

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

ESCOLA DE QUÍMICA



# **Elaboração de Sorvete de Morango com características probióticas e prebióticas**

Joyce Salomão

## **Projeto Final de Curso**

Orientadores: Dra. Selma Gomes Ferreira Leite

Dra. Elisabete Barbosa de Paula Barros

Dezembro de 2011

# ELABORAÇÃO DE SORVETE DE MORANGO COM CARACTERÍSTICAS PROBIÓTICAS E PREBIÓTICAS

*Joyce Salomão*

Projeto de Final de Curso apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenharia Química.

---

Maria Helena Miguez da Rocha Leão, D.Sc

---

Thais Matsue Uekane , M.Sc

---

Alcilucia Oliveira, M.Sc

Orientado por:

---

Dra. Selma Gomes Ferreira Leite

---

Dra. Elisabete Barbosa de Paula Barros

Rio de Janeiro, RJ

Dezembro de 2011

Salomão, Joyce.

Elaboração De Sorvete De Morango Com Características Probióticas E Prebióticas / Joyce Salomão. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2011.

xiii, 65p

Projeto de Final de Curso - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2011.

Orientadora: Selma Gomes Ferreira Leite e Elisabete Barbosa de Paula Barros

1. Sorvete de morango
2. Probióticos
3. Prebióticos
4. Projeto Final (Graduação – UFRJ/EQ)
5. Selma Gomes Ferreira Leite e Elisabete Barbosa de Paula Barros
- I. Elaboração De Sorvete De Morango Com Características Probióticas E Prebióticas

## AGRADECIMENTOS

- A D'S, por iluminar a mim e as pessoas que fazem parte da minha vida, pela força, saúde, união e proteção em todos os momentos.
- À professora Selma Gomes, pela dedicação, orientação e ensino, contribuindo para a minha formação profissional;
- À pesquisadora Elisabete Barros, por orientar, apoiar, incentivar e contribuir para a conclusão do trabalho;
- Aos meus pais, Jayme e Gilda, que sempre se dedicaram a minha educação e formação, depositando atenção e confiança em meus estudos. Obrigada a vocês pelo conceito de união que sempre me foi passado, fazendo de mim uma pessoa mais generosa. E por fim, pai, desejo ter a metade do seu profissionalismo, sucesso e sabedoria, colocando as palavras certas na hora exata.
- Ao meu irmão, Fellipe, com a ajuda e paciência no momento em que precisei para estudar; e à minha irmã, Kelly por confiar em mim, por ser tão alegre, companheira, me transmitindo sempre energia positiva, além de sua grande ajuda.
- Ao meu cunhado, Roberto, pelo apoio e torcida.
- À minha querida avó, Sarah, por estar sempre preocupada comigo e me dando muito apoio.
- À minha sobrinha, Nicole, por ter trazido muita alegria e felicidade pelo seu nascimento.
- Aos queridos amigos, pela amizade e pelo companheirismo durante todo o curso.

Resumo do Projeto de Final de Curso apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenharia Química.

## **ELABORAÇÃO DE SORVETE DE MORANGO COM CARACTERÍSTICAS PROBIÓTICAS E PREBIÓTICAS**

Joyce Salomão

Dezembro, 2011

Orientadores: Dra Selma Gomes Ferreira Leite

Dra. Elisabete Barbosa de Paula Barros

O interesse por produtos alimentícios saudáveis, nutritivos e de grande aproveitamento tem aumentado mundialmente, o que resulta em diversos estudos na área de produtos lácteos. Este trabalho teve como objetivo elaborar um sorvete de morango com características probióticas e prebióticas. Foram realizadas análises físico-químicas (valor de pH, teor de sólidos solúveis totais, teor de proteínas, teor de lipídeos, *overrun* e densidade aparente), análises microbiológicas (condições higiênico-sanitárias e viabilidade). Determinou-se a viabilidade das bactérias probióticas (*Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*) durante os 28 dias de armazenamento. Testes sensoriais de aceitação e intenção de compra foram realizados com provadores não treinados. Os resultados físico-químicos determinaram: pH 5,4, 30,7°Brix, 1,20% de proteína, 6,8% de lipídeo, 12,5% *overrun*, 900g/L a densidade aparente. O sorvete pode ser considerado um alimento probiótico durante pelo menos 28 dias de armazenagem porque apresentou  $1,6 \times 10^7$  UFC/g de produto, além de ser prebiótico. Na análise sensorial o produto teve boa aceitação. Os resultados obtidos demonstram o grande potencial para a produção de sorvetes probióticos.

Palavras-chaves: Sorvete de morango; Probióticos; Prebióticos.

