/?format=pdf&lang=ptm

Schkoda, P., Hechler, A., & Hinrichs, J. (2001) *Influence of the protein content on structural characteristics of stirred fermented milk*. *Milchwissenschaft – Milk Science International, 56*(1), 19–22.

Silva, R. A., Costa, J. D., & Almeida, P. S. (2016*) Efeito da composição do catalisador na determinação de nitrogénio total pelo método de Kjeldahl*. *Revista Brasileira de Química Analítica*, 10(2), 45–52.

Soustre, Y., Le Re ve rend, B., & Bodot, V. (2013) *Best of 2013: Yogurt special.* French National Dairy Council (CNIEL), Scientific and Technical Affairs Division. Disponível em https://fil-idf.org/wp-conten/uploads/2016/06/EXE-EN_BofYogurt-1.pdf

Tamine, A. Y. & Robinson, R. K. (2007) *Yoghurt: Science and Technology*. 3.ª ed. Cambridge: Woodhead Publishing.

Tipton, K. D. *et al.* (2007) *Stimulation of net muscle protein synthesis by whey protein ingestion before and after exercise*. American Journal of Physiology, 292, p. E71-E76.

Uriot, O., Denis, S., Junjua, M., Roussel, Y., Dary-Mourot, A. and Blanquet-Diot, S. (2017) *Streptococcus thermophilus: from Yogurt Starter to a New Promising Probiotic Candidate?* Journal of Functional Foods, 37, 74-89. https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.07.038

Anexo I

Tabela 1 – Tabela ANOVA para a seleção de pastilhas Kjeldahl.

Testes de efeitos entre sujeitos

Variável dependente: Medições

Origem	Tipo III Soma dos Quadrados	gl	Quadrado Médio	F	Sig.
Modelo corrigido	,068[a]	3	,023	6,633	,005
Intercepto	126,930	1	126,930	36946,658	,000
Pastilhas	,007	1	,007	2,160	,164
Receita	,068	2	,034	9,929	,002
Erro	,048	14	,003		
Total	127,047	18			
Total corrigido	,116	17			

a. R Quadrado = ,587 (R Quadrado Ajustado = ,499)

Tabela 2 – Teste t para amostras independentes.

Teste de amostras independentes

		Teste de Levene para igualdade de variâncias		teste-t para Igualdade de Médias						
									95% Intervalo de Confiança da Diferença	
		Z	Sig.	t	df	Sig. (2 extremidades)	Diferença média	Erro padrão de diferença	Inferior	Superior
Medições	Variâncias iguais assumidas	,736	,403	,141	16	,890	,00567	,04019	-,07954	,09087
	Variâncias iguais não assumidas			,141	15,062	,890	,00567	,04019	-,07997	,09131

Tabela 3 – Teste t para amostras emparelhadas.

Teste de amostras emparelhadas

		Diferenças emparelhadas							
					95% Intervalo de Confiança da Diferença				
		Média	Erro Desvio	Erro padrão da média	Inferior	Superior	t	df	Sig. (2 extremidades)
Par 1	Schreiber - CATAA	-,235103	,452640	,048528	-,331574	-,138633	-4,845	86	,000

Tabela 4 – Estatísticas de amostras emparelhadas.

Estatísticas de amostras emparelhadas

		Média	N	Erro Desvio	Erro padrão da média
Par 1	Schreiber	3,31432	87	1,163250	,124713
	CATAA	3,5494	87	1,18857	,12743

Tabela 5 – Diferenças das médias entre os dois ensaios da 1ª calibração.

Teste de uma amostra

	Valor de Teste = 0					
	t	df	Sig. (2 extremidades)	Diferença média	95% Intervalo de Confiança da Diferença Inferior	Superior
[CATAA-Schreiber]	4,845	86	,000	,23510	,1386	,3316

Tabela 6 – Diferenças das médias entre os dois ensaios da 2ª calibração.

Teste de uma amostra

	Valor de Teste = 0					
	t	df	Sig. (2 extremidades)	Diferença média	95% Intervalo de Confiança da Diferença Inferior	Superior
[CATAA-Schreiber]	1,191	23	,246	,07221	-,0532	,1976

Tabela 7 – Comparação do teor de Proteína Bruta (%PB) obtidos pelo Milksocan vs Kjeldahl para a receita A

Estatísticas de amostras emparelhadas

		Média	N	Desvio padrão	Erro padrão da média
Par 1	Milkoscan	6.0867	9	0.10966	0.03655
	Kjeldahl	6.1100	9	0.12698	0.04233

Correlações de amostras emparelhadas

		N	Correlação	Sig.
Par 1	Milkoscan & Kjeldahl	9	0.948	0.000

Teste de amostras emparelhadas

		Diferenças emparelhadas					t	df	Sig. (2 extremidades)
		Média	Desvio padrão	Erro padrão da média	95% Intervalo de Confiança da Diferença Inferior	Superior			
Par 1	Milkoscan - Kjeldahl	-0.02333	0.04183	0.01394	-0.05549	0.00882	-1.673	8	0.133

Tabela 8 – Comparação do teor de Proteína Bruta (%PB) obtidos pelo Milksocan vs Kjeldahl para a receita B

Estatísticas de amostras emparelhadas

		Média	N	Desvio padrão	Erro padrão da média
Par 1	Milkoscan	2.6067	9	0.06727	0.02242
	Kjeldahl	2.6754	9	0.09727	0.03242

