

Tânia Patrícia Maricato da Silva

Produção de manteiga de ovelha com Kefir e com probióticos

Orientador: Carlos José Dias Pereira

Coimbra, 2021

MESTRADO EM ENGENHARIA ALIMENTAR

Tânia Patrícia Maricato da Silva

Produção de manteiga de ovelha com Kefir e com probióticos

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Coimbra
para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau
de mestre em ENGENHARIA ALIMENTAR

Orientador: Carlos José Dias Pereira

Coimbra, 2021

Agradecimentos

Este trabalho significa o fechar de um ciclo: o fim do meu Mestrado em Engenharia Alimentar pela Escola Superior Agrária de Coimbra. Começo por agradecer a esta Instituição por me ter recebido tão bem. Desde o primeiro dia que aqui entrei, senti-me em casa.

Agradeço ao Professor Doutor Carlos Dias Pereira, meu orientador, a oportunidade de trabalhar e aprender ao seu lado, por todo o auxílio, disponibilidade e preocupação demonstrados ao longo do trabalho.

Aos funcionários dos lacticínios, professor David, D. Adélia, D. Lurdes, Sr. Arede e Sr. Viegas, por me terem integrado, pela paciência e por estarem sempre prontos para me ajudar. Um especial agradecimento ao Sr. Viegas pelos conselhos, companhia e ajuda na execução deste trabalho.

A todos os meus amigos, obrigada pelos momentos de risadas e diversão, pelo apoio e preocupação demonstrada ao longo destes últimos tempos.

Ao meu namorado, por me incentivar a querer sempre mais e melhor, pela paciência nos dias mais difíceis, por saber dizer as coisas certas nos momentos certos e sobretudo por estar sempre do meu lado.

Aos meus pais, porque sem eles nada disto teria sido possível, por acreditarem em mim desde o primeiro dia e por me apoiarem nos momentos menos bons.

Por fim, à minha irmã pelo amor que sempre me deu e pelo orgulho que tem em mim. Sem dúvida que é a minha maior inspiração.

Publicações

Parte deste trabalho foi apresentado sob Comunicação Oral com o título “Sheep’s butter made with cream fermented by different microbial cultures” no XV Encontro Química dos Alimentos - na Funchal, Madeira, de 5 a 7 setembro 2021.

Resumo

Este estudo teve como principal objetivo a produção de manteiga de ovelha com probióticos incluindo o Kefir.

Quatro vertentes de manteiga de ovelha foram através de 400 L de leite de ovelha usados na produção das natas.

As natas obtidas (60 L com 40% de gordura) foram pasteurizadas a 90 °C durante 5 min e divididas de igual forma. Antes da batedura, as natas foram divididas em quatro lotes de 15 L e inoculados, um com uma cultura aromática (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc* sp., *L. lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*), outro com uma cultura contendo uma mistura de microrganismos probióticos (*L. casei*, *L. acidophilus* e *L. rhamnosus*), outro com uma cultura de Kefir, contendo *Debaryomyces hansenii*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. lactis* biovar *diacetylactis*, *L. lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc* sp., *Streptococcus thermophilus* e o outro serviu de controlo não tendo sido inoculado.

Depois da batedura todas as manteigas foram lavadas e temperadas com sal a 1% (m/m). Os correspondentes leitelhos foram recolhidos e analisados durante 28 dias de armazenamento refrigerado.

As manteigas e os leitelhos foram analisados em termos de sólidos totais, gordura, proteína, cinzas, acidez titulável e cor (CIEL*a*b*). As amostras de manteiga foram avaliadas através de um teste de perfil de textura e por reologia. As análises microbiológicas incluíram Bactérias do Ácido Lático (BAL), *Lactococcus* e bolores e leveduras. As amostras também foram submetidas a uma análise sensorial por um painel de 30 membros não treinados.

As manteigas apresentaram níveis de minerais de 1%, de matéria seca entre 70 a 80%, cerca de 70 a 80% de gordura e níveis de proteína inferiores a 1%. No que toca à acidez a vertente não fermentada apresentou níveis de acidez menores ao longo do tempo, começando em 1 até 3% de ácido láctico e as vertentes fermentadas apresentaram níveis iniciais de 2,5 até 4,5 % de ácido láctico aos 90 dias.

Os leitelhos possuíam na sua composição 1% de minerais, 2 a 6% gordura e valores de proteína inferiores a 5%. Os leitelhos fermentados apresentaram maiores valores de viscosidade e de acidez que o leite não fermentado, rondando valores de acidez de 3,5 a 8,5 % de ácido láctico e valores de viscosidade de 25 a 225 cP.

Produziram-se manteigas e leitelhos com níveis adequados de BAL superiores a 6 Log UFC/g e ambos foram bem aceites pelos consumidores.



**Escola Superior
Agrária**

Politécnico de Coimbra

Pode concluir-se que a fermentação das natas com *starters* selecionados, Kefir ou bactérias probióticas permite obter leitelhos e manteigas de ovelha com propriedades sensoriais atrativas.

No geral, a manteiga com probióticos e os leitelhos com probióticos e com Kefir demonstraram ter o maior potencial de mercado. Assim a produção de manteiga de ovelha com diferentes fermentos é uma opção viável e permite a valorização do seu subproduto (leitelho).

Palavras-chave: Manteiga, Leitelho, Probióticos, Kefir, Ovelha

Abstract

In the present work, four types of sheep's butter were produced and compared regarding their physicochemical and microbiological properties. 400 L of sheep's milk were used for cream and butter production.

The obtained cream (60 L with 40% fat) was pasteurized at 90 °C for 5 min and equally divided. Before churning, each 15 L of cream were inoculated, one with an Aromática culture (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis biovar diacetylactis*); another with a probiotic culture (*L. casei*, *L. acidophilus* e *L. rhamnosus*), other with a Kefir culture, containing *Debaryomyces hansenii*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. lactis* biovar *diacetylactis*, *L. lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc* sp., *Streptococcus thermophilus*, and the last one served as a control sample non-inoculated.

After churning, all butters were washed with pasteurized water and salted (1%, w/w). The obtained buttermilks were collected and analyzed over 28 days of refrigerated storage.

Butters and buttermilks were analyzed for total solids, fat, protein, ash, titratable acidity and color (CIEL*a*b*). The texture properties of butter samples were assessed through a texture profile analysis test and by small strain stress sweep tests using a rheometer. The microbiological analysis performed included lactic acid bacteria (LAB), lactococcus and yeasts and molds. Butter and buttermilk samples were also submitted to sensory analysis by panel of 30 untrained members.

Butters had mineral levels of 1%, dry matter between 70 to 80%, about 70 to 80% of fat and protein levels below 1%. Regarding acidity, the unfermented strands showed lower acidity levels over time, starting at 1 to 3% lactic acid and the fermented strands showed initial levels of 2,5 to 4,5% lactic acid at 90 days.

Buttermilks had 1% minerals in its composition, levels of fat between 2 to 6% and protein values less than 5%. Fermented buttermilk had higher viscosity and acidity values than non-fermented buttermilk, with acidity values ranging from 3,5 to 8,5% of lactic acid and viscosity values from 25 to 225 cP.

All butter samples produced with fermented cream presented adequate levels of LAB and were well accepted by consumers. Cultured buttermilks also presented levels of LAB higher than Log 6 UFC/mL.

It could be concluded that the fermentation of cream by selected starters, Kefir or probiotic bacteria allows for the production of sheep's butter with attractive sensory properties while, also originates cultured buttermilks with good nutritional and sensory properties.



**Escola Superior
Agrária**

Politécnico de Coimbra

Overall, butter with com probióticos and buttermilks with com probióticos and kefir have been shown to have the greatest market potential. Thus, the production of sheep butter with different yeasts is a viable option and allows the recovery of its by-product (buttermilk).

Keywords: butter, buttermilk, com probióticos, Kefir, sheep's

Índice

Agradecimentos	3
Publicações	4
Resumo	5
Abstract.....	7
1. Introdução	1
2. Materiais e métodos.....	5
2.1. Produção de manteiga	5
2.2. Análises microbiológicas	8
2.3. Análises físico-químicas.....	9
Determinação do pH.....	10
Determinação da acidez total.....	10
Avaliação dos parâmetros da cor	10
Avaliação dos parâmetros da textura.....	10
Avaliação da viscosidade	10
Determinação da matéria seca.....	10
Determinação do teor de cinzas.....	11
Determinação da gordura	11
Determinação do perfil reológico.....	12
2.4. Análise Sensorial	12
3. Apresentação e discussão dos resultados	14
3.1. Produção de manteiga e leiteiro de ovelha	14
3.2. Resultados Análises Microbiológicas	15
3.2.1. Manteigas	15
3.2.2. Leiteiros.....	20
3.3. Composição nutricional da manteiga de ovelha.....	22
3.4. Qualidade da manteiga de ovelha	24
3.5. Composição nutricional do leiteiro de ovelha.....	31
3.6. Qualidade do leiteiro de ovelha	34
3.7. Resultados Análise Sensorial.....	35



3.7.1. Manteiga	35
3.7.2. Leitelho	37
4. Conclusão.....	39
5. Bibliografia.....	40
Anexos.....	43
Anexo I – Questionário de Análise Sensorial de Leitelho.....	43
Anexo II – Questionário de Análise Sensorial de Manteiga	44
Anexo III – Cromatogramas dos leitelhos	45
Anexo IV – Resultados da reologia das manteigas.....	50

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Composição das culturas microbianas inoculadas nas natas.	6
Tabela 2 - Constituição da nata do leite de ovelha.....	14
Tabela 3 - Rendimento do processo de produção das manteigas Sem fermentos, Aromática, Kefir e com Probióticos.	15
Tabela 4- Resultados da análise de proteína das vertentes de manteiga Sem fermentos, Aromática, Kefir e com Probióticos.	24
Tabela 5- Quantificação dos ácidos gordos presentes nos leitelhos sem fermentos e aromático.....	33
Tabela 6 - Resultados de pH, acidez e cor para os leitelhos em estudo.....	34
Tabela 7-Quantificação dos ácidos gordos presentes na réplica 1 do leitelho Aromático	46
Tabela 8 - Quantificação dos ácidos gordos presentes na réplica 2 do leitelho Aromático ...	47
Tabela 9 - Quantificação dos ácidos gordos presentes na réplica 1 do leitelho Sem fermentos.	48
Tabela 10 - Quantificação dos ácidos gordos presentes na réplica 2 do leitelho Sem fermentos.	49
Tabela 11- Logaritmo dos módulos elástico e viscoso e viscosidade complexa das manteigas sem fermentos e aromática nos dias 1,30, 60 e 90.	50
Tabela 12- Logaritmo dos módulos elástico e viscoso e viscosidade complexa das manteigas Kefir e com Probióticos nos dias 1,30, 60 e 90.	51

Lista de Figuras

Figura 1 - Fluxograma do processo de fabrico da manteiga e leitelhos fermentados.	7
Figura 2- Fluxograma do processo de fabrico de manteiga e leitelho sem fermentos.	8
Figura 3 - Valores de pH ao longo do tempo (h) para as natas com as culturas Aromática, Kefir, Probióticas e sem cultura.	14
Figura 4- Teor de lactobacilos nas manteigas monitorizadas até aos 90 dias.....	16
Figura 5- Teor de lactobacilos nas manteigas congeladas monitorizadas em intervalos de 30 dias.	16
Figura 6- Teor de bolores e leveduras (Log UFC/g) nas quatro variantes de manteiga ao longo de 90 dias.	17
Figura 7- Teor de bolores e leveduras (Log UFC/g) nas quatro variantes de manteiga ao longo de 90 dias.	18
Figura 8- Teor de lactococos (Log UFC/g) nas quatro variantes de manteiga ao longo de 90 dias.	18
Figura 9- Teor de lactococos (Log UFC/g) nas quatro variantes de manteiga congeladas ao longo de 90 dias.	19
Figura 10- Teor lactobacilos nas quatro vertentes de leitelho em estudo ao longo de 28 dias.	20
Figura 11- Resultados da matéria seca (%) de cada vertente de manteiga (Sem fermentos, Aromática, Kefir e Com probióticos).	22
Figura 12- Teor de cinzas nas diferentes amostras de manteigas ao longo de 90 dias.	23
Figura 13- Teor de gordura nas diferentes amostras de manteigas ao longo de 90 dias.	23
Figura 14- Resultados na análise do pH nas diferentes amostras de manteigas ao longo de 90 dias.	25
Figura 15- Acidez, expressa em cm ³ da solução por 100 g de manteiga para as vertentes de manteiga em estudo ao longo de 90 dias de armazenamento.	25
Figura 16- Parâmetro L* da análise da cor das várias manteigas em estudo ao longo do tempo de armazenamento de 90 dias.	26
Figura 17- Parâmetro a* da análise da cor das várias manteigas em estudo ao longo do tempo de armazenamento de 90 dias.	26
Figura 18- Parâmetro b* da análise da cor das várias manteigas em estudo ao longo do tempo de armazenamento de 90 dias.	27
Figura 19- Valores de dureza (N) das diferentes amostras de manteigas ao longo de 90 dias.	28
Figura 20- Adesividade (N) das diferentes amostras de manteigas ao longo de 90 dias.....	28
Figura 21- Gomosidade (N) das diferentes amostras de manteigas ao longo de 90 dias.	29
Figura 22- Valores da elasticidade das diferentes amostras de manteigas ao longo de 90 dias.	30

Figura 23 - Logaritmo do módulo elástico (G') e do módulo viscoso (G'') em função da frequência angular (Hz).....	30
Figura 24 - Viscosidade Complexa em função da frequência (Hz) das manteigas em estudo.	31
Figura 25- Composição das quatro vertentes de leiteiro em matéria seca, cinzas, gordura e proteína no primeiro dia.....	32
Figura 26- Cromatograma referente ao leiteiro Sem fermentos.....	33
Figura 27 - Resultados da viscosidade (cPs) para os diferentes tipos de leiteiro.	34
Figura 28- Resultados da Análise Sensorial referentes ao aroma das quatro vertentes de manteiga	35
Figura 29- Resultados da análise sensorial referentes ao sabor das quatro vertentes de manteiga	36
Figura 30- Resultados da análise sensorial referentes à textura das quatro vertentes de manteiga	36
Figura 31 - Resultados da análise sensorial referentes à apreciação global das quatro vertentes de manteiga	37
Figura 32- Resultados da análise sensorial referentes à preferência das quatro vertentes de manteiga	37
Figura 33- Resultados referentes à análise sensorial em relação ao aroma, sabor, consistência e apreciação global para cada uma das vertentes de leiteiro em estudo.	38
Figura 34- Resultados da preferência dos provadores em relação às vertentes de leiteiro Sem fermentos, Aromática, Kefir e Com probióticos.....	38
Figura 35- Cromatograma do azeite utilizado como Padrão para identificação dos ácidos gordos.	45
Figura 36- Cromatograma do leiteiro Aromático (Réplica 1).....	46
Figura 37- Cromatograma do leiteiro Aromático (Réplica 2).....	47
Figura 38 - Cromatograma do leiteiro Sem fermentos (Réplica 1)	48
Figura 39 - Cromatograma do leiteiro Sem fermentos (Réplica 2)	49

1. Introdução

O desenvolvimento de novas características nutricionais e sensoriais dos alimentos está associado ao crescente interesse em alimentos enriquecidos com certos ingredientes com propriedades comprovadas de promoção de saúde (Lasik et al., 2016).

O leite de ovelha e os seus derivados são fontes de ingredientes com alto valor biológico que estimulam processos fisiológicos para manter uma boa saúde, impulsionar o sistema imunológico e contribuir para reduzir o risco de doenças associadas ao estilo de vida (Lasik et al., 2016).

O leite de ovelha contém, em média, 16,43% de sólidos totais, 6,18% de gordura, 4,17% de lactose, 5,15% de proteína e 0,93% de minerais. Quando comparado com leite humano, de vaca, de cabra ou de camelo, o leite de ovelha é o que possui maior quantidade de sólidos totais, gordura, proteína e minerais (Haenlein, 2001; Pandya & Ghodke, 2007; Raynal-Ljutovac et al., 2008; Clark & Mora García, 2017). Todas estas características tornam o leite de ovelha num alimento funcional ativo.

Em 2017 produziram-se, no mundo inteiro, 10,42 milhões de toneladas de leite de ovelha (Mohapatra et al., 2019).

Este leite é maioritariamente utilizado na produção de iogurtes e queijo. A sua alta composição em sólidos faz com que os iogurtes produzidos a partir desta matéria-prima não necessitem da adição de sólidos de leite nem de estabilizantes. Tradicionalmente, a produção de queijo tem sido a maior utilização do leite de ovelha no mundo, produzindo variedades como Pecorino, Romano, Manchego, Roquefort e Feta (Milani & Wendorff, 2011). Outros autores relataram o uso de leite de ovelha na produção de manteiga, Ghee, óleo de manteiga e gelado (Pandya & Ghodke, 2007).

Apesar da manteiga de ovelha e cabra estarem pouco relatadas na literatura, são produtos lácteos comuns nos países Mediterrâneos, Médio Oriente e em África. A informação sobre a sua composição e características está criticamente em falta.

A fermentação é um dos processos tecnológicos mais antigos e tem sido adotada ao longo de várias gerações. Os alimentos fermentados são conhecidos pelos seus benefícios para a saúde e são consumidos em todo o mundo (Handa & Sharma, 2017). Os alimentos fermentados mais antigos são os da indústria dos lacticínios e vários estudos documentaram a qualidade e diversidade de produtos lácteos fermentados tradicionais, incluindo a fermentação natural do leite (Samet-Bali et al., 2009).

Os produtos lácteos fermentados são incorporados com BAL que através da fermentação protegem os alimentos da deterioração e melhoram as suas propriedades organoléticas.

Apesar destas bactérias poderem ser benéficas não podem ser classificadas como probióticos a não ser que esta seja isolada e que seja comprovado cientificamente que apresenta benefícios para a saúde (Handa & Sharma, 2017).

Assim, os probióticos são descritos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios para a saúde do consumidor (FAO, 2002). Vários géneros de bactérias (e leveduras) são usados como probióticos, incluindo *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium*.

Normalmente, os probióticos usados são bactérias das espécies lactobacilos e bífidos e é sugerido que estes organismos estejam presentes na comida em concentrações mínimas de 10^7 UFC/g (Handa & Sharma, 2017). Devem estar viáveis, mas não se devem multiplicar, devem possuir propriedades como sobrevivência no trato gastrointestinal, persistência no hospedeiro e segurança comprovada para o consumidor. Podem neutralizar o efeito de patogénicos ao inibir a ação ou produção de toxinas, expressar bactericidas e inibir a ligação de patogénicos com a superfície mucosa (Haiti et al., 2014).

Tendo em consideração os benefícios associados à ingestão de probióticos, a indústria dos lacticínios tem investido no desenvolvimento de produtos probióticos pois estas bactérias também conferem vantagens sensoriais ao produto final (Costa et al., 2014).

No entanto, é um desafio apresentar níveis adequados de probióticos (superiores a 6 ou 7 Log UFC/ g) no momento do consumo, devido a vários fatores durante o processamento e armazenamento que afetam a viabilidade desses microrganismos (Tripathi & Giri, 2014).