Abstract of Final Course Project presented to the School of Chemistry as part of the requirements for the Degree of Chemistry Engineering

## **DEVELOPMENT OF STRAWBERRY ICE CREAM WITH FEATURES PROBIOTICS AND PREBIOTICS**

Joyce Salomão

Dezembro, 2011

Advisor: Dra Selma Gomes Ferreira Leite

Dra. Elisabete Barbosa de Paula Barros

The interest for healthy, nutritive and well enjoyed food has increased worldwide and results in several studies in the area of dairy products. This study aimed to elaborate a strawberry ice cream with features probiotics and prebiotics. Physical and chemical analysis were carried out (pH value, total soluble solids proportion, protein proportion, lipid proportion, *overrun* and density), microbiological analyses (hygienic and sanitary and viability). It was determined the viability of the probiotics bacteria (*Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*) during the 28 days of storage. Sensorial tests of acceptance and buying the product were taken with non-trained tasters. The results of physical and chemical determined: pH 5,4, 30,7°Brix, 1,20% protein, 6,8% lipid, 12,5% *overrun*, 900g/L density. The ice cream can be considered a probiotic food for 28 days of storage, because it has  $1,6 \times 10^7$  UFC/g of product, also prebiotic. In sensorial analysis the product was well accepted. The obtained results show the great potential for the production of probiotic ice cream.

Keywords: Strawberry ice cream; Probiotics; Prebiotics.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Gráfico do consumo <i>per capita</i> de sorvete no Brasil em litros por ano.....	3
<b>Figura 2:</b> Representação esquemática do sorvete.....	7
<b>Figura 3:</b> Imagem da estrutura de um sorvete pela técnica de microscopia de varredura.....	8
<b>Figura 4:</b> Morangueiro.....	9
<b>Figura 5:</b> Visualização microscópica de células de <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	14
<b>Figura 6:</b> Visualização microscópica de células de <i>Lactobacillus paracasei</i> .....	15
<b>Figura 7:</b> Visualização microscópica de células de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> .....	15
<b>Figura 8:</b> Visualização microscópica de células de <i>Bifidobacterium lactis</i> .....	16
<b>Figura 9:</b> Estrutura química da Inulina.....	26
<b>Figura 10:</b> Leite fermentado produzido após 8 horas de fermentação.....	34
<b>Figura 11:</b> Iogurteira comercial utilizada na elaboração do leite fermentado.....	33
<b>Figura 12:</b> Diagrama de blocos do processo de produção de leite fermentado.....	33
<b>Figura 13:</b> Diagrama de blocos do processo de produção de sorvete.....	35
<b>Figura 14:</b> Calda após a etapa de homogeneização.....	36
<b>Figura 15:</b> Sorvete após as etapas de congelamento e aeração na sorveteira.....	36
<b>Figura 16:</b> Sorvete após o envase para as análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais.....	37
<b>Figura 17:</b> Sorveteira comercial utilizada na elaboração do sorvete.....	36
<b>Figura 18:</b> Procedimento para plaqueamento das bactérias ácido lácticas.....	39
<b>Figura 19:</b> Ficha utilizada para avaliação da qualidade sensorial do sorvete de	

morango com características funcionais.....	40
<b>Figura 20:</b> Ilustração da ausência de crescimento na pesquisa de Coliformes Totais no sorvete de morango.....	44
<b>Figura 21:</b> Ilustração do plaqueamento do sorvete de morango para pesquisa de <i>Staphylococcus</i> .....	44
<b>Figura 22:</b> Ilustração do: (a) controle positivo e (b) plaqueamento do sorvete de morango para pesquisa de <i>Salmonella</i> .....	45
<b>Figura 23:</b> Viabilidade das bactérias ácido lácticas durante 28 dias de armazenamento sob refrigeração.....	46
<b>Figura 24:</b> Plaqueamento dos microrganismo probióticos no 28° dia de armazenamento do sorvete de morango.....	47
<b>Figura 25:</b> Gráfico aranha das médias dos atributos sensoriais do sorvete de morango.....	49
<b>Figura 26:</b> Resultado da intenção de compra com provadores não treinados.....	50



## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Principais microrganismos utilizados como probióticos.....	12
<b>Tabela 2:</b> Principais produtos probióticos comerciais.....	19
<b>Tabela 3:</b> Benefícios potenciais de alimentos funcionais preparados com bactérias probióticas para a saúde e a nutrição.....	22
<b>Tabela 4:</b> Ocorrência natural de frutooligossacarídeos (FOS) em alimentos.....	25
<b>Tabela 5:</b> Especificações da composição da fibra solúvel Orafti®GR .....	27
<b>Tabela 6:</b> Formulação do sorvete de morango.....	34
<b>Tabela 7:</b> Plaqueamento do leite fermentado e do sorvete no tempo zero.....	41
<b>Tabela 8:</b> Caracterização físico-química do sorvete de morango no tempo zero.....	42
<b>Tabela 9:</b> Resultados das análises microbiológicas encontrados no sorvete de morango.....	44
<b>Tabela 10:</b> Quantificação celular total no sorvete de morango ao longo da vida de prateleira.....	46
<b>Tabela 11:</b> Médias e desvios-padrão dos atributos sensoriais de sorvete de morango.....	48

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

**ABIA** - Associação Brasileira da Indústria da Alimentação

**ABIS** - Associação Brasileira de Indústrias de Sorvetes

**ADQ** - análise descritiva quantitativa

**ANVISA** – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**DP** - grau de polimerização

**FOS** - frutooligossacarídeos

**FOSHU** - *Foods for Specified Health Use*

**GRÃS** - Generally Recognized as Safe

**IgA** – Imunoglobulina A

**Log** - Logaritmo

**MAPA** – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**NMP** - Número Mais Provável

**pH** – Potencial Hidrogeniônico

**RDC** – Resolução

**SNGL** - sólidos não gordurosos do leite

**SSA** - *Salmonella Shigella Agar*

**UFC** – Unidade Formadora de Colônia

# SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS .....	2
2.1. Objetivo Geral.....	2
2.2. Objetivos Específicos.....	2
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
3.1. Sorvete .....	3
3.1.1. Importância econômica .....	3
3.1.2. Legislação.....	3
3.1.3. Ingredientes .....	4
3.1.3.1. Produtos lácteos .....	4
3.1.3.1.1. Gordura Láctea.....	4
3.1.3.1.2. Sólidos não gordurosos do leite .....	5
3.1.3.2. Produtos não lácteos.....	5
3.1.3.2.1. Açúcares .....	5
3.1.3.2.2. Estabilizantes .....	5
3.1.3.2.3. Emulsificantes.....	5
3.1.3.2.4. Aromatizantes.....	6
3.1.4. Processamento de sorvetes.....	6
3.1.5. Defeitos .....	8
3.2. Morango .....	9
3.3. Polpa de fruta .....	10
3.4. Alimentos Funcionais.....	10
3.4.1. Probióticos.....	11
3.4.1.1. Gênero <i>Lactobacillus</i> .....	13
3.4.1.2. Gênero <i>Bifidobacterium</i> .....	16

3.4.1.3. Características Tecnológicas e Sensoriais.....	17
3.4.1.4. Efeitos Fisiológicos dos Microrganismo Probióticos – Mecanismos de Ação .....	20
3.4.2. Prebióticos .....	23
3.4.2.1. Inulina .....	24
3.4.3. Simbióticos .....	28
3.5. Análise sensorial .....	29
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>32</b>
4.1. Matérias-primas .....	32
4.2. Elaboração do leite fermentado.....	32
4.3. Formulação do sorvete .....	34
4.4. Elaboração do sorvete .....	35
4.5. Análises Físico-Químicas.....	37
4.6. Análises Microbiológicas .....	38
4.6.1. Condições higiênico-sanitárias.....	38
4.6.2. Viabilidade dos microrganismos probióticos .....	38
4.7. Análise sensorial .....	39
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>41</b>
5.1. Formulação do sorvete.....	41
5.2. Análises Físico-Químicas.....	41
5.3. Análises microbiológicas.....	43
5.3.1. Condições higiênico-sanitárias.....	43
5.3.2. Viabilidade dos microrganismos .....	45
5.4. Análise sensorial .....	48
5.4.1. Avaliação da qualidade.....	48
5.4.2. Avaliação da intenção de compra.....	50
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>51</b>

<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>52</b>
<b>8. ANEXOS .....</b>	<b>64</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Alimentação e nutrição são fatores importantes na promoção e na manutenção da saúde. A composição e a qualidade da alimentação, além da quantidade de alimentos ingeridos, influenciam a composição corporal (TRICHES e GIUGLIANI, 2005). Assim, a limitação do consumo de alimentos com elevada densidade energética (alta concentração de gordura, sacarose e amido) contribui para a redução da ingestão total de energia (WHO, 2003).

O crescimento da incidência de doenças crônicas não-transmissíveis no mundo é causado, em grande parte, por fatores modificáveis, como os hábitos alimentares. A alimentação tem papel importante como fator de risco de doenças crônicas não-transmissíveis em decorrência da relação entre o risco de diabetes, doença cardiovascular e hipertensão com o aumento do peso corporal (WHO, 2003).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), alimentos funcionais são aqueles que, além das funções nutritivas básicas, quando consumidos como parte da dieta usual, produzem efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguros para consumo sem supervisão médica (BRASIL, 1999).

Pesquisas mostram que os consumidores estão cada vez mais preocupados em obter informações sobre alimentos funcionais e estão tentando mudar seus hábitos alimentares, com vistas a melhorar a saúde. O mercado para produtos com apelo saudável ou com diferenciado conteúdo de nutrientes (baixa caloria, enriquecidos com fibras, etc.) continua a crescer. Os oligossacarídeos, por exemplo, permitem ao fabricante a oportunidade de satisfazer essas duas demandas ao mesmo tempo, pois além de suas propriedades funcionais e nutricionais, oferecem também benefícios tecnológicos como substituto do açúcar (USHIJIMA, 2001).

Os principais grupos biologicamente ativos, atualmente conhecidos como ingredientes funcionais, são as fibras solúveis e insolúveis, os flavonóides, os carotenóides, os fitoesteróis, os fitoestanois, os ácidos graxos (ômega 3 e ômega 6), os prebióticos e os probióticos (BELLO, 1995; TORRES, 2001).

Durante o desenvolvimento de um novo produto, a aceitação do consumidor é um fator que deve ser levado em consideração. O sorvete é um produto de fácil aceitação pelos consumidores, principalmente em cidades litorâneas como o Rio de Janeiro. Sendo assim, o desenvolvimento e a viabilidade do sorvete de morango com propriedades funcionais, a partir de prebióticos (inulina) e probióticos, torna-se uma alternativa viável para indústria.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

Desenvolver um sorvete de morango com propriedades simbióticas.

### **2.2. Objetivos Específicos**

- Determinar os parâmetros físico-químicos: pH, lipídeos, sólidos solúveis totais, proteínas e densidade aparente;
- Avaliar o produto do ponto de vista microbiológico para verificação das condições higiênico-sanitárias de acordo com o estabelecido pela legislação;
- Verificar a viabilidade dos microrganismo probióticos no sorvete de morango durante 28 dias de estocagem;
- Realizar análise sensorial do produto através do método afetivo pelos testes de aceitação e de intenção de compra.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Sorvete

##### 3.1.1. Importância econômica

O sorvete é um produto que agrada aos mais variados paladares, em todas as faixas etárias e em qualquer classe social. Por causa de suas propriedades nutricionais, o sorvete é uma excelente fonte de energia, e por isso um alimento especialmente indicado para crianças em fase de crescimento e para pessoas que precisam recuperar peso. Pelo mesmo motivo, deve ter sua ingestão controlada ou evitada na dieta de pessoas que necessitam reduzir ou que não querem ganhar peso (NUTRINEWS, 2000).

A média de consumo no Brasil no ano de 2010 foi de 5,77 litros per capita (Figura 1), sendo esta média relativamente baixa quando comparada à dos países europeus, onde são consumidos 20 litros per capita (ABIS, 2011).

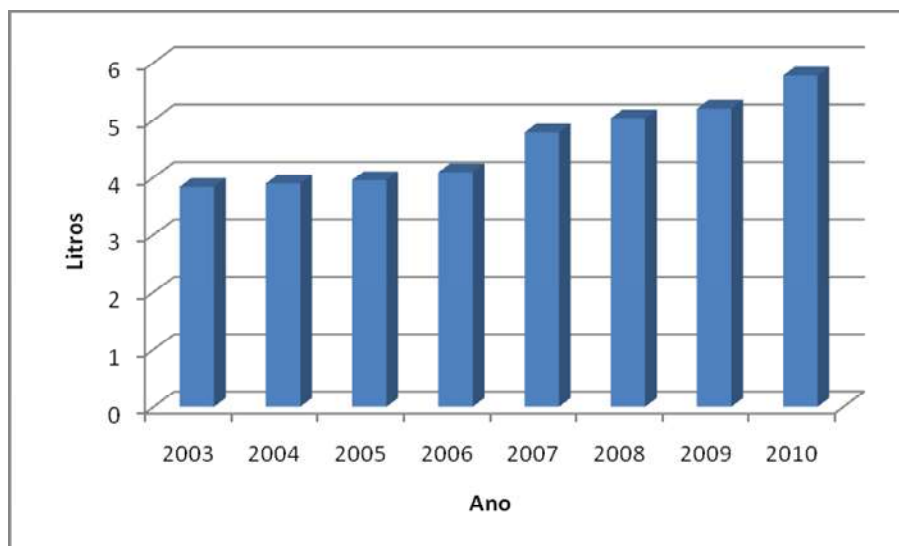


Figura 1: Gráfico do consumo *per capita* de sorvete no Brasil em litros por ano.

Fonte: ABIS 2011.

##### 3.1.2. Legislação

O sorvete é classificado como gelado comestível, um “produto congelado obtido a partir de uma emulsão de gorduras e proteínas; ou de uma mistura de água e açúcar(es).



Aos gelados comestíveis podem ser adