

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DOS ALIMENTOS**

**DESENVOLVIMENTO DE *FROZEN YOGURT* COM  
PROPRIEDADES FUNCIONAIS**

**DISSERTAÇÃO MESTRADO**

**FABIANE FAGUNDES DALLA CORTE**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2008**

**DESENVOLVIMENTO DE *FROZEN YOGURT* COM  
PROPRIEDADES FUNCIONAIS**

**Por**

**Fabiane Fagundes Dalla Corte**

Dissertação Apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de

**Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

**Orientador (a): Neila Silvia Pereira dos Santos Richards**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2008**

**Universidade Federal de Santa Maria**  
**Centro de Ciências Rurais**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos**  
**Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
Aprova a Dissertação de Mestrado

**DESENVOLVIMENTO DE *FROZEN YOGURT* COM PROPRIEDADES**  
**FUNCIONAIS**

Elaborada por

**Fabiane Fagundes Dalla Corte**

como requisito parcial para obtenção do título de  
**Mestre em Ciência de Tecnologia dos Alimentos**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Neila Silvia Pereira dos Santos Richards  
(Presidente/Orientadora)

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luisa Helena R. Hecktheuer (UFSM)

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Erna Vogt de Jong (UFRGS)

Santa Maria, 29 de fevereiro, 2008

*Dedico este trabalho ao meu marido,  
Emerson, pelo incentivo, confiança,  
amor, ajuda e companheirismo  
para a realização deste trabalho.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria pela possibilidade de execução deste trabalho, meus agradecimentos.

A direção e colegas do Hospital de Caridade de Santo Ângelo que viabilizaram a minha participação neste programa de pós-graduação.

À **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Neila Silvia Pereira dos Santos Richards**, pela oportunidade de aperfeiçoamento profissional, pela confiança, pelos ensinamentos prestados com muita dedicação e sabedoria e, acima de tudo, a relação de amizade e companheirismo que obtivemos.

A **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Erna Vogt de Jong** e **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luisa Helena R. Hecktheuer** pela participação como banca examinadora.

Aos colegas de pesquisa, **Mestre Nutricionista Sabrina Vieira da Silva, Farmacêutica Larissa Vargas Becker e Agrônoma Carline Paródia** pela amizade e valiosas contribuições durante a elaboração deste trabalho.

Aos funcionários e colegas do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, especialmente, **Liana Inês Guidolin Milani e Ana Paula de Souza Rezer** responsáveis técnicas do Laboratório de Microbiologia dos Alimentos.

Em especial a minha filha **Giovana Fagundes Dalla Corte**, nascida em agosto de 2006, que como um anjo soube entender a ausência de sua mãe, em alguns momentos, para se dedicar ao curso de pós-graduação.

E a todos os amigos, colegas e familiares que direta e indiretamente contribuíram para que eu pudesse concluir este trabalho.

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos  
Universidade Federal de Santa Maria

### ELABORAÇÃO DE *FROZEN YOGURT* COM PROPRIEDADES FUNCIONAIS

Autora: Fabiane Fagundes Dalla Corte  
Orientador (a): Professora Dr<sup>a</sup>. Neila Silvia Pereira dos Santos Richards  
Local e Data da Defesa: Santa Maria, 29 de Fevereiro, 2008.

A busca na melhoria da qualidade de vida da população vem despertando o interesse na indústria alimentícia em desenvolver produtos com características funcionais, proporcionando alimentos integrais, fortificados, enriquecidos ou melhorados, causando efeitos potencialmente benéficos à saúde nos aspectos preventivos e terapêuticos. Este trabalho teve como objetivo elaborar um *frozen yogurt* com propriedades funcionais a partir de iogurtes suplementados com prebiótico (inulina), caseinato de cálcio e probióticos. As culturas lácticas utilizadas foram as tradicionais e as culturas lácticas probióticas em três diferentes concentrações (0,5%, 1,0% e 1,5%). O *frozen* foi elaborado a partir do desenvolvimento do iogurte, nas concentrações já descritas, observando os valores de pH e, posteriormente, a realização dos processos de homogeneização dos ingredientes, batimento em baixa temperatura (sorveteira), envase e congelamento do produto a temperatura de -22°C. As análises físico-químicas realizadas foram de pH, acidez expressa em ácido láctico, teor de lactose, teor de cinzas, teor de proteína, teor de gordura e *overrun*; a análise microbiológica, num período de 35 dias de armazenamento e em intervalos de sete dias, para avaliar a viabilidade das culturas lácticas das espécies tradicionais *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* e, probióticas *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium sp.* Foi realizada a análise microbiológica das culturas lácteas tradicionais e probióticas liofilizadas para certificação do número de microrganismos respectivamente. A análise sensorial foi realizada em três dias alternados sendo analisados os atributos cor, sabor, aroma, consistência e qualidade global utilizando uma escala hedônica estruturada de nove pontos. Avaliou-se nesta pesquisa a intenção de compra do produto e sua preferência, totalizando 105 provadores não treinados. Os dados experimentais gerados pelos resultados da análise sensorial foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças das médias comparadas através do teste de Tukey. As concentrações de 1,0% e 1,5% de culturas tradicionais e probióticas não tiveram diferença significativa em relação à análise sensorial desenvolvida. Para o teste de ordenação de preferência foi utilizada a tabela de Newell e MacFarlane onde a formulação de 0,5% de culturas lácteas tradicionais e probióticas obteve a menor aceitabilidade.

**Palavras-chave:** *frozen*, desenvolvimento, probiótico, iogurte.

## ABSTRACT

Master's Dissertation  
Post-Graduate Program in Food Science and Technology  
Federal University of Santa Maria

### ELABORATION OF FROZEN YOGURT WITH FUNCTIONAL PROPERTIES

Author: Fabiane Fagundes Dalla Corte  
Supervisor: Professor Dr. Neila Silvia Pereira dos Santos Richards  
Location and Date of Defense: Santa Maria, 29 February 2008.

The search for the population's better quality of life is attracting the food industry interest in developing products with functional characteristics, offering wholefoods, fortified, enriched or improved food, causing effects potentially beneficial to healthy in the preventive and therapeutic aspects. This work aimed to elaborate a frozen yogurt with functional properties from yogurt supplemented with prebiotic (inulin), calcium caseinate and probiotics. The lactic cultures used were the traditional and the probiotic lactic cultures in three different concentrations (0,5%, 1,0% e 1,5%). The elaboration process of the frozen occurred from the development of the yogurt, in concentrations already mentioned, observing the pH values and, later, through the processes of homogenization of the ingredients, mixing in low temperature (ice cream maker), packing and freezing of the product at a temperature of -22°C. The carried out physicochemical analyses were for pH, acidity expressed as lactic acid, lactose level, ash level, protein level, fat level and overrun; the microbiological analysis, in a 35-day period of storage and in 7-day intervals, to evaluate the feasibility of the traditional species lactic cultures *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* and, probiotics *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* sp. Microbiological analyses of the traditional lactic cultures and lyophilized probiotics were carried out for the certification of the number of microorganisms, respectively. Sensorial analysis was carried out in three alternate days, with two days in the UNIFRA (Franciscan University of Santa Maria, RS) Technical and Dietetic Laboratory and the third day in the UFSM (Federal University of Santa Maria, RS) Sensorial Analysis Laboratory with the analyzed features being: color, flavor, smell, consistency and total quality using a structured hedonic scale with 9 scores. The intention of buying the product and its preference were evaluated in this research making 105 non-trained tasters. The experimental data generated through the sensorial analysis results were submitted to variance analysis (ANOVA) and the differences of the means compared through the Tukey. Concentrations of 1.0% and 1.5% of traditional cultures and probiotic had no significant difference in relation to sensory analysis developed. To order the test was used in preference to the table and Newell MacFarlane where the formulation of 0.5% of crops and traditional probiotic milk obtained the lower acceptability.

**Keywords:** *frozen*, development, probiotic, yogurt.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Benefícios atribuídos aos prebióticos e probióticos.....	28
Figura 2. Técnica de <i>microscopia de varredura eletrônica</i> (SEM).....	32
Figura 3. Técnica de <i>microscopia de transmissão eletrônica</i> (TEM).....	33
Figura 4. Tempo de aeração do sorvete.....	34
Figura 5. Fluxograma do processo de elaboração dos Frozen Yogurt Experimentais.....	41
Figura 6 - Amostras de iogurte no banho termostaticado à 40°C.....	43
Figura 7 - Amostras de iogurtes (porções) no banho termostaticado à 40°C, para determinação do valor de pH e acidez durante o processo de fermentação.....	43
Figura 8 - Armazenamento das amostras de iogurtes sob refrigeração à 4°C.....	44
Figuras 9 e 10 – Batedeira para a homogeneização dos ingredientes para o <i>frozen</i> e a sorveteira para elaboração do <i>frozen yogurt</i> .....	45
Figura 11 - <i>Frozen</i> em potes plásticos com tampa de 110 mL.....	46
Figura 12 – Armazenamento/Congelamento do <i>frozen</i> com propriedades funcionais à -22°C.....	47
Figura 13 – Preparações das diluições e posterior inoculação do <i>frozen</i> em placas de Petri na câmara de fluxo laminar.....	48
Figura 14 – Placas de Petri incubadas invertidas em aerobiose do <i>frozen</i> com propriedades funcionais.....	49
Figura 15 – Placas de Petri incubadas invertidas em jarras com gerador de anareobiose.....	49

Figura 16 – Valores de cinzas dos <i>Frozen Yogurt</i> com propriedades funcionais.....	89
Figura 17 – Valores do % de Proteínas dos <i>Frozen Yogurt</i> com propriedades funcionais.....	89
Figura 18 – Valores de gorduras dos <i>Frozen Yogurt</i> com propriedades funcionais.....	90
Figura 19 – Valores de <i>overrun</i> dos <i>Frozen Yogurt</i> com propriedades funcionais.....	90
Figura 20 – Efeito do tempo de estocagem em relação aos valores de pH nas diferentes concentrações de <i>frozen yogurt</i> .....	91
Figura 21 - Efeito do tempo de estocagem em relação aos valores de acidez, expressa em ácido láctico, entre as diferentes formulações de <i>frozen yogurt</i> .....	91
Figura 22 - Efeito do tempo de estocagem em relação aos valores de lactose entre as diferentes formulações de <i>frozen yogurt</i> .....	92
Figura 23 - Efeito do tempo de estocagem na manutenção do número de células viáveis de <i>S. thermophilus</i> no <i>Frozen Yogurt</i> desenvolvido nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas.....	93
Figura 24 - Efeito do tempo de estocagem na manutenção do número de células viáveis de <i>L. bulgaricus</i> no <i>Frozen Yogurt</i> desenvolvido nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas.....	93
Figura 25 - Efeito do tempo de estocagem na manutenção do número de células viáveis de <i>L. acidophilus</i> no <i>Frozen Yogurt</i> desenvolvido nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticos.....	94
Figura 26 - Efeito do tempo de estocagem na manutenção do número de células viáveis de <i>Bifidobacterium</i> no <i>Frozen Yogurt</i> desenvolvido nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas.....	94
Figura 27 - Respostas dos provadores em relação ao Teste de Ordenação de Preferência do <i>Frozen Yogurt</i> elaborado na concentração de 0,5% de culturas lácticas tradicionais e probióticas.....	72

Figura 28 - Respostas dos provadores em relação ao Teste de Ordenação de Preferência do <i>Frozen Yogurt</i> elaborado na concentração de 1,0% de culturas lácticas tradicionais e probióticas.....	72
Figura 29 - Respostas dos provadores em relação ao Teste de Ordenação de Preferência do <i>Frozen Yogurt</i> elaborado na concentração de 1,5% de culturas lácticas tradicionais e probióticas.....	73
Figura 30 - Respostas dos provadores em relação à intenção de compra do <i>Frozen Yogurt</i> .....	74

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Benefícios potenciais de alimentos funcionais preparados com bactérias probióticas para a saúde e a nutrição.....	21
Tabela 2: Principais espécies de bactérias probióticas.....	23
Tabela 3: Composição química (g/100g) de mistura para <i>Frozen yogurt</i> .....	30
Tabela 4: Composição química dos <i>frozen yogurt</i> comercializados nos Estados Unidos.....	31
Tabela 5: Principais ingredientes utilizados na elaboração do iogurte.....	40
Tabela 6. Contagem de células dos microrganismos <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium</i> realizadas em laboratório e indicadas nas embalagens.....	53
Tabela 7 - Valores médios de pH durante o processo de fermentação dos iogurtes para a elaboração do <i>frozen yogurt</i> com diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas.....	54
Tabela 8. Caracterização físico-química dos <i>frozen yogurt</i> .....	56
Tabela 9. Valores de pH obtidos durante os 35 dias de armazenamento do <i>frozen yogurt</i> .....	60
Tabela 10. Valores de acidez, expressa em ácido láctico, e lactose entre as diferentes concentrações de <i>frozen yogurt</i> , durante o período de armazenamento.....	61

Tabela 11 - Contagem média do número de células viáveis de <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> (UFC/mL) do <i>frozen yogurt</i> elaborado nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas durante o tempo de armazenamento de 35 dias.....	64
Tabela 12: Contagem média do número de células viáveis de <i>Lactobacillus delbruecki</i> ssp. <i>bulgaricus</i> do <i>frozen yogurt</i> elaborado nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas durante o tempo de armazenamento de 35 dias (UFC/mL).....	65
Tabela 13 - Contagem média do número de células viáveis de <i>Lactobacillus acidophilus</i> dos <i>frozen yogurt</i> elaborados nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas durante o tempo de estocagem (UFC/mL).....	66
Tabela 14 - Contagem média do número de células viáveis de <i>Bifidobacterium</i> sp. do <i>frozen yogurt</i> elaborados nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas durante o tempo de estocagem (UFC/mL).....	67
Tabela 15. Valores médios dos atributos cor, aroma, sabor, consistência e qualidade global do <i>frozen yogurt</i> elaborado nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas.....	69

## SUMARIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>1.1 Objetivos.....</b>	<b>16</b>
1.1.1 Objetivo geral.....	16
1.1.2 – Objetivos Específicos.....	16
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>18</b>
<b>2.1 Alimentos Funcionais.....</b>	<b>18</b>
<b>2.2 Probióticos .....</b>	<b>19</b>
<b>2.3 Prebióticos.....</b>	<b>25</b>
<b>2.4 Frozen Yogurt.....</b>	<b>29</b>
2.4.1 Ingredientes do <i>Frozen yogurt</i> .....	32
2.4.1.1 Ar e água.....	32
2.4.1.2 Aromas.....	34
2.4.1.3 Emulsificante.....	34
2.4.1.4 Açúcar.....	35
2.4.1.5 Estabilizantes.....	36
2.4.1.6 Fermentos lácticos.....	36
2.4.2 Embalagem e conservação.....	37
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>39</b>

<b>3.1 Material .....</b>	<b>39</b>
3.1.1 Matéria-prima para o <i>frozen yogurt</i> .....	39
3.1.2 Culturas lácticas.....	40
3.1.3 Matéria prima para a elaboração do <i>frozen yogurt</i> .....	40
<b>3.2 Métodos.....</b>	<b>42</b>
3.2.1 Primeira Etapa - Processo de fabricação dos <i>frozen yogurt</i> .....	42
3.2.2 Segunda etapa – Preparo da cultura.....	42
3.2.1.3 Terceira etapa – Fermentação .....	42
3.2.1.4 Quarta etapa – Armazenamento das amostras sob refrigeração .....	44
3.2.1.5 Quinta etapa – elaboração dos <i>frozen yogurt</i> .....	44
3.2.1.6 Sexta etapa – Envase do <i>frozen</i> em frascos de 110 mL com tampas.....	45
3.2.2 Caracterização físico-química dos <i>frozen yogurt</i> .....	46
3.2.3 Vida-de-prateleira dos iogurtes – Pós-acidificação.....	47
3.2.4 Contagem de microrganismos tradicionais e probióticos .....	47
3.2.4.1 Contagem do nº. de bactérias viáveis <i>Streptococcus thermophilus</i> .....	48
3.2.4.2 Contagem do nº. de bactérias viáveis <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .....	49
3.2.4.3 Contagem do nº. de bactérias viáveis <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	50
3.2.4.4 Contagem do nº. de bactérias viáveis <i>Bifidobacterium sp</i> .....	50
3.2.5 Análise sensorial.....	50
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>52</b>
4.1 Viabilidade do número de células em culturas lácticas tradicionais e probióticas das embalagens dos fermentos lácteos Rich e Biorich.....	52
4.2 Curvas de pH durante o processo de fermentação dos iogurtes probióticos para elaboração dos <i>frozen yogurt</i> com propriedades funcionais.....	53
4.3 Caracterização físico-química do <i>frozen yogurt</i> .....	56
4.3.1 Determinação dos teores de Cinzas, Proteínas, Gorduras e <i>Overrun</i> .....	56
4.4 Valores de pH, acidez (expressa em ácido láctico) e teor de lactose durante o período de armazenamento sob congelamento a -22°C (pós-acidificação).....	60

4.5 Contagem das bactérias lácticas tradicionais e probióticas durante o tempo de armazenamento.....	63
4.5.1 Contagem de bactérias tradicionais <i>Streptococcus salivarius ssp. thermophilus</i> e <i>Lactobacillus delbruecki ssp. bulgaricus</i> .....	64
4.5.2 Contagem de bactérias probióticas <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium sp.</i> .....	66
4.6 Análise sensorial dos <i>frozen yogurt</i> .....	69
4.6.1 Teste de preferência .....	71
4.6.2 Teste de intenção de compra dos <i>frozen yogurt</i> .....	73
<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>75</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>77</b>
<b>APÊNDICE</b> .....	<b>87</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>95</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A preocupação com a melhora da qualidade de vida da população, mais especificamente, a saúde, tem evidenciado os alimentos chamados funcionais. Paralelamente a isto, a indústria de laticínios está se adaptando à tendência para os produtos funcionais em um mercado competitivo e exigente (BRANDÃO, 2002; NIELSEN, 1997).

Os alimentos funcionais além de proporcionarem funções de energia, nutricionais, formação de células e tecidos, a partir de seus substratos, trazem substâncias que atuam melhorando os processos metabólicos e contribuindo para os efeitos benéficos à saúde (PARK; KOO; CARVALHO 1997; SGARBIERI; PACHECO; 1999).

Os benefícios à saúde com a suplementação de alguns nutrientes já são reconhecidos como alimentos funcionais. Este conceito enfatiza os aditivos alimentares, que podem exercer efeito benéfico sobre a composição da microbiota intestinal. Os prebióticos e probióticos são os aditivos alimentares que compõem estes alimentos funcionais (ZIEMER; GIBSON; 1998).

Os prebióticos auxiliam no aumento da população de bifidobactérias no cólon, e estas, antagonicamente suprimem a atividade das bactérias putrefativas no intestino reduzindo a formação de substâncias tóxicas resultantes da fermentação, prevenindo doenças causadas por microrganismos patogênicos, diarreia, constipação, protegendo as funções hepáticas, reduzindo os níveis de colesterol e a pressão sanguínea, são anticarcinogênicos e produzem nutrientes entre outros. Os prebióticos mais conhecidos são os carboidratos como oligossacarídeos e polissacarídeos (TOMOMATSU, 1994).

Os prebióticos são ingredientes não digeríveis incorporados aos alimentos usando selecionar determinadas bactérias da microbiota intestinal atuando como substrato seletivo no cólon (ZIMER; GIBSON; 1998; LEE *et al.*, 1999).

Dentre os produtos desenvolvidos pela indústria de laticínios o *frozen* de iogurte vem se destacando, pode ser definido como um produto obtido basicamente com leite, submetido à fermentação láctica através da ação do *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, ou a partir de iogurte com ou sem a adição de outras substâncias alimentícias, sendo posteriormente aerado e congelado (ANVISA, 2000).

Tendo em vista o desenvolvimento e a viabilidade do *frozen* de iogurte com propriedades funcionais, a partir de prebióticos como a inulina e probióticos como *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium*, surge uma alternativa para indústria de laticínios o chamado *frozen* de iogurte com características qualitativas, nutritivas, terapêuticas e funcionais.

Desta forma, o *frozen yogurt* parece ser um veículo apropriado para a adição de probióticos à dieta humana.

## 1.1 Objetivos

Os objetivos geral e específico deste trabalho foram:

### 1.1.1 Objetivo geral

Desenvolver um *frozen yogurt* com propriedades funcionais a partir de bio-iogurtes suplementados com caseinato de cálcio, prebiótico e probióticos.

### 1.1.2 – Objetivos Específicos

- Desenvolver *frozen yogurt*, a partir de bio-iogurtes suplementado com caseinato de cálcio, inulina (prebiótico), *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium sp* (probióticos) e culturas lácticas tradicionais (*Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*).

- Determinar parâmetros físico-químicos como acidez (expressa em ácido láctico), teor de lactose, teor de gordura, teor de proteínas, cinzas, valor de pH e incorporação de ar (*overrun*);
- Determinar o número de células viáveis das bactérias lácticas tradicionais (*Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*) e probióticas (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium sp.*) no fermento lácteo liofilizado utilizado (Rich® e o Bio Rich®);
- Determinar a viabilidade das bactérias lácticas tradicionais (*Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*) e probióticas (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium sp.*) durante os 35 dias de estocagem;
- Analisar as modificações das características de pós-acidificação durante o congelamento (-22°C); valores de pH, acidez, expressa em ácido láctico, e teor de lactose durante os 35 dias de armazenamento em baixas temperaturas;
- Avaliar a aceitabilidade do *frozen yogurt*;
- Avaliar a preferência e intenção de compra do produto;
- Analisar os dados obtidos por meio de técnicas estatísticas apropriadas para este trabalho.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Alimentos Funcionais

Na década de 90 houve aumento na atenção aos alimentos funcionais. Nos Estados Unidos, em 1998, o mercado de alimentos funcionais representou crescimento de 10,9%, em relação ao ano anterior, devido aos benefícios à saúde e bem estar que estes alimentos proporcionam.

O termo alimento funcional foi introduzido no Japão nos anos 80 e se refere aos alimentos processados contendo ingredientes que ajudam no funcionamento de partes específicas do organismo, além de serem nutritivos. Entre as muitas definições de diversos autores e Instituições, está a do Instituto de Medicina de Alimentos e Nutrição: *“algum alimento ou ingrediente alimentício que pode proporcionar um benefício à saúde, além dos nutrientes tradicionais que contém”* (HASLER,1998) e a de Scott e Lee, para o Setor de Proteção à Saúde Canadense: *“alimento similar a alimento convencional em aparência, consumido como parte de uma dieta comum, e que tem demonstrado benefícios fisiológicos e/ou redução de riscos de doenças crônicas, além de funções básicas nutricionais”* (CLYDESDALE, 1997).

O alimento funcional, além de suas funções nutricionais como fonte de energia e de substrato para a formação de células e tecidos, possui em sua composição uma ou mais substâncias que atuam modulando e ativando os processos metabólicos, melhorando as condições de saúde pelo aumento da efetividade do sistema imune, promovendo o bem-estar das pessoas e prevenindo o aparecimento precoce de

alterações patológicas e de doenças degenerativas (PARK; BIDLACK, CLEMENS;1997 e SGARBIERI; PACHECO; 2000).

Nos países desenvolvidos é crescente a popularidade dos alimentos funcionais contendo probióticos devido aos avanços nas pesquisas de desenvolvimento de novos produtos, resultando a incorporação de probióticos em diversos setores alimentícios como: laticínios, bebidas, cereais e até mesmo em produtos cárneos (MATTILA-SANDHOLM *et al.*, 2002).

A suplementação de componentes com atividade reconhecidamente benéfica à saúde, como cálcio e vitaminas, constituíam os alimentos funcionais de primeira geração. Nos últimos anos, esse conceito voltou-se principalmente para aditivos alimentares, que podem exercer efeito benéfico sobre a composição da microbiota intestinal. Os prebióticos e os probióticos são atualmente os aditivos alimentares que compõem os alimentos funcionais (ZIEMER, GIBSON, 1998).

O uso de microrganismos probióticos ainda é muito pequeno, pois há dificuldade de elaborar produtos com boa aceitação sensorial onde eles estejam viáveis durante toda a vida útil do produto (pré-requisito para ter ação probiótica), uma vez que a maioria das cepas de probióticos pode produzir “*off-flavors*” se crescerem no alimento (KAILASAPATHY & RYBKA, 1997), além de serem extremamente sensíveis a uma série de fatores, especialmente pH ácido e presença de oxigênio (KAILASAPATHY & RYBKA, 1997; SHAH; RAVULA, 2000).

## **2.2 Probióticos**

São definidos como microrganismos vivos, em quantidades adequadas para produzir benefícios à saúde do hospedeiro (FAO; WHO; 2001; SANDERS; 2003).

Segundo, Havenaar *et al.* (1992), definem probióticos como culturas puras ou mistas de microrganismos vivos (bactérias lácticas e outras bactérias ou leveduras aplicadas como células secas ou em produto fermentado) que quando ingeridas por seres humanos ou animais, possuem efeitos benéficos promovendo um balanço na microbiota intestinal. É discutido que esta definição não restringe somente aos efeitos

probióticos à microbiota intestinal, e sim em outras partes do corpo; podendo consistir de uma ou mais espécies de probióticos.

As bactérias probióticas devem sobreviver às condições adversas do estômago colonizando o intestino, por um determinado período, através da adesão ao epitélio intestinal impedindo os efeitos patogênicos de certos microrganismos (ZIEMER, GIBSON, 1998; LEE *et al.*, 1999) .

Segundo Fuller (1989), os efeitos biológicos dos probióticos são descritos por alguns mecanismos de atuação:

- Supressão do número de células viáveis mediante produção de compostos com atividade antimicrobiana, competição por nutrientes e por sítios de adesão;

- A alteração do metabolismo microbiano, pelo aumento ou diminuição da atividade enzimática;

- Estímulo da imunidade por meio do aumento dos níveis de anticorpos e do aumento da atividade dos macrófagos.

- Conforme Fuller, (1989); Gilliland, (1989); Tejada-Simon *et al.*, (1999); Sreekumar; Hosono, (2000); Naidu; Bidlack; Clemens, (1999), os efeitos benéficos dos probióticos à saúde humana estão relacionados:

- Controles das infecções intestinais,
- Diminuição dos níveis de colesterol (LDL),
- Estímulos sistema imunológico (produção anticorpos e atividade fagocítica contra microorganismos patógenos),

- Melhoram no trânsito intestinal, principalmente aquelas pessoas com problemas de constipação,

- Melhora na absorção de nutrientes,

- Melhor digestibilidade da lactose,

- Anticarcinogênico.

A Tabela 1 apresenta os benefícios potenciais de alimentos funcionais preparados com bactérias probióticas para a saúde e a nutrição.

**Tabela 1:** Benefícios potenciais de alimentos funcionais preparados com bactérias probióticas para a saúde e a nutrição.

Benefícios	Possíveis causas e mecanismos
Digestibilidade melhorada	Quebra parcial de proteínas, gorduras e carboidratos
Valor nutricional melhorado	Níveis maiores de vitaminas do complexo B e certos aminoácidos livres, principalmente metionina, lisina e triptofano
Melhor aproveitamento da lactose	Redução da lactose no produto e maior digestibilidade da lactose
Ação antagonista em relação às bactérias patogênicas entéricas	Desordens tais como diarreia funcional, colite mucosa e colite ulcerosa, diverticulite e colite antibiótica controlada por acidez, inibidores microbianos e prevenção de adesão ou ativação de microrganismos patogênicos.
Colonização no intestino	Sobrevivência no ácido gástrico, resistência à lisozima e baixa tensão superficial do intestino, aderência à mucosa intestinal, multiplicação no trato intestinal, modulação imunológica.
Ação anticarcinogênica	Conversão de potenciais pré-carcinogênicos em compostos menos danosos, ação inibitória em relação à alguns tipos de câncer, em especial aqueles do trato gastrointestinal pela degradação de pré-carcinogênicos, redução de enzimas promotoras de carcinomas e estimulação do sistema imunológico.
Ação hipocolesterolêmica	Produção de inibidores da síntese do colesterol. Uso do colesterol pela assimilação e precipitação com sais desconjugados da bile.
Modulação imunológica	Aumento da formação de macrófagos, estimulação da produção de células supressoras e interferon
Veículo vicinal	Epitopes de ocorrência natural ou de DNA vacinal

Fonte: Gomes; Malcata., 1999.

Em geral, dependendo da cepa empregada e do efeito benéfico desejado, o consumo de bactérias probióticas entre  $10^7$  e  $10^{11}$  UFC/dia é recomendável (VINDEROLA; REINHEIMER, 2000). As bactérias probióticas desenvolvem-se

lentamente no leite devido a sua baixa atividade proteolítica (KLAVER; KINGMAN; WEERKAMP; 1993). É comum a adição de bactérias do iogurte para melhorar o processo de fermentação na fabricação de leites fermentados contendo probióticos (SAMONA; ROBINSON; 1994; SHAH; LANKAPUTHRA; 1997; DAVE; SHAH; 1998; OLIVEIRA; *et al.*, 2001).

O *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* produz ácido láctico durante o armazenamento sob refrigeração e este fenômeno, conhecido por pós- acidificação, afeta a viabilidade das bactérias probióticas. Para superar o problema da pós-acidificação a tendência é utilizar fermentos que contenham bactérias como *Lactobacillus acidophilus*, Bifidobactérias e *Streptococcus thermophilus*.

A escolha das bactérias probióticas, dentro da tecnologia de alimentos, é fundamental na obtenção de um produto com características funcionais. Para isto é preciso avaliar as seguintes características, (COLLINS; THORNTON; SULLIVAN; 1998; LEE *et al.*, 1999; SAARELA *et al.*, 2000):

- Gênero pertencente à bactéria deverá ser de origem humana,
- Estabilidade aos ácidos e à bile,
- Capacidade de adesão à mucosa intestinal,
- Capacidade de colonização,
- Ao nível de intestino ser metabolicamente ativo,
- Produção de compostos antimicrobianos,
- Não ser patogênico ou estar associado com outras doenças (endocardite),
- Ausência de genes resistentes a antibióticos.

Na tecnologia de alimentos é comum o uso de bactérias sendo que as mais utilizadas pertencem ao grupo das bactérias lácticas, bem como algumas bifidobactérias e leveduras (KLEIN *et al.*, 1998).

Existem relatos de que o gênero *Bifidobacterium* é considerado como grupo das bactérias lácticas por ter propriedades bioquímicas, fisiológicas e nichos ecológicos (inclusive o trato gastrointestinal) em comum com os outros gêneros de bactérias lácticas. Isto acontece apenas nos gêneros mais importantes de bactérias lácticas como: *Lactobacilus*, *Lactococcuse*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Weissela*, *Carnobacterium* e *Tetragenococcus* (LEE *et al.*, 1999).

A tabela 2 apresenta algumas das principais espécies de bactérias probióticas.

**Tabela 02:** Principais espécies de bactérias probióticas

<b><i>Bifidobacterium</i></b>	<b><i>Lactobacillus</i></b>	<b><i>Outras</i></b>
<i>B. lactis</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>B. longum</i>	<i>L. delbrueckii</i> subsp <i>Bulgaricus</i>	<i>thermophilus</i>
<i>B. thermophilum</i>	<i>L. johnsonii</i>	<i>Esterococcus faecium</i>
<i>B. bifidum</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp.
<i>B. breve</i>	<i>L.rhamnosus</i>	<i>Lactis</i>
<i>B. infantis</i>	<i>L. salivarius</i>	
	<i>L. helveticus</i>	
	<i>L. casei</i> -subsp. <i>paracasei</i> e subsp. <i>tolerans</i>	
	<i>L. paracasei</i>	
	<i>L.fermentum</i>	
	<i>L. reuteri</i>	

Fonte: (Collins; Thornton; Sullivan; 1998; Lee *et al.*, 1999; Sanders, Klaenhammer, 2001).

Segundo Puupponen-Pimiä *et al.*, (2002); Kaur; Chopra; Saini; (2002); Guarner, Malagelada, (2003) alguns dos principais efeitos benéficos atribuídos aos probióticos são descritos a seguir, como:

a) **Modulação da microbiota intestinal** – o emprego de culturas probióticas nos alimentos reforça o sistema imunológico do organismo eliminando os microrganismos patogênicos potenciais. Este mecanismo é denominado de exclusão competitiva impede a colonização da mucosa por microrganismos patogênicos, através da competição por sítios de adesão, por nutrientes e/ou produção de compostos antimicrobianos.

A adesão e colonização da mucosa intestinal impedem a invasão de células epiteliais por bactérias patogênicas e, conseqüentemente, produção de toxinas. Os probióticos competem com as bactérias indesejáveis pelos nutrientes disponíveis. O

hospedeiro fornece quantidades necessárias de nutrientes às bactérias intestinais que indicam suas necessidades. Esta relação simbiótica não permite a produção excessiva de nutrientes para o desenvolvimento de bactérias patogênicas. Além disso, os probióticos podem impedir o desenvolvimento de seus competidores através de compostos microbianos (bacteriocinas), (KOPP-HOOLIHAN, 2001; CALDER, KEW, 2002; GUARNER, MALAGELADA, 2003).

Segundo Isolauri; Salminen; Ouwehand (2004), quando ocorre um desequilíbrio na microbiota intestinal se observa alterações como:

- Diarréia associada à infecção ou pelo uso de antibióticos;
- Alergia alimentar;
- Eczema atópico;
- Doenças inflamatórias intestinais
- Artrite.

**b) Estímulos da imunidade, biodisponibilidade e absorção de nutrientes** – estudos *in vitro* sugerem que os probióticos podem estimular a resposta imune não tanto específica como específica. Acredita-se que esses efeitos são mediados por ativação dos macrófagos, pelo aumento de níveis de citocinas e atividade de células destruidoras naturais e/ou de níveis de imunoglobulinas, sendo que estes efeitos ocorrem sem resposta inflamatória prejudicial. O aumento na resposta imune ocorre quando consumidos concomitantemente probióticos e bactérias lácticas como, por exemplo, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (KOPP-HOOLIHAN, 2001; CALDER; KEW, 2002; VAN DE WATER, 2003).

A atividade imunomoduladora não é conhecida com precisão através dos efeitos probióticos mas sabe-se que para imunorregulação as propriedades específicas de aderência e colonização são necessárias. A colonização parece estar associada com a maturação de mecanismos de imunidade humoral (recém-nascidos colonizados por *Bacteróides fragilis* e *Bifidobacterium spp*), tendo mais células secretoras de IgA e IgM circulantes. Isto evidencia a importância de microbiota intestinal humana para a imunorregulação onde o desequilíbrio pode alterar a homeostase imunológica do indivíduo (ISOLAURI; SALMINEM; OUWEHAND, 2004).

A fermentação láctica pelas respectivas bactérias pode aumentar a concentração de nutrientes da dieta, pois elas são caracterizadas pela liberação de diversas enzimas no lúmen intestinal exercendo efeitos de sinergia na digestão, e reduzindo sintomas de deficiência na absorção de nutrientes (KOPP-HOOLIHAN, 2001).

A hidrólise enzimática por bactérias aumenta a biodisponibilidade de proteínas e gorduras liberando mais aminoácidos. Além do ácido láctico, ácidos graxos de cadeia curta (ACC) como, por exemplo, o propiônico e butírico são produzidos por estas bactérias, contribuindo para o *pool* de energia disponível ao indivíduo durante o processo de absorção, protegendo a mucosa do cólon das mudanças patológicas. Assim, quantidade mais elevada de ACC auxilia na manutenção do pH adequado ao lúmen do cólon onde muitas enzimas bacterianas podem agir sobre compostos estranhos e o metabolismo de carcinógenos no intestino (KOPP-HOOLIHAN, 2001). Indivíduos com consumo alto de proteínas na dieta poderão ter a neutralização, por exemplo, de nitrosaminas, resultantes da atividade metabólica de bactérias, devido à produção de ácidos graxos de cadeia curta pela ação de probióticos (WOLLOWSKI; RECHKEMMER; POOL-ZOBEL, 2001).

### 2.3 Prebióticos

Os prebióticos, também, possuem características de intervir no equilíbrio populacional da microbiota intestinal, porque são ingredientes alimentares não-digeríveis, promovendo a saúde do hospedeiro, estimulando assim, a ação de uma bactéria (ou um grupo) benéfica no trato digestivo. A lactulose e os fructooligossacarídeos são os prebióticos mais estudados e comercializados, (NICOLI; VIEIRA, 2000).

A lactulose aumenta a atividade lactofermentativa dos *Lactobacillus*, e os fructooligossacarídeos estimulam o crescimento de Bifidobactérias (NICOLI; VIEIRA, 2000).

Outra definição para prebióticos: são componentes alimentares não digeríveis que disponibilizam benefícios através de estímulos seletivos de proliferação ou atividade de bactérias desejáveis no cólon podendo inibir a multiplicação de patógenos, garantindo o

bem estar à saúde do hospedeiro (GIBSON; ROBERFROID, 1995; ROBERFROID; 2001; GILLILAND, 2001; MATTILA-SANDHOLM *et al.*, 2002).

Alguns alimentos contêm ação prebiótica natural como a alcachofra, a cebola, a banana, o aspargo e a chicória, (NICOLI; VIEIRA, 2000).

Frutanos são os polissacarídeos não-estruturais mais abundantes na natureza, após o amido, e são encontrados em grande variedade de vegetais e em algumas bactérias e fungos (CARABIN; FLAMM, 1999).

A inulina e os compostos a ela relacionados, como a oligofrutose e os fruto-oligossacarídeos (FOS), compõem a classe dos frutanos que se diferenciam entre si pelo grau de polimerização (número de unidades individuais de monossacarídeos na molécula). Possuem características funcionais por exercerem influência sobre os processos fisiológicos e bioquímicos no organismo, reduzindo os riscos de diversas doenças e melhorando à saúde. As principais fontes destes prebióticos estão na chicória e alcachofra de Jerusalém (CARABIN; FLAMM, 1999).

Os frutanos são fermentados através de uma seleção que as bifidobactérias realizam em presença de amido, pectina ou polidextrose (FOOKS; FULLER; GIBSON, 1999).

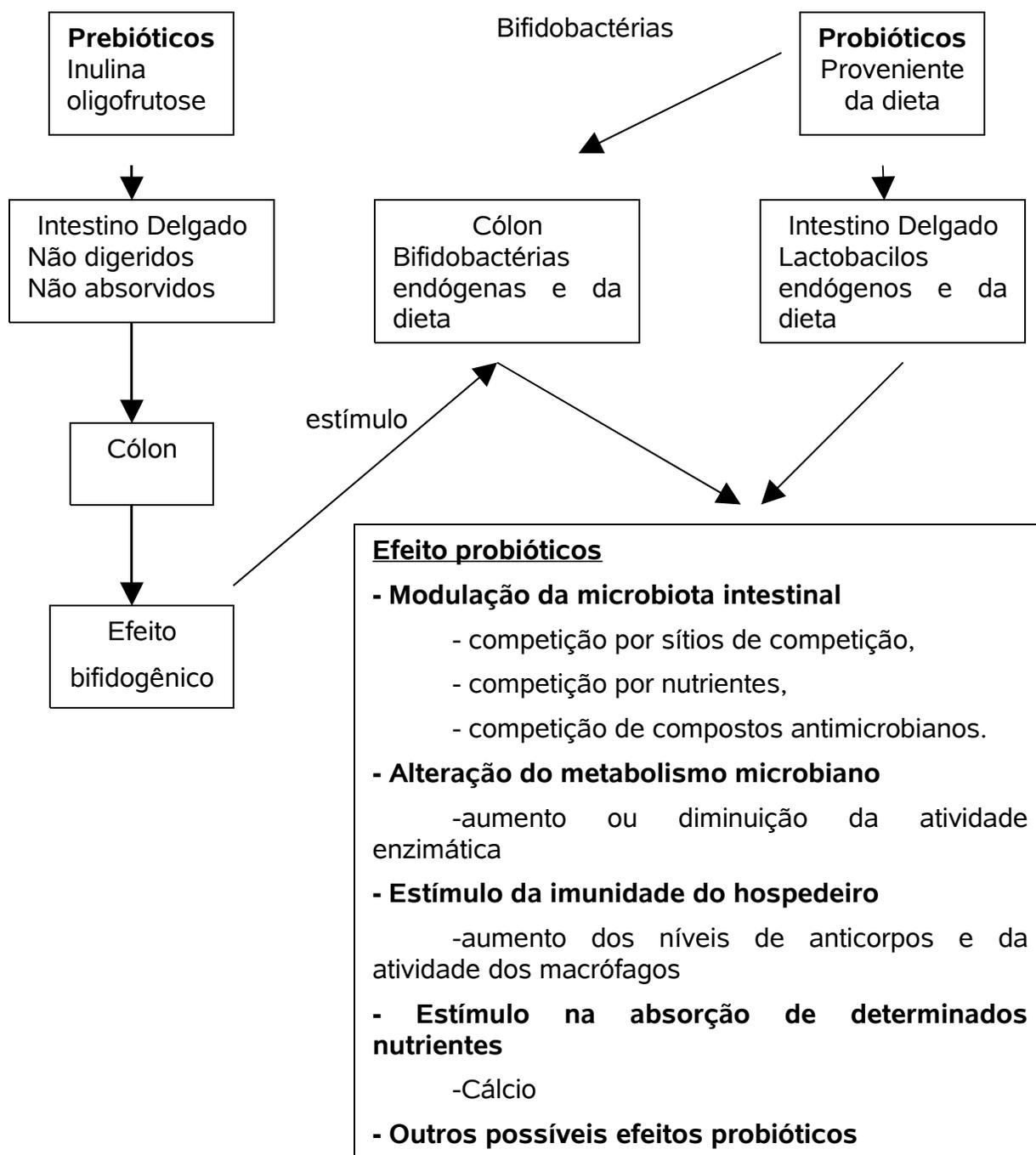
Os prebióticos como inulina e a oligofrutose são resistentes à digestão no intestino grosso onde ocorre o processo de fermentação. Assim, proporcionam efeito de aumentar o volume das fezes e a sua freqüência. Nos casos de suplementação desses prebióticos como funcionais na dieta eles têm função de modular a composição da microbiota intestinal, exercendo um papel fundamental na fisiologia intestinal pelo processo de fermentação específica predominando a população de bifidobactéria (KAUR; GUPTA, 2002; ROBERFROID, 2002).

Segundo Roberfroid (2002), os principais efeitos benéficos atribuídos aos prebióticos são:

- Modulação de funções fisiológicas como absorção de cálcio e, possivelmente, no metabolismo lipídico;
- Redução do risco de câncer de cólon;
- Modulação da composição da microbiota intestinal exercendo funções essenciais na fisiologia gastrointestinal.

Pesquisas demonstraram que a suplementação de prebióticos (inulina e oligofrutose) estimula o predomínio de bifidobactérias no cólon (fator bifidogênico). Assim, ocorre estímulo do sistema imunológico reduzindo os níveis de bactérias patogênicas no intestino, melhorando os efeitos de constipação, reduzindo o risco de osteoporose devido ao aumento na absorção do cálcio. Paralelamente, haveria uma diminuição no risco de aterosclerose pela diminuição na síntese de triglicerídeos e ácidos graxos do fígado e a nível sanguíneo (KAUR; GUPTA, 2002).

A Figura 1 apresenta os principais benefícios atribuídos aos prebióticos e probióticos.



**Figura 1** - Benefícios atribuídos aos prebióticos e probióticos

Fonte: Saad, 2006.

## 2.4 Frozen Yogurt

Em países como os Estados Unidos, o *Frozen Yogurt* faz sucesso desde 1970. No Brasil, aproximadamente há 17 anos começou a ser difundido, iniciando nas cidades de São Paulo, Rio de Janeiro e Porto Alegre. Atualmente outras sorveterias especializadas também oferecem este produto com a mesma qualidade e tecnologia européia e americana, mas não em escala industrial.

Os sorvetes são elaborados a partir de uma emulsão estabilizada, que através de processo tecnológico adequado obtém um produto cremoso, suave e agradável ao paladar. As emulsões possuem em sua composição água, produtos lácteos, gorduras, estabilizantes, açúcares, emulsificantes entre outros (MADISON, 2000).

Os sorvetes contribuem com nutrientes importantes para uma alimentação equilibrada, tanto na fase da infância como adulta (MADRID, 1996).

O *Frozen Yogurt* é um produto obtido basicamente com leite, submetido à fermentação láctea através da ação do *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, ou a partir de iogurte com ou sem a adição de outras substâncias alimentícias, sendo posteriormente aerado e congelado (ANVISA, 2000).

Devido à fermentação prévia pela ação dos microrganismos, parte dos açúcares é transformada em ácido láctico. Finalizando este processo, é adicionado o restante dos ingredientes, é batido e congelado, produzindo características semelhantes a do sorvete com consistência cremosa, suave e agradável ao paladar (MADRID, 1995).

Não se tem estimativa de consumo *per capita* anual do *frozen yogurt* por se tratar de um produto de pouca difusão comercial e de custo mais elevado.

O *Frozen Yogurt* pode ser classificado em três principais categorias leves/macios, duros e mousses. Estes produtos se parecem com os sorvetes no seu estado físico e são caracterizados por apresentar o acentuado sabor ácido do iogurte combinado com o frescor dos sorvetes tradicionais (TAMIME; ROBINSON, 2007).

Em adição, o nível de açúcar, estabilizante e emulsificante é maior quando comparado com o iogurte (TAMIME, ROBINSON, 2007).

Em alguns países como Turquia, Líbano, Síria, Iraque e Iran o iogurte concentrado é processado em várias etapas produzindo produtos totalmente diferentes e mantendo a sua qualidade.

Segundo os mesmos autores, o desenvolvimento dos diferentes produtos relacionados ao iogurte podem ser queijos de iogurte, *frozen yogurt*, bebida de iogurte, entre outros.

Em termos gerais, os vários estágios envolvidos no desenvolvimento dos diferentes tipos de *frozen yogurt* são similares ao do sorvete.

As etapas para a fabricação dos tipos de *frozen yogurt* são bastante simples. O processo consiste em misturar o iogurte natural batido frio com polpa de frutas, estabilizantes, emulsificantes e açúcar. O congelamento da mistura se dá num congelador de sorvetes contínuo ou em batelada, convencional. A composição química da mistura do iogurte, frutas *in natura* ou polpas de frutas e temperatura de batimento condicionam as características físicas do tipo do *frozen yogurt* que se deseja obter. A composição química do iogurte com misturas de frutas e a temperatura durante seu armazenamento podem finalmente afetar as características físicas de produtos como *frozen yogurt*. É recomendada percentagem entre 65 a 80% para iogurtes e 20 a 35% para frutas (TAMIME; ROBINSON, 2007).

A Tabela 3 sugere a composição química (g/100g) de mistura para *frozen yogurt*.

**Tabela 03:** Composição química (g/100g) de mistura para *frozen yogurt*.

Ingredientes	<i>Frozen Yoghurt</i>		
	Leve	Duros	Mousses
Gordura	2-6	2-6	3
Sólidos não gordurosos do leite	5-10	5-14	12
Açúcar	8-20	8-16	8
Estabilizantes/Emulsificantes	0,2-1,0	0,2-1,0	2,4
% <i>overrun</i>	50-60	70-80	90

Fonte: Tamime; Robinson, 2007

O processo de fabricação quando bem estabelecido, deve obedecer as seguintes medidas para a eliminação de defeitos (TAMIME; ROBINSON, 2007):

- Assegurar a pasteurização das polpas de fruta.
- Misturar lentamente o iogurte com os ingredientes.
- Para prolongar a conservação do produto pode-se substituir o ar incorporado no misturador durante o congelamento por nitrogênio.

A composição química dos *frozen yogurt* comercializados nos Estados Unidos é demonstrada na Tabela 4.

**Tabela 04:** Composição química dos *frozen yogurt* comercializados nos Estados Unidos

Sabor	Gordura	Proteína	Cinzas	Sólidos Totais	pH
Baunilha	1,8-5,9	3,5-3,8	0,7-1,0	28,8-34,2	6,37-7,1
Chocolate	3,2-5,7	2,9-4,2	0,9-1,1	31,1-37,6	6,36-7,1
Morango	1,7-5,3	1,6-3,2	0,8-1,1	31,2-37,6	4,37-5,7

Fonte: Tamime; Robinson, 2007.

O *Frozen Yogurt* por conter baixos teores de gorduras ou livre delas, baixas calorias, colesterol, açúcares e poucas variedades de carboidratos proporciona aos consumidores benefícios à saúde.

Conforme Tamime e Robinson (2007), diferentes processos viabilizam o desenvolvimento do *Frozen Yogurt* podendo incluir:

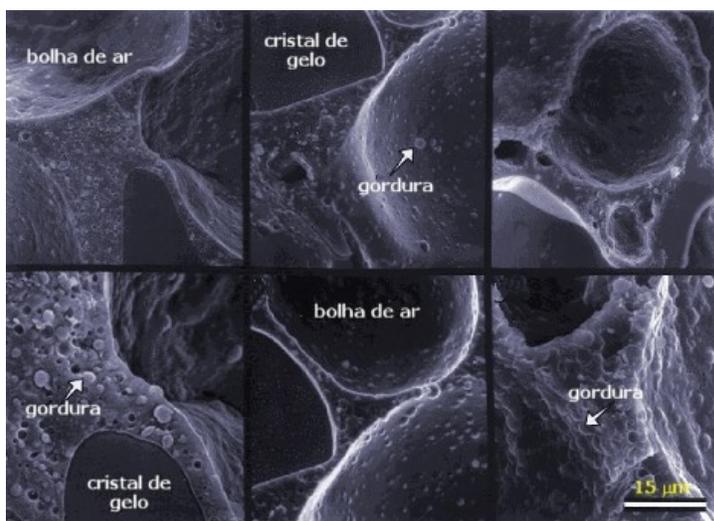
- Não fermentação da base láctea, sendo discutido se o produto poderia ou não ser classificado como *frozen yogurt*;
- Frozen Yogurt* com bactérias vivas e em misturas de sorvetes que contenham baixo ou alto conteúdo de iogurte;
- Fermentação direta na mistura do sorvete ou da base láctea do iogurte com culturas padrões de probióticos;
- Não fermentação de sorvetes ou base láctica mas com culturas DVI (isto é iogurte e organismos probióticos) adicionados.

## 2.4.1 Ingredientes do *frozen yogurt*

### 2.4.1.1 Ar e água

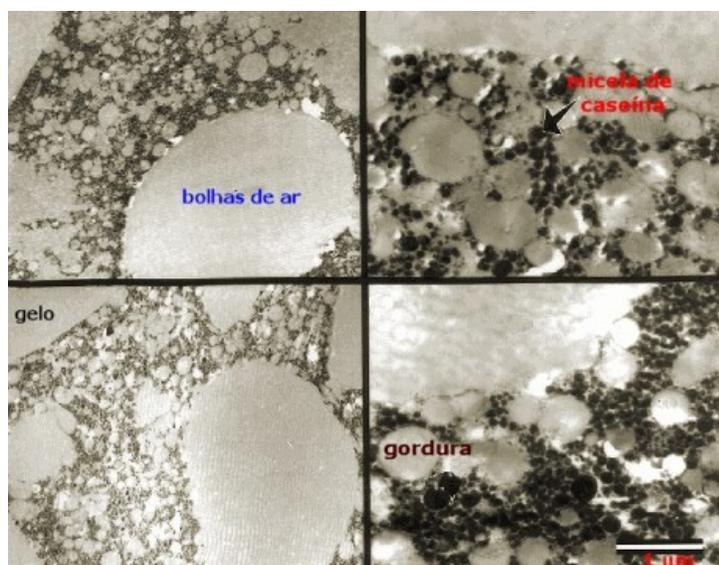
Quando se fala na fabricação de sorvetes e *frozen* não se pode esquecer do ar, que entra com aproximadamente 50% em volume no produto congelado. Uma vez no *freezer*, o ar é subdividido em pequenas bolhas, que ficam envolvidas pelos glóbulos de gordura, conforme ilustrado nas Figuras 2 e 3 dando leveza ao produto. Se o *frozen* derrete, o ar pode escapar e, dessa forma, o produto diminui de volume e assume aspecto compacto e desagradável (Nestlé, 2007).

Na fabricação de sorvetes, o *overrun*, isto é a incorporação de ar na massa durante o batimento, é o indicador de rendimento da produção. Quanto maior for o *overrun*, mais leve e suave o sorvete se torna, o mesmo ocorre com o *frozen yogurt* (Tamime e Robinson, 2007).



Fonte: *International Dairy Journal* (1999)

Figura 02. Técnica de *microscopia de varredura eletrônica* (SEM).

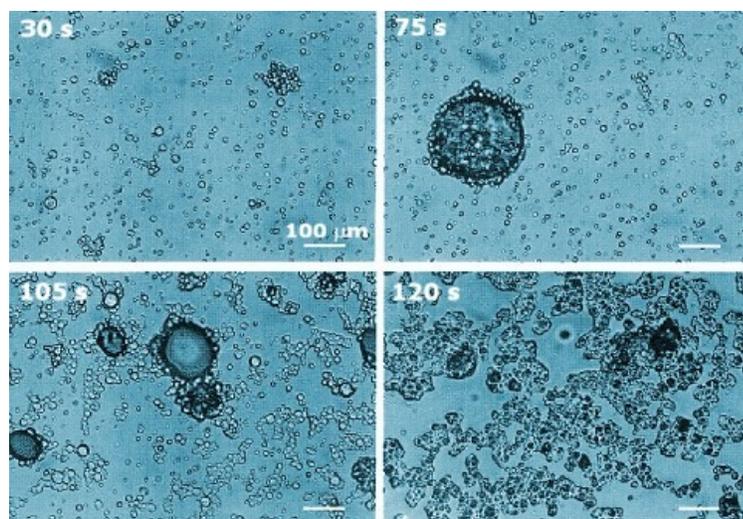


Fonte: *International Dairy Journal* (1999)

Figura 03. Técnica de *microscopia de transmissão eletrônica* (TEM).

Na aeração, o creme é batido juntamente com o ar. O tempo é um fator importante; na Figura 2, com apenas 30 segundos de agitação, as grandes bolhas de ar escapam da mistura, restando apenas pequenas bolhas na emulsão. Conforme a Figura 3, após 75 segundos de agitação já se observa à existência de bolhas maiores, (*IDJ*, 1999).

Segundo *International Dairy Journal* (1999), a melhor situação parece ocorrer a 105 segundos, onde os glóbulos de gordura e as bolhas de ar estão bem dispersos na emulsão e bastantes estáveis. Se o tempo for maior que 120 segundos, há demasiada coalescência dos glóbulos de gordura, formando grandes fases gordurosas (Figura 4).



Fonte: *International Dairy Journal* (1999)

Figura 04. Tempo de aeração do sorvete.

#### 2.4.1.2 Aromas

Para que seja obtido o sabor adequado do *frozen*, recorre-se a uma grande variedade de aromas naturais. Os mais utilizados são os aromas próprios de frutas frescas, além das próprias de cada país e também de muitas frutas exóticas como coco, manga, abacate, pistache, e outras. Alguns aromas típicos são de café, nata, chocolate e baunilha. Nos casos em que não se utilizam aromas naturais, a substituição é composta pelas mesmas substâncias químicas que existem na natureza ((Tamime e Robinson, 2007).

#### 2.4.1.3 Emulsificante

No *frozen yogurt*, são utilizados como emulsificantes o Monoesterato de Sorbitana (ET.XII) e o Polissorbato 60 (ET.XIV), vendidos comercialmente combinados com estabilizante mono e diglicerídeos adicionados. Apresentam-se na forma de uma pasta, de aspecto gorduroso, com odor adstringente. É insípida, mas se adicionada em abundância, provoca sabor desagradável ao produto final. Segundo Hacbarth, 2006, suas funções no sorvete são:

- Melhorar a capacidade de batimento da calda

- Incrementar a absorção de ar durante o batimento
- Proporcionar corpo e textura mais suaves
- Proporcionar sorvete “seco”, passível de modelagem
- Melhorar a resistência a variações de temperatura
- Retardar o derretimento

#### 2.4.1.4 Açúcar

Com 99,9% de sacarose, o açúcar branco é um alimento extremamente puro. A sacarose é um dissacarídeo, constituído de dois monossacarídeos (açúcares simples).

Conforme Hacbarth (2006), no sorvete o açúcar apresenta funções de:

- Reduzir a temperatura de congelamento da mistura, permitindo a obtenção de um sorvete macio e cremoso;
- Aumentar a aceitabilidade do produto, tornando-o agradável ao paladar e realçando seu sabor;
- Proporcionar cremosidade;
- Produzir efeito lubrificante;
- Obter suavidade e textura fina, diminuição do tamanho dos cristais de gelo;
- Influenciar no congelamento e batimento da mistura;
- Possuir conteúdo energético;
- Produzir firmeza de corpo;
- Reduzir a percepção de frio.

No desenvolvimento do *frozen* busca-se um produto final de baixo teor calórico com sabor agradável e de boa aceitabilidade onde açúcar se torna a melhor opção para a obtenção deste produto.

#### 2.4.1.5 Estabilizantes

Hacbarth, (2006) descreve alguns estabilizantes usados em sorvetes são e suas funções:

a) Caragenato : extrato de algas vermelhas que promove textura seca;

b) Alginato : extraído de algas marrons;

c) CMC: modificação da celulose proporcionando textura macia, cremosidade e resistência a choques térmicos, previnem formação de cristais de gelo;

d) Guar: leguminosa originária da África, hidrata rapidamente em água fria propriedades de corpo, textura, cremosidade, resistência a choques térmicos.

As funções dos estabilizantes no sorvete são:

- Dar suavidade ao corpo e textura, através da distribuição do ar, água e gordura;
- Retardar ou reduzir o crescimento de cristais de gelo;
- Uniformizar o sorvete. Diminuir o movimento dos glóbulos de gordura;
- Dar resistência ao derretimento;
- Inibir o encolhimento.

#### 2.4.1.6 Fermentos lácticos

As principais funções das bactérias que compõe as culturas lácticas são as de acidificação, melhora da textura e desenvolvimento do sabor.

A acidificação é principal função das bactérias lácticas do leite transformando a lactose em ácido láctico, baixando o pH do meio que inibe o crescimento de microrganismos patogênicos. Vale lembrar que a cultura láctica em crescimento no leite produz ácido láctico, um produto residual do metabolismo da lactose, rota que as bactérias utilizam para produção de energia (ATP), (EARLY, 1998).

O desenvolvimento de alguns leites fermentados (como lactosoro e o iogurte) produtos não concentrados, têm sua textura final dependente exclusivamente dos componentes do leite, dos estabilizantes, do tratamento térmico (grau de desnaturação protéica) e das condições de incubação. O emprego de bactérias lácticas produtoras de exopolissacarídeos (EPS) podem melhorar significativamente a textura e ou viscosidade do produto, as mais utilizadas são as cepas de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* e ainda algumas cepas de *Lactobacillus lactis* que

secretam EPS. Os exopolissacarídeos são geralmente heteropolissacarídeos que contém galactose, glicose, ramnose e apresentam características ácidas pela presença de um grupo carboxílico, (EARLY, 1998).

Para o mesmo autor, a contribuição no sabor, especialmente em produtos fermentados por *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, se deve às bactérias termófilas que têm como principal componente do aroma o acetaldeído, bem como o diacetil e a cetona.

#### 2.4.2 Embalagem e conservação

A escolha da embalagem para a conservação do produto é fundamental, pois agrega valor ao produto final quanto ao sabor, durabilidade, apresentação e seu efeito sobre o consumidor (MOSQUIM, 1999).

No congelamento, os alimentos são acondicionados a temperaturas de até -30 °C. Assim, a maior parte da água presente nos alimentos se transforma em gelo, impedindo a sua utilização pelos microorganismos. A falta de água disponível para os microrganismos e a quase total redução na atividade enzimática, causada pela baixa temperatura, fazem com que os alimentos possam ser conservados através do congelamento, por meses ou anos (MOSQUIM, 1999).

Para o *frozen*, constatou-se que a temperatura para apresentação da textura ideal está entre -10 e -9 °C e que quando atinge -4 °C, a massa inicia o processo de descongelamento, tornando-se líquida e com textura indesejada (MOSQUIM, 1999).

#### 2.3.3 Análise Sensorial

As características da qualidade de um produto como sabor, textura e aparência necessitam ser monitorada através de uma análise sensorial que possa evocar, medir, analisar e interpretar as reações destas características nos alimentos e materiais percebidas pela visão, olfato, sabor e audição (Dutcosky, 2007).

Os métodos subjetivos ou afetivos medem o quanto um consumidor gostou de um produto avaliando sua preferência ou aceitabilidade. A preferência pode expressar o grau máximo de gostar ou não gostar implicando na escolha de um produto sobre o

outro e o julgamento da qualidade do produto pelo consumidor podendo ser afetada por fatores como influências psicológicas, nutricionais, genéticas, econômicas, sócio-culturais, idade e outros, (Teixeira, Meinert, Barbeta, 1987).

Segundo Dutcosky (2007), a aceitabilidade é caracterizada por uma atitude positiva e/ou pela utilização atual do produto.

Os testes afetivos também são denominados testes de consumidores observando que, a população alvo, é fator determinante para a estimativa de preferências, hábitos e atitudes de consumo. Estes testes são classificados em qualitativos e quantitativos. Os testes qualitativos avaliam subjetivamente as respostas de uma amostras de consumidores em relação às propriedades sensoriais de um produto, impacto de uma idéia ou na investigação detalhada de seus hábitos, atitudes, expectativas em relação ao produto alimentício (Teixeira, Meinert, Barbeta, 1987 e Dutcosky, 2007).

Os testes quantitativos avaliam a resposta de um grande grupo de consumidores a uma série de questões visando determinar o grau de aceitabilidade global do produto, identificar fatores sensoriais que determinam a preferência ou medir respostas específicas aos atributos sensoriais avaliados do produto. Se dividem em testes de preferência e de aceitação. O teste de ordenação (classificado como teste de preferência) é utilizado para avaliar um grande número de amostras ao mesmo tempo. A escala hedônica, de nove pontos, (classificada como teste de aceitação) é a mais utilizada nos estudos de preferência com adultos (Teixeira, Meinert, Barbeta, 1987 Dutcosky, 2007).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados ensaios preliminares no período de março a abril de 2007 para adequação e ajuste das formulações do *frozen yogurt* e de todos os processos (tempo e temperatura de fermentação e batimento). O início do processo de elaboração final e dos experimentos deu-se nos meses de setembro a outubro do ano de 2007, na Usina Escola de Laticínios da Universidade Federal de Santa Maria. As análises físico-químicas e microbiológicas foram realizadas nos laboratórios pertencentes ao Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos – DTCA, do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM. A análise sensorial foi realizada nos Laboratórios: de Nutrição e Dietética da Universidade Franciscana – UNIFRA, Santa Maria e no Laboratório de Análise Sensorial, no Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos – DTCA, do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM.

#### 3.1 Material

##### 3.1.1 Matéria-prima para o *frozen yogurt*

Conforme o trabalho desenvolvido por Silva (2007), foram elaborados iogurtes com diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas (0,5%, 1,0% e 1,5%) suplementados com caseinato de cálcio e inulina (Anexo I). Posteriormente, iniciou-se a fabricação dos *frozen yogurt*. A Tabela 5 mostra os principais ingredientes utilizados na elaboração dos iogurtes.

**Tabela 05:** Principais ingredientes utilizados na elaboração dos iogurtes

Ingrediente	Quantidade
Leite UHT integral longa vida – Elegê® -	1000mL;
Açúcar refinado especial – União®	12%;
Caseinato de cálcio tipo: PLASVITA distribuidora Colorcon	2%;
Inulina (Raftiline, da empresa Orafiti – Bélgica)	0,5%.

### 3.1.2 Culturas lácticas

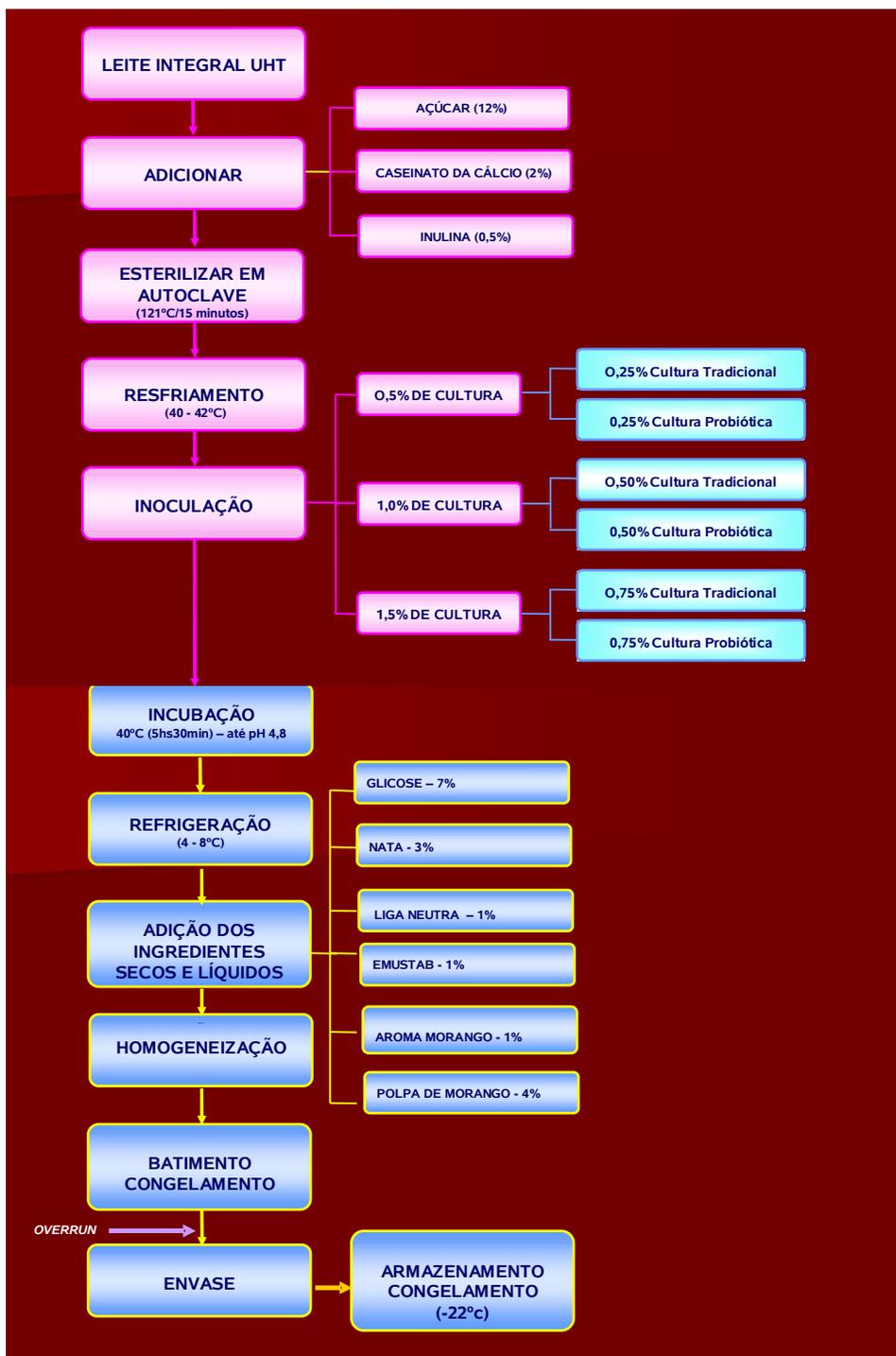
Foram utilizadas as seguintes culturas lácticas comerciais:

- Cultura Tradicional: fermento láctico Rich®: cultura tradicional para iogurte com duas espécies de bactérias lácticas superconcentradas – *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* da Chr. Hansen – Valinhos – SP;
- Cultura Probiótica: Bio Rich®: fermento láctico probiótico contendo culturas selecionadas e superconcentradas de *L. acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium* BB-12 e *S. thermophilus*, da Chr. Hansen – Valinhos – SP.

O fabricante recomenda o percentual de 1% dessas culturas na produção de iogurtes caseiros.

### 3.1.3 Matéria prima para a elaboração do frozen yogurt

Para a elaboração dos *frozen yogurt* utilizou-se os seguintes ingredientes conforme a **Figura 5**.



**Figura 5:** Fluxograma do processo de elaboração dos *frozen yogurt* experimentais

## 3.2 Métodos

### 3.2.1 Primeira etapa - Processo de fabricação dos *frozen yogurt*

Os iogurtes foram desenvolvidos conforme técnica de Silva (2007), (Anexo I).

Utilizou-se temperatura de autoclave com o intuito de evitar possíveis contaminações por parte dos ingredientes adicionados (açúcar, caseinato de cálcio). Essas temperaturas foram recomendadas pelos fornecedores de caseinato de cálcio e inulina para que houvesse uma perfeita homogeneização dos ingredientes.

### 3.2.2 Segunda etapa – Preparo da cultura

As culturas lácticas tradicionais (2 g do fermento láctico Rich®) e culturas probióticas (2 g do fermento láctico Bio Rich®) foram dissolvidas assepticamente em 500 mL de leite integral UHT previamente esterilizado. Em seguida a mistura foi homogeneizada e as concentrações de 0,5%, 1,0% e 1,5% foram distribuídas (conforme descrição na Figura 5) em capela de fluxo laminar.

### 3.2.1.3 Terceira etapa – Fermentação

As formulações iniciais foram incubadas em banho termostático à 40°C. Durante a incubação o iogurte foi submetido a medidas do valor do pH, monitorados a cada meia hora (triplicata), em porções destinadas somente para esta análise, para avaliação do tempo de fermentação, até as amostras atingirem aproximadamente valor de pH de 4,8 (Figuras 6 e 7).

O tempo zero foi considerado depois de seis horas e quarenta minutos quando o pH atingiu 4,8 para elaboração dos iogurtes.



**Figura 6** - Amostras de iogurte no banho termostático à 40°C.

Foto: Silva, (2007)



**Figura 7** - Amostras de iogurtes (porções) no banho termostatizado à 40°C, para determinação do valor de pH e acidez durante o processo de fermentação.

Foto: Silva (2007).

#### 3.2.1.4 Quarta etapa – Armazenamento das amostras sob refrigeração

Após o processo de fermentação, as diferentes amostras de iogurtes foram resfriadas e armazenadas em ambiente refrigerado à 4°C (Figura 8).



**Figura 8** - Armazenamento das amostras de iogurtes sob refrigeração à 4°C.

Foto: Silva, (2006).

### 3.2.1.5 Quinta etapa – elaboração do *frozen yogurt*

Os *frozen yogurt* foram elaborados a partir dos iogurtes suplementados com caseinato de cálcio, inulina e probióticos conforme a Figura 7.

Para cada iogurte com diferentes concentrações de cultura láctica foram adicionados 7% de glicose, 3% de nata, 1% de liga neutra, 1% de aroma de morango, 4% de polpa de morango e 1% de Emustab. Este processo foi realizado na Usina

Escola de Laticínios da Universidade Federal de Santa Maria, conforme mostra as Figuras 9 e 10.



Figuras 9 e 10 – Batedeira para a homogeneização dos ingredientes para o *frozen* e a sorveteira para elaboração dos *frozen yogurt*.

Foto: Cristina Polo Dalla Corte, (2006).

### 3.2.1.6 Sexta etapa – Envase dos *frozen yogurt* em frascos de 110 mL com tampas

As amostras dos *frozen* foram distribuídas em potes plásticos de 110 mL com tampa. Os recipientes utilizados para o armazenamento dos *frozen* foram identificados com a descrição do produto (Figura 11).



Figura 11 - *Frozen* em potes plásticos com tampa de 110 mL.

Foto: Fabiane F. Dalla Corte, (2007).

### 3.2.2 Caracterização físico-química dos *frozen yogurt*

Para a caracterização físico-química dos *frozen* foram realizados, em triplicata, valores de pH, acidez expressa em ácido láctico, teor de lactose, teor de cinzas, teor de proteínas, teor de lipídios e % *overrun*, de acordo com as seguintes metodologias:

- **Acidez titulável:** a acidez, em termos de ácido láctico, foi determinada por titulação (AOAC, 1995).

- **Valor de pH:** o pH foi determinado utilizando-se o pHmetro digital Micronal, modelo 320, com eletrodo de vidro combinado (IAL, 1985).

- **Determinação da lactose:** foi determinada pelo método de Fehling (BRASIL, 2003).

- **Teor de cinzas:** foi determinada pelo método de incineração em forno mufla a 550°C (AOAC, 1995).

- **Proteínas:** o teor de proteínas foi determinado pelo método Micro Kjeldahl (AOAC, 1995).

- **Gordura:** foi determinada no aparelho Milko – tester MK III F 3140, A/SN. Foss Electric, Denmark.

**% overrun:** foi determinado através da seguinte fórmula:

$$\% \text{ overrun} = \frac{\text{Peso do frozen} - \text{calda}}{\text{Peso da calda}} \times 100$$

### 3.2.3 Vida-de-prateleira dos *frozen yogurt* – Pós-acidificação

Estabeleceu-se como período de armazenamento 35 dias, prazo de validade determinado para iogurtes, no freezer à  $-22^{\circ}\text{C}$ . Os *frozen yogurt* foram avaliados nos dias 1, 7, 14, 21, 28 e 35 quanto ao valor de pH, acidez expressa em ácido láctico, teor de lactose e determinação de células viáveis de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* sp.. A Figura 12 ilustra o acondicionamento dos *frozen* no freezer.



Figura 12 – Armazenamento/Congelamento dos *frozen* com propriedades funcionais à -22°C

Foto: Fabiane F. Dalla Corte, (2007).

### 3.2.4 Contagem de microrganismos tradicionais e probióticos

A análise microbiológica foi utilizada para avaliar o modo de crescimento e reprodução das espécies inoculadas nos *frozen*. Para a enumeração é fundamental ajustar as condições físicas, químicas e nutritivas necessárias a cada espécie.

As contagens de bactérias lácticas do *frozen* foram realizadas no 1º, 7º, 14º, 21º, 28º e 35º dia de estocagem. A abertura dos potes de cada *frozen* foi feita no interior da câmara de fluxo laminar para prevenir qualquer contaminação ambiente na amostra. Uma alíquota de 1 mL de amostra foi transferida para um tubo com rosca contendo 9 mL de solução de água peptonada estéril 0,1%. A partir desta diluição foram feitas diluições subseqüentes, necessárias à análise do produto. Após o tempo de incubação requerido para cada meio de cultura, a contagem foi realizada em placas de Petri que apresentaram entre 25 e 250 colônias.

A escolha dos meios foi de acordo com o microrganismo analisado impedindo o crescimento de outros microrganismos (CHRISTIAN, 1999). A figura 13 ilustra as preparações e inoculação das diluições para análise microbiológica.



Figura 13 – Preparações das diluições e posterior inoculação do *frozen* em placas de Petri na câmara de fluxo laminar.

Foto: Fabiane F. Dalla Corte, (2007).

#### 3.2.4.1 Contagem de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*

Para contagem de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* foi utilizado o meio ágar M 17. A inoculação foi realizada por profundidade. Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas invertidas em aerobiose a 37°C por 48 horas (IDF, 1997). A Figura 14 ilustra as placas de Petri invertidas em aerobiose em estufa.



Figura 14 – Placas de Petri incubadas invertidas em aerobiose do *frozen* com propriedades funcionais.  
Foto: Fabiane F. Dalla Corte, (2007).

#### 3.2.4.2 Contagem de *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus*

Para contagem de *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus* foi utilizado o meio MRS ágar glicose acidificado. A inoculação foi realizada por profundidade. Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas invertidas em jarras contendo gerador de anaerobiose Anaerobac (PROBAC) a 37°C por 72 horas (IDF, 1997). A figura 15 mostra as jarras com gerador de anaerobiose em estufa à 37°C.



Figura 15 – Placas de Petri incubadas invertidas em jarras com gerador de anareobiose.  
Foto: Fabiane F. Dalla Corte, (2007).

#### 3.2.4.3 Contagem de *Lactobacillus acidophilus*

Para contagem de *Lactobacillus acidophilus* foi utilizado o meio De Man, Rogosa Sharp MRS, formulado em laboratório, com adição de solução de maltose. A técnica utilizada para a inoculação foi por profundidade. Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas invertidas em jarras contendo gerador de anaerobiose Anaerobac (PROBAC) a 37°C por 72 horas (IDF, 1999).

#### 3.2.4.4 Contagem de *Bifidobacterium sp.*

Para contagem de *Bifidobacterium sp.* foi utilizado o meio MRS com glicose e adicionado de solução de dicloxacilina (solução A), cloridrato de cisteína (solução B) e cloreto de lítio (solução C). A técnica utilizada para inoculação foi por profundidade. Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas invertidas em jarras contendo gerador de anaerobiose Anaerobac (PROBAC) a 37°C por 72 horas (CHR. HANSEN, 1999).

#### 3.2.5 Análise sensorial

Utilizou-se teste afetivo para verificar aceitabilidade dos consumidores sobre as características específicas dos *frozen yogurt*.

A análise sensorial foi realizada em três dias alternados: dois dias realizados no Laboratório de Técnica e Dietética da UNIFRA (Universidade Franciscana de Santa

Maria, RS), com mesas individualizadas para 48 provadores não treinados e, o terceiro dia foi realizado no Laboratório de Análise Sensorial da UFSM (Universidade Federal de Santa Maria, RS), para 57 alunos e funcionários não treinados, pertencentes ao Centro de Ciências Rurais, em cabines individuais. Os atributos analisados foram cor, sabor, aroma, consistência e qualidade global. Utilizou-se escala hedônica estruturada de nove pontos totalizando 105 provadores não treinados (DUTCOSKI, 2007). Foi avaliada a preferência e a intenção de compra do produto caso o produto estivesse à venda no mercado.

Os provadores receberam aproximadamente 20 gr de cada amostra com temperaturas entre -10 e -8°C em copos de plástico descartáveis com capacidade para 50 mL, codificados com números aleatórios de três dígitos, conforme Apêndice I. O teste foi realizado em cabines individuais e mesas para dois provadores.

Os dados experimentais gerados pelos resultados da análise sensorial foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças das médias comparadas através do teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro (ESTAT, 1989). A análise dos resultados para o teste de ordenação de preferência foi utilizada a tabela de Newell e MacFarlane (Dutcosky, 2007).

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Viabilidade do número de células em culturas lácteas tradicionais e probióticas das embalagens dos fermentos lácteos Rich e Biorich**

A elaboração dos *frozen yogurt* com propriedades funcionais ocorreu a partir da fermentação durante a produção de iogurtes incorporando em suas formulações fermentos lácteos liofilizados tradicionais e probióticos. Para viabilizar o número de bactérias existentes no produto desenvolvido foi analisado e comparado o número de microrganismos em cada pacote de fermento liofilizado contendo 1g (Rich® e o Biorich®). As análises microbiológicas confirmaram ser o número de culturas lácteas tradicionais e probióticas maiores que a descrita nos pacotes.

A Tabela 6 ilustra o número de células de bactérias em 1g de fermento lácteo tradicional e probiótico liofilizado.

**Tabela 6.** Contagem de células dos microrganismos *Lactobacilus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacilus acidophilus* e *Bifidobacterium*, realizadas em Laboratório e indicadas nas embalagens

<b>Bactérias</b>	<b>Contagem BioRich®</b>	<b>Embalagem Biorich®</b>
<i>Bifidobacterium</i>	$2,75 \times 10^7$	$1 \times 10^6$
<i>Lactobacilus acidophilus</i>	$4,9 \times 10^{10}$	$1 \times 10^6$
<i>Streptococcus thermophilus</i>	$3,7 \times 10^{10}$	Não constam valores
<b>Bactérias</b>	<b>Contagem Rich</b>	<b>Embalagem Rich</b>
<i>Lactobacilus bulgaricus</i>	$7,5 \times 10^9$	Culturas super concentradas
<i>Streptococcus thermophilus</i>	$2,28 \times 10^{11}$	Culturas super concentradas

#### **4.2 Curvas de pH durante o processo de fermentação dos iogurtes probióticos para elaboração dos *frozen yogurt* com propriedades funcionais.**

O tempo final de fermentação das formulações dos iogurtes com diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas (0,5%, 1,0% e 1,5%) totalizou em 330 minutos (5 h e 30 min). As misturas foram colocadas em banho termostático à 40°C, até as amostras atingirem aproximadamente um valor de pH 4,8. O tempo zero foi determinado a partir de 5 horas e 30 minutos quando se obteve o pH desejado. Os tempos do processo de fermentação para todas as amostras de iogurtes foram: 330 minutos para a amostra de 0,5% de culturas lácticas, 300 minutos para as amostras com 1,0% e 1,5% de culturas lácticas tradicionais e probióticas.

A Tabela 7 mostra os valores médios do pH e o tempo de fermentação para cada formulação de iogurte com diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas. A verificação dos valores de pH foi realizada de 30 em 30 minutos a partir dos 180 minutos iniciais de fermentação, porém, para melhor visualização a Tabela 7 apresenta os valores a cada 60 minutos.

**Tabela 7** - Valores médios de pH durante o processo de fermentação dos iogurtes para a elaboração do *frozen yogurt* com diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas.

Tempo (min)	Valores de pH		
	0,5%	1,0%	1,5%
<b>0</b>	6,56	6,57	6,57
<b>60</b>	6,5	6,44	6,4
<b>120</b>	6,32	6,08	6
<b>180</b>	5,95	5,39	5,3
<b>240</b>	5,34	4,95	4,89
<b>300</b>	5,01	4,79	4,76
<b>330</b>	4,78	-	-

No processamento do iogurte com 0,5% de culturas lácticas tradicionais e probióticas observou-se variação nos valores de pH entre 6,56 a 4,78 em 330 minutos. Nos iogurtes com 1,0% de culturas lácticas e probióticas essa variação ficou entre 6,57 a 4,79 no tempo de 300 minutos e no iogurte com 1,5% de culturas lácticas e probióticas os valores ficaram entre 6,57 a 4,76 com o mesmo tempo da formulação com 1,0% de culturas lácticas e probióticas.

Pesquisas com culturas probióticas em sorvete de acerola (BERNARDI, 2004), mostraram que o tempo de fermentação do leite inoculado com *Bifidobacterium longum* e *Bifibobacterium lactis* foi superior a 14 horas, variando cerca de uma hora com a diferença de pH, enquanto com a cultura tradicional de iogurte foi consideravelmente menor, fermentando próximo de 4 horas e alterando os valores de pH apenas em alguns minutos, sendo que o percentual de leite fermentado utilizado neste trabalho foi de 64,5%. Observou-se também que as bifibobactérias apresentaram uma fermentação bem mais lenta comparado com a cultura tradicional de iogurte (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacilus delbrueckii spp. bulgaricus*).

Os resultados de pH e tempo de fermentação desta pesquisa ficaram semelhantes aos experimentos realizados por Hekmat; McMahon (1992), sobre a sobrevivência de *Lactobacilus* e *Bifidobacterium bifidum* em sorvetes, o tempo de

fermentação foi de aproximadamente cinco horas a uma temperatura de 42°C atingindo um pH de 4,9.

Davidson *et al.* (2000) pesquisando sobre culturas probióticas em *frozen yogurt* cessaram a fermentação quando foram atingidos 0,15% de ácido láctico e valor de pH final de 5,6.

Ordenez; Fung e Jeon (2000), avaliaram o efeito da Oxyrase™ no processo metabólico do ácido láctico durante a fermentação de *frozen yogurt* com concentrações de culturas de 5% para *Bifidobacterium bifidum* 10LF (aproximadamente 10<sup>7</sup>UFC/mL), 1% para *Lactobacillus acidophilus* 10LF (aproximadamente 10<sup>6</sup> UFC/mL), 0,1% para mistura de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* CH-3-150 (aproximadamente 10<sup>5</sup> UFC/mL). No processo de incubação destes microrganismos a uma temperatura de 40°C houve decréscimo do valor de pH de 6,8 para 5,1 em 8 horas.

No trabalho de Andrade *et al.* (2004), foi desenvolvido sorvete com prebiótico e probiótico no qual o tempo de fermentação do leite com 2% de concentração de culturas lácteas termofílicas liofilizadas ABT-4 ocorreu em 7hs a uma temperatura de 37°C, obtendo um valor de pH de 4,6.

Alves *et al.* (2005), elaboraram leite fermentado probiótico tipo *sundae* contendo *Lactobacillus acidophilus*. Para desenvolvimento do produto o processo de fermentação do leite foi determinado a uma temperatura de 37°C por cerca de 12 horas.

Contudo, as diferentes concentrações de microrganismos determinaram o tempo no processo de fermentação das amostras dos iogurtes e, conseqüentemente na elaboração dos *frozen yogurt*. Observou-se que as amostras com maiores concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas (1,0% e 1,5%) aceleraram a acidificação favorecendo a diminuição dos valores de pH, resultando assim, em menor tempo de fermentação (300 minutos).

### **4.3 Caracterização físico-química do *frozen yogurt***

#### 4.3.1 Determinação dos teores de Cinzas, Proteínas, Gorduras e *Overrun*.

A Tabela 8 apresenta os resultados referentes aos valores médios dos teores de cinzas, proteína, gordura e *overrun* do *frozen yogurt* elaborados nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas (0,5%, 1,0% e 1,5%).

Os gráficos referentes à caracterização físico-química estão apresentados no Apêndice II (Figuras 16, 17, 18 e 19).

**Tabela 8.** Caracterização físico-química dos *frozen yogurt*

<i>Frozen Yogurt</i>	Cinzas (%)	Proteína (%)	Gordura (%)	<i>Overrun</i> (%)
0,5%	0,569 <sup>a</sup>	3,69 <sup>a</sup>	2,24 <sup>b</sup>	32,63 <sup>b</sup>
1,0%	0,582 <sup>a</sup>	3,47 <sup>b</sup>	2,40 <sup>a</sup>	40,87 <sup>a</sup>
1,5%	0,486 <sup>a</sup>	3,18 <sup>c</sup>	2,45 <sup>a</sup>	29,91 <sup>c</sup>

Letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam que estatisticamente há diferença significativa entre os valores ( $p \geq 0,05$ ).

Estatisticamente, os resultados obtidos referentes à análise físico-química de cinzas não mostraram diferença significativa entre as três amostras com diferentes concentrações de culturas lácteas tradicionais e probióticas. Já para as análises de proteína e *overrun* dos produtos com 0,5%, 1,0% e 1,5% de culturas, indicaram diferença significativa entre eles ( $p \leq 0,05$ ). Em relação ao teor de gordura nos *frozen yogurt*, houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) com a concentração 0,5% de culturas lácteas tradicionais e probióticas em relação às outras duas concentrações.

Segundo Madrid (1996), os sorvetes são ricos em sais minerais como cálcio, sódio, potássio, magnésio entre outros, por apresentarem em suas formulações leite e polpa de fruta. Para o *frozen yogurt* com propriedades funcionais foram encontrados valores na faixa de 0,486 a 0,569% para cinzas. Conforme Tamime e Robinson (2007), os *frozen yogurt* comercializados nos Estados Unidos apresentam percentual de cinzas entre 0,8 a 1,1%, uma vez que o conteúdo de sólidos não-gordurosos é ajustado para valores superiores ao utilizado nesta pesquisa.

Os resultados do teor de proteína e gordura dos *frozen yogurt* com propriedades funcionais nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 1,5% (Tabela 9) de acordo com a Portaria nº 379, de 26 de abril de 1999 da ANVISA (Consulta Pública nº 28, de 01 de junho de 2000), que contempla para os *frozen yogurt*, o mínimo para proteínas do leite 2,5 (g/100g) e para gordura láctea 2,5 (g/100g).

Estudos realizados por Andrade *et al.*(2004), em sorvete com prebiótico e probiótico os teores de proteínas para as formulações desenvolvidas obtiveram valores de proteína entre 2,64% e 2,63%, menores do que encontrados no presente estudo.

Bozkurt; Gürbüz (2008), compararam o conteúdo de ácido láctico em bebidas e *frozen* de tarana (cereal fermentado) obtendo valores de proteínas entre 14,55% a 15,57% para as duas formulações de *frozen* desenvolvidas.

Santana; Matsuura, Cardoso (2003), pesquisaram genótipos melhorados de mamão e avaliaram tecnologicamente os frutos na forma de sorvete sendo que neste estudo, para os sorvetes dos frutos de cinco genótipos de mamão, foram encontrados valores razoáveis de proteínas cerca de 1%.

Alves *et al.* (2005), em sua pesquisa elaborou leite fermentado probiótico tipo *sundae* contendo *Lactobacillus acidophilus* e obteve resultados dos valores de proteínas de 3,66%.

Paralelamente a estes resultados encontrados nas pesquisas citadas, observou-se que o conteúdo protéico se mantém, em seus níveis, conforme o alimento utilizado para elaboração dos *frozen*, já que o mamão não é uma fonte rica em proteínas.

O teor de gordura na formulação pode afetar a qualidade dos *frozen yogurt*. Estudos relataram que teor de gordura de até 5g/100g produziu maior aceitabilidade do produto, entretanto no Egito, valores superiores (10g/100g de gordura) são recomendados (TAMIME; ROBINSON, 2007).

Para Thomopoulos, Tziz; Milkas (1993) a gordura do leite favorece a qualidade do *frozen yogurt* por melhorar suas características sensoriais como sabor e textura mais macia e cremosa .

Rodrigues *et al* (2006), analisaram os teores de gordura de sorvetes de chocolates elaborados com substitutos de gordura e observaram diferenças entre a formulação base com maior percentual de gordura comparada às formulações em que

foram feitas substituições com o soro de leite e leite em pó. Nas amostras com os substitutos houve redução da aceitabilidade sensorial e uma tendência ao derretimento.

Santana; Matsuura; Cardoso (2003) desenvolveram e analisaram sorvetes com genótipos melhorados de mamão obtendo valores de gordura para, as cinco formulações desenvolvidas, entre 0,27% a 0,63%.

Bozkurt; Gürbüz (2008) desenvolveram *frozen* de tarana obtendo valores de gordura entre 2,30% a 3,15% para as formulações desenvolvidas.

Andrade *et al.* (2004), no desenvolvimento de sorvete com prebiótico e probiótico, obtiveram resultados de gordura de aproximadamente 12,2% em todas as formulações.

Pesquisas realizadas por Andrade *et al.* (2005), com leite fermentado com probiótico tipo *sundae* foram encontrados valores para gordura de 1,60%.

No entanto, os valores de gordura encontrados neste trabalho, ficaram um pouco abaixo do mínimo exigido pela legislação brasileira de 2,5g/100g no produto não afetando suas características organolépticas dos *frozen yogurt*. É sabido que a gordura está relacionada com a aceitabilidade (sabor e aparência), mas também com a maciez, cremosidade e a qualidade do produto desenvolvido.

O *overrun* determina a quantidade de ar incorporado na massa durante o processo de batimento (na elaboração dos *frozen yogurt* deste experimento a duração do batimento foi de 8 minutos), aumentando seu volume final tornando-o mais leve e suave. A Tabela 8 mostra o percentual de *overrun* obtido nos *frozen yogurt* com diferentes concentrações de culturas tradicionais e probióticas (0,5%, 1,0% e 1,5%), A concentração de 1,0% com culturas lácticas tradicionais e probióticas obteve maior percentual (40,6%). Resultados semelhantes de *overrun* foram encontrados por SANTOS *et al.* (2006), que estudaram sorvetes elaborados com substitutos de gordura e obtiveram valores de 25,3 a 46,2%.

Güven; Karaca (2002), avaliaram os efeitos das concentrações dos teores de açúcar e frutas nas propriedades físicas dos sorvetes de baunilha e frutas tipo *frozen yogurt* e, obtiveram valores de *overrun* entre 21,77% a 31,63%.

Nesta pesquisa, os valores obtidos de *overrun* foram parecidos com os trabalhos citados. A incorporação de ar também aumenta quando há elevado teor de gordura no

produto. Assim, durante a preparação da formulação uma série de ingredientes são utilizados, além do iogurte, é indispensável que o conteúdo de gordura e sólidos não gordurosos (SNG) sejam calculados corretamente para alcançar o equilíbrio da mistura e obter um produto final de qualidade (TAMIME; ROBINSON, 2007).

Alguns autores observaram que o teor de gordura é inversamente proporcional a incorporação de ar e, também que determinados substitutos de gordura a base de amido dificultam a incorporação de ar e os substitutos a base de proteína facilitam esta incorporação. O teor de gordura é também inversamente proporcional à velocidade de derretimento (MENDOZA; GARCÍA; SELGAS, 2001).

A Portaria nº 379, de 26 de abril de 1999 da ANVISA (Consulta Pública nº 28, de 01 de junho de 2000), preconiza 475g/litros de densidade aparente do produto no *frozen yogurt*. Os valores obtidos de densidade aparente (incorporação de ar na massa) para cada concentração 0,5%, 1,0% e 1,5% de cultura láctica tradicional e probiótica do produto desenvolvido foram respectivamente 745g/L, 818g/L e 873g/L estando dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente.

Estudos realizados por Rodrigues *et al.* (2006), na elaboração de sorvetes de chocolate com teor de gordura reduzido, utilizando soro de leite em pó, verificaram que, das nove formulações, somente duas estavam dentro dos valores estabelecidos nas normas da legislação brasileira, com valores de 480,39g/L e 491,81g/L. As demais apresentaram alto *overrun* pois as proteínas do soro do leite e substitutos de gordura por possuírem propriedades funcionais facilitam a incorporação de ar na elaboração dos sorvetes.

No trabalho de Nabeshima *et al.* (2001), as densidades aparentes dos sorvetes obtidos no estudo enquadraram-se nos limites da legislação vigente com valores entre 681,9g/L a 880,6g/L, sendo semelhantes aos valores encontrados nesta pesquisa, 745 a 873 g/L, que utilizou leite UHT integral.

#### **4.4 Valores de pH, acidez (expressa em ácido láctico) e teor de lactose durante o período de armazenamento sob congelamento a -22°C (pós-acidificação)**

A Tabela 9 apresenta a evolução dos valores de pH, no período de armazenamento, das diferentes concentrações dos *frozen yogurt*. A Tabela 10 ilustra os

valores médios obtidos de acidez, expressa em ácido láctico, e teor de lactose dos *frozen yogurt* com propriedades funcionais durante o tempo de estocagem. Os respectivos gráficos estão apresentados no Apêndice III (Figuras 20, 21 e 22).

Ao comparar os valores de pH do final da fermentação na elaboração dos iogurtes (Tabela 7) com os valores de pH obtidos durante o período de 35 dias de estocagem dos *frozen yogurt* (Tabela 9) observa-se uma diminuição destes, o que evidencia o mecanismo de pós-acidificação.

A Tabela 9 ilustra a variação dos valores de pH durante os 35 dias de armazenamento do produto. No primeiro dia de análise, os valores de pH para as amostras de *frozen yogurt* com 0,5%, 1,0% e 1,5% de culturas lácticas tradicionais e probióticas foram de 4,57; 4,54 e 4,6, respectivamente, reduzindo gradativamente até obter um valor de pH em 4,41; 4,37 e 4,25 no 35º dia, correspondente ao período final de estocagem. A redução do valor de pH foi de 3,5% para a amostra com 0,5% de culturas lácticas, 3,74% para a amostra com 1,0% de culturas lácticas e 7,6% para a amostra com 1,5% de culturas lácticas.

**Tabela 9.** Valores de pH obtidos durante os 35 dias de armazenamento do *frozen yogurt*.

Tempo estocagem (dias)	Formulações		
	0,50%	1,00%	1,50%
1	4,57	4,54	4,6
7	4,53	4,54	4,6
14	4,51	4,5	4,58
21	4,5	4,49	4,53
28	4,46	4,46	4,42
35	4,41	4,37	4,25

A observação do valor do pH é importante nas características do produto (*frozen*), pois além de viabilizar a atividade das culturas probióticas, fator determinante para as características funcionais do produto, indica se houve ou não contaminações com microrganismos indesejáveis, além de promover a estabilidade de corantes artificiais no produto final.

Segundo Saxelin *et al.* (1999) e Saarela *et al.* (2000), é aconselhável utilizar culturas de suporte compostas, de preferência, *S. thermophilus*, outra cultura de iogurte

ou culturas mesófilas com diferentes combinações de cepas de *Lactococcus* para viabilizar as culturas probióticas no produto final.

A tabela 10 mostra os valores de acidez, expressa em ácido láctico, e lactose entre as diferentes concentrações de *frozen yogurt* durante os 35 dias de armazenamento.

**Tabela 10.** Valores de acidez, expressa em ácido láctico, e lactose entre as diferentes concentrações de *frozen yogurt* durante o período de armazenamento.

Tempo (dias)	Acidez - expressa ác. Láctico (%)			Lactose (%)		
	0,5% (médias)	1,0% (médias)	1,5% (médias)	0,5% (médias)	1,0% (médias)	1,5% (médias)
1	0,078 <sup>a</sup>	0,070 <sup>a</sup>	0,102 <sup>a</sup>	4,88 <sup>a</sup>	4,23 <sup>a</sup>	4,74 <sup>a</sup>
7	0,078 <sup>b</sup>	0,115 <sup>ab</sup>	0,165 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>	4,08 <sup>a</sup>	3,50 <sup>a</sup>
14	0,084 <sup>a</sup>	0,155 <sup>a</sup>	0,179 <sup>a</sup>	3,69 <sup>a</sup>	3,68 <sup>a</sup>	3,31 <sup>a</sup>
21	0,143 <sup>a</sup>	0,215 <sup>a</sup>	0,220 <sup>a</sup>	3,56 <sup>a</sup>	3,44 <sup>a</sup>	3,22 <sup>a</sup>
28	0,149 <sup>b</sup>	0,209 <sup>a</sup>	0,229 <sup>a</sup>	3,42 <sup>a</sup>	3,37 <sup>a</sup>	3,19 <sup>a</sup>
35	0,164 <sup>a</sup>	0,220 <sup>a</sup>	0,247 <sup>a</sup>	3,39 <sup>a</sup>	3,17 <sup>a</sup>	3,10 <sup>a</sup>

Letras diferentes, na mesma coluna, indicam que estatisticamente há diferença significativa entre os valores ( $p \geq 0,05$ ).

Pode-se observar que estatisticamente, os resultados referentes à acidez, expressa em ácido láctico, entre os *frozen yogurt*, houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ), entre as concentrações de culturas com 0,5% e 1,5% no 7º dia de armazenamento. Nos outros dias de armazenamento (1º, 14º, 21º, 28º e 35º), não houve diferença significativa entre os *frozen yogurt* com diferentes concentrações de culturas lácteas tradicionais e probióticas. A formulação com 1,5% de culturas lácteas tradicionais e probióticas obteve, entre as outras formulações, no 35º dia de estocagem, resultados maiores de acidez, expressa em ácido láctico devido à conversão da lactose em ácido láctico.

Não há nenhuma padronização estabelecida para acidez, expressa em ácido láctico, ao *frozen yogurt*, no Brasil. Em geral, a indústria internacional utiliza valores de acidez titulável entre 0,15% a 0,30% (DAVIDSON, 2000).

Güven; karaca (2002), estudaram os efeitos das concentrações dos teores de açúcar e frutas nas propriedades físicas dos sorvetes de baunilha e *frozen yogurt* com fruta, verificando que, os valores de acidez titulável foram menores no *frozen yogurt* de baunilha do que no *frozen* de morango.

Todas as amostras de *frozen* nesta pesquisa apresentaram-se dentro dos padrões citados por outros autores. Não existem limites estabelecidos para valores de pH e lactose na legislação brasileira para leites fermentados. Os teores médios de ácido láctico apresentados pelas amostras de *frozen* estão abaixo dos limites estabelecidos por BRASIL (1997), que é de 0,6 a 2% (m/m).

De maneira geral, quanto maior a acidez titulável encontrada em um produto fermentado, menor será o valor de pH e o teor de lactose desta amostra, devido à produção de ácido láctico por microrganismos presentes no produto (TRAMONTINA; RICHARDS, 2001).

A média da variação do teor de lactose, no primeiro dia de análise, para as amostras de *frozen yogurt* com 0,5%, 1,0% e 1,5% de culturas lácticas tradicionais e probióticas, respectivamente foi: 4,88; 4,23 e 4,74 reduzindo gradativamente até alcançar 3,39; 3,17 e 3,10 no 35º dia, correspondente ao período final de estocagem.

Davidson *et al.* (2000), avaliaram a sobrevivência de culturas probióticas e as implicações da fermentação no *frozen yogurt*. As alterações bioquímicas foram observadas, controlando as concentrações de lactose em todos os produtos (formulações com culturas lácticas tradicionais, com culturas probióticas e *frozen yogurt* comercializado) e, avaliar se o aumento da acidez iria causar mudança significativa na quantidade de lactose das amostras analisadas de *frozen yogurt*. Concluíram que, durante as 11 semanas, não ocorreram alterações nas concentrações de lactose, com intervalos entre 1,7 a 2,1g de lactose/100mL por mistura. Não foram observadas diferenças na concentração de lactose com resultados obtidos de 0,15% de acidez titulável e valor de pH 5,6. Thompson; Mistry (1994), não observaram alterações significativas da lactose nas formulações de *frozen yogurt* quando armazenados congelados entre 1 a 3 meses. Shimidt *et al.* (1997), relataram um intervalo nos valores de lactose entre 2,31 para 4,24% em onze amostras comerciais de *frozen yogurt* sabor baunilha.

Nesta pesquisa, as diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas (0,5%, 1,0% e 1,5%) apresentaram diferença significativa, entre elas, no 7º e 28º dia de estocagem nos valores de acidez, expressa em ácido láctico. Em relação aos valores obtidos de lactose entre as diferentes formulações de *frozen yogurt* no período de armazenamento, não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ). Estudos citados anteriormente observaram também que não houve alterações significativas nos valores de lactose. Alguns autores relacionaram o aumento nos valores de acidez, expressa em ácido láctico, nos *frozen yogurt* elaborados com frutas.

#### 4.5 Contagem das bactérias lácticas tradicionais e probióticas durante o tempo de armazenamento

As Tabelas 11 e 12 apresentam os valores médios (UFC/mL) das contagens de bactérias lácticas tradicionais *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, respectivamente, dos *frozen yogurt* nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas (0,5%, 1,0% e 1,5%) durante os 35 dias de armazenamento à -22°C. As curvas médias em  $\log_{10}$  UFC/mL da contagem de *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* dos produtos obtidos durante o tempo de estocagem estão apresentadas no Apêndice IV (Figuras 13, 14 ).

**Tabela 11** - Contagem média do número de células viáveis de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* (UFC/mL) do *frozen yogurt* elaborado nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas durante o tempo de armazenamento de 35 dias.

Tempo de estocagem (dias)	<i>Streptococcus salivarius ssp. thermophilus</i>		
	0,5%	1,0%	1,5%

1	$1,2 \times 10^9$	$2,2 \times 10^8$	$1,2 \times 10^9$
7	$6,8 \times 10^8$	$4,6 \times 10^8$	$4,8 \times 10^8$
14	$1,6 \times 10^9$	$1,6 \times 10^9$	$1,1 \times 10^9$
21	$1,5 \times 10^9$	$1,3 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$
28	$1,9 \times 10^9$	$9,7 \times 10^8$	$7,5 \times 10^8$
35	$4,0 \times 10^9$	$1,3 \times 10^9$	$7,9 \times 10^8$

A contagem do número de células viáveis do microrganismo tradicional *Streptococcus thermophilus* variou entre  $6,8 \times 10^8$  a  $4,0 \times 10^9$  para o *frozen yogurt* com 0,5% de culturas lácticas  $2,2 \times 10^8$  a  $1,6 \times 10^9$  para *frozen yogurt* com 1,0% de culturas lácticas e  $4,8 \times 10^8$  a  $1,2 \times 10^9$  para *frozen yogurt* com 1,5% de culturas lácticas.

Conforme os resultados obtidos, observou-se crescimento no número de células viáveis de *Streptococcus thermophilus* aproximadamente 0,2; 0,1 e 0,6 ciclos logarítmicos para os *frozen yogurt* com 0,5%, 1,0% e 1,5% de culturas lácticas tradicionais e probióticas, respectivamente após 35 dias de estocagem.

No trabalho de Davidson *et al.* (2000), foram comparadas formulações de *frozen yogurt* com dois tipos de culturas, uma amostra com culturas tradicionais e a outra com cultura tradicional e probiótica. O conteúdo inicial de bactérias no *frozen yogurt* com *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* não diminuiu muito no período de 11 semanas de armazenamento a uma temperatura de  $-20^\circ\text{C}$ . O aumento das bactérias *S. thermophilus* foi significativamente maior no produto com culturas probióticas adicionadas evidenciado entre a quinta e a décima primeira semana de estocagem a  $-20^\circ\text{C}$  em relação ao *frozen* com culturas tradicionais.

A Tabela 12 mostra a contagem média do número de células viáveis de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* dos *frozen yogurt* elaborado nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas durante o tempo de armazenamento de 35 dias (UFC/mL).

**Tabela 12:** Contagem média do número de células viáveis de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* dos *frozen yogurt* elaborado nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas durante o tempo de armazenamento de 35 dias (UFC/mL).

Tempo de estocagem (dias)	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> spp, <i>bulgaricus</i>		
	0,5%	1,0%	1,5%
1	$1,6 \times 10^4$	$2,7 \times 10^4$	$2,3 \times 10^5$
7	$2,7 \times 10^4$	$5,0 \times 10^4$	$4,0 \times 10^5$
14	$2,9 \times 10^5$	$8,1 \times 10^4$	$7,4 \times 10^4$
21	$4,3 \times 10^6$	$4,5 \times 10^5$	$9,4 \times 10^5$
28	$4,8 \times 10^6$	$4,1 \times 10^5$	$1,0 \times 10^6$
35	$2,9 \times 10^5$	$6,3 \times 10^4$	$3,9 \times 10^5$

A contagem do microrganismo tradicional *Lactobacillus bulgaricus* variou entre  $1,6 \times 10^4$  a  $4,8 \times 10^6$  para *frozen yogurt* na concentração 0,5% de culturas lácticas,  $2,7 \times 10^4$  a  $4,5 \times 10^5$  para *frozen yogurt* na concentração 1,0% de culturas lácticas e  $7,4 \times 10^4$  a  $1,0 \times 10^6$  para o *frozen yogurt* na concentração 1,5% de culturas lácticas.

Com estes resultados observou-se crescimento de aproximadamente 0,5; 0,2 e 0,9 ciclos logarítmicos para os *frozen yogurt* nas concentrações 0,5%, 1,0% e 1,5% respectivamente, de culturas lácticas após os 35 dias de armazenamento.

Thompson; Mistry (1994), estudaram os efeitos do armazenamento a frio na sobrevivência de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* em *frozen yogurt*, sendo os resultados obtidos não significativos em relação à diminuição do número dessas bactérias. Em contraste, Miles; Leeder (1981), analisaram a diminuição das concentrações de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus*, em *frozen yogurt* obtendo média de 1,5 e 0,5  $\log^{10}$  UFC/mL, respectivamente, armazenados por duas semanas a  $-28,9^\circ\text{C}$ .

#### 4.5.1 Contagem de bactérias probióticas *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* sp.

A viabilidade microbiológica é realizada visando avaliar se o produto desenvolvido pode ser considerado probiótico ou não. Segundo a legislação vigente, um produto probiótico deve possuir no mínimo  $10^6$  UFC/mL.

As médias dos resultados obtidos em cada análise dos *frozen yogurt* estão representadas nas Tabelas 13 e 14 com as culturas probióticas de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* sp., respectivamente, nas diferentes concentrações de (0,5%, 1,0% e 1,5%) durante o período de armazenamento de 35 dias à  $-22^\circ\text{C}$ . As

curvas médias em  $\log_{10}$  UFC/mL da contagem de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* sp. dos produtos obtidos durante o tempo de armazenamento estão apresentadas no Apêndice IV (Figuras 15 e 16).

**Tabela 13** - Contagem média do número de células viáveis de *Lactobacillus acidophilus* dos *frozen yogurt* elaborados nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas durante o tempo de estocagem (UFC/mL).

Tempo de estocagem (dias)	<i>Lactobacillus acidophilus</i>		
	0,5%	1,0%	1,5%
1	$4,2 \times 10^7$	$6,7 \times 10^8$	$4,4 \times 10^8$
7	$3,1 \times 10^6$	$5,0 \times 10^8$	$5,5 \times 10^5$
14	$6,0 \times 10^5$	$9,7 \times 10^4$	$9,5 \times 10^4$
21	$1,4 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$
28	$1,8 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$6,3 \times 10^8$
35	$1,2 \times 10^9$	$8,6 \times 10^8$	$5,2 \times 10^8$

A contagem do número de células viáveis do microrganismo probiótico *Lactobacillus acidophilus* permaneceu entre  $6,0 \times 10^5$  a  $1,8 \times 10^9$  para *frozen yogurt* com 0,5% de culturas lácticas,  $9,7 \times 10^4$  a  $1,0 \times 10^9$  para *frozen yogurt* com 1,0% de culturas lácticas e  $9,5 \times 10^4$  a  $1,0 \times 10^9$  para o *frozen yogurt* com 1,5% de culturas lácticas. Notou-se crescimento de aproximadamente  $\frac{1}{2}$  a 1 ciclo logarítmico para as amostras de *frozen yogurt* nas diferentes concentrações, após 35 dias de armazenamento.

A Tabela 24 mostra as médias dos resultados obtidos na contagem dos microrganismos *Bifidobacterium* sp.

**Tabela 14** - Contagem média do número de células viáveis de *Bifidobacterium* sp. dos *frozen yogurt* elaborados nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas durante o tempo de estocagem (UFC/mL).

Tempo estocagem	<i>Bifidobacterium</i> sp.
-----------------	----------------------------

(dias)	0,5%	1,0%	1,5%
1	$8,5 \times 10^4$	$6,3 \times 10^4$	$1,5 \times 10^5$
7	$3,0 \times 10^6$	$5,6 \times 10^4$	$5,7 \times 10^5$
14	$1,1 \times 10^6$	$7,4 \times 10^3$	$6,1 \times 10^5$
21	$2,9 \times 10^5$	$9,9 \times 10^4$	$1,7 \times 10^6$
28	$6,0 \times 10^5$	$9,6 \times 10^4$	$9,0 \times 10^5$
35	$2,92 \times 10^5$	$3,03 \times 10^4$	$1,59 \times 10^6$

A contagem do número de células viáveis do microrganismo probiótico *Bifidobacterium sp.* decresceram até os 35 dias de armazenamento. Observou-se reduções nesta população próximas a  $10^5$  UFC/mL para as concentrações de 0,5% e 1,5%, valor este abaixo do mínimo preconizado na legislação brasileira para bactérias probióticas.

Trabalhos realizados por Kailasapathy; Sultana (2003), Haynes; Playne (2002), Hagen; Narvhus (1999), Christiansen *et al.* (1996) e Hekmat; McMahon (1992), demonstraram ser possível à incorporação de microrganismos probióticos em sorvetes, apresentando resultados com elevados valores de microrganismos probióticos viáveis no produto.

Kailasapathy; Sultana (2003) estudaram a sobrevivência de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* em sorvete durante o armazenamento por 24 semanas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , onde o número de microrganismos probióticos viáveis esteve entre  $10^6$  e  $10^7$  UFC/g, neste período.

Haynes; Playne (2002) demonstraram que é possível à sobrevivência de culturas probióticas de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* e *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* em sorvete com teor reduzido de gordura, do mesmo modo do que o com teor mais elevado, através da adição direta dessas culturas no produto, obtendo valores próximos de  $1,0 \times 10^6$  UFC/g, ao longo de 1 ano de armazenamento a  $-25^{\circ}\text{C}$ .

Hagen; Narvhus (1999) produziram sorvete probiótico utilizando quatro culturas diferentes, dentre elas, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus rhamnosus*. O número de células viáveis permaneceu acima de  $10^6$  UFC/g, durante 52 semanas de armazenamento a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Christiansen *et al.* (1996) produziram sorvete probiótico com *Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus acidophilus*, e demonstraram que, após 16 semanas de armazenamento a -20°C, o número de células viáveis ficou entre  $0,5 \times 10^7$  a  $1,0 \times 10^7$  UFC/g.

Hekmat; McMahon (1992) produziram sorvete com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum*, onde a sobrevivência desses microrganismos foi monitorada por 17 semanas de armazenamento a -29°C, permanecendo acima de  $10^7$  UFC/mL.

Alves, *et al.* (2005) desenvolveram leite fermentado probiótico tipo *sundae* contendo *Lactobacillus acidophilus* onde o número de células viáveis deste microorganismo foi de  $1,4 \times 10^8$ .

Estudos realizados por Davidson, *et al.* (2000), em *frozen yogurt* com culturas probióticas, demonstraram ser viável a incorporação de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium longum* no produto desenvolvido.

Pesquisas realizadas na elaboração de sorvete com prebiótico e probiótico por Andrade *et al.* (2004) mostraram estar de acordo com o regulamento apresentado pela ANVISA (2002), onde os produtos probióticos para consumo devem apresentar no mínimo  $10^6$  UFC/g.

Comparando os resultados obtidos nesta pesquisa ao dos outros trabalhos citados, o número de culturas probióticas de, *Lactobacillus acidophilus*, se manteve dentro dos padrões mínimos exigidos pela legislação brasileira, enquanto que, a população de bifidobactérias observou-se quantidades abaixo de  $10^6$  UFC/g de produto.

#### **4.6 Análise sensorial dos *frozen yogurt***

A Tabela 15 mostra os valores médios dos atributos analisados como cor, aroma, sabor, consistência e qualidade global dos *frozen yogurt* elaborados nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas, avaliados pelos julgadores.

**Tabela 15.** Valores médios dos atributos cor, aroma, sabor, consistência e qualidade global do *frozen yogurt* elaborado nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas.

Formulação s (%)	Atributos				
	Aroma	Sabor	Cor	Consistênci a	Qualidade Global
0,5	7,1 <sup>ab</sup>	7,46 <sup>b</sup>	7,14 <sup>b</sup>	6,5 <sup>b</sup>	7,0 <sup>b</sup>
1,0	7,05 <sup>b</sup>	7,67 <sup>a</sup>	7,30 <sup>a</sup>	7,2 <sup>a</sup>	7,4 <sup>a</sup>
1,5	7,14 <sup>a</sup>	7,47 <sup>b</sup>	7,05 <sup>b</sup>	7,2 <sup>a</sup>	7,4 <sup>a</sup>

\*Os valores com a mesma letra, na mesma coluna, não diferiram significativamente entre si (Teste de Tukey ao nível de 5% de significância).

Como pode ser visualizado, com relação aos atributos a amostra com 1% de culturas tradicionais e probióticas, apresentou maior média para sabor e cor, diferindo significativamente das demais amostras de *frozen yogurt*. Os resultados referentes à qualidade global e consistência para a formulação de 0,5% de culturas também mostraram que houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as amostras. Para o atributo aroma comparando com as concentrações de 1,0% e 1,5% houve diferença significativa entre elas, mas não houve em relação à formulação de 0,5%. A qualidade global mostra como foi à impressão causada do produto no contexto de todos os atributos.

As médias dos valores apresentados para os diferentes atributos avaliados correspondem à referência “gostei”.

Um dos aspectos visuais fundamentais na qualidade e aceitabilidade do produto refere-se à cor que é obtida através de pigmentos naturais existente no alimento ou pela adição de corantes (BOBBIO; BOBBIO, 1995). O *frozen yogurt* apresentou cor característica, uma vez que houve a adição da polpa de morango, apresentando-se homogêneo e com um leve sabor acidificado.

O sabor e aroma do *frozen yogurt* dependem inteiramente da cultura láctica usada e de seu metabolismo durante a fermentação. Sabores e odores estranhos são geralmente causados por subprodutos da fermentação inadequada. Estes atributos

devem-se ao ácido láctico e em quantidades muito pequenas de acetaldeído, diacetil e ácido acético e dependem também do tipo e da qualidade dos ingredientes utilizados na mistura do *frozen yogurt*, do tempo e da temperatura de fermentação (VEDAMUTHU, 1991).

Segundo Man; Jones (1996), o aumento da acidez pode alterar o perfil de sabor do *frozen yogurt*, diminuindo a preferência do produto.

Castro *et al.* (2006) avaliaram o perfil sensorial, através de análise Descritiva Quantitativa, de cinco diferentes marcas de sorvetes comercializados sendo que os resultados obtidos neste estudo indicaram diferença significativa entre as marcas analisadas em relação ao seu perfil sensorial.

Estudos realizados por Andrade *et al.* (2004), a análise sensorial do sorvete com prebióticos e probióticos, para o teste de aceitação com escala hedônica de nove pontos obteve uma média de 7,7 pontos classificado entre gostei moderadamente e gostei muito obtendo bom índice de aceitação.

Em outro trabalho desenvolvido por Andrade; Brandão; Costa (2004), com sorvete de doce de leite delactosado, os resultados obtidos pela análise sensorial em escala hedônica de nove pontos corresponderam à classificação gostei muito com médias entre 7,83 a 8,10 para as formulações desenvolvidas, não apresentando diferença significativa a um nível de 5% de probabilidade.

Becker *et al.* (2006), avaliaram o perfil sensorial de sorvetes de acerola pasteurizado, enriquecido com soro de leite em pó e oligofrutose e observaram que não houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade quanto aos atributos de cor, aroma, aparência e sabor. Para atributo textura houve diferença significativa entre as amostras com 6% de oligofrutose e a amostra sem este oligofrutose.

Signore; Drunkler; Katsuda, (2004), desenvolveram sorvete com leite de cabra e realizaram avaliação sensorial empregando o método da escala hedônica de nove pontos, obtendo resultados sem diferença significativa entre os quatro tratamentos apresentados.

Foi observado que nos *frozen yogurt* com diferentes concentrações de culturas tradicionais e probióticas, em que houve uma maior redução de pH e aumento da

acidez (obtido pela conversão de lactose em ácido láctico), influenciou na aceitabilidade e preferência dos provadores.

#### 4.6.1 Teste de preferência

De acordo com o Teste de Ordenação de Preferência dos *frozen yogurt* com diferentes concentrações de culturas tradicionais e probióticas, realizado por 105 provadores, os resultados obtidos foram analisados utilizando a tabela de Newell e MacFarlane (Dutcosky, 2007).

Os *frozen yogurt* com 1,0% e 1,5% de diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas não apresentaram diferença significativa no teste de ordenação de preferência já o *frozen yogurt* com 0,5% de concentração de culturas tradicionais e probióticas obteve menor aceitabilidade para este mesmo teste, conforme mostra as Figuras 27, 28 e 29.

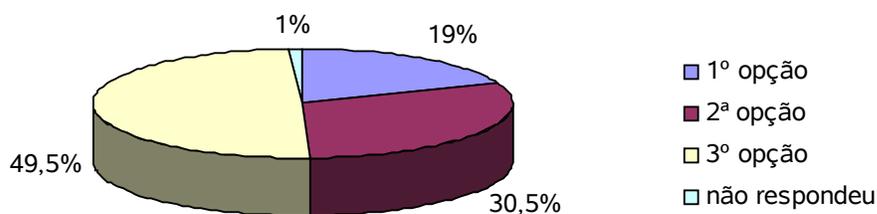


Figura 27 - Respostas dos provadores em relação ao Teste de Ordenação de Preferência do *Frozen Yogurt* elaborado na concentração de 0,5% de culturas lácticas tradicionais e probióticas.

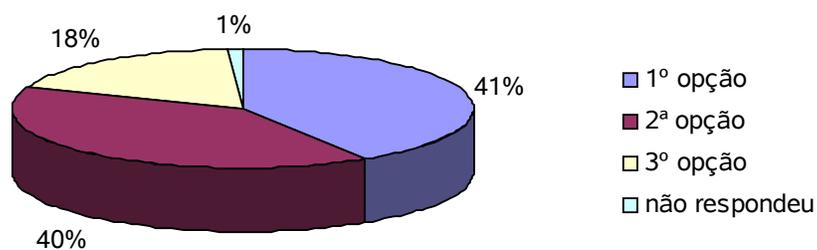


Figura 28 - Respostas dos provadores em relação ao Teste de Ordenação de Preferência do *Frozen Yogurt* elaborado na concentração de 1,0% de culturas lácticas tradicionais e probióticas.

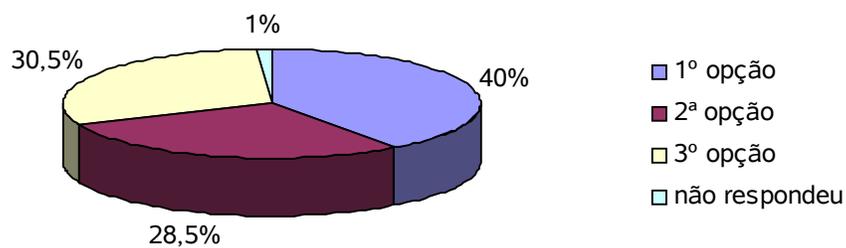


Figura 29 - Respostas dos provadores em relação ao Teste de Ordenação de Preferência do *Frozen Yogurt* elaborado na concentração de 1,5% de culturas lácticas tradicionais e probióticas.

#### 4.6.2 Teste de intenção de compra dos *Frozen Yogurt*

Através do Teste de intenção de compra, foi observado que, se os *frozen yogurt* fossem comercializados a maioria dos consumidores, ou seja, 94% provavelmente comprariam os produtos, enquanto 2% dos consumidores não comprariam os produtos e 4% não manifestaram seu interesse de compra, conforme a Figura 30.

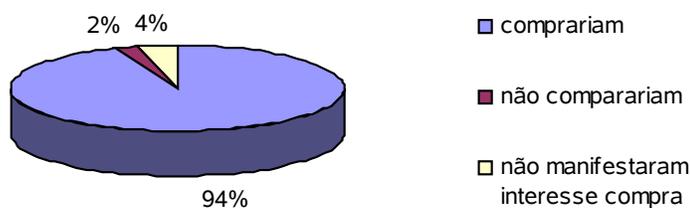


Figura 30 - Respostas dos provadores em relação à intenção de compra dos *Frozen Yogurt*.

## CONCLUSÃO

Através desta pesquisa pode-se concluir:

**É possível desenvolver *frozen yogurt* a partir de iogurtes suplementados com prebióticos e probióticos.**

Os *frozen yogurt* desenvolvidos com diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas (0,5%, 1,0% e 1,5%) não apresentaram diferença significativa entre os teores de cinzas e para os valores de proteínas, gorduras e

*overrun* analisados (Tabela 8), não houve diferença significativa entre as três formulações elaboradas.

Os valores de pH decresceram durante os 35 dias de armazenamento congelado para todos os produtos desenvolvidos caracterizando assim, o processo denominado de pós-acidificação. Houve diferença significativa no valor de acidez, expressa em ácido láctico, entre duas das três formulações desenvolvidas, no 7º dia de estocagem e, no 28º dia de armazenamento somente em uma das formulações desenvolvidas, isto porque as menores e maiores concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas estavam contidas nestas amostras.

O teor de lactose apresentou redução, nos 35 dias de armazenamento congelado, para os *frozen yogurt* com diferentes concentrações de culturas tradicionais e probióticas, não apresentando diferenças significativas.

Durante o tempo de estocagem, o número de células viáveis de culturas tradicionais lácteas (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) atende aos valores estabelecidos pela legislação vigente que não os determina separadamente.

Os *frozen yogurt* apresentaram número suficiente de células viáveis das culturas lácticas probióticas para caracterizá-lo como um alimento funcional em concordância aos valores determinados pela legislação brasileira.

De maneira geral o *frozen yogurt* com 1,0% de culturas lácticas tradicionais e probiótica obteve as melhores notas para os atributos cor e sabor.

No Teste de Preferência as formulações com 1,0% e 1,5% de culturas lácticas tradicionais e probióticas obtiveram os melhores resultados, sendo a preferida pelos julgadores.

No desenvolvimento deste trabalho, observa-se nos *frozen yogurt* níveis adequados de microrganismos probióticos viáveis, baixo teor de lactose e quantidades suficientes de prebiótico, podendo ser utilizado pela indústria de alimentos como um produto inovador, promovendo benefícios a saúde do consumidor.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Gelados Comestíveis, Preparados, Pós para o Preparo e Bases para Gelados Comestíveis.** Consulta Pública nº. 28, de 01 de junho de 2000.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, **Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional ou de Saúde,** Resolução RDC nº 2, 7 de janeiro de 2002.

ALVES, F. F.; *et al.* **Leite fermentado probiótico tipo sundae contendo *Lactobacillus acidophilus*.** *In:* XXII Congresso Nacional de Laticínios, 2005, Juiz de Fora, MG. Anais do XXII Congresso Nacional de Laticínios, 2005, n.345, v.60, p. 314-317, Juiz de Fora, MG.

ANDRADE, V. T.; *et al.* **Desenvolvimento de sorvete com prebiótico e probiótico.** *In:* XXI Congresso Nacional de Laticínios, 2004, Juiz de Fora, MG. Anais do XXI Congresso Nacional de Laticínios, 2004, n.339, v.59, p. 122-126, Juiz de Fora, MG.

ANDRADE, V. T.; BRANDÃO, S. C. C.; ALVIM, T. C. **Sorvete de doce de leite delactosado.** *In:* XXI Congresso Nacional de Laticínios, 2004, Juiz de Fora, MG. Anais do XXI Congresso Nacional de Laticínios, 2004, n.339, v.59, p.126-130, Juiz de Fora, MG.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International.** 16. ed. Washington, 1995. v.1-2.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S. N. Experimentação agrícola. 3.ed., Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247p.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. Vol. 3. São Paulo, Atheneu, 1998. 317 p.

BECKER, C. T.; *et al.* **Perfil microbiológico sensorial e de fibras do sorvete de acerola pasteurizado e enriquecido com soro de leite em pó e oligofrutose**. In: XXII Congresso Nacional de Laticínios, 2006, Juiz de Fora, MG. Anais do XXII Congresso Nacional de Laticínios, 2006, p. 105-107, Juiz de Fora, MG.

BERNARDI, S.; *et al.* **Viabilidade de *Bifidobacterium longum* e *Bifidobacterium lactis* em Sorvete de Acerola**. Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. V. 19, Recife-PE, 2004.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Manual de laboratório de química dos alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1995, 129 p.

BOZKURT, O.; GÜRBÜZ, O. **Comparasion of lactic acid contents between dried and frozen tarhana**. *Food Chemistry*. V. 108, p. 198-204, 2008.

BRANDÃO, S. C. C. **Novas gerações de produtos lácteos funcionais**. Indústria de laticínios, São Paulo, v. 6, n. 37, p. 64-66, 2002.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Abastecimento Decreto nº 30.621 de 29/03/52 alterado pelos Decretos 1255 de 25/06/62, 1236 de 02/09/94, 1812 de 08/02/96 e 2244 de 04/06/97. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Brasília, 1997.

BRASIL. **Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados no Sistema de Laboratório Animal do Departamento de Defesa Animal**. Ministério da Agricultura Abastecimento e da Reforma Agrária, 02/05/2003. Disponível em: [www.agricultura.gov.br/sislegis](http://www.agricultura.gov.br/sislegis). Acesso em 13/12/2006.

CALDER, P.C.; KEW, S. **The immune system: a target for functional foods?** *Br. J. Nutr.*, Wallingford, v.88, suppl.1, p.S165-S176, 2002.

CARABIN, I.G.; FLAMM, W.G. **Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber**. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, New York, v.30, p.268-282, 1999.

CASTRO, V. C.; *et al.* **Perfil sensorial de sorvete de chocolate.** In: XXII Congresso Nacional de Laticínios, 2005, Juiz de Fora, MG. Anais do XXII Congresso Nacional de Laticínios, 2005, p. 182-186, Juiz de Fora, MG.

CLIDESDALE, F. M. **A proposal for the establishment of scientific criteria for health claims for functional foods.** *Nutrition Reviews*. Boston, v.55, n.12, 1997.

COLLINS, J.K., THORNTON, G., SULLIVAN, G.O. **Selection of probiotic strains for human applications.** *Int. dairy j.*, Amsterdam, v.8, p.487-490, 1998.

CHRISTIAN HANSEN. **Method for counting probiotic bacteria. *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacteria* in milk products made with nutritive cultures.** 1999. 5 p. [Procedimento Analítico].

CHRISTIANSEN, P.S.; EDELSTEN, D.; KRISTIANSEN, J.R.; NIELSEN, E.W. **Some properties of ice cream containing *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus*.** *Milchwissenschaft*, v.51, n.9, p. 502-504, 1996.

CUMMINGS, J.H.; MACFARLANE, G.T. **Gastrointestinal effects of prebiotics.** *Br. J. Nutr.*, Wallingford, v.87, suppl.2, p.S145-S151, 2002.

DAVE, R.I.; SHAH, N.P. **Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yoghurt.** *J. Dairy Science*, v. 81, p. 2804-2816, 1998.

DAVIDSON, R. H.; *et al.* **Probiotic Culture Survival and Implications in Fermented Frozen Yogurt Characteristics.** *Journal Dairy Science*, v. 83, p. 666-673, 2000.

DUTCOSKI, S. D. **Análise sensorial de alimentos.** 2ª edição. p. 239. Curitiba: Champagnat, 2007.

EARLY, R. **Tecnología de los productos lácteos.** Editora Acribia, S.A, p.51-67, 1998.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria.** Córdoba, 2001. 34p. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport\_en.pdf>. Acesso em: DEZ/2007. [Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation].

FOOKS, L.J.; FULLER, R.; GIBSON, G.R. **Prebiotics, probiotics and human gut microbiology.** *Int. Dairy J.*, Amsterdam, v.9, p.53-61, 1999.

FULLER, R. **Probiotics in man and animals.** *J. Appl. Bacteriol.*, Oxford, v.66, p.365-378, 1989.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. **Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics.** *J. Nutr.*, Bethesda, v.125, p.1401-1412, 1995.

GILLILAND, S.E. **Acidophilus Milk Products.** A review GILLILAND, S.E of Potential Benefits to Consumers. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v.72, p. 2483-2494, 1989.

GILLILAND, S.E. **Probiotics and Prebiotics.** In: MARTH, E.H., STEELE, J.L., eds. *Applied Dairy Microbiology.* p.327-343, New York: Marcel Dekker, 2001.

GOMES, A.M.P.; MALCATA, F.X. ***Bifidobacterium spp.* and *Lactobacillus acidophilus*: Biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics.** *Trends Food Sci. Technol.*, Amsterdam, v.10, p.139-157, 1999.

GUARNER, F.; MALAGELADA, J.R. **Gut flora in health and disease.** *Lancet*, London, v.360, p.512-518, 2003.

GÜVEN, M. and KARACA, O, B. **The Effects of Varying Sugar Content and fruit Concentration on the Physical Properties of Vanilla and Fruit Ice-Cream-type Frozen Yogurts.** *International Journal of Dairy Technology*, v. 55 n°1, p.27-3, February, 2002.

HAGEN, M.; NARVHUS, J.A. **Production of ice cream containing probiotic bacteria.** *Milchwissenschaft*, v.54, n.5, p.265-268, 1999.

HAYNES, I.N.; PLAYNE, M.J. **Survival of probiotic cultures in low-fat ice-cream.** *The Australian Journal of Dairy Technology.* v.57, n.1, p.10-14, 2002.

HAVENAAR, R.; BRINK, T.; HUISIN'T VELDT, J.H.J. In: FULLER, R., ed. **Probiotics: The Scientific Basis.** London: Chapman and Hall, p.209-224, 1992.

HEKMAT, S. E MACMAHON. **Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in IceCream for Use as a Probiotic Food.** *The Journal Dairy Science*, v. 75, January, p. 1415-1422, 1992.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: IAL, 1985. v. 1.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Yogurt: enumeration of characteristic microorganisms**. *IDF/ISO Standard*, 1997. 5 p.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus***. *Bulletin of the IDF*, n. 306, p. 23-33, 1999.

ISOLAURI, E.; SALMINEN, S.; OUWEHAND, A.C. **Probiotics**. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, London, v.18, n.2, p.299-313, 2004.

KAILASAPATHY, K.; RYBKA, S. ***L. acidophilus* and *Bifidobacterium spp.* – their therapeutic potential and survival in yoghurt**. *The Australian Journal Dairy Technology*, v.52, p. 28-35, 1997.

KAILASAPATHY, K.; SULTANA, K. **Survival and  $\beta$ -D-galactosidase activity of encapsulated and free *L. acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in ice cream**. *The Australian Journal of Dairy Technology*, v. 58, n. 3, p. 223-227, 2003.

KAUR, I.P.; CHOPRA, K.; SAINI, A. **Probiotics: potential pharmaceutical applications**. *Eur. J. Pharm. Sci.*, Amsterdam, v.15, p.1-9, 2002.

KAUR, N.; GUPTA, A.K. **Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition**. *J. Biosci.*, Bangalore, v.27, p.703-714, 2002.

KLAVER, F.A.M.; KINGMAN, F.; WEERKAMP, A.H. **Growth and survival of bifidobacteria in milk**. *Netherland Milk Dairy J.*, v. 47, p. 151-164. 1993.

KLEIN, G.; PACK, A., BONAPARTE; C., REUTER, G. **Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria**. *Int. J. Food Microbiol.*, Amsterdam, v. 41, p. 103-125, 1998.

KOPP-HOOLIHAN, L. **Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review**. *J. Am. Diet. Assoc.*, Chicago, v.101, p.229-241, 2001.

LEANDRO, E. S; *et al.* **Propriedades físicas do sorvete de baunilha elaborado com substituto de gordura**. *In: XXIII Congresso Nacional de Laticínios*, 2006, Juiz de Fora,

MG. Anais do XXIII Congresso Nacional de Laticínios, 2006, n.351, v.61, p. 297-300, Juiz de Fora, MG.

LEE, Y.K.; *et al.* **Handbook of probiotics**. New York: Wiley, 1999. 211p.

MADRID, A. V. Tecnologia de la elaboración de los helados. 1ª Ed. Editora Madrid. Madrid, 1995. 376 p.

MADRID, A.; CENZANO, I.; VICENTE, J.M. **Manual de indústrias dos Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela. 599 p, 1996.

MATTILA-SANDHOLM, T.; *et al.* **Technological challenges for future probiotic foods**. *Int. Dairy J.*, Amsterdam, v.12, p.173-182, 2002.

MENDOZA, E.; *et al.* **Inulin as fat substitute in low fat, dry fermented sausages**. *ScienceDirect*. Madrid, v.57, n.4, p387-393, 2001.

MILES, J. J.; LEEDER J. G. **Starter culture viability in frozen yogurt**. *Cult. Dairy Prod. J.* 16:12–14, 1981.

MOSQUIM, M. C. A. **Fabricando Sorvete com Qualidade**. Fontes Comunicação. 118p., 1999.

NABESHIMA, E. H.; *et al.* **Propriedades físicas do sorvete de baunilha elaborado com substitutos de gordura e sacarose**. B.CEPPA, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 169-182, jul./dez. 2001.

NAIDU, A.S.; BIDLACK, W.R.; CLEMENS, R. A. **Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB)**. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v.38, n.1, p.13-126, 1999.

NICOLI, J.R. e VIEIRA, L.Q., **Probióticos, Prebióticos e Simbióticos, Ecosistema Digestivo**. Ciência Hoje. Vol 28 nº 163. Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 2000.

NIELSEN, A. C. **Tendência do mercado de iogurtes e bebidas lácteas: evolução dos segmentos.** In: LERAYER, A. L. S., SALVA, T. J. G., coords. **leites fermentados e bebidas lácteas.** Campinas: ITAL, p. 2.11-2.25, 1997.

OLIVEIRA, M.N.; *et al.* **Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria.** *Intern Dairy J.*, v. 11, n. 11-12, p. 935-942, 2001.

ORDONEZ, G.A.; FUNG, D.Y.C. and JEON I.J. **Effect of oxirase<sup>TM</sup> on the metabolic process of lactic acid bacteria in frozen yogurt mix.** *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology.* V. 8, p. 71-81, 2000.

PARK, Y. K.; KOO, M. H.; CARVALHO, P. O. **Recentes progressos dos alimentos funcionais.** Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e tecnologia de alimentos, Campinas, v. 5, n. 31, p. 200-206, 1997.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; *et al.* **Development of functional ingredients for gut health.** *Trends Food Sci. Technol.*, Amsterdam, v.13, p.3-11, 2002.

ROBERFROID, M.B. **Functional food concept and its application to prebiotics.** *Dig. Liver Dis.*, Rome, v.34, suppl.2, p.S105-S110, 2002.

ROBERFROID, M.B. **Prebiotics: preferential substrates for specific germs?** *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.73 (suppl.), p.406-409, 2001.

RODRIGUES, A.P.; *et al.* **Elaboração de Sorvete Sabor Chocolate com Teor de Gordura Reduzido Utilizando Soro de Leite em Pó.** *Vetor.* Rio Grande, v. 16(1/2), p. 55-62, 2006.

SAAD, S. M. I. **Probióticos e Prebióticos: O estado da arte.** *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* vol. 42, n. 1, jan./mar., 2006

SAARELA, M.; *et al.* **Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties.** *J. Biotech.*, Amsterdam, v.84, p.197-215, 2000.

SAMONA, A.; ROBINSON, R.K. **Effect of yogurt culture on the survival of bifidobacteria in fermented milks.** *J. of the Society of Dairy Technol.*, v. 42, n. 2, p. 58-60, 1994.

SANDERS, M.E. **Probiotics: considerations for human health.** *Nutr. Rev.*, New York, v.61, n.3, p.91-99, 2003.

SANDERS, M. E.; KLAENHAMMER, T. R. **Invitedreview: the scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic.** *J. Dairy Sci.*, Savoy , v.84, p.319-331, 2001.

SAXELIM, M.; *et al.* **The technology of probiotics.** *Trends Food Sci. Technol.*, Amsterdam, v.10, p.387-392, 1999.

SCHMIDT, K. A.; KIM J.; and JEON I. J. **Composition of carbohydrates and concentration of  $\beta$ -galactosidase of commercial frozen yogurt.** *J. Food Qual.* 20:349–358, 1997.

SGARBIERI, V. C.; PACHECO, M. T. B. **Revisão: Alimentos funcionais fisiológicos.** *Brazilian Journal of food technology*, n. 2, p. 7-19, 1999. v. 33, n. 2, p. 97-102, 1999.

SHAH, N.P.; RAVULA, R.R. **Influence of water activity on fermentation, organic acid production and viability of yogurt and probiotic bacteria.** *Austr. J. Dairy Technol.*, Sidney, v.55, n.3, p.127-131,2000.

SHAH, N.P.; LANKAPUTHRA, W.E.V. **Improving viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium spp.* in yogurt.** *Int. Dairy J.*, v. 7, p. 349-356, 1997.

SCHIMIDT, K. A.; KIM, J.; JEON, I. J. **Composition of carbohydrates and concentration of  $\beta$ -galactosidase of commercial frozen yogurt.** *J. Food Qual.* 20:349-358, 1997.

SIGNORE, S. M.; DRUNKLER, D. A., KATSUDA, M. S. **Avaliação sensorial de sorvete elaborado a partir do leite de cabra.** *In: XXI Congresso Nacional de Laticínios*, 2004, Juiz de Fora, MG. *Anais do XXI Congresso Nacional de Laticínios*, 2004, n. 339, v.59, p. 383-385, Juiz de Fora, MG.

SILVA, S. V. **Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico.** 2007. 107p. Tese de Mestrado (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Rurais. Universidade Federal de Santa Maria. 2007.

SREEKUMAR, O.; HOSONO, A. **Immediate effect of *Lactobacillus acidophilus* on the intestinal flora and fecal enzymes of rats and the *in vitro* inhibition of *Scherichia coli* in coculture.** *J. Dairy Sci.*, Savoy, v.83, n.5, 2000.

TAMIME, A. Y.; ROBINSON, R. K. **Yoghurt Science and technology.** 3ª Edição, 2007.

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

TEJADA-SIMON, M.V.; *et al.* **Ingestion of yogurt containing *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* to potentiate immunoglobulin A response to cholera toxin in mice.** *J. Dairy Sci.*, Savoy, v.82, p.649-680, 1999.

THOMOPOULOS, C.; TZIA, C.; MILKAS, D. **Influence of processing of solids-fortified milk on coagulation time and quality properties of yogurt.** *Milchwissenschaft*, v. 48, n.8, p.426-430, 1993.

TOMOMATSU, H. **Health effects of oligosaccharides.** *Food Techn*, Tanashi, v.8, p.61-65, 1994.

THOMPSON, L. D.; and MISTRY A. N. **Compositional changes in frozen yogurt during fermentation, frozen storage and soft serve freezing.** *Cult. Dairy Prod. J.* 29:12–16, 1994.

TRAMONTINA, T.; RICHARDS, N. S. P. S.; SILVA, M. E. **Desenvolvimento e caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de iogurte adicionado de cereais integrais.** Ver. Inst. Lat. Cândido Tostes. Anais do XVIII Congresso Nacional de Laticínios. Nº 321, v. 56, p. 225-229, jul/ago 2001.

VAN DE WATER, J. **Yogurt and immunity: the health benefits of fermented milk products that contain lactic acid bacteria.** *In: FARNWORTH, E.R., ed. Handbook of fermented functional foods.* Boca Raton: CRC Press, 2003. p.113-144.

VEDAMUTHU, E. R. **The yogurts story – past, present and future. Part V.** *Dairy, Food Environmental Sanitarians*, v. 11, n. 8, p. 444-446, 1991b.

VINDEROLA, C.G.; REINHEIMER, J.A. **Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products.** *Int. Dairy J.*, Amsterdam, v.10, p.271-275, 2000.

WOLLOWSKI, L.; RECHKEMMER, G.; POOL-ZOBEL, B. I. **Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer.** *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.73, suppl. 2, p.451-455, 2001.

ZIEMER, C.J.; GIBSON, G.R. **An overview of probiotics, prebiotics and synbi in the functional food concept: perspectives and future strategies.** *Int. Dairy J.*, Amsterdam, v.8, p.473-479, 1998.





## APÊNDICE II

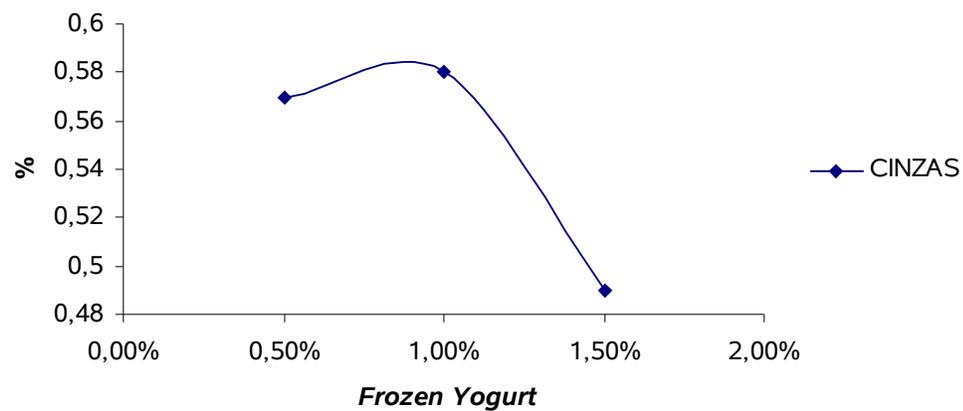


Figura 16 – Valores de cinzas dos *frozen yogurt* com propriedades funcionais

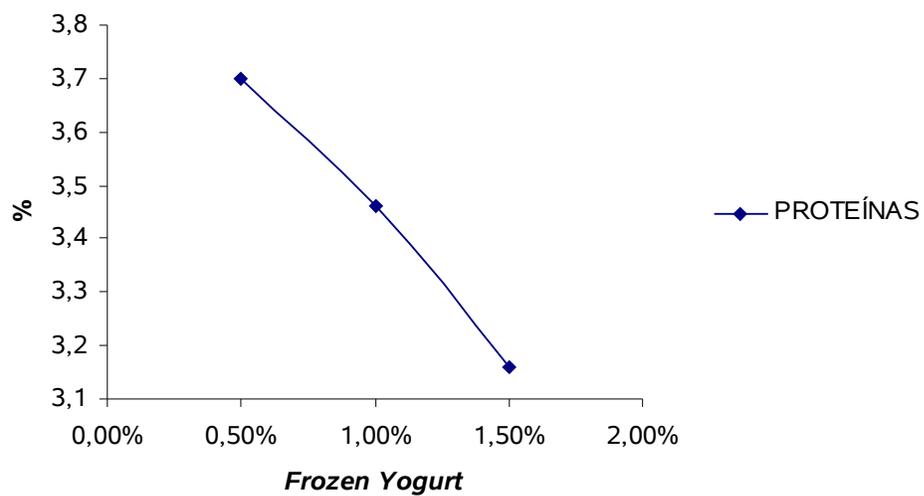
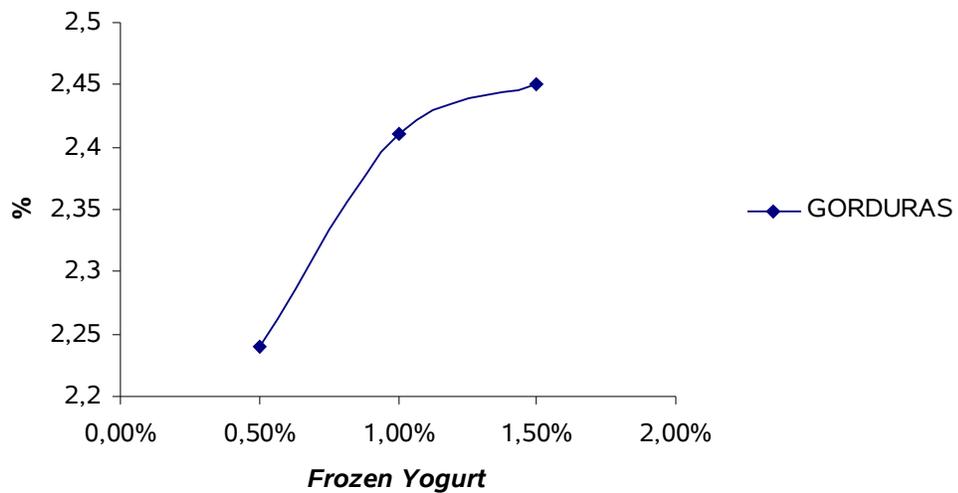
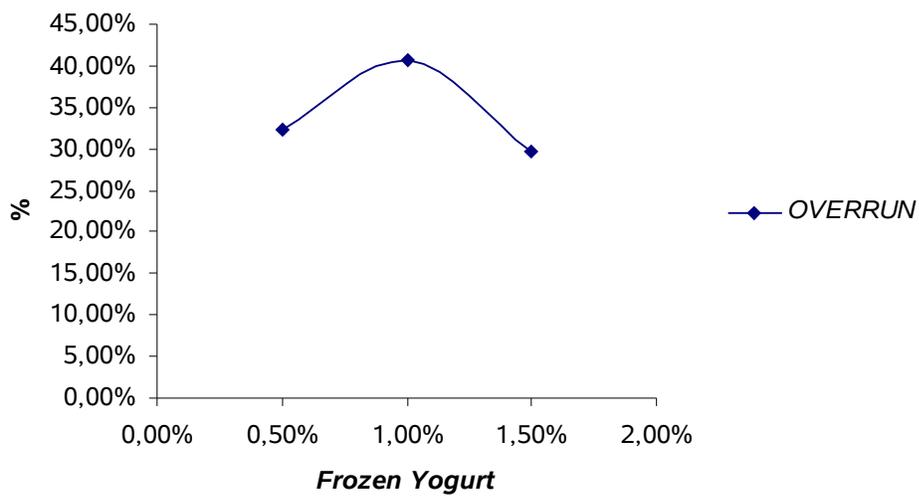


Figura 17 – Valores do % de Proteínas dos *Frozen Yogurt* com propriedades funcionais



**Figura 18** – Valores de gorduras dos *frozen yogurt* com propriedades funcionais



**Figura 19** – Valores de *overrun* dos *frozen yogurt* com propriedades funcionais

### Apêndice III

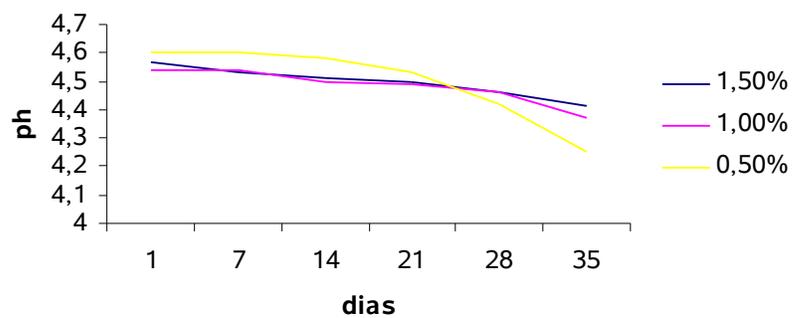


Figura 20 - Efeito do tempo de estocagem em relação dos valores de pH nas diferentes concentrações de *frozen yogurt*

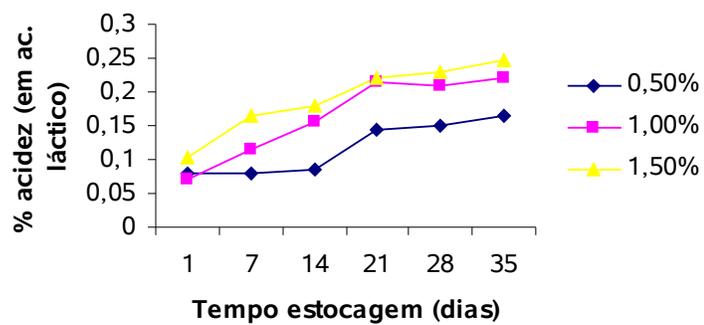


Figura 21. Efeito do tempo de estocagem em relação aos valores de acidez, expressa em ácido láctico, nas diferentes formulações de *frozen yogurt*.

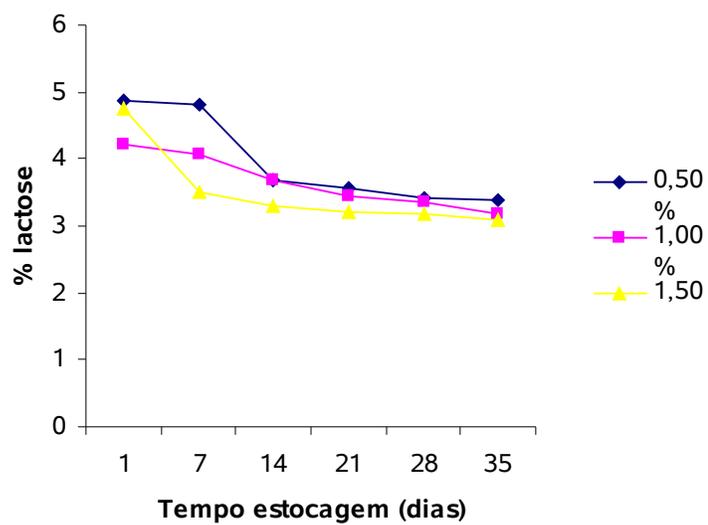
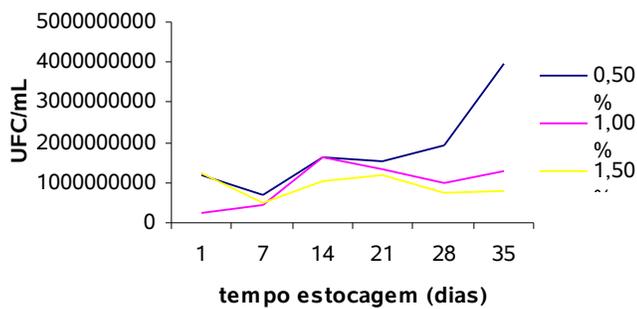


Figura 22. Efeito do tempo em relação aos valores de lactose nas diferentes formulações de *frozen yogurt*

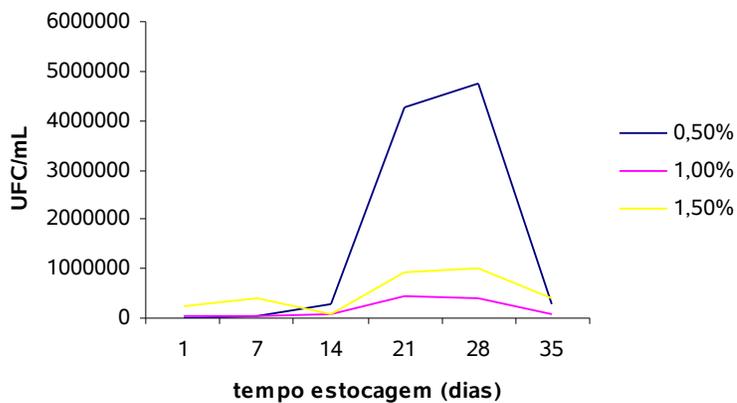
## APÊNDICE IV

### Contagem de bactérias lácticas *Streptococcus thermophilus* nos frozen yogurt



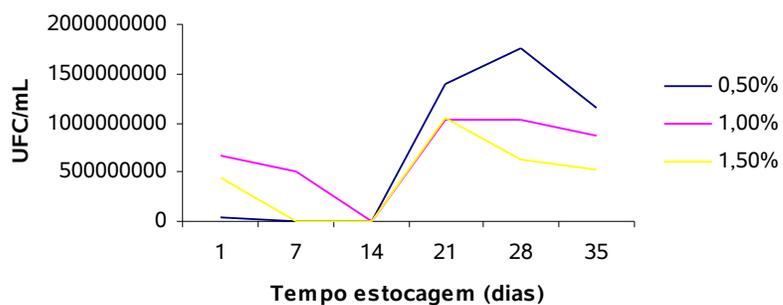
**Figura 23** - Efeito do tempo de estocagem, em dias, na manutenção do número de células viáveis de *S. thermophilus* no frozen yogurt desenvolvido nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas.

### Contagem de bactérias lácticas *Lactobacillus bulgaricus* nos frozen yogurt



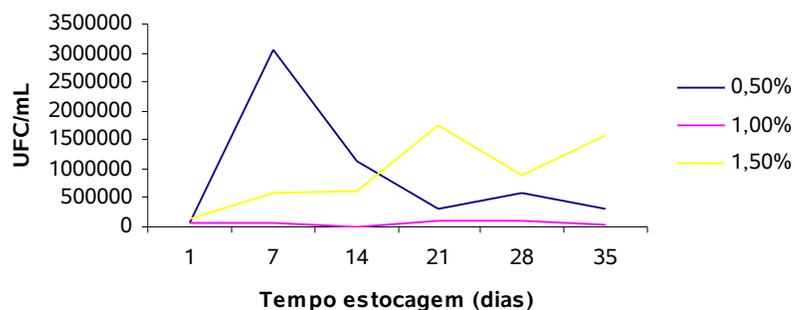
**Figura 24** - Efeito do tempo de estocagem na manutenção do número de células viáveis de *L. bulgaricus* no frozen yogurt desenvolvido nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas.

### Contagem de bactérias probióticas *Lactobacillus acidophilus* nos frozen yogurt



**Figura 25** - Efeito do tempo de estocagem na manutenção do número de células viáveis de *L. acidophilus* no frozen yogurt desenvolvido nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticos.

### Contagem de bactérias probióticas *Bifidobacterium* nos frozen yogurt



**Figura 26** - Efeito do tempo de estocagem na manutenção do número de células viáveis de *Bifidobacterium* no frozen yogurt desenvolvido nas diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas.

## ANEXOS

**ANEXO I-** Fluxograma do processo de desenvolvimento dos iogurtes produzidos com diferentes concentrações de culturas lácticas tradicionais e probióticas adicionados de caseinato de cálcio e inulina.