O Kefir produzido através de grãos de Kefir contém BAL, Bactérias de Ácido Acético e leveduras que podem ser consideradas como os probióticos mais naturais que se conhece (Karaca et al., 2018).

Alguns benefícios para a saúde são atribuídos ao consumo de probióticos incluindo o equilíbrio da microflora intestinal, a inibição do crescimento de bactérias nocivas, promoção de uma boa digestão, aumento da função imunológica e da resistência a infeções (Handa & Sharma, 2017).

A nata é a matéria-prima principal para a produção de manteiga e reflete as suas propriedades na qualidade da manteiga. A fermentação das natas com culturas *starter* tem impacto nas propriedades físico-químicas e sensoriais da manteiga e influencia a sua composição nutricional, textura e tempo de vida.

Normalmente, a nata é sujeita a fermentação com BAL mesófilas nomeadamente *Lactococcus lactis* ssp. *dyacetilactis* e/ou *Leuconostoc citrovorum* (usualmente designada como *starter* aromático). No entanto, o uso de bactérias probióticas em natas tem recebido pouca atenção, embora alguns autores tenham reportaram o seu uso.

Eryka et al. (Erkaya et al., 2015) observaram que a capacidade de sobrevivência de probióticos selecionados durante o armazenamento refrigerado de manteiga produzida com *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 e *Bifidobacterium bifidum* ATCC 29521. Reportaram que a manteiga com *B. bifidum* mantém as suas características probióticas até ao 30º dia de armazenamento. Ewe & Loo (2016) avaliaram as propriedades da manteiga produzida a partir de natas fermentadas com *Lactobacillus helveticus* e reportaram um teor de gordura e acidez significativamente maiores. Referem também que a manteiga era mais macia do que o produto convencional devido ao aumento dos níveis de ácidos gordos insaturados. Karaca et al. (2018) relatam que manteiga cultivada com Kefir apresentou quase dois ciclos logarítmicos maiores que a *Lactococcus* spp. e continha 5,24 Log UFC/ g, enquanto a amostra de controlo não continha *L. acidophilus*.

As natas usadas na produção de manteiga podem ser fermentadas por microrganismos produtores de ácido láctico ou de aroma, originando manteiga maturada em contraste com a manteiga não maturada que é feita de natas não fermentadas. A manteiga maturada é mais intensa enquanto que a outra é mais suave e cremosa (E Frede, 2002).

A maturação das natas com uma cultura *starter* apropriada é muito importante na qualidade, propriedades sensoriais e tempo de vida do produto final (Karaca et al., 2018).

A batedura é um dos passos mais importantes na produção da manteiga, durante esta etapa a emulsão de óleo em água é quebrada levando a que ocorra a separação da fase aquosa e a formação da emulsão água em óleo (Samet-Bali et al., 2009). Este produto lácteo consiste principalmente em gordura do leite, água e sólidos não gordos (proteínas, lactose, minerais e vitaminas) (Frede, 2002).

Tanto em termos económicos como em termos nutritivos, a manteiga é um produto lácteo importante. Contém ácidos gordos essenciais que não podem ser sintetizados pelo homem aumentando assim a sua importância. Além de que possui ácidos gordos como o Ácido Butírico que não existe em mais nenhuma gordura e possibilita à manteiga um sabor e aroma únicos (Karaca et al., 2018).

O leitelho é um subproduto obtido na produção de manteiga e é um dos subprodutos mais importantes na indústria dos lacticínios. É considerado um produto funcional devido à sua composição que compreende um alto valor nutricional de proteínas, lactose, minerais e uma alta proporção de componentes provenientes da membrana do glóbulo de gordura do leite (Elkashef et al., 2021). Pode conter, em base seca, 31,5-33,1% de proteínas, 48,7-53,8% de lactose e 5,7-13,1 % de gordura (Ali, 2019).

O leitelho pode ser descrito em termos de leitelho tradicional/ convencional e fermentado. O leitelho tradicional é o líquido que sobra após a fabricação da manteiga a partir de natas ou leite fermentados por BAL. O leitelho fermentado é produzido através da

fermentação de leite desnatado pasteurizado pela ação de uma variedade mista de uma cultura *starter* composta por *Lactococcus lactis* subspecies *cremoris* e *lactis* e *Leuconostoc mesenteroides* spp. *cremoris* (Gebreselassie et al., 2016). A variedade mais comum é o leitelho tradicional fermentado característico de um sabor azedo devido à ação das BAL (Ali, 2019).

O leitelho fermentado conhecido por “Chhash” nos países sul Asiáticos é um produto lácteo com valor terapêutico associado e na Índia é normalmente consumido depois das refeições (Mudgil et al., 2016).

O leitelho contém quantidades de ácidos gordos saturados consideravelmente elevadas (76%) predominantemente por causa do seu alto teor de mirístico, palmítico e ácidos gordos esteáricos. Os ácidos gordos monoinsaturados representam 23% com o ácido oleico predominante (17%) enquanto o teor de ácidos gordos polinsaturados é muito baixo (1%) (Ali, 2019). Esta composição deve-se principalmente à composição da matéria-prima utilizada na obtenção da manteiga e do leitelho, a nata. A nata é a gordura do leite e é uma das gorduras mais complexas em termos de composição de ácidos gordos. É composta por cerca de 98g/100g triglicerídeos, contém vários ácidos gordos, principalmente saturados (66 g/100 g), mas também monoinsaturados (38 g/100 g) e ácidos gordos polinsaturados (4 g/100 g) (Gonçalves & Baggio, 2012).

Diversos estudos sugerem que o leitelho possui características benéficas para saúde, tais como redução da pressão arterial e colesterol, ajuda na digestão e pode ser usado na alimentação como uma fonte de cálcio, fósforo, vitamina B₂, vitamina B₁₂, zinco, potássio e proteínas. No entanto, é deficiente em ferro, vitamina C e fibras alimentares (Mudgil et al., 2016).

A indústria dos Lacticínios procura valorizar o leite e os seus derivados através da inovação e do desenvolvimento de novos produtos. Em Portugal, esta indústria ocupou o quarto lugar do volume de negócios da indústria Alimentar em 2020 (Banco de Portugal BPstat, 2021). E, em 2018, Portugal exportou 267 milhões de euros de leite e produtos lácteos, ocupando a manteiga o 1º lugar como produto mais exportado (GPPA, 2020).

Este trabalho pretende dar resposta às necessidades dos consumidores em termos de produtos probióticos e às necessidades de reposicionamento no mercado da indústria dos lacticínios através do desenvolvimento de novos produtos. Também tem como objetivo a valorização de subprodutos como é o caso do leitelho. Alinhado neste objetivo surge este estudo com o intuito de produzir manteiga e consequentemente leitelho de ovelha com probióticos e com Kefir.

2. Materiais e métodos

2.1. Produção de manteiga

Para a produção das diferentes manteigas de ovelha desenvolvidas neste trabalho, foram desnatados 400 L de leite de ovelha para a obtenção da nata. Esta foi pasteurizada a 90 °C durante 5 minutos, seguido de um arrefecimento até aos 20 °C. Posteriormente foi dividida, de forma equitativa em quatro lotes de 15 L. Antes da batadura cada lote foi sujeito às seguintes condições:

1. Inoculada com uma cultura aromática 3% (v/v) (Flora Danica, FD-DVS™, CHR Hansen), e mantida a 20 °C até atingir um pH de 4,8, o que correspondeu a 28h30. Por fim foi armazenada a 4 ±2 °C durante 48h.
2. Inoculada com uma cultura probiótica 3% (v/v) composta por uma mistura de *L. casei* (nu-trish L. casei 431™, CHR Hansen), *L. acidophilus* (nu-trish LA-5™, CHR Hansen) e *L. rhamnosus* (nu-trish LGG™, CHR Hansen) na proporção de 1:1:1 e mantida a 20 °C até atingir um pH de 4,8, o que demorou 29h30 h. Por fim foi armazenada a 4 ±2 °C durante 48h.
3. Inoculada com uma cultura de Kefir 3% (v/v) (eXact Kefir 1™, CHR Hansen), e mantida a 20°C durante 30h30, momento em que atingiu um pH de 5,0 e por fim foi armazenado a 4 ±2 °C durante 48h.
4. Não inoculada e mantida a 4 ±2 °C durante 48h.

As culturas liofilizadas utilizadas foram previamente incubadas durante 24h a 35 °C em leite de ovelha estéril de forma a garantir a sua ativação. A cultura aromática e a de Kefir foram preparadas a 0,15% (m/m) e a cultura de probióticos foi preparada na proporção de 1:1:1 com uma concentração final de 0,45% (m/m).

A composição de cada cultura microbiana inoculada encontra-se na Tabela 1 onde é possível verificar que a cultura de Kefir é bastante semelhante à cultura aromática diferindo apenas na presença de *Debaryomyces hansenii* e de *Streptococcus thermophilus*.

Tabela 1 - Composição das culturas microbianas inoculadas nas natas.

Cultura aromática	Cultura de Kefir	Cultura probiótica
• <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>; • <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>; • <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>; • <i>Leuconostoc</i>.	• <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>; • <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>; • <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i>; • <i>Leuconostoc</i>; • <i>Debaryomyces hansenii</i>; • <i>Streptococcus thermophilus</i>.	• <i>Lactobacillus casei</i>; • <i>Lactobacillus acidophilus</i>; • <i>Lactobacillus rhamnosus</i>.

Durante o período de incubação, o pH das amostras foi frequentemente monitorizado, incluindo a não inoculada. O objetivo foi perceber quando é que as amostras atingiam um valor próximo do ponto isoelétrico das caseínas (4,6) (O’Kennedy, 2011) para poderem ser armazenadas.

Após o período de maturação das natas ocorreu a batadura. Esta etapa acontece até que ocorra a separação da parte sólida da parte líquida, ou seja, até que ocorra a separação da manteiga do leiteiro. Assim, o tempo desta etapa varia de manteiga para manteiga. No final, a parte líquida correspondente ao leiteiro, foi recolhida, identificada e armazenada a $4 \pm 2^\circ\text{C}$.

Seguiu-se a lavagem com 6L de água, previamente esterilizada, a $4 \pm 2^\circ\text{C}$, sendo o líquido sobranter descartado e, às partes sólidas, ou seja, às manteigas, foi adicionado 1% (m/m) de sal. Procedeu-se à identificação e embalamento das manteigas em embalagens de plástico com tampa. Metade das embalagens foram armazenadas a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ e a outra metade congelada a $-24 \pm 2^\circ\text{C}$.

Na Figura 2 encontra-se representado o fluxograma detalhado do processo de fabrico da manteiga maturada com diferentes culturas.

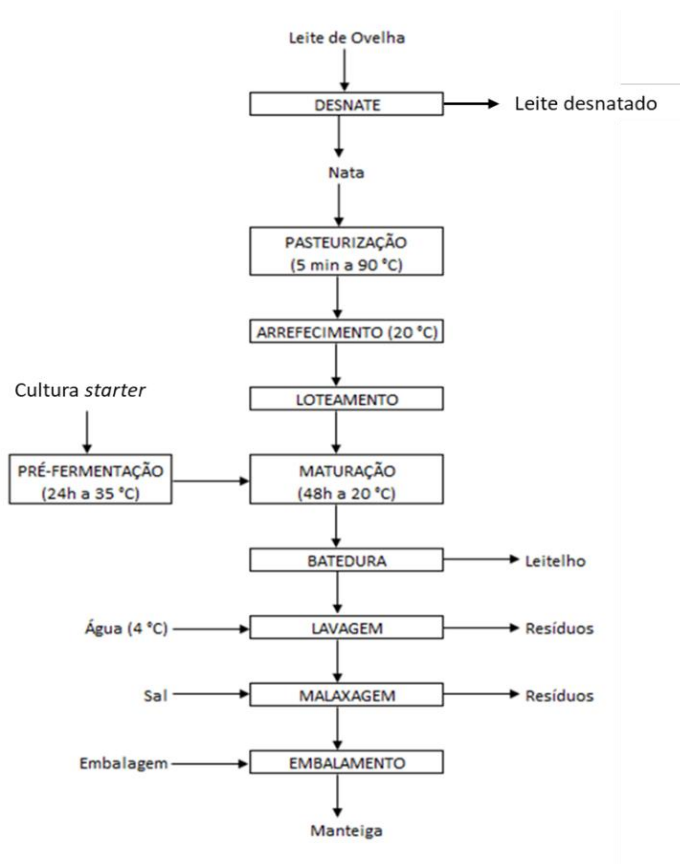


Figura 1 - Fluxograma do processo de fabrico da manteiga e leitelhos fermentados.

O processo de fabrico dos produtos fermentados difere dos não fermentados apenas pela não adição dos fermentos e consequentemente na existência de maturação. Esta diferença é visível na Figura 3, na qual é apresentado o fluxograma do processo de fabrico da manteiga sem cultura microbiana.

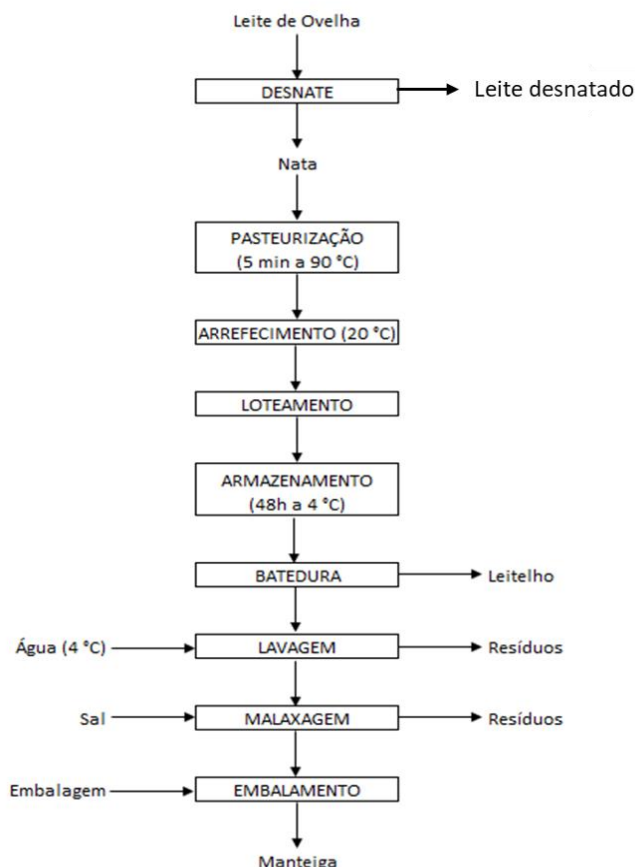


Figura 2- Fluxograma do processo de fabrico de manteiga e leiteiro sem fermentos.

Obtiveram-se assim quatro formulações de manteiga e de leiteiro: sem fermentos, com cultura Aromática, com cultura de Kefir e outra com cultura Probiótica. Estas quatro formulações foram monitorizadas física, química e microbiologicamente semanalmente e mensalmente respetivamente para o leiteiro e para a manteiga. Procedeu-se ainda a uma prova sensorial do leiteiro na primeira semana e da manteiga mensalmente.

2.2. Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram feitas a todas as variantes de manteiga e leiteiro. As manteigas, incluindo as congeladas, foram avaliadas quanto ao seu teor microbiológico durante 90 dias em intervalos de 30 dias enquanto o leiteiro foi avaliado durante 28 dias em intervalos semanais.

Para cada amostra recolhida foram preparadas diluições decimais em solução de Ringer com tween 80. Utilizou-se o tween 80 para emulsificar as gorduras da manteiga na solução de Ringer. No caso da manteiga, a primeira diluição foi preparada derretendo as amostras, previamente colocadas em sacos de Stomacher estéreis com solução de Ringer e tween 80, a cerca de 42 °C em banho de maria.

A quantificação da microbiota láctica, ou seja, das BAL, foi feita em triplicado de acordo com a ISO 15214 (1998). Utilizou-se o meio de cultura de Man Rogosa and Sharpe Agar (MRS), da marca Biokar diagnostics de referência BK088 HA. Das diluições escolhidas, inoculou-se, em triplicado, 1 mL por incorporação em meio MRS em dupla camada, seguindo-se a incubação durante 72 horas a 37 °C, em jarra de anaerobiose.

Na quantificação de bolores e leveduras utilizou-se o meio de cultura Cooke Rose Bengal Agar (CRB) com a referência M499-500G, de acordo com a ISO 6611 (2004). Inoculou-se 1 mL da solução diluída por incorporação, em triplicado, em meio CRB e incubou-se durante 7 dias a 25 °C.

Foi feita a sementeira por incorporação, em triplicado, de cada uma das diluições escolhidas, em M17 Agar da marca Biokar diagnostics de referência BK088 HA para crescimento de *Lactococcus*. Incubaram-se as placas a 37 °C durante 48 horas.

Todos os resultados são apresentados em logaritmos decimais de Unidades Formadoras de Colónias (UFC) por grama de produto.

2.3. Análises físico-químicas

As análises físico-químicas realizaram-se com o intuito de caracterizar composicionalmente os vários produtos obtidos e também para avaliar parâmetros de qualidade global.

A caracterização nutricional dos produtos obtidos foi realizada ao nível de: matéria seca, cinza, gordura, proteína e ácidos gordos. Tendo em conta que o leiteiro e a manteiga têm características diferentes, as análises aos parâmetros de qualidade realizadas diferem para estes produtos. A manteiga foi avaliada quanto ao pH, acidez, cor, textura (adesividade, elasticidade e gomosidade) e parâmetros reológicos. Por sua vez o leiteiro foi avaliado quanto ao pH, acidez, cor e viscosidade.

O leiteiro foi analisado ao dia 1 enquanto a manteiga foi avaliada em intervalos de 30 dias, desde o dia 1 ao dia 90. Todas as análises foram realizadas, em triplicado, para cada tipo de manteiga e de leiteiro, ou seja, para a *Sem fermentos*, *Aromática*, *Kefir* e *Com probióticos*.

Para além dos produtos e subprodutos obtidos realizaram-se também análises à matéria-prima utilizada. A nata foi caracterizada composicionalmente em termos de matéria seca, cinzas, gordura, proteína e pH.

Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada diretamente na amostra, utilizando um potenciómetro Hanna Instruments de modelo HI9025 com a sonda FC200 (Portugal).

Determinação da acidez total

A determinação da acidez total da manteiga foi realizada de acordo com a NP-1712 (1981), a do leiteiro de acordo com a NP - 470 (1983) e os resultados expressos em % de ácido láctico.

Avaliação dos parâmetros da cor

A análise da cor determinou-se de acordo com o sistema L^*a^*b recorrendo a um colorímetro Minolta CR200 (Japão), onde se mediu o valor L^* (Luminosidade, 0 (preto – 100 (branco)), de a^* (coordenada vermelho (positivo) /verde (negativo)) e de b^* (coordenada amarelo (positivo) /azul (negativo)).

Avaliação dos parâmetros da textura

A textura da manteiga foi determinada pelo método Texture Profile Analysis (TPA) de acordo com a norma DIN-10331 (1996). Usando o aparelho Stable Micro Systems Texture Analyser da marca TAXT Express Enhanced com uma sonda cónica de 60° da marca STEVENS de referência TA.2.

O teste de compressão foi realizado com uma velocidade pré-teste de 1.0 mm/s, velocidade de ensaio de 7.0 mm/s, velocidade pós teste de 5.0 mm/s e uma distância de 20.0 mm. As amostras tinham, aproximadamente, 5 cm de altura e encontravam-se a uma temperatura de 7 ± 2 °C.

Os resultados foram expressos em termos de gomosidade, elasticidade e adesividade.

Avaliação da viscosidade

A viscosidade do leiteiro foi medida recorrendo a um viscosímetro da marca Brookfield Ametek (Estados Unidos) do modelo DV2T. Utilizou-se o spindle N°1 da marca do viscosímetro a uma velocidade de 40 rpm, durante 1 minuto e com uma exatidão de 2.5 cP.

Utilizaram-se amostras de 300 mL a uma temperatura de 17 ± 2 °C. Os resultados são apresentados em centiPoises (cP).

Determinação da matéria seca

Na determinação da matéria seca da nata, leiteiro e da manteiga seguiu-se o método (AOAC 925.23, 1995). Para tal utilizou-se uma estufa da marca Memmert e os resultados são expressos em % de matéria seca.

Determinação do teor de cinzas

O teor de cinzas foi determinado, para a matéria-prima e para os produtos, de acordo com o método AOAC 945.46 (1995) e foi realizado a partir das amostras secas utilizadas na determinação da matéria seca. Utilizou-se uma mufla da marca Nabertherm modelo LE4/11/R6 e os resultados foram apresentados em % de cinzas em relação ao peso da amostra húmida.

Determinação da gordura

O teor de gordura da nata e da manteiga foi determinado de acordo com o método descrito por Funke-Gerber e do leiteiro de acordo com a NP 469 (1983).

Na determinação do teor de gordura da manteiga, colocaram-se 5 g de manteiga no butirómetro com escala para manteiga e adicionaram-se 20 mL de ácido sulfúrico (densidade de 1.520 g/cm³). Aqueceu-se até atingir 60 °C ou até a manteiga se dissolver por completo e agitou-se. De seguida, adicionaram-se 2 mL de álcool isoamílico e, após agitação, colocou-se na centrífuga durante 15 minutos a 1200 rotações por minuto (rpm). Utilizou-se uma centrífuga de Gerber da marca FunkGerber do modelo SuperVario-N (Germany). A leitura dos resultados é direta na escala do butirómetro e é expressa em % de teor butiroso.

O teor de gordura no leiteiro foi determinado pelo método volumétrico Gerber para determinação do teor butiroso do leite. Primeiramente adicionaram-se 10 mL de ácido sulfúrico (densidade de 1,8 g/cm³) e 11 mL da amostra de leiteiro num butirómetro com escala para leite. Após agitação adicionou-se 1 mL de álcool isoamílico e agitou-se novamente. De seguida, centrifugou-se por 5 min, a 65 °C e a 1200 rpm. Este processo promove a separação da gordura o que permite, de seguida, proceder-se à leitura do resultado, em % de teor butiroso, diretamente na escala do butirómetro.

Determinação do teor de proteína

O teor de proteína foi determinado pelo método analítico de Kjeldahl para determinação do teor de proteína em leite ou nos seus produtos derivados de acordo com o método (AOAC 991.20, 1994) e a ISO 8968-1 (2014). Usou-se um destilador da marca VELP Scientifica do modelo UDK 129 e um digestor da marca J.P. Selecta, S.A. (Espanha). Para o cálculo do teor proteico multiplicou-se o teor de azoto pelo fator de conversão 6,38.

Os resultados encontram-se expressos em % de proteína em relação à matéria húmida.

Determinação do perfil de ácidos gordos

Para quantificar os ácidos gordos presentes nas variantes de leiteiro e manteiga recorreu-se à ISO 5508 (1990) recorrendo a um método cromatógrafo.

As amostras foram previamente secas na estufa de vácuo à pressão de 10^{-4} atm e a uma temperatura de 40 °C. As amostras foram colocadas num tubo de falcon, dissolvidas em 5 mL de heptano e agitadas no vortex durante cerca de 1 minuto. Por fim, juntaram-se 0,2 mL de metóxido de sódio 0,2M. A amostra sofre decantação e, com a ajuda de uma seringa de 2µL, cerca de 1,2µL do sobrenadante é injetado no cromatógrafo.

Foi utilizado um cromatógrafo Pye Unicam Pu 4500 (Philips, Países Baixos) com azoto como gás de arraste, equipado com uma coluna capilar (FFAPA, Phenomenex, EUA, 30m x 0,32mm x 0,25 µm) ligada a um detetor de ionização de chama (FID) que utiliza hidrogénio como gás de combustão.

Utilizou-se um patamar de temperatura de 4 minutos a 60 °C seguida de um aumento de temperatura até 220 °C durante 26 minutos. Cada corrida teve a duração de 30 minutos e os cromatogramas foram obtidos num sistema de aquisição de dados da marca Jasco-Borwin Chromatography Software, versão 1.50 da JMBS (Japão) através de um interface Hercule Lite-Chromatography Interface.

A quantificação e identificação dos ácidos gordos foi realizada por comparação dos tempos de retenção dos picos com uma amostra padrão. Os resultados estão expressos em percentagem relativa de cada ácido gordo obtida através das áreas dos respetivos picos.

Determinação do perfil reológico

As manteigas foram analisadas, mensalmente, quanto ao seu perfil reológico. Para tal foi utilizado o reómetro Rheostress 6000 (Haake, Thermo Scientific, Austrália) com o prato de baixo TMP35 e o prato de cima P35 TiL da marca Rheostress, a uma temperatura de 5 °C.

Utilizou-se o sistema de aquisição de dados HAAKE RheoWin Job Manager, versão 4.82.0002.

Obtiveram-se resultados referentes ao módulo elástico (G'), módulo viscoso (G'') e viscosidade complexa (η^*) em função da frequência (Hz).

2.4. Análise Sensorial

Foram realizadas provas de análise sensorial com o intuito de avaliar a preferência do consumidor em relação às formulações de manteiga e de leiteiro e avaliar como as suas propriedades influenciam a escolha do consumidor.

Realizaram-se duas provas sensoriais de acordo com a ISO 4121 (1987), uma de ordenação e outra de aceitação com base numa escala hedónica. Foram apresentadas, em ordem aleatória, as quatro amostras em estudo, devidamente codificadas. Foi solicitado que o provador avaliasse cada uma delas, numa escala de 1 a 5, em que 1 significava desgosto muito e 5 gosto muito, em relação aos parâmetros: aroma, sabor, textura e apreciação global. A prova de ordenação consistia apenas na ordenação das amostras da mais preferida para a

menos preferida dos provadores. Os questionários utilizados são apresentados no Anexo I – Questionário de Análise Sensorial de Leitelho e no Anexo II – Questionário de Análise Sensorial de Manteiga.

Os provadores não eram treinados pretendendo representar o consumidor comum.

3. Apresentação e discussão dos resultados

3.1. Produção de manteiga e leite de ovelha

A matéria-prima principal na produção da manteiga de ovelha é a nata e por esse motivo é necessário caracterizar a sua composição. A Tabela 2 apresenta os valores médios e respetivo desvio padrão obtidos nas análises à matéria seca, cinza, gordura e proteína da nata de leite de ovelha.

Tabela 2 - Constituição da nata do leite de ovelha.

% Matéria Seca	% Cinza	Gordura (%)	% Proteína
49,42 ± 0,375	1,34 ± 0,078	41,0 ± 0,816	2,58 ± 0,062

A maturação das natas utilizadas na produção das manteigas foi monitorizada ao longo do tempo com o intuito de se perceber a evolução da fermentação. A Figura 3 apresenta a evolução dos valores de pH, ao longo do tempo, para as diferentes natas.

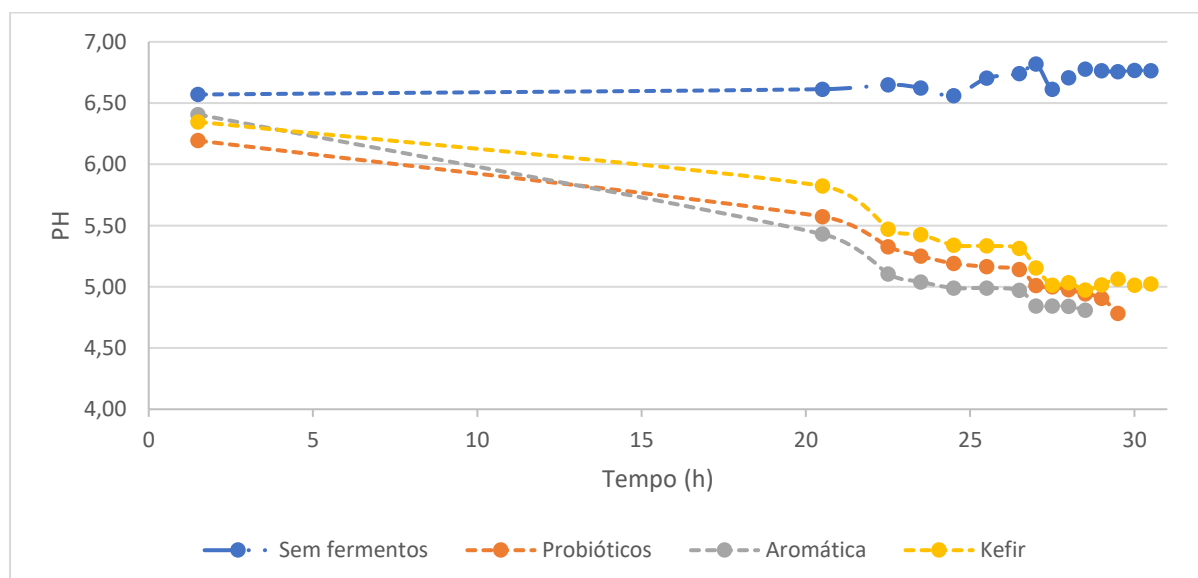


Figura 3 - Valores de pH ao longo do tempo (h) para as natas com as culturas Aromática, Kefir, Probióticas e sem cultura.

A nata com a cultura aromática foi a primeira a atingir o pH desejado seguida da cultura de Kefir que só atingiu o valor de pH 5 após 30,5 horas. Como era de esperar, a nata sem adição de fermentos não atingiu o pH desejado.

Com o intuito de perceber se o rendimento das manteigas era alterado de acordo com as variantes testadas foram efetuados os balanços de massa a cada processo. A determinação do rendimento das manteigas teve em conta a massa utilizada de matéria-prima inicial, neste caso 15 kg de cada tipo de nata, e a massa obtida das manteigas. Estes valores e respetivo

rendimento encontram-se na Tabela 3. O tempo de batadura também está presente pois pode ser uma variável que influencia o processo.

Tabela 3 - Rendimento do processo de produção das manteigas Sem fermentos, Aromática, Kefir e com Probióticos.

Corrente de entrada	m (kg)	Correntes de Saída	m (kg)	η (%)	Tempo de batadura (min)
Nata sem fermentos	15,00	Manteiga sem fermentos	6,500	43,33	25
Nata Aromática	15,00	Manteiga Aromática	5,360	35,73	10
Nata Kefir	15,00	Manteiga Kefir	6,143	40,95	30
Nata Probióticos	15,00	Manteiga Probióticos	7,043	46,95	45

A manteiga com probióticos apresentou o melhor rendimento (46,95%) e a manteiga Aromática apresentou o rendimento mais baixo (35,73%). Tendo em conta que o tempo de batadura foi uma variante no processo de obtenção das manteigas, este pode influenciar os rendimentos obtidos uma vez que ao maior e ao menor rendimento corresponderam, respetivamente, o maior e menor tempo de batadura.

Neste caso, a utilização dos fermentos não sugere alterações no rendimento pois a variante sem fermentos, que não tem fermentos, obteve um rendimento superior à variante Aromática fermentada. Os tempos de batadura dependeram exclusivamente do tempo que demorava a ocorrer a separação da fase sólida da parte líquida.

O rendimento do leitelho corresponde à outra fração do rendimento, ou seja 100% - rendimento da manteiga.

3.2. Resultados Análises Microbiológicas

Determinou-se o teor de BAL, *Lactococos* e de bolores e leveduras presentes nas variantes de manteiga, refrigeradas e congeladas, e dos correspondentes leitelhos.

3.2.1. Manteigas

Os resultados obtidos referentes ao teor de lactobacilos presentes nas manteigas sem fermentos, aromática, kefir e com probióticos encontram-se na Figura 4 e das manteigas congeladas na Figura 5.

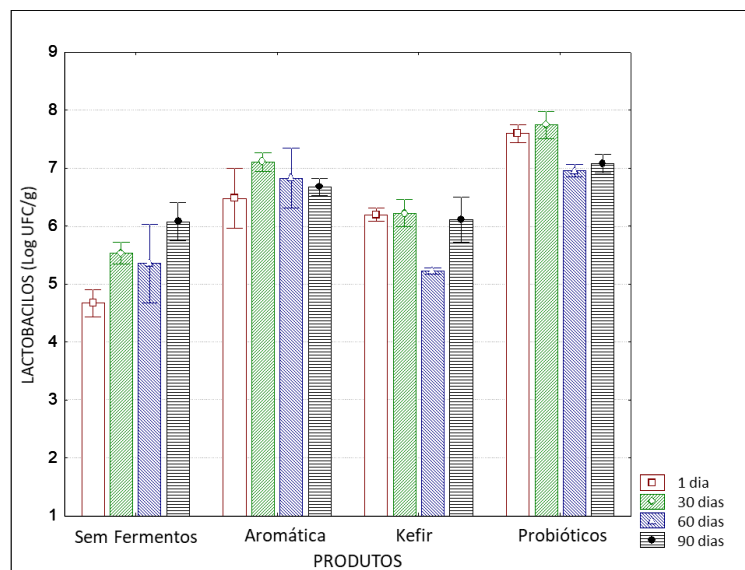


Figura 4- Teor de lactobacilos nas manteigas monitorizadas até aos 90 dias.

Analisando o gráfico presente na Figura 4 pode constatar-se que as manteigas apresentam teores de lactobacilos entre 4 e 8 Log UFC/g de manteiga. Tal como esperado, a variante sem fermentos é a que apresenta valores menores seguida da de Kefir e da manteiga aromática. A variante com probióticos é a que apresenta maiores valores compreendidos ente 7 e 8 Log UFC/g de manteiga.

De um modo geral, todas as variantes mantêm o seu teor de *Lactobacilos* ao longo dos 90 dias de armazenamento.

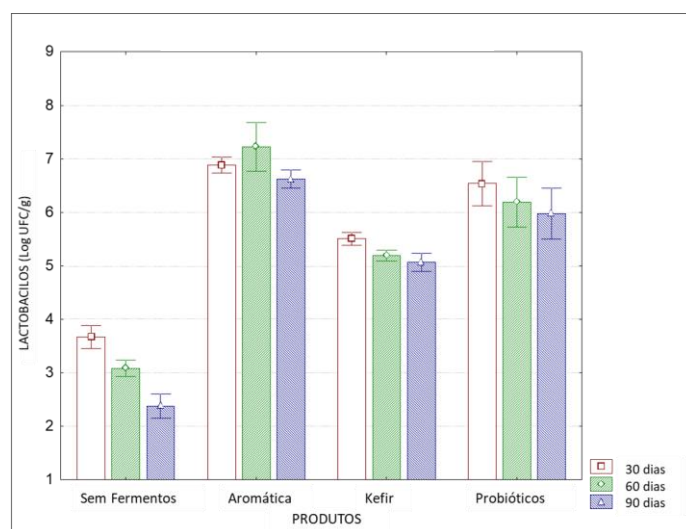


Figura 5- Teor de lactobacilos nas manteigas congeladas monitorizadas em intervalos de 30 dias.

As manteigas congeladas apresentaram valores de Log UFC/g ligeiramente inferiores às não congeladas para o teor de *Lactobacilos*. O gráfico apresentado na Figura 5 sugere que, as manteigas congeladas têm tendência em diminuir o seu teor de *Lactobacilos*. Ainda assim, a manteiga congelada com probióticos contém valores de cerca de 6 Log UFC/g aos 90 dias de armazenamento. Era espectável que o teor de *Lactobacilos* na manteiga com probióticos fosse superior ao da manteiga aromática, tal como se verificou nas manteigas não congeladas, ao contrário do que aconteceu nas congeladas.

Bolores e leveduras são fungos e têm a capacidade de desenvolvimento em condições adversas: baixas temperaturas, acidez, baixa aw. As leveduras são aeróbias facultativas enquanto que os bolores são aeróbios estritos. São importantes agentes de alteração e estão geralmente associados à deterioração de alimentos ácidos, açucarados, com baixa aw ou fermentados. Níveis de leveduras superiores a 10^6 UFC/g podem conferir uma alteração de sabor ao produto e níveis de $10^6 - 10^7$ UFC/g podem causar deterioração devido à produção de ácido e de gás (INSRJ, 2019).

A Figura 6 apresenta os resultados referentes ao teor de bolores e leveduras presentes nas variantes de manteiga em estudo ao longo de 90 dias de armazenamento. Comparando os resultados verifica-se que não existe uma variação significativa no número de bolores e leveduras ao longo do tempo. As variantes sem fermentos e Kefir são as que apresentam os maiores valores sendo o valor máximo atingido de aproximadamente 6 Log UFC/g de produto. Estes resultados demonstram que, até aos 90 dias, as manteigas apresentam níveis de bolores e leveduras que não conferem alterações do sabor nem deterioram o produto final.

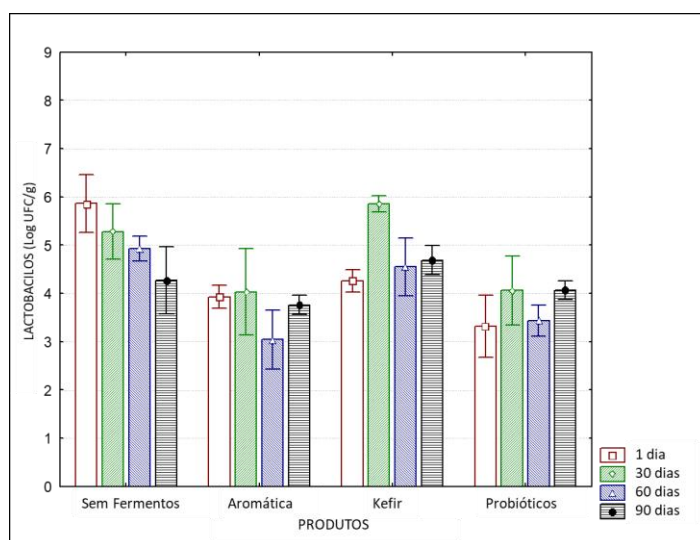


Figura 6- Teor de bolores e leveduras (Log UFC/g) nas quatro variantes de manteiga ao longo de 90 dias.

No que toca ao teor de bolores e leveduras nas manteigas congeladas, os resultados estão apresentados no gráfico da Figura 7 onde é possível observar que as manteigas congeladas apresentam um valor máximo de 3 Log UFC/g. Estes valores são inferiores quando comparados com os das manteigas não congeladas. Também nestas manteigas, os valores de bolores e leveduras não sofrem alterações significativas ao longo do tempo.

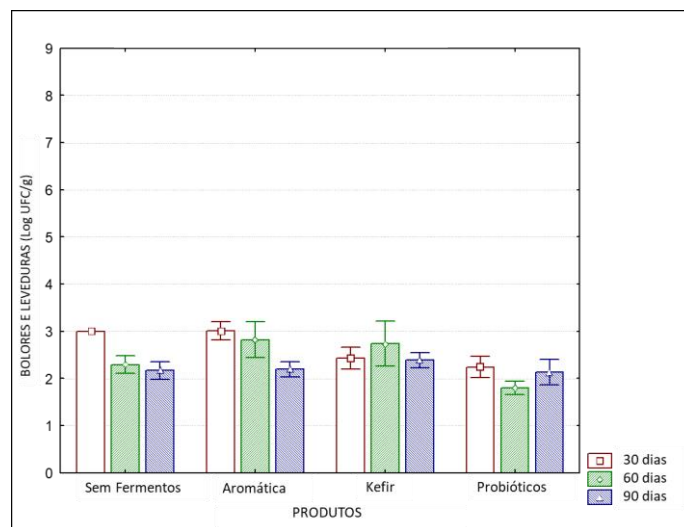


Figura 7- Teor de bolores e leveduras (Log UFC/g) nas quatro variantes de manteiga ao longo de 90 dias.

As Figura 8 e Figura 9 apresentam os teores de *Lactococos* nas quatro variantes de manteiga em estudo, respetivamente para as manteigas não congeladas e para as congeladas.

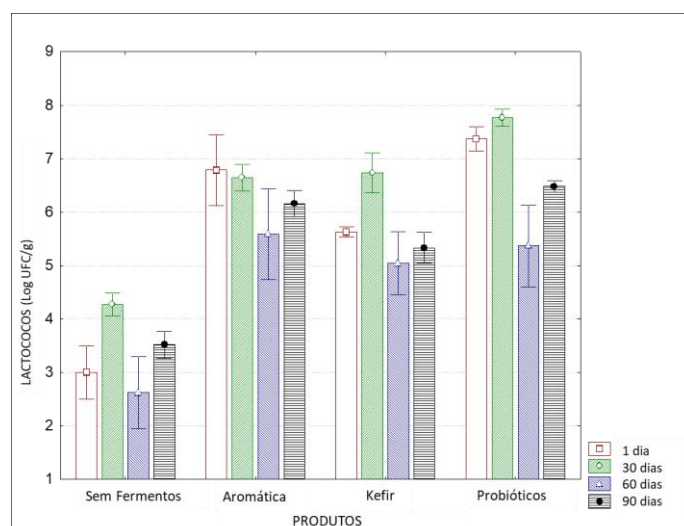


Figura 8- Teor de lactococos (Log UFC/g) nas quatro variantes de manteiga ao longo de 90 dias.

Tal como esperado, as manteigas congeladas apresentam valores menores que as não congeladas. É ainda possível constatar que as variantes aromática e com probióticos apresentam valores muito semelhantes entre si. As manteigas congeladas apresentam valores entre 1,5 e 6,5 Log UFC/g enquanto as não congeladas variam entre 2,5 e 8 Log UFC/g.

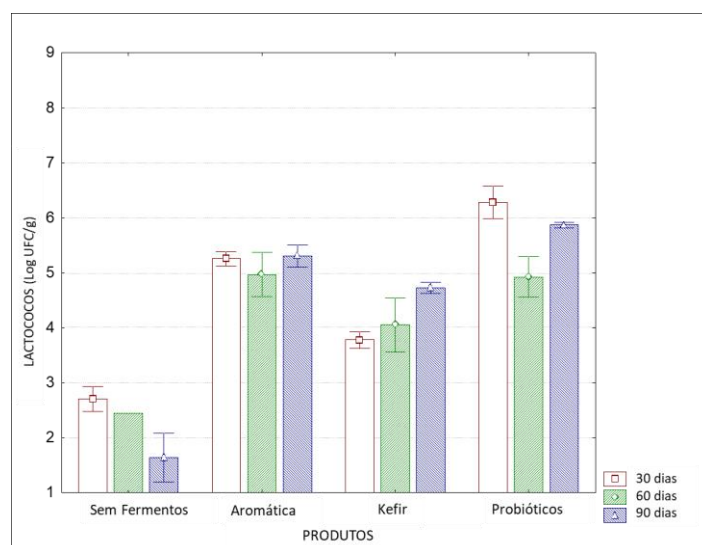


Figura 9- Teor de lactococos (Log UFC/g) nas quatro variantes de manteiga congeladas ao longo de 90 dias

3.2.2. Leitelhos

Tal como na manteiga, também o leitelho foi analisado quanto ao seu teor de microrganismos ao longo do tempo. Na Figura 10 encontram-se os resultados obtidos para as contagens de lactobacilos, onde é possível observar que, o leitelho com probióticos, apresenta maiores valores de lactobacilos ao longo do tempo, seguindo-se o leitelho aromática e Kefir.

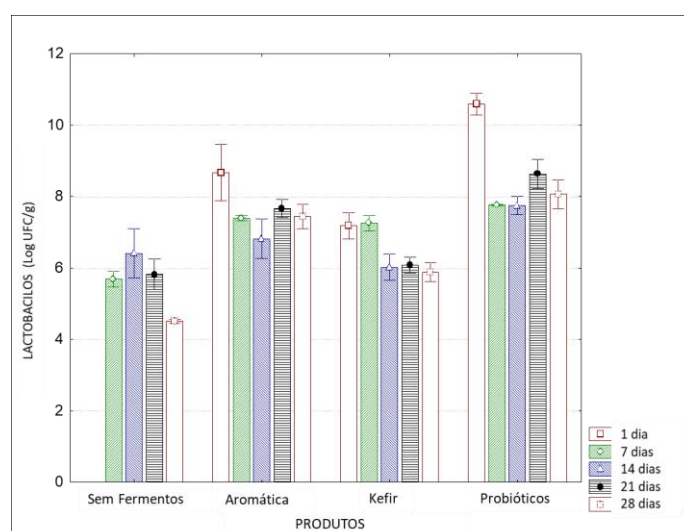


Figura 10- Teor lactobacilos nas quatro vertentes de leitelho em estudo ao longo de 28 dias.

Comparando a Figura 10 com a Figura 4, ou seja, comparando o teor de lactobacilos presentes nas manteigas e nos leitelhos, ao primeiro dia, é possível observar que o leitelho apresenta um maior teor, principalmente quando comparadas as vertentes com probióticos. Este resultado era de esperar uma vez que as culturas são arrastadas na parte líquida eliminada durante o processo.

O teor de *Lactococos* presente nos leitelhos em estudo está apresentado na Figura . Com exceção do primeiro dia, onde se notam diferenças, nos restantes dias o teor de *Lactococos* nas amostras, excluindo a de Kefir que decresce, manteve-se praticamente inalterado, apresentando menores valores na vertente sem fermentos e valores mais altos na vertente com probióticos.

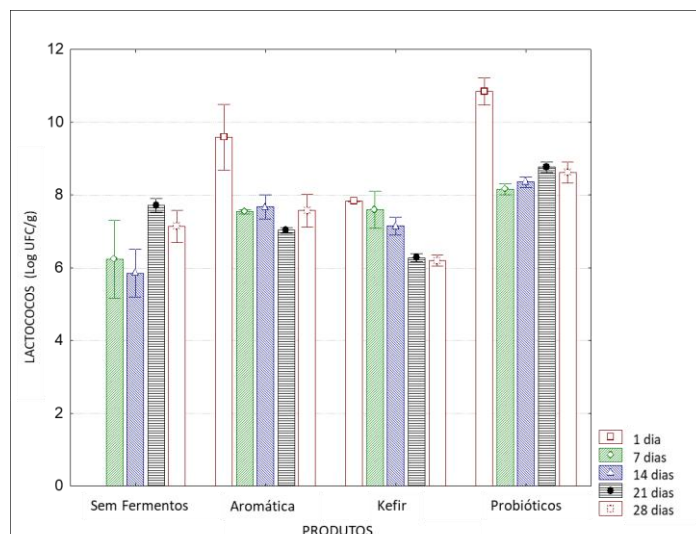


Figura 11- Teor lactococos nas quatro vertentes de leiteiro em estudo ao longo de 28 dias.

Quando comparados os valores de *Lactococos* no leiteiro e nas manteigas, estes também são maiores nas amostras de leiteiro.

A 12 ilustra os resultados referentes ao teor de bolores e leveduras presentes nas quatro variantes do leiteiro ao longo dos 28 dias de armazenamento.

O leiteiro sem fermentos foi o que apresentou, no geral, maiores valores de bolores e leveduras. Este resultado pode ser justificado com o facto de, nas outras variantes, ocorrer uma maior competição entre microrganismos uma vez que possuem culturas fermentativas. No entanto, no caso do leiteiro com a cultura de Kefir, valores elevados também seriam de esperar uma vez que o *starter* incluía uma levedura (*Debaryomices hansenii*).

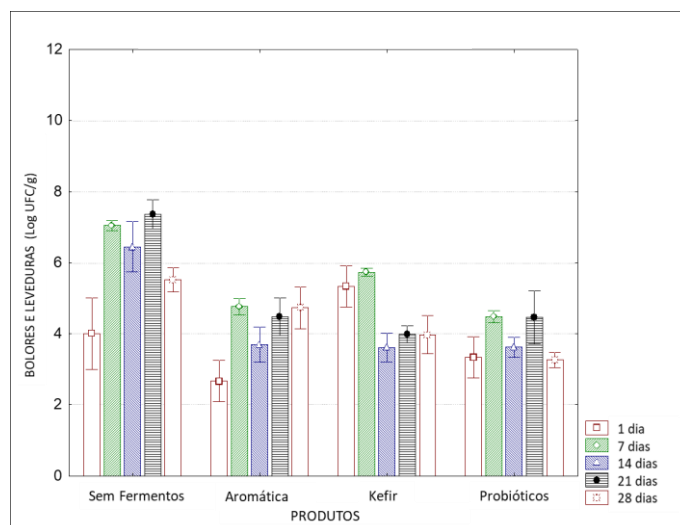


Figura 12-Teor bolores e leveduras nas quatro vertentes de leiteiro em estudo ao longo de 28 dias.

3.3. Composição nutricional da manteiga de ovelha

A composição nutricional das manteigas em estudo é um ponto interessante deste trabalho porque além de caracterizar nutricionalmente cada produto permite perceber a influência dos fermentos utilizados na composição e qualidade das manteigas.

As manteigas apresentam um comportamento semelhante entre si ao longo do tempo. Todas apresentam valores de matéria seca menores no primeiro dia, aumentando aos 30 dias e diminuindo progressivamente até ao dia 90.

A Figura 11 ilustra os resultados deste parâmetro, ao longo de 90 dias, para as quatro variantes de manteiga em estudo, onde é possível observar que a manteiga com probióticos é que apresenta teores de matéria seca menores o que resulta de uma maior retenção da água.

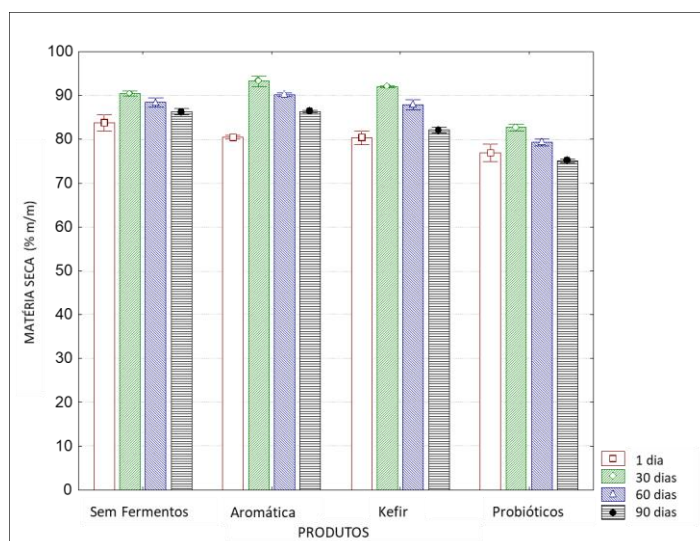


Figura 11- Resultados da matéria seca (%) de cada vertente de manteiga (Sem fermentos, Aromática, Kefir e Com probióticos).

No caso do teor de cinza, apresentado na Figura 12, a manteiga com probióticos é a que apresenta valores mais elevados, no entanto este destaque não é significativo se se tiver em atenção o desvio padrão apresentado. No geral, as manteigas apresentam um resíduo mineral (teor de cinzas) entre 1 e 2%.

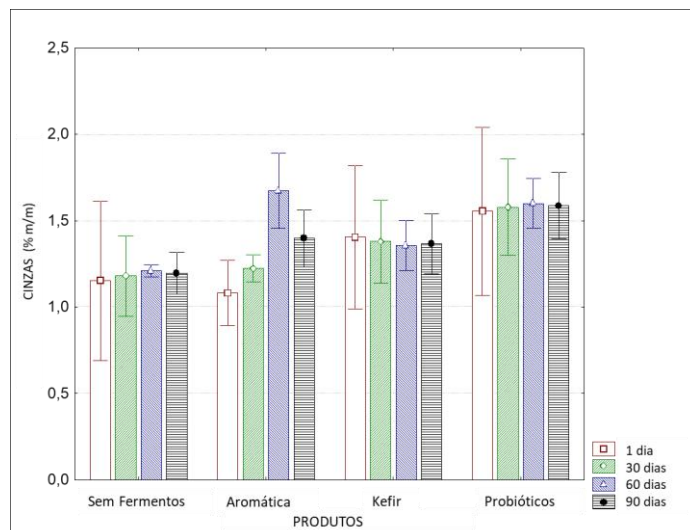


Figura 12- Teor de cinzas nas diferentes amostras de manteigas ao longo de 90 dias.

O teor de gordura das manteigas (Figura 13), com exceção da manteiga com probióticos, apresenta resultados semelhantes entre si ao longo do tempo. Tal como aconteceu com a matéria seca, o teor de gordura também é menor ao primeiro dia, aumentando aos 30 dias e diminuindo progressivamente até aos 90 dias, embora não significativamente. Este facto ficará a dever-se à ocorrência de sinérese nas manteigas, ou seja, da separação da água da manteiga.

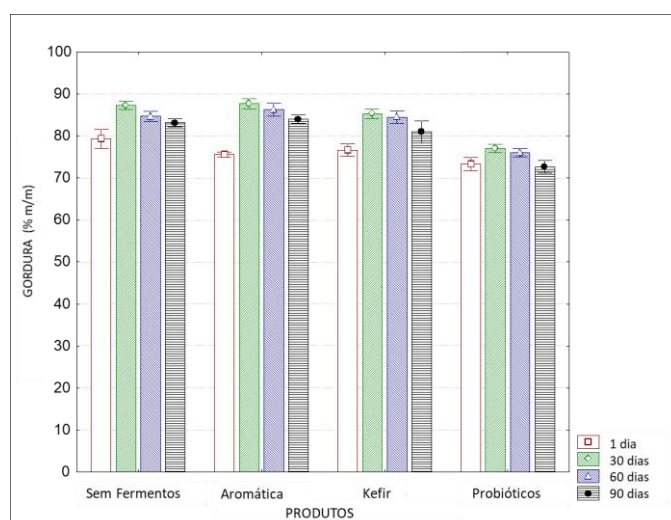


Figura 13- Teor de gordura nas diferentes amostras de manteigas ao longo de 90 dias.

Segundo a Portaria nº110/80 a manteiga com sal deve ter no mínimo um teor de matéria gorda (m/m) de 80%, o que se verifica em todas as manteigas em estudo, a partir do dia 30 de armazenamento, com exceção da manteiga com probióticos. Esta manteiga apresenta teores de humidade elevados devido à dificuldade de expulsão da água durante a malaxagem e por isso apresenta menores teores de gordura.

O teor de proteína das manteigas só foi analisado uma vez durante a primeira semana de maturação, os resultados desta análise encontram-se na Tabela 4. A variante aromática é a que apresenta valores maiores de proteína sendo que a sem fermentos apresenta valores três vezes menores que esta. As vertentes Kefir e com probióticos têm percentagens de proteína muito próximas entre si.

Apesar dos valores apresentados serem muito baixos, na ordem de 1% de proteína em base húmida, pode concluir-se que a adição de fermentos tem influência neste parâmetro.

Tabela 4- Resultados da análise de proteína das vertentes de manteiga Sem fermentos, Aromática, Kefir e com Probióticos.

	Sem Fermentos	Aromática	Kefir	Probióticos
% Proteína (Base Húmida)	0,34 ± 0,04	1,08 ± 0,05	0,84 ± 0,03	0,89 ± 0,04

3.4. Qualidade da manteiga de ovelha

Todos os parâmetros da qualidade da manteiga foram analisados mensalmente até aos 3 meses de armazenamento. Em análise o pH, a acidez, a cor, textura e parâmetros reológicos.

Na Figura 14 encontram-se os resultados obtidos para o pH onde é possível observar que, ao longo do tempo, as manteigas têm tendência em diminuir o seu pH tornando-se mais ácidas.

A manteiga sem sem fermentos é a que apresenta maiores valores de pH (próximos de 6), enquanto as restantes apresentam valores mais baixos sendo que a manteiga com Probióticos é a que apresenta os menores valores.

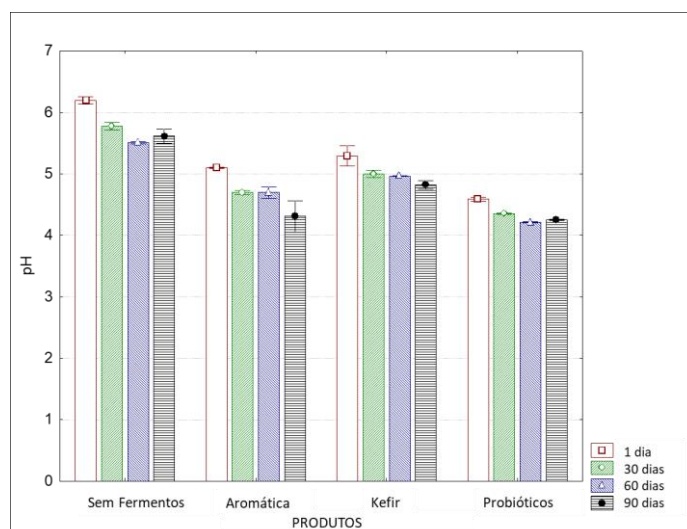


Figura 14- Resultados na análise do pH nas diferentes amostras de manteigas ao longo de 90 dias.

A acidez das manteigas apresenta-se na Figura 15. Este parâmetro aumentou ao longo do tempo de armazenamento. As manteigas fermentadas apresentam valores de acidez sempre superiores aos da manteiga não fermentada, significando que os fermentos utilizados contribuem para o aumento da acidez das manteigas.

A NP-1711 (1986) indica que a manteiga pasteurizada deve ter, no máximo, um valor de acidez de 5 cm³ de solução por 100g de produto. As manteigas em análise apresentam, mesmo durante o período de armazenamento de 90 dias, valores de acidez inferiores a este limite máximo.

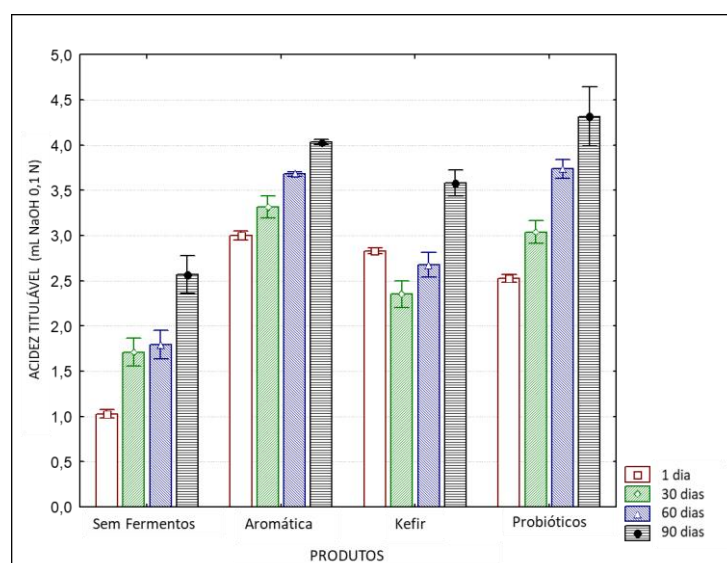


Figura 15- Acidez, expressa em cm³ da solução por 100 g de manteiga para as vertentes de manteiga em estudo ao longo de 90 dias de armazenamento.

Nas Figura 16, Figura 17 e Figura 18 encontram-se os resultados obtidos na medição da cor das diferentes variantes de manteiga em estudo, ao longo de 90 dias de armazenamento. Os resultados apresentados representam coordenadas de cor, L^* , a^* , b^* respetivamente para luminosidade, coordenada vermelho/verde e coordenada amarelo/azul.

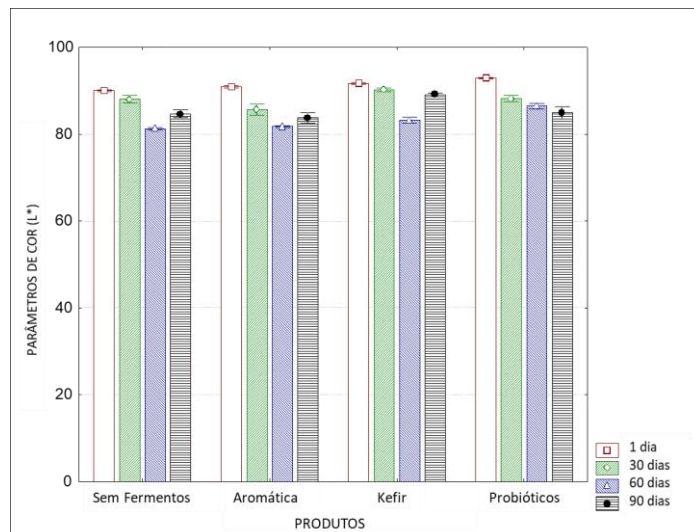


Figura 16- Parâmetro L^* da análise da cor das várias manteigas em estudo ao longo do tempo de armazenamento de 90 dias.

No que toca à luminosidade (L^*) todas as manteigas são mais claras no primeiro dia. A manteiga com Probióticos é a que apresenta maiores valores desta coordenada e por isso é a mais clara de todas. Os valores de L^* têm tendência em diminuir ao longo do tempo o que poderá estar relacionado com a oxidação e perda de água das manteigas.

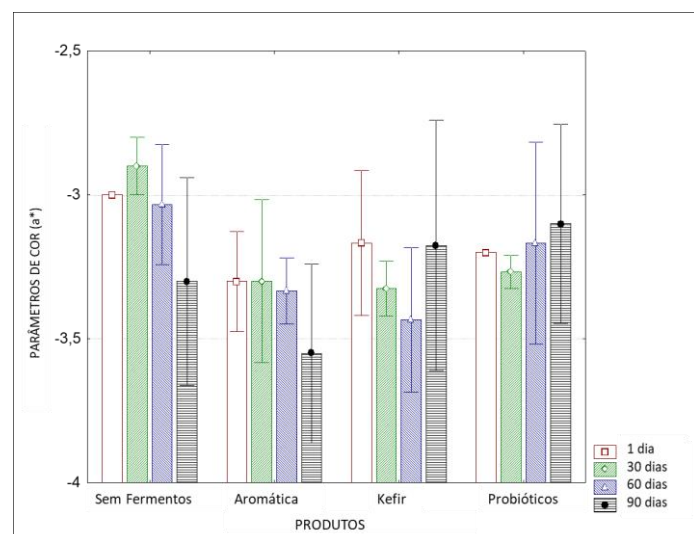


Figura 17- Parâmetro a^* da análise da cor das várias manteigas em estudo ao longo do tempo de armazenamento de 90 dias.

Os valores de a^* negativos são um indicador de uma tonalidade esverdeada. As manteigas não apresentam o mesmo comportamento ao longo do tempo, sendo que a sem fermentos, aromática e com probióticos têm tendência em diminuir este valor, enquanto a manteiga Kefir mostra um ligeiro aumento.

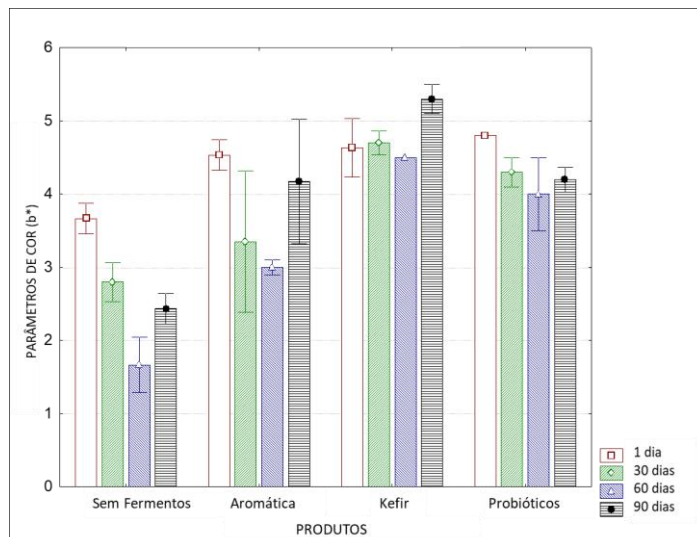


Figura 18- Parâmetro b^* da análise da cor das várias manteigas em estudo ao longo do tempo de armazenamento de 90 dias.

No que diz respeito aos valores de b^* , valores positivos indicam que os produtos se encontram na gama do amarelo. A manteiga Kefir apresenta os valores mais elevados deste parâmetro ao longo do tempo e, juntamente com a de probióticos são as que têm menos variações, ao contrário das manteigas sem fermentos e aromática que apresentam oscilações deste parâmetro ao longo do tempo de armazenamento.

A textura também foi um dos parâmetros de qualidade em estudo. Os resultados da textura são expressos em dureza, adesividade, gomosidade, elasticidade.

Os valores de dureza (Figura 19) indicam que a manteiga com probióticos é a mais dura nos primeiros 30 dias e que a manteiga aromática, no geral, é a menos dura. O resultado da dureza da manteiga com probióticos não vai de encontro ao esperado uma vez que como esta manteiga é a que possui um maior teor de água então devia ser a menos dura. No entanto, tal resultado poderá ter sido afetado pelo facto de, no momento do teste, a amostra se encontrar a uma temperatura mais baixa. Aliás, poderá observar-se que aos 60 e 90 dias esta manteiga apresentou valores bastante mais baixos, o que corrobora aquela suposição.

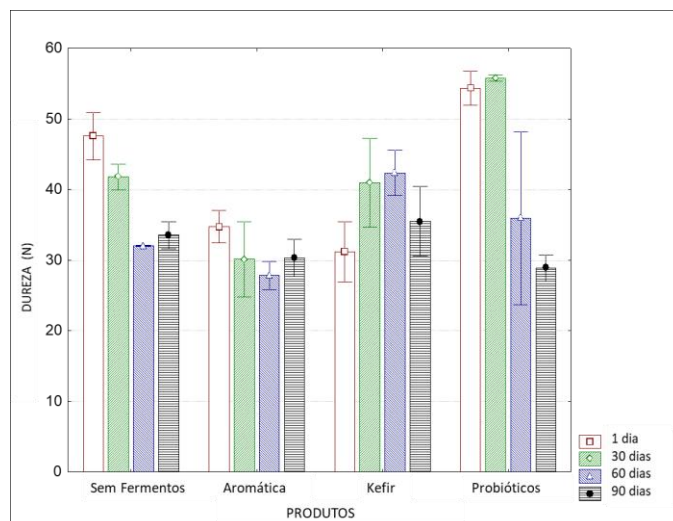


Figura 19- Valores de dureza (N) das diferentes amostras de manteigas ao longo de 90 dias.

A adesividade (N) representa o trabalho necessário para ultrapassar as forças de tração entre o material (manteiga) e a superfície da sonda. A Figura 20 apresenta estes valores, durante o tempo de armazenamento, para as diferentes manteigas em estudo. As manteigas, no geral, não apresentam um comportamento semelhante e por isso não é possível concluir algo sobre este parâmetro.

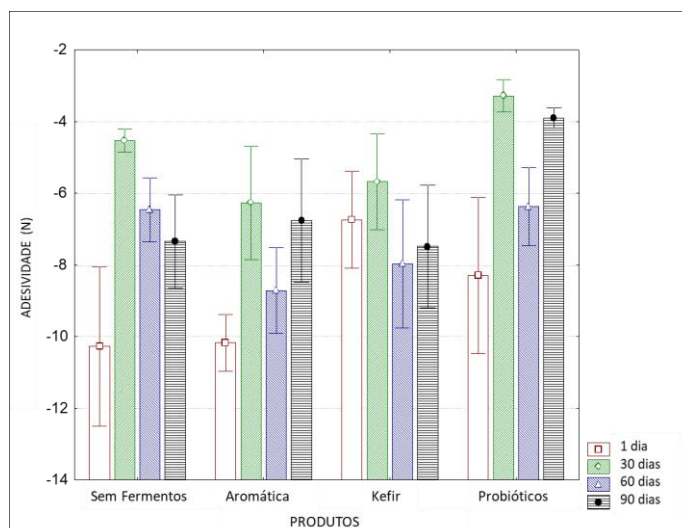


Figura 20- Adesividade (N) das diferentes amostras de manteigas ao longo de 90 dias.

A gomosidade é um parâmetro muito importante quando se fala em alimentos. Representa a energia requerida para mastigar um produto semi-sólido. Os resultados provenientes da análise de textura das manteigas referentes a este parâmetro encontram-se na Figura 21. É possível observar que nos primeiros 30 dias a manteiga com probióticos apresenta maiores valores seguida da manteiga sem fermentos. Entre os 60 e 90 dias de

armazenamento, a manteiga sem fermentos apresenta menores valores seguida da manteiga aromática, com probióticos e de Kefir.

Todas as manteigas têm tendência em diminuir este parâmetro com exceção da manteiga Kefir que aumenta os seus valores de gomosidade ao longo do tempo de armazenamento.

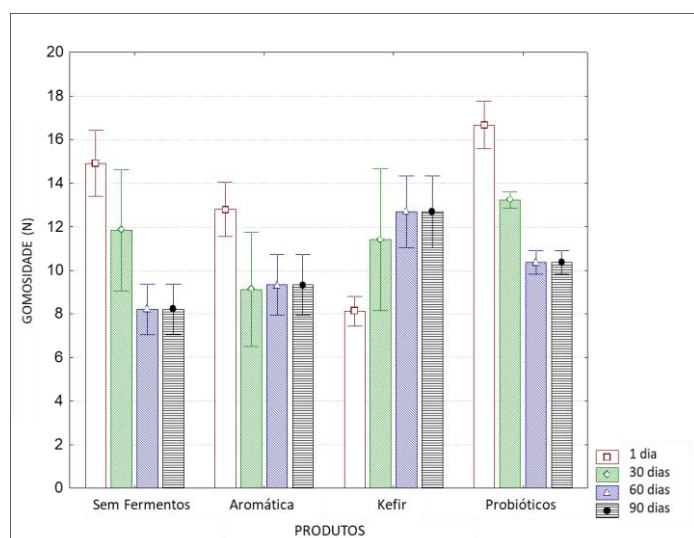


Figura 21- Gomosidade (N) das diferentes amostras de manteigas ao longo de 90 dias.

A Figura 22 apresenta os resultados de elasticidade das manteigas ao longo do tempo. Os valores de elasticidade representam a percentagem de recuperação da manteiga após ter sido deformada.

Com o passar do tempo as manteigas com probióticos e sem fermentos têm tendência em aumentar a capacidade de recuperação da forma inicial após deformação, no entanto não é possível concluir o mesmo em relação às outras duas variantes pois estas apresentam um desvio padrão dos seus resultados consideravelmente grande para se poderem tirar conclusões.

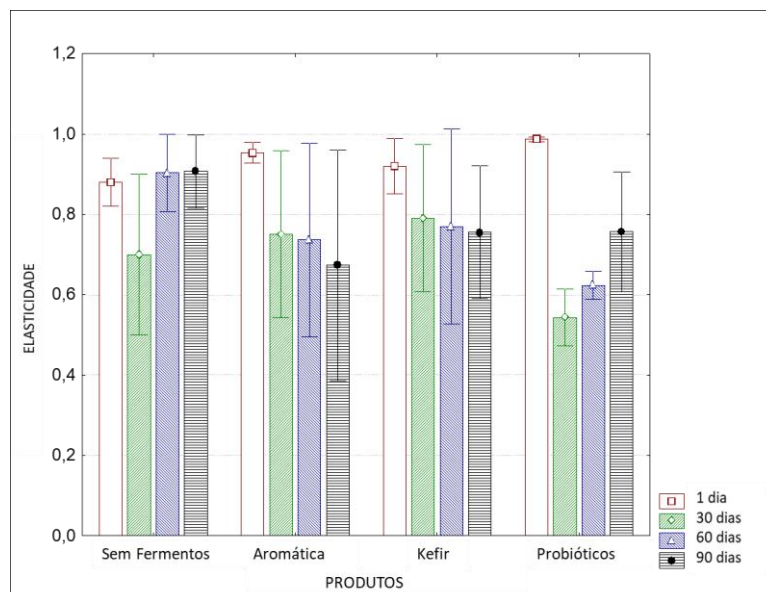


Figura 22- Valores da elasticidade das diferentes amostras de manteigas ao longo de 90 dias.

A análise reológica permite conhecer mais acerca do comportamento de um produto, como por exemplo se se comporta como um líquido ou como um sólido. Nesta análise teve-se como principais objetivos determinar os valores da viscosidade complexa (η^*) e dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da frequência angular.

A Figura 23 apresenta os resultados do logaritmo dos módulos G' e G'' em função da frequência angular das quatro variantes de manteiga em estudo. Estes resultados são referentes ao dia 30 de armazenamento e os restantes encontram-se no Anexo IV – Resultados da reologia das manteigas.

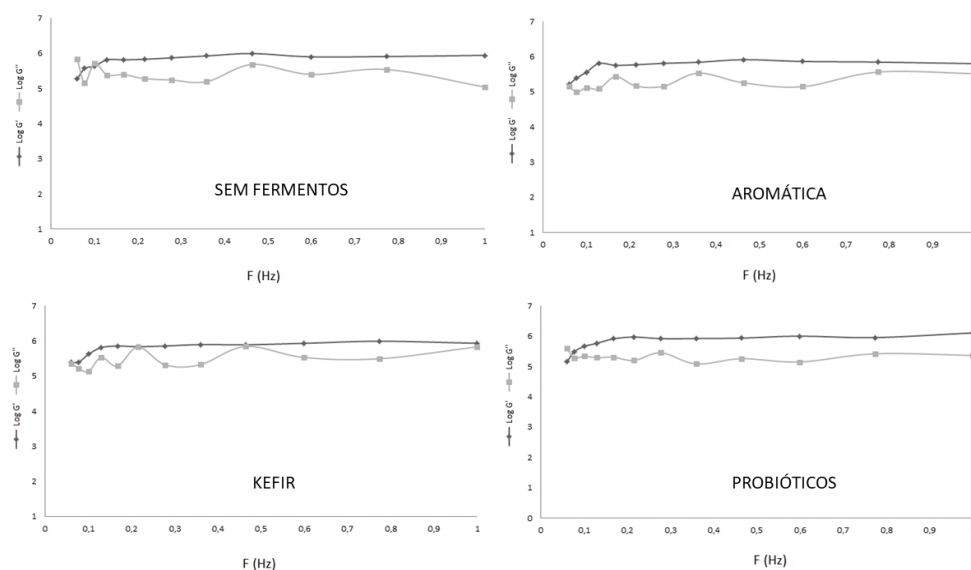


Figura 23 - Logaritmo do módulo elástico (G') e do módulo viscoso (G'') em função da frequência angular (Hz)

As manteigas apresentam comportamentos semelhantes entre si e é claramente visível que o logaritmo de G' é superior ao de G'' . Quando isto acontece significa que a amostra em análise tem comportamento de um sólido.

A Figura 24 apresenta os resultados da viscosidade complexa em função da frequência, para as manteigas sem fermentos, aromática, Kefir e com probióticos. Analisando o gráfico é possível verificar que os resultados não diferem significativamente de variante para variante e que a viscosidade complexa diminui com o aumento da frequência.

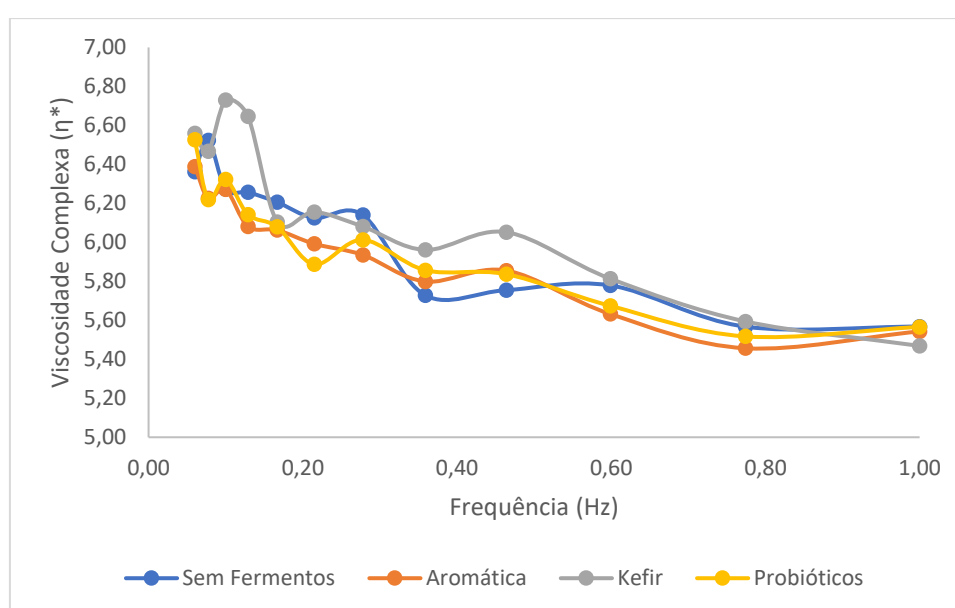


Figura 24 - Viscosidade Complexa em função da frequência (Hz) das manteigas em estudo.

3.5. Composição nutricional do leiteiro de ovelha

As análises para determinar a composição nutricional dos leiteiros sem fermentos, aromática, Kefir e com probióticos foram realizadas apenas no primeiro dia. A Figura 25 apresenta os resultados, em percentagem, referentes às análises de matéria seca, cinzas, gordura e proteína das quatro vertentes.

O leiteiro com probióticos é o que apresenta um teor de matéria seca menor, indicando que este leiteiro é o que possui maior teor de humidade. Os leiteiros Kefir e sem fermentos apresentam teores de matéria seca muito semelhantes entre si, cerca de 14% enquanto o aromático tem aproximadamente 12%. Todos os leiteiros em estudo apresentam valores baixos de matéria pois estes produtos são constituídos maioritariamente por água.

No que toca ao teor de cinzas, as quatro vertentes de leiteiro apresentam valores muito semelhantes, destacando-se a variante sem fermentos que apresenta um teor de minerais ligeiramente superior.

O leiteiro com probióticos apresenta o teor de gordura mais baixo (2%), seguido do sem fermentos, aromático e do Kefir. Este último apresenta um teor próximo de 6%. Tal como aconteceu na manteiga, o baixo teor de gordura da componente com Probióticos pode ter influência da maior quantidade de água que este produto apresenta.

As variantes de leiteiro com fermentos apresentaram valores de proteína próximos de 4% enquanto a componente não fermentada apresentou um valor ligeiramente superior (5%).

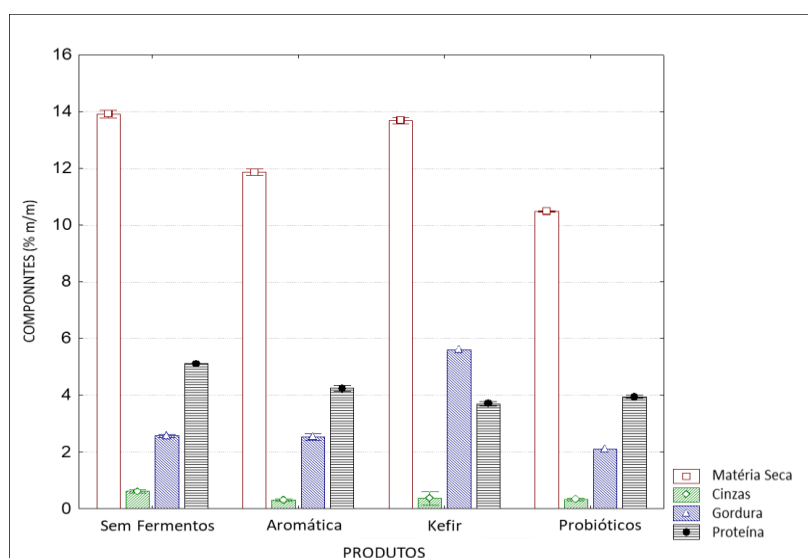


Figura 25- Composição das quatro vertentes de leiteiro em matéria seca, cinzas, gordura e proteína no primeiro dia.

O leiteiro foi ainda quantificado quanto à sua composição de ácidos gordos. Todos os leiteiros foram analisados, no entanto um problema no cromatógrafo impediu a continuação desta avaliação e, por isso não existem resultados para todos as variantes de leiteiro.

A Figura 26 apresenta um cromatograma resultante desta avaliação ao leiteiro sem fermentos. Esta figura serve como exemplo dos cromatogramas obtidos.

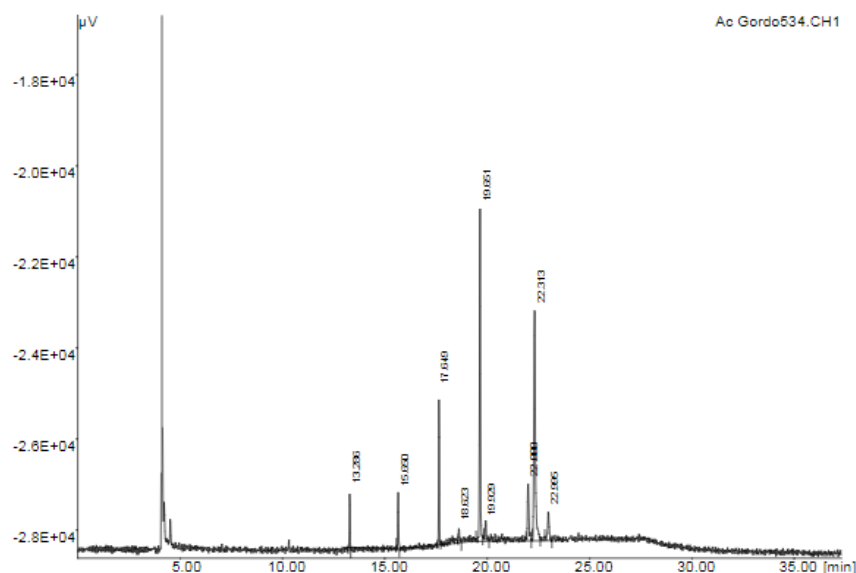


Figura 26- Cromatograma referente ao leiteiro Sem fermentos.

A Tabela 5 apresenta a percentagem de cada ácido gordo identificado nas amostras de leiteiro sem fermentos e de leiteiro aromático. Foi possível identificar a presença dos ácidos gordos cáprico, láurico, mirístico, pentadecanóico, palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico e linoleico. Os dois leiteiros apresentaram os mesmos ácidos gordos e em proporções muito semelhantes. De destacar que em maior quantidade estão o ácido palmítico, o ácido oleico e o ácido mirístico.

Tabela 5- Quantificação dos ácidos gordos presentes nos leiteiros sem fermentos e aromático.

% Ácido Gordo	Sem fermentos	Aromática
Ácido cáprico (C6:0)	3,537 ± 0,34	5,468 ± 1,34
Ácido láurico (C8:0)	3,994 ± 0,08	3,886 ± 0,04
Ácido mirístico (C10:0)	10,995 ± 0,39	10,637 ± 0,60
Ácido pentadecanóico (C12:0)	1,845 ± 0,01	2,194 ± 0,43
Ácido palmítico (C14:0)	31,059 ± 1,30	30,629 ± 1,52
Ácido palmitoleico (C16:0)	3,121 ± 0,19	2,956 ± 0,38
Ácido esteárico (C18:0)	8,773 ± 0,70	9,159 ± 0,16
Ácido oleico (C18:1)	31,780 ± 2,32	29,746 ± 0,48
Ácido linoleico (C18:2)	4,897 ± 0,14	5,326 ± 0,44

3.6. Qualidade do leiteiro de ovelha

O pH, acidez, cor e viscosidade foram os parâmetros escolhidos para avaliar parâmetros intrínsecos à qualidade dos leiteiros em estudo. A Tabela 6 apresenta os resultados médios e os respetivos desvios padrão.

Tabela 6 - Resultados de pH, acidez e cor para os leiteiros em estudo.

LEITELHOS	PARÂMETROS				
	pH	Acidez (% Ácido Láctico)	L*	a*	b*
SEM FERMENTOS	6,24 ± 0,01	3,510 ± 0,0036	82,1 ± 0,11	- 4,0 ± 0,11	4,3 ± 0,16
PROBIÓTICOS	4,52 ± 0,00	8,475 ± 0,0065	82,4 ± 0,20	- 4,2 ± 0,07	5,3 ± 0,16
AROMÁTICA	4,65 ± 0,00	8,498 ± 0,0049	77,0 ± 0,27	- 3,6 ± 0,18	1,0 ± 0,04
KEFIR	4,92 ± 0,00	5,631 ± 0,0037	83,7 ± 0,07	- 3,8 ± 0,04	6,0 ± 0,04

Os resultados indicam que a utilização de fermentos resulta em leiteiros com valores de pH mais baixos. Os leiteiros com probióticos e aromático apresentam os valores de acidez maiores sendo mais do dobro da acidez do leiteiro sem fermentos.

No que toca à cor, as variantes dos leiteiros apresentam valores próximos de luminosidade (L*) e da coordenada a*. Nos resultados da coordenada b* o leiteiro aromático apresenta um resultado ligeiramente diferente das restantes variáveis.

A Figura 27 apresenta os resultados da viscosidade para cada uma das vertentes de leiteiro em estudo. A viscosidade é uma propriedade física que caracteriza a resistência de um fluido ao escoamento, quanto maior o seu valor maior a resistência oferecida.

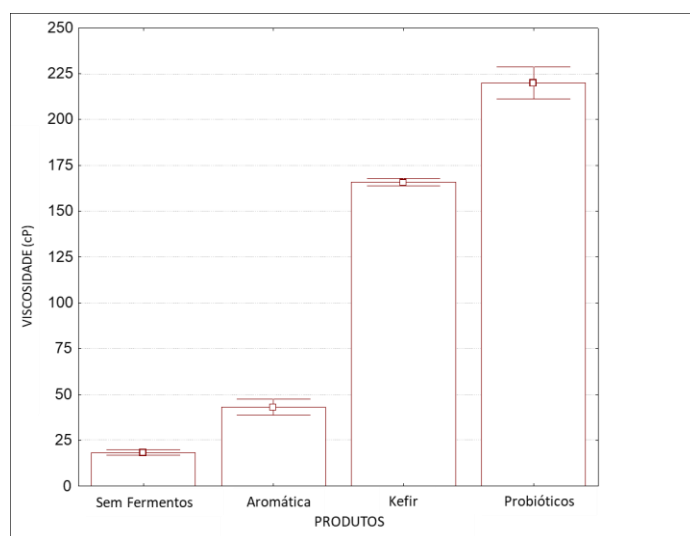


Figura 27 - Resultados da viscosidade (cPs) para os diferentes tipos de leiteiro.

A utilização de fermentos afeta esta propriedade aumentando a resistência que o produto oferece, uma vez que os leitelhos fermentados apresentam maiores valores de viscosidade, em especial o leitelho fermentado com probióticos que apresenta o maior valor de viscosidade das amostras em estudo, quase 225 cPs. Estes valores poderão estar relacionados com os valores de pH destas amostras próximos do ponto de desnaturação de algumas proteínas. Indicando que as proteínas presentes nos leitelhos poderão ter desnaturado tornando os leitelhos mais viscosos.

O leitelho de Kefir apresenta valores de viscosidade três vezes superiores ao leitelho aromático e o leitelho sem fermentos apresenta metade do valor do leitelho aromático.

3.7. Resultados Análise Sensorial

Estudos de Análise Sensorial foram realizados às vertentes de manteiga e aos seus subprodutos. As análises sensoriais diferem entre si no número de provadores uma vez que esta é uma variável que nem sempre é possível de manter inalterada.

3.7.1. Manteiga

As provas de análise sensorial das quatro variantes de manteiga em estudo foram efetuadas num intervalo mensal até aos 3 meses de armazenamento.

A análise sensorial tinha como principal objetivo perceber a aceitação do consumidor a estas formulações de manteiga, mas também perceber a sua preferência em termos de aroma, sabor e textura. Os resultados da análise sensorial estão apresentados nas Figuras 30 a Figura 32.

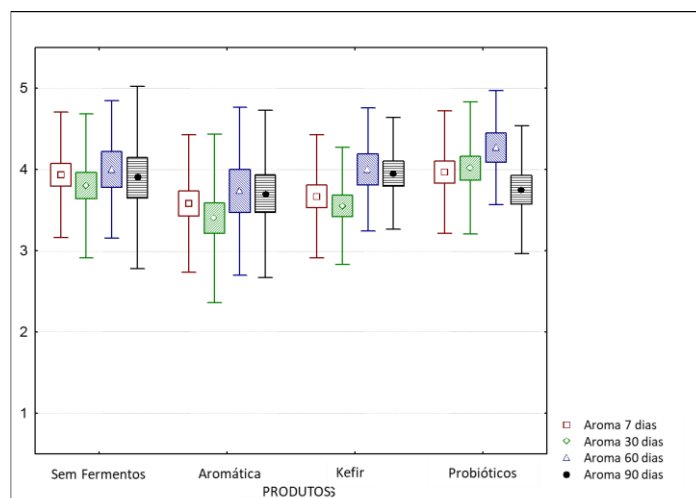


Figura 28- Resultados da Análise Sensorial referentes ao aroma das quatro vertentes de manteiga

No geral, os provadores preferem o aroma da manteiga com probióticos e, esta manteiga e a sem fermentos apresentam os valores mais altos em relação ao sabor e à textura. Estes resultados refletem-se na apreciação global feita às manteigas, onde estas duas vertentes também se destacam.

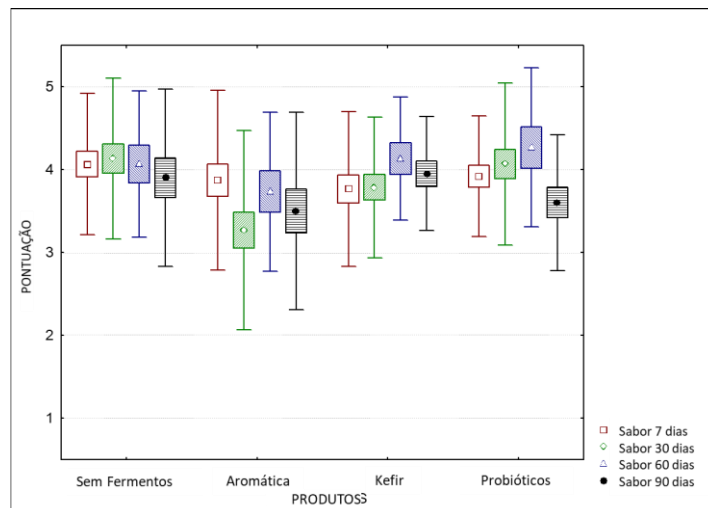


Figura 29- Resultados da análise sensorial referentes ao sabor das quatro vertentes de manteiga

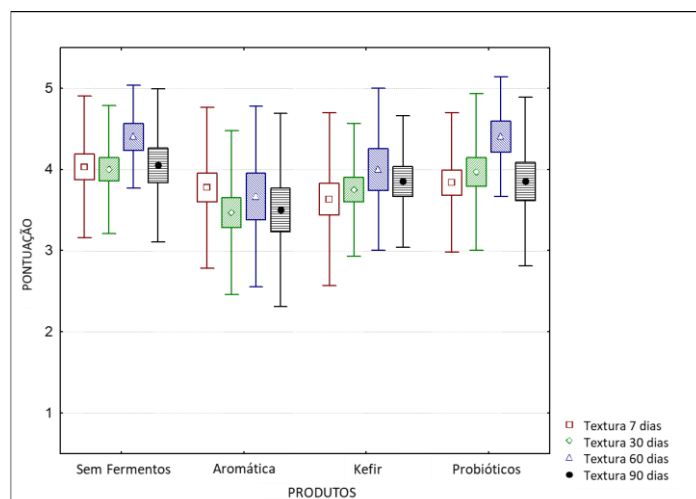


Figura 30- Resultados da análise sensorial referentes à textura das quatro vertentes de manteiga

Os consumidores têm preferência por duas das vertentes de manteiga em estudo, as vertentes sem fermentos e com probióticos. A sua apreciação global é muito semelhante entre si e são as que apresentam pontuações mais altas.

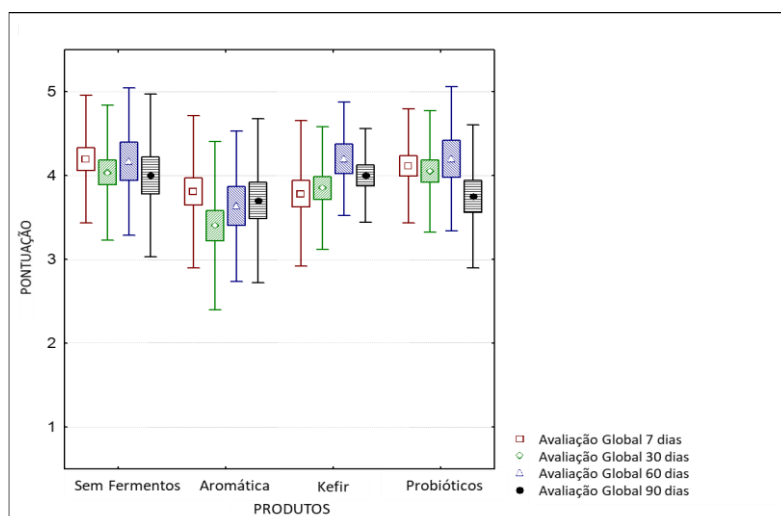


Figura 31 - Resultados da análise sensorial referentes à apreciação global das quatro vertentes de manteiga

A variante aromática é a que apresenta valores maiores no ranking de preferência seguida da manteiga com Kefir. Estes resultados indicam que foram as menos apreciadas. A variante com Kefir apresentou um aumento de preferência ao longo do tempo, no entanto não o suficiente para ser a preferida dos consumidores.

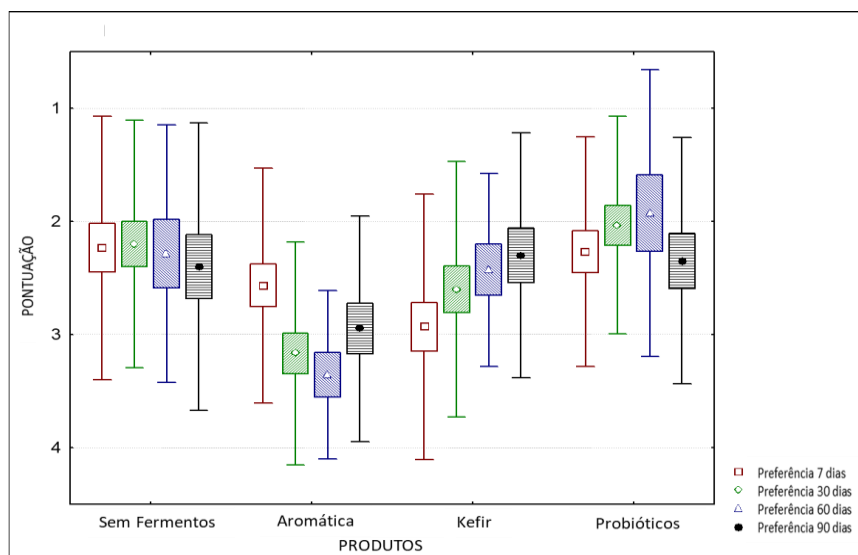


Figura 32- Resultados da análise sensorial referentes à preferência das quatro vertentes de manteiga

3.7.2. Leitelho

A análise sensorial feita às amostras de leitelho foi realizada apenas na primeira semana e teve o mesmo objetivo da análise sensorial da manteiga: perceber a aceitação e preferência dos consumidores sobre cada uma das vertentes em estudo.

A Figura 33 apresenta os resultados da apreciação dos provadores em relação às características dos leitelhos em estudo. É possível observar que, os leitelhos de Kefir e com probióticos apresentam pontuações mais elevadas em todos os parâmetros destacando-se de forma clara das vertentes sem fermentos e aromática.

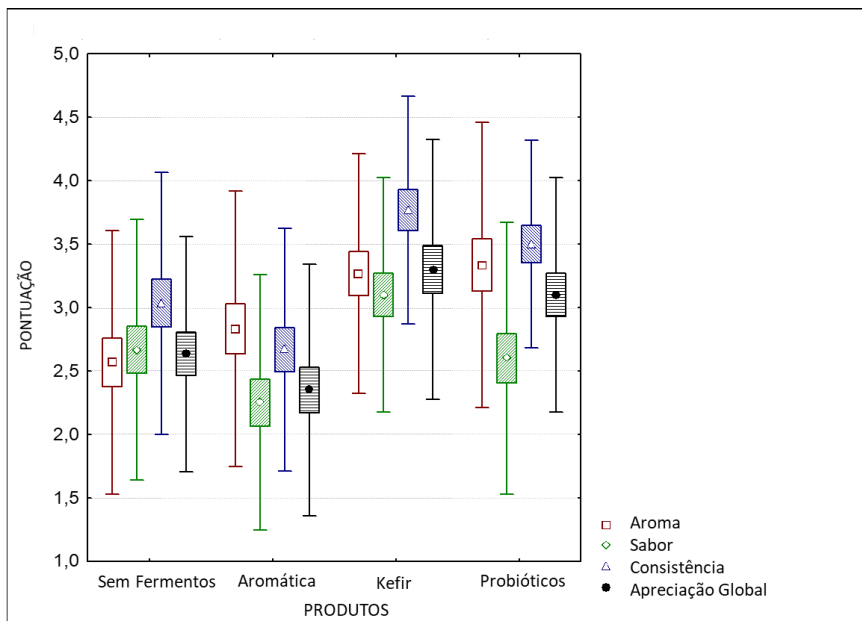


Figura 33- Resultados referentes à análise sensorial em relação ao aroma, sabor, consistência e apreciação global para cada uma das vertentes de leite em estudo.

A preferência dos consumidores está apresentada no ranking da Figura 34. O leite Kefir é o preferido pelos provadores, seguido do leite com probióticos. Já o leite aromático é o que apresenta menor preferência.

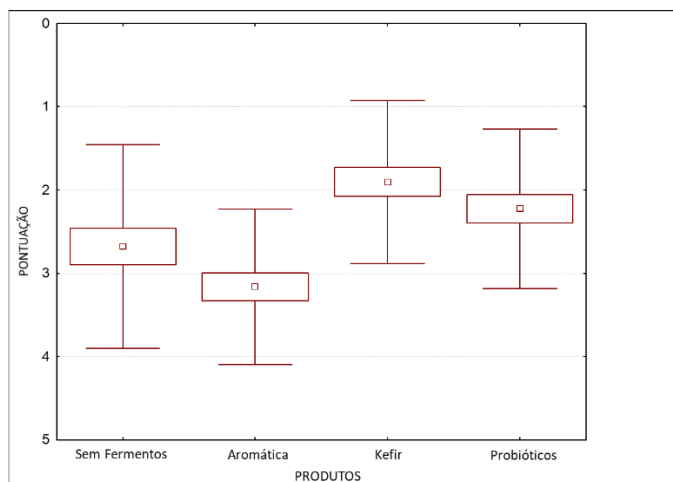


Figura 34- Resultados da preferência dos provadores em relação às vertentes de leite Sem fermentos, Aromática, Kefir e Com probióticos.

4. Conclusão

Com este trabalho verificou-se que a produção de manteiga de ovelha com diferentes fermentos é uma opção viável e permite a valorização do seu subproduto, o leiteiro.

Para poder ser considerado um alimento probiótico é necessário que este apresente níveis superiores a 6 Log UFC g⁻¹. As análises microbiológicas às manteigas permitem concluir que, independentemente do tempo de armazenamento, a manteiga com probióticos apresenta níveis superiores a este limite mínimo, mesmo quando se trata de manteigas congeladas. Este facto também é válido para o leiteiro com probióticos que apresenta valores próximos de 8 Log UFC mL⁻¹.

No que diz respeito à composição das manteigas, verificou-se que, a manteiga com Probióticos apresenta níveis baixos de alguns parâmetros pois apresenta um maior teor de água que influencia os restantes parâmetros. Disto é exemplo o teor de gordura em que a manteiga com Probióticos apresenta valores inferiores aos impostos pela legislação.

Em relação à qualidade das manteigas, estas têm tendência em aumentar a sua acidez ao longo do tempo. A adição de fermentos incrementa este valor ainda mais, mas mesmo assim, até aos 90 dias de armazenamento pode concluir-se que as manteigas em estudo apresentam níveis de acidez dentro do limite legal estabelecido.

A composição nutricional dos leiteiros é bastante semelhante entre si, com exceção do leiteiro com probióticos que apresenta um teor de sólidos mais baixo e do leiteiro Kefir que apresenta um teor de gordura mais elevado.

Foi possível concluir que os leiteiros sem fermentos e aromático possuem na sua composição 9 ácidos gordos, possuindo em maior quantidade o ácido palmítico, o ácido oleico e o ácido mirístico.

Conclui-se que a utilização de fermentos resulta em leiteiros mais ácidos e também mais viscosos. Este aumento da viscosidade poderá estar relacionado com a desnaturação das proteínas presentes nos leiteiros uma vez que estes apresentam valores de pH em que, normalmente, ocorre a desnaturação das proteínas.

Da análise sensorial conclui-se que os provadores preferem a manteiga com probióticos quando questionados em relação ao seu aroma, sabor e textura. No que toca aos leiteiros, os provadores demonstraram preferir as vertentes com probióticos e Kefir.

No futuro seria interessante repetir este estudo no sentido de concluir acerca da quantificação dos ácidos gordos quer nos leiteiros quer na manteiga. Sugere-se ainda uma otimização do processo de produção das manteigas de forma a que apresentem um teor de humidade menor.

5. Bibliografia

- Ali, A. H. (2019). Current knowledge of buttermilk: Composition, applications in the food industry, nutritional and beneficial health characteristics. In *International Journal of Dairy Technology* (Vol. 72, Issue 2, pp. 169–182). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12572>
- AOAC 925.23. (1995). Solids (total) in milk. *Official Methods of Analysis*.
- AOAC 945.46. (1995). Ash of milk. Gravimetric method. *Official Methods of Analysis*.
- AOAC 991.20. (1994). Nitrogen(Total) in Milk - Kjeldahl Methods. *Official Methods of Analysis*.
- Banco de Portugal BPstat. (2021, November 10). *Indústrias Alimentares em Portugal*. Análise Setorial Das Indústrias Alimentares. <https://bpstat.bportugal.pt/conteudos/publicacoes/1163>
- Clark, S., & Mora García, M. B. (2017). A 100-Year Review: Advances in goat milk research. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 10026–10044. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13287>
- Costa, M. P., Balthazar, C. F., Franco, R. M., Mársico, E. T., Cruz, A. G., & Conte Junior, C. A. (2014). Changes in expected taste perception of probiotic and conventional yogurts made from goat milk after rapidly repeated exposure. *Journal of Dairy Science*, 97(5), 2610–2618. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7617>
- E Frede. (2002). BUTTER: The Product and its Manufacture. In H. Roginski, J. W. Fuquay, & P. F. Fox (Eds.), *ENCYCLOPEDIA OF DAIRY PRODUCTS* (Vol. 1, pp. 1–557).
- Elkashef, H., Mobdy, A. A., & Hassan, A. (2021). Texture, microstructure, and antioxidant characteristics of bio-fermented milk fortified with buttermilk nano-powder. *International Dairy Journal*, 126, 105248. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105248>
- Erkaya, T., Ürkek, B., Doğru, Ü., Çetin, B., & Şengül, M. (2015). Probiotic butter: Stability, free fatty acid composition and some quality parameters during refrigerated storage. *International Dairy Journal*, 49, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.04.011>
- Ewe, J. A., & Loo, S. Y. (2016). Effect of cream fermentation on microbiological, physicochemical and rheological properties of *L. helveticus*-butter. *Food Chemistry*, 201, 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.049>
- FAO. (2002). *Guidelines for the Evaluation of Com probióticos in Foof*. <http://www.fao.org/es/ESN/Probio/probio.htm>
- Frede, E. (2002). Butter: Properties ans Analysis. In *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Vol. 1, pp. 1–557).

- Gabinete de Planeamento, P. e A. Ge. (2020). *Análise setorial LEITE & LATICÍNEOS*.
- Gebreselassie, N., Abrahamsen, R. K., Beyene, F., Abay, F., & Narvhus, J. A. (2016). Chemical composition of naturally fermented buttermilk. *International Journal of Dairy Technology*, 69(2), 200–208. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12236>
- Gonçalves, M. F. D., & Baggio, S. R. (2012). Evaluation of quality of butter from different provenance. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 32(3), 629–635. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000091>
- Haenlein, G. F. W. (2001). Past, present, and future perspectives of small ruminant dairy research. *Journal of Dairy Science*, 84(9), 2097–2115. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74655-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74655-3)
- Haiti, S., Vij, S., Dipika, Y., & Mandal, S. (2014). Evaluation of probiotic potentials of *L. plantarum* C6 isolated from cheese. *Dairy Science*, 67, 413–420.
- Handa, S., & Sharma, N. (2017). In vitro probiotic potential of *Lactobacillus delbreuckii* subsp. *bulgaricus* F18 isolated from homemade butter. *Microbiology (Russian Federation)*, 86(1), 143–149. <https://doi.org/10.1134/S0026261716060114>
- INSRJ (2019). Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. *Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar Valores-guia*.
- ISO 4121. (1987). Sensory analysis — Methodology — Evaluation of food products by methods using scales. *International Organization for Standardization*.
- ISO 5508. (1990). Animal and vegetable fats and oils - Analysis by gas chromatography of methyl esters of fatty acids. *International Organization for Standardization*.
- ISO 8968-1. (2014). Milk and milk products — Determination of nitrogen content — Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation. *International Standard Organisation*.
- Karaca, Y., Gün, İ., Seydim, A. C., & Guzel-Seydim, Z. B. (2018). Production and quality of kefir cultured butter. *Mljekarstvo*, 68(1), 64–72. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2018.0108>
- Lasik, A., Pikul, J., Majcher, M., Lasik-Kurdyś, M., & Konieczny, P. (2016). Characteristics of fermented ewe's milk product with an increased ratio of natural whey proteins to caseins. *Small Ruminant Research*, 144, 283–289. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.10.011>

- Milani, F. X., & Wendorff, W. L. (2011). Goat and sheep milk products in the United States (USA). *Small Ruminant Research*, 101(1–3), 134–139. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.033>
- Mohapatra, A., Shinde, A. K., & Singh, R. (2019). Sheep milk: A pertinent functional food. In *Small Ruminant Research* (Vol. 181, pp. 6–11). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.10.002>
- Mudgil, D., Barak, S., & Darji, P. (2016). Development and characterization of functional cultured buttermilk utilizing Aloe vera juice. *Food Bioscience*, 15, 105–109. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.06.001>
- NP - 470. (1983). *Leite: Determinação da acidez*.
- NP 469. (1983). *Leites Determinação da matéria gorda (Técnica de Gerber) Processo corrente*.
- O’Kennedy, B. T. (2011). Caseins. *Handbook of Food Proteins*, 13–29. <https://doi.org/10.1533/9780857093639.13>
- Pandya, A. J., & Ghodke, K. M. (2007). Goat and sheep milk products other than cheeses and yoghurt. *Small Ruminant Research*, 68(1–2), 193–206. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.007>
- Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., & Chilliard, Y. (2008). Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small Ruminant Research*, 79(1), 57–72. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.07.009>
- Samet-Bali, O., Ayadi, M. A., & Attia, H. (2009). Traditional Tunisian butter: Physicochemical and microbial characteristics and storage stability of the oil fraction. *LWT - Food Science and Technology*, 42(4), 899–905. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.11.007>
- Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of com probióticos during processing and storage. In *Journal of Functional Foods* (Vol. 9, Issue 1, pp. 225–241). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030>

Anexos

Anexo I – Questionário de Análise Sensorial de Leitelho

Nome:

Idade:

Sexo:

Agradecemos que nos indique a sua concordância relativamente ao tratamento e divulgação dos resultados desta prova: Sim ☐ Não ☐

ANÁLISE SENSORIAL DE LEITELHO

O leitelho é o subproduto resultante do fabrico de manteiga. Neste caso, tem disponíveis 4 amostras sujeitas a diferentes tratamentos. Pede-se aos participantes para avaliar com uma escala de 1 a 5 (1 = desgosto muito e 5= gosto muito) os seguintes parâmetros: aroma, sabor, consistência e apreciação global na ordem indicada. Dispõe de um copo de água para limpar o palato entre as amostras.

AMOSTRA 645

PARÂMETROS	1 (Desgosto muito)	2 (Desgosto)	3 (Nem gosto nem desgosto)	4 (Gosto)	5 (Gosto muito)
Aroma					
Sabor					
Consistência					
Apreciação global					

AMOSTRA 739

PARÂMETROS	1 (Desgosto muito)	2 (Desgosto)	3 (Nem gosto nem desgosto)	4 (Gosto)	5 (Gosto muito)
Aroma					
Sabor					
Consistência					
Apreciação global					

AMOSTRA 453

PARÂMETROS	1 (Desgosto muito)	2 (Desgosto)	3 (Nem gosto nem desgosto)	4 (Gosto)	5 (Gosto muito)
Aroma					
Sabor					
Consistência					
Apreciação global					

AMOSTRA 356

PARÂMETROS	1 (Desgosto muito)	2 (Desgosto)	3 (Nem gosto nem desgosto)	4 (Gosto)	5 (Gosto muito)
Aroma					
Sabor					
Consistência					
Apreciação global					

Por favor ordene também as amostras por ordem de preferência:

1º _____; 2º _____; 3º _____; 4º _____

Obrigada pela sua colaboração

Anexo II – Questionário de Análise Sensorial de Manteiga

Nome:

Idade:

Sexo:

Agradecemos que nos indique a sua concordância relativamente ao tratamento e divulgação dos resultados desta prova: ☐ Sim ☐ Não

ANÁLISE SENSORIAL DE MANTEIGA

Tem disponíveis 4 amostras de manteiga de ovelha sujeitas a diferentes tratamentos. Pede-se aos participantes para avaliar com uma escala de 1 a 5 (1 = desgosto muito e 5= gosto muito) os seguintes parâmetros: aroma, sabor, textura e apreciação global na ordem indicada. Dispõe tostas e de um copo de água para limpar o palato entre as amostras.

AMOSTRA 645

PARÂMETROS	1 (Desgosto muito)	2 (Desgosto)	3 (Nem gosto nem desgosto)	4 (Gosto)	5 (Gosto muito)
Aroma					
Sabor					
Textura					
Apreciação global					

AMOSTRA 739

PARÂMETROS	1 (Desgosto muito)	2 (Desgosto)	3 (Nem gosto nem desgosto)	4 (Gosto)	5 (Gosto muito)
Aroma					
Sabor					
Textura					
Apreciação global					

AMOSTRA 453

PARÂMETROS	1 (Desgosto muito)	2 (Desgosto)	3 (Nem gosto nem desgosto)	4 (Gosto)	5 (Gosto muito)
Aroma					
Sabor					
Textura					
Apreciação global					

AMOSTRA 356

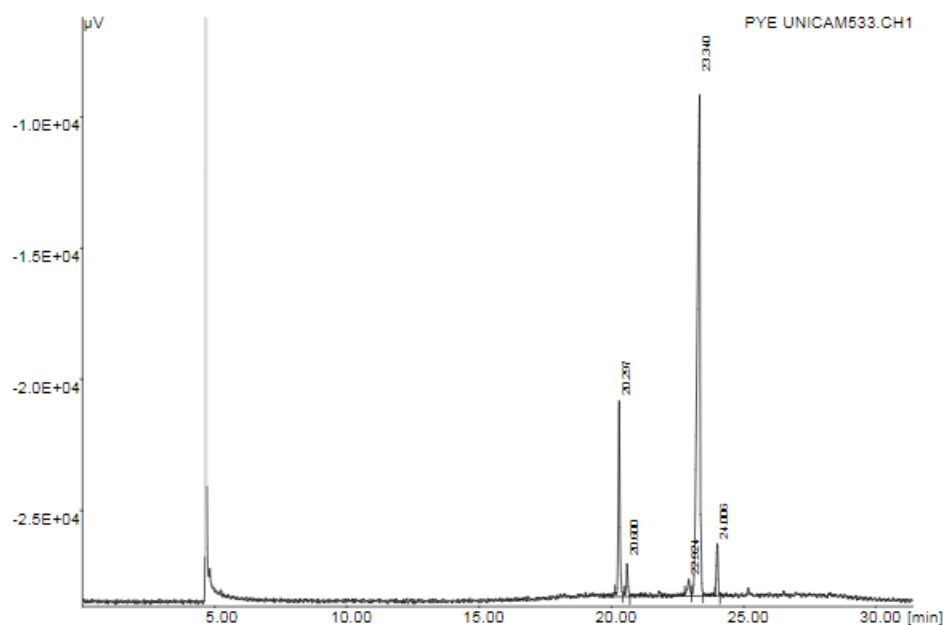
PARÂMETROS	1 (Desgosto muito)	2 (Desgosto)	3 (Nem gosto nem desgosto)	4 (Gosto)	5 (Gosto muito)
Aroma					
Sabor					
Textura					
Apreciação global					

Por favor ordene também as amostras por ordem de preferência:

1º _____; 2º _____; 3º _____; 4º _____

Obrigada pela sua colaboração

Anexo III – Cromatogramas dos leitelhos



File name : PYE UNICAM533.CH1

Info :

Teste azeite pré coluna

Vial # = 1 Rack # = 1

Injection Date : 6-Oct-2021 14:17:28

Curr. Date : 21-Oct-2021 12:05:14

User : AULAS

Group : AULAS

Control Method :NONE

#	Name	RT	Area[µV.Sec]	%Area	Width
1	Ác. Palmitico	20.297	31791.674	15.816	0.057
2	Ác. Palmitoleico	20.600	5389.689	2.681	0.053
3	Ác. Esteárico	22.924	4423.906	2.201	0.078
4	Ác. Oleico	23.340	150178.857	74.710	0.115
5	Ác. Linoleico	24.006	9230.671	4.592	0.069

Total Area of Peak = 201014.796 [µV.Sec]

Total Area of Signal = -52747559.710

Figura 35- Cromatograma do azeite utilizado como Padrão para identificação dos ácidos gordos.

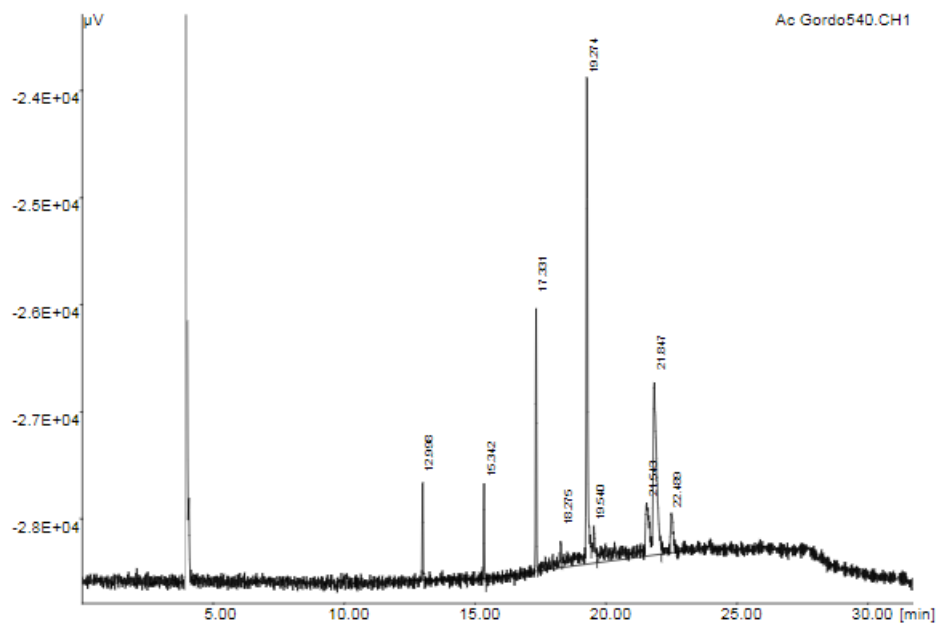


Figura 36- Cromatograma do leiteiro Aromático (Réplica 1)

Tabela 7-Quantificação dos ácidos gordos presentes na réplica 1 do leiteiro Aromático

Ácido Gordo	%Área
Ácido cáprico	4,131
Ácido láurico	3,926
Ácido mirístico	11,235
Ácido pentadecanoico	1,761
Ácido palmítico	32,144
Ácido palmitoleico	3,336
Ácido esteárico	9,318
Ácido oleico	29,261
Ácido linoleico	4,887

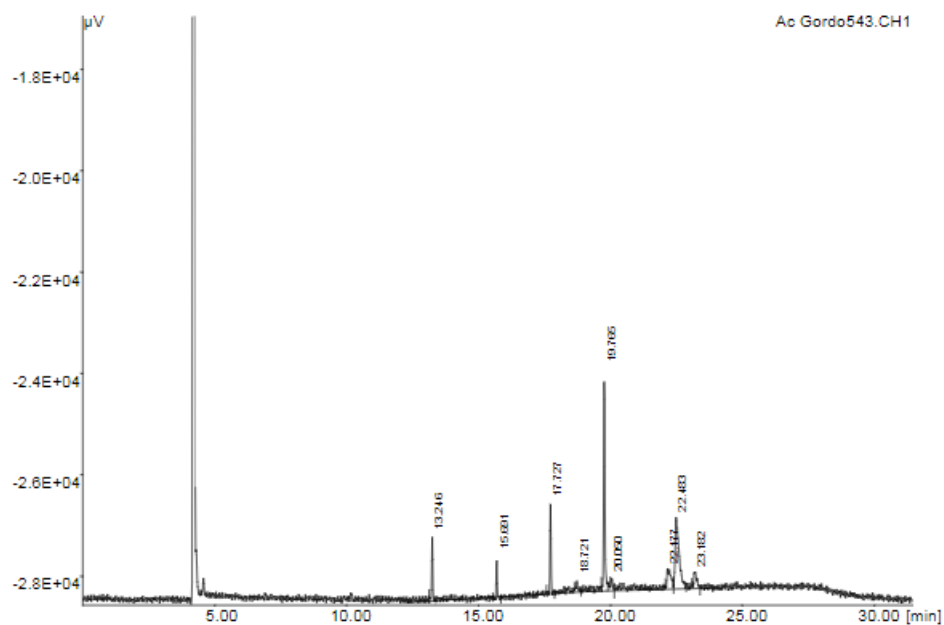


Figura 37- Cromatograma do leiteiro Aromático (Réplica 2)

Tabela 8 - Quantificação dos ácidos gordos presentes na réplica 2 do leiteiro Aromático

Ácido Gordo	%Área
Ácido cáprico	6,804
Ácido láurico	3,846
Ácido mirístico	10,039
Ácido pentadecanoico	2,627
Ácido palmítico	29,114
Ácido palmitoleico	2,576
Ácido esteárico	9,000
Ácido oleico	30,23
Ácido linoleico	5,764

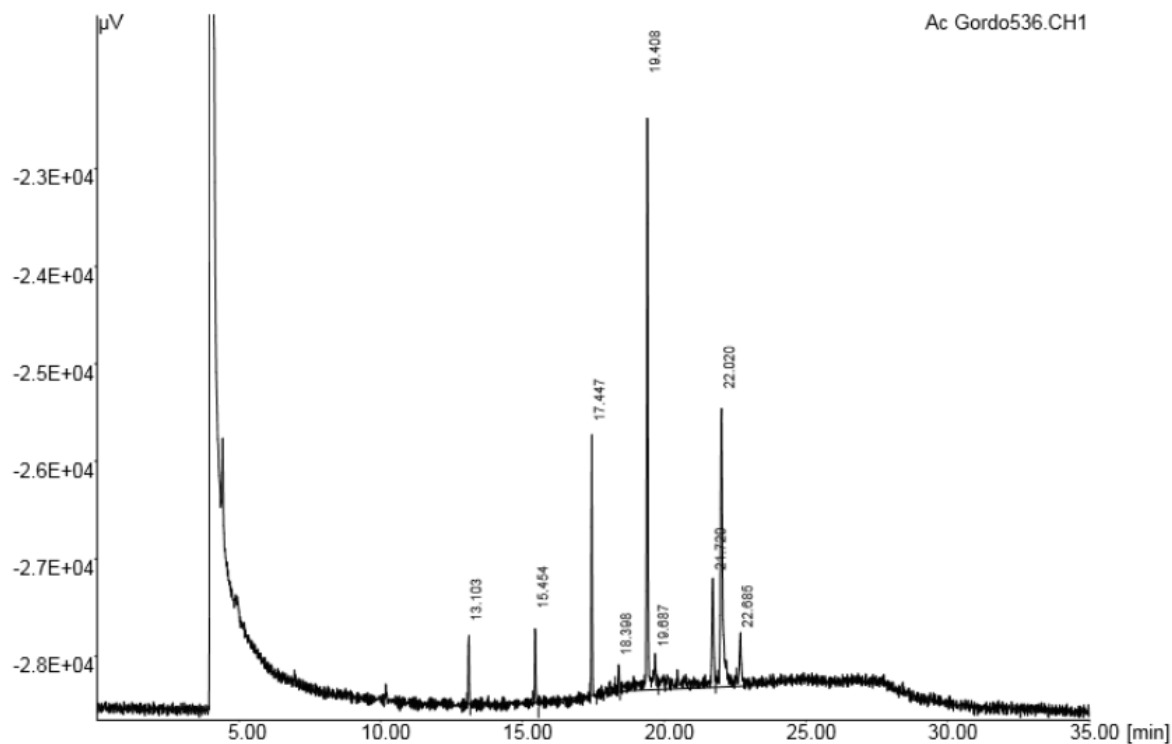


Figura 38 - Cromatograma do leiteiro Sem fermentos (Réplica 1)

Tabela 9 - Quantificação dos ácidos gordos presentes na réplica 1 do leiteiro Sem fermentos.

Ácido Gordo	%Área
Ácido cáprico	3,2
Ácido láurico	3,916
Ácido mirístico	11,382
Ácido pentadecanoico	1,853
Ácido palmítico	32,362
Ácido palmitoleico	3,315
Ácido esteárico	9,47
Ácido oleico	29,462
Ácido linoleico	5,039

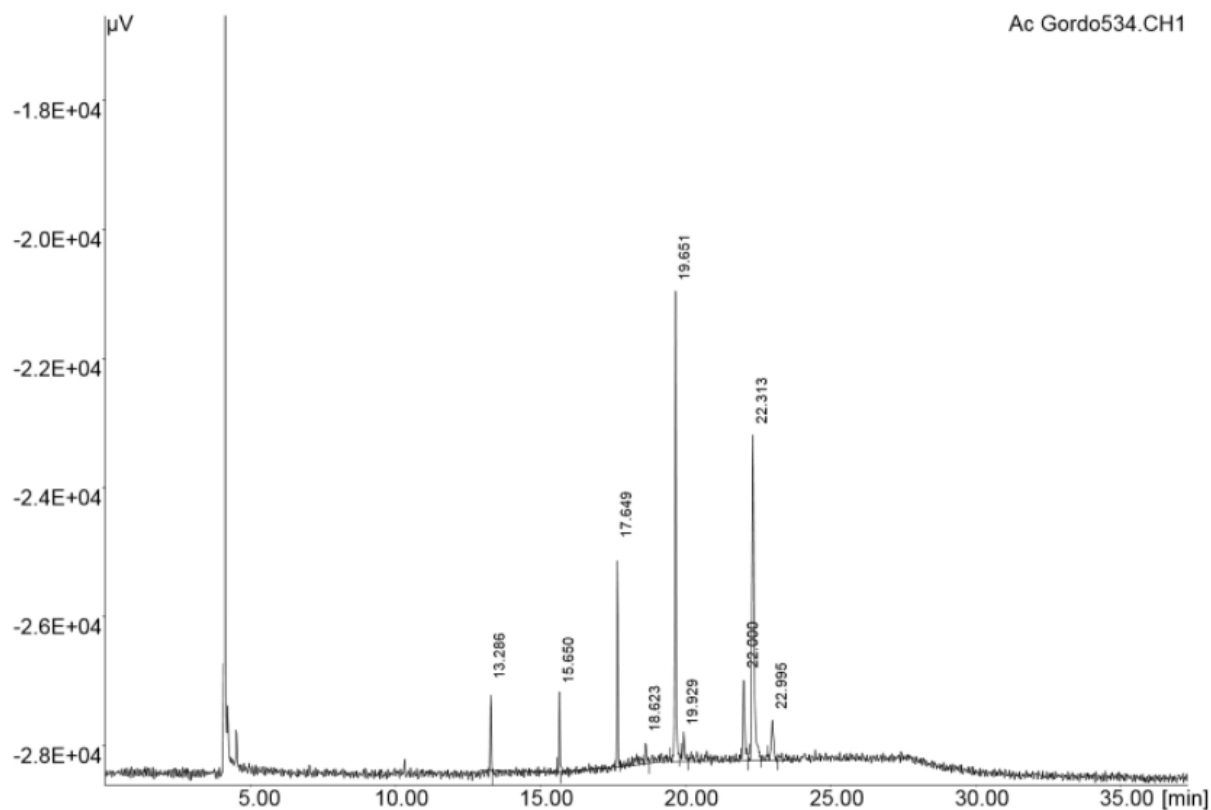


Figura 39 - Cromatograma do leiteiro Sem fermentos (Réplica 2)

Tabela 10 - Quantificação dos ácidos gordos presentes na réplica 2 do leiteiro Sem fermentos.

Ácido Gordo	% Área
Ácido cáprico	3,873
Ácido láurico	4,071
Ácido mirístico	10,607
Ácido pentadecanoico	1,837
Ácido palmítico	29,756
Ácido palmitoleico	2,927
Ácido esteárico	8,076
Ácido oleico	34,097
Ácido linoleico	4,755

Anexo IV – Resultados da reologia das manteigas

Tabela 11- Logaritmo dos módulos elástico e viscoso e viscosidade complexa das manteigas sem fermentos e aromática nos dias 1,30, 60 e 90.

	f in Hz	$\text{Log}(G')$ d1	$\text{Log}(G')$ d30	$\text{Log}(G')$ d60	$\text{Log}(G')$ d90	$\text{log}(G'')$ d1	$\text{log}(G'')$ d30	$\text{log}(G'')$ d60	$\text{log}(G'')$ d90	$\text{log}(\eta^*)$ d1	$\text{log}(\eta^*)$ d30	$\text{log}(\eta^*)$ d60	$\text{log}(\eta^*)$ d90
SEM FERMENTOS	0,06	5,27	5,72	5,86	5,27	5,84	5,77	5,82	5,71	6,42	6,36	6,42	6,19
SEM FERMENTOS	0,08	5,57	6,17	5,79	5,57	5,16	5,77	6,12	5,16	6,51	6,52	6,51	5,92
SEM FERMENTOS	0,10	5,64	5,88	6,17	5,53	5,72	5,89	5,64	5,61	6,41	6,27	6,41	6,01
SEM FERMENTOS	0,13	5,82	6,09	6,23	5,71	5,39	5,70	5,71	5,65	6,34	6,26	6,34	5,99
SEM FERMENTOS	0,17	5,82	6,22	6,01	5,82	5,40	5,20	5,50	5,40	6,01	6,21	6,01	5,84
SEM FERMENTOS	0,22	5,83	6,25	6,25	5,83	5,28	5,39	5,73	5,78	6,14	6,13	6,14	5,89
SEM FERMENTOS	0,28	5,87	6,37	6,16	5,95	5,24	5,77	5,74	5,24	5,98	6,14	5,98	5,71
SEM FERMENTOS	0,36	5,93	6,07	6,51	6,02	5,20	5,34	5,49	5,20	6,16	5,73	6,16	5,67
SEM FERMENTOS	0,46	5,99	6,20	6,26	5,99	5,68	5,58	5,54	5,57	5,80	5,75	5,80	5,57
SEM FERMENTOS	0,60	5,90	6,29	6,30	5,90	5,40	6,03	5,56	5,40	5,74	5,78	5,74	5,39
SEM FERMENTOS	0,77	5,91	6,14	6,16	5,91	5,54	5,97	5,52	5,54	5,50	5,57	5,50	5,27
SEM FERMENTOS	1,00	5,94	6,01	6,34	5,94	5,04	6,18	5,81	5,15	5,57	5,57	5,57	5,15
AROMÁTICA	0,06	5,22	5,90	5,77	5,22	5,17	5,59	5,51	5,17	6,25	6,39	6,25	5,78
AROMÁTICA	0,08	5,40	5,87	5,78	5,40	5,00	5,47	5,27	5,00	6,11	6,23	6,11	5,74
AROMÁTICA	0,10	5,57	6,06	6,13	5,57	5,12	5,45	5,05	5,12	6,33	6,27	6,33	5,79
AROMÁTICA	0,13	5,81	5,98	5,95	5,81	5,09	5,36	5,47	5,09	6,07	6,08	6,07	5,91
AROMÁTICA	0,17	5,76	6,08	5,97	5,76	5,44	5,23	5,50	5,35	5,97	6,06	5,97	5,77
AROMÁTICA	0,22	5,78	6,12	6,14	5,78	5,17	5,34	5,58	5,17	5,90	5,99	6,03	5,66
AROMÁTICA	0,28	5,81	6,16	5,96	5,81	5,16	5,62	5,67	5,16	5,81	5,94	5,81	5,58
AROMÁTICA	0,36	5,85	6,14	6,32	5,85	5,54	5,44	5,47	5,44	5,79	5,80	5,97	5,53
AROMÁTICA	0,46	5,92	6,30	6,05	5,92	5,26	5,63	5,49	5,26	5,60	5,86	5,60	5,47
AROMÁTICA	0,60	5,87	6,20	6,08	5,87	5,15	5,37	5,08	5,15	5,50	5,63	5,50	5,30



AROMÁTICA	0,77	5,85	6,13	6,16	5,85	5,57	5,56	5,64	5,45	5,51	5,46	5,51	5,21
AROMÁTICA	1,00	5,80	6,34	6,21	5,80	5,52	5,26	5,40	5,52	5,41	5,54	5,41	5,07

Tabela 12- Logaritmo dos módulos elástico e viscoso e viscosidade complexa das manteigas Kefir e com Probióticos nos dias 1,30, 60 e 90.

	<i>f</i> in Hz	Log (G') d1	Log (G') d30	Log (G') d60	Log (G') d90	log(G'') d1	log(G'') d30	log(G'') d60	log(G'') d90	log(η*) d1	log(η*) d30	log(η*) d60	log(η*) d90
KEFIR	0,06	5,39	5,77	5,82	5,15	5,36	6,04	6,05	5,50	5,91	6,56	6,56	6,00
KEFIR	0,08	5,40	6,12	5,32	5,49	5,22	5,74	5,98	5,29	6,31	6,47	6,31	5,88
KEFIR	0,10	5,62	6,52	5,99	5,67	5,13	5,64	6,07	5,34	6,29	6,73	6,46	5,92
KEFIR	0,13	5,81	6,50	5,95	5,77	5,53	6,21	5,75	5,29	6,25	6,65	6,16	5,88
KEFIR	0,17	5,86	6,04	6,56	5,91	5,28	5,72	6,15	5,31	6,12	6,10	6,58	5,91
KEFIR	0,22	5,84	6,21	6,26	5,98	5,83	5,77	5,40	5,20	6,12	6,16	6,14	5,85
KEFIR	0,28	5,86	6,32	6,18	5,92	5,32	5,41	5,78	5,45	5,92	6,08	5,97	5,71
KEFIR	0,36	5,90	6,31	6,31	5,92	5,32	5,28	5,86	5,09	5,87	5,96	6,00	5,58
KEFIR	0,46	5,89	6,51	6,38	5,94	5,85	5,82	5,89	5,26	5,70	6,05	5,94	5,49
KEFIR	0,60	5,93	6,39	6,30	6,00	5,53	5,20	5,73	5,15	5,68	5,81	5,74	5,43
KEFIR	0,77	6,00	6,27	6,26	5,96	5,49	5,54	5,51	5,42	5,51	5,59	5,58	5,30
KEFIR	1,00	5,94	6,26	6,33	6,00	5,83	5,30	6,01	5,45	5,61	5,47	5,67	5,24
COM PROBIÓTICOS	0,06	5,15	5,84	5,31	5,40	5,60	5,94	5,09	5,22	6,56	6,53	5,91	5,80
COM PROBIÓTICOS	0,08	5,49	5,87	5,73	5,62	5,29	5,32	5,89	5,13	6,31	6,22	6,31	5,85
COM PROBIÓTICOS	0,10	5,67	6,08	5,98	5,81	5,34	5,67	5,85	5,53	6,46	6,32	6,29	5,96
COM PROBIÓTICOS	0,13	5,77	6,03	6,15	5,86	5,29	5,49	5,25	5,28	6,16	6,14	6,25	5,85



COM PROBIÓTICOS	0,17	5,91	6,10	6,14	5,84	5,31	5,18	5,08	5,72	6,16	6,08	6,12	5,85
COM PROBIÓTICOS	0,22	5,98	6,01	6,24	5,86	5,20	5,39	5,55	5,32	6,14	5,89	6,12	5,63
COM PROBIÓTICOS	0,28	5,92	6,24	6,16	5,90	5,45	5,67	5,29	5,32	5,97	6,01	5,92	5,56
COM PROBIÓTICOS	0,36	5,92	6,20	6,21	5,89	5,09	5,55	5,52	5,85	6,00	5,86	5,87	5,60
COM PROBIÓTICOS	0,46	5,94	6,29	6,16	5,93	5,26	5,52	5,05	5,53	5,94	5,84	5,70	5,39
COM PROBIÓTICOS	0,60	6,00	6,25	6,22	6,00	5,15	5,42	5,69	5,49	5,74	5,67	5,68	5,33
COM PROBIÓTICOS	0,77	5,96	6,20	6,19	5,94	5,42	5,22	5,09	5,71	5,58	5,52	5,51	5,28
COM PROBIÓTICOS	1,00	6,11	6,33	6,27	5,44	5,37	5,89	5,16	5,16	5,67	5,57	5,61	4,70