Correlações de amostras emparelhadas

		N	Correlação	Sig.
Par 1	Milkoscan & Kjeldahl	9	0.858	0.003

Teste de amostras emparelhadas

		Diferenças emparelhadas					t	df	Sig. (2 extremidades)
		Média	Desvio padrão	Erro padrão da média	95% Intervalo de Confiança da Diferença Inferior	Superior			
Par 1	Milkoscan - Kjeldahl	**-0.06878**	0.05250	0.01750	-0.10913	-0.02842	-3.930	8	0.004

Anexo II

Análises extra realizadas no laboratório:

- **Microbiologia das natas:**

  A análise microbiológica das natas efetua-se através da quantificação de duas culturas microbianas: enterobactéricas e os germes totais. Para tal, são utlizadas as placas Petrifilm EB e as placas Compact Dry TC, respetivamente. Em ambas as culturas, a inoculação é feita através da aplicação direta de 1 mL de amostra, sem necessidade de diluição prévia. As placas de contagem de enterobactérias são incubadas numa estufa a 37±1ºC durante um período de 24 horas, enquanto as placas de contagem de germes totais são incubadas na estufa a uma temperatura de 30±1ºC durante um período de 48 horas. Após o tempo de incubação, os resultados indicam a carga microbiana presente na amostra, através da formação de colónias.

- **Redutase das natas:**

  Começa-se por recolher a amostra num copo estéril de 100 mL. Após a recolha, agita-se a amostra de forma leve evitando assim a formação de espuma. Retira-se cerca de 10 mL de amostra para um tubo estéril e é adicionado 1 mL de azul de metileno ao mesmo tubo. O tubo é fechado e agita-se o mesmo levemente (invertendo a sua posição duas vezes). Colocam-se os tubos em banho-maria – tubos de amostra a analisar + tubo em branco (só contém nata). Os tubos são acompanhados a cada duas horas, com início às duas horas de incubação no banho-maria e finalização às sete horas, verificando-se sempre se houve alguma alteração de cor. O objetivo desta análise consiste em quantificar a carga microbiana das natas. O resultado observa-se através da mudança de cor: as bactérias consomem o azul de metileno, significando assim que quanto menor for a intensidade da cor azul, maior é a carga microbiana presente.

- **Impurezas no açúcar:**
  Para determinar as impurezas no açúcar, começa por se dissolver, com uma vareta de vidro, 100 g de açúcar num recipiente contendo de 300 mL de água destilada a 60-70ºC. Coloca-se uma membrana no funil de *büchner* encaixado no Kitassato. Filtra-se a solução açucarada sob vácuo moderado e enxagua-se o recipiente com a água filtrada para que se recuperem todas as impurezas. Retira-se a membrana, com precaução para não se perder os pontos negros, e coloca-se numa placa de Petri sobre uma superfície branca. Compara-se a membrana com a escala de impurezas do açúcar e anota-se o resultado entre categorias em referência à categoria mais próxima. O resultado considera-se OK se se encontrar na categoria 0 ou 1.

- **Pesquisa de glúten:**

Começa-se com a homogeneização e pesa-se 1 g de amostra para um tubo de teste. Adiciona-se ao tubo de teste 10 mL de Solução de Extração. O tubo é incubado durante 40 minutos a temperatura ambiente na roda de agitação na velocidade máxima (os tubos têm de ser contrabalançados). Centrifuga-se a amostra durante 10 minutos a 1500 rotações por minuto, e após esse tempo, retira-se o tubo com uma pinça para não se inverter o tubo. Depois da extração estar concluída, a análise deve ser realizada o mais rápido possível. É feita uma diluição 1:10, medindo 1 mL de amostra (parte líquida) e 0,9 mL da Soluçao de Diluição. Coloca-se 0,1 mL da amostra diluída num poço. Retira-se uma tira indicadora (sem tocar na parte inferior da mesma) e coloca-se a mesma verticalmente no poço da amostra diluída. Espera-se 10 minutos e observa-se o resultado da tira indicadora. O resultado considera-se negativo se for observada uma linha azul, positivo se forem observadas uma linha azul e uma linha vermelha, e inválido se não se observar linha nenhuma ou apenas uma linha vermelha.

- **Proteína do leite em pó:**
  É feita uma análise ao leite em pó para conferir se a proteína do produto registada no MilkoScan™ FT3corresponde ao valor da proteína no certificado externo, ou se é necessário calibrar o aparelho. Primeiro pesa-se cerca de 10 g de amostra para um copo estéril e depois adiciona-se 90 g de água destilada. Fecha-se o copo e abana-se bem até estar tudo muito bem dissolvido. Deixa- se repousar o copo cerca de 15 minutos para a amostra hidratar. Após esse tempo, agita-se a amostra levemente, passa-se no MilkoScan™ FT3e é registado o valor.

- **Lactose (Lactosens):**
  A análise à lactose é feita através de um programa chamado Lactosens. Primeiro adiciona-se 5 mL de amostra e 5 mL de solução tampão e mistura-se bem. Depositam-se 100 µL da solução preparada para o sensor específico para a leitura no equipamento Lactosense. O objetivo é confirmar se o valor de lactose obtido é igual ou inferior a 0,01%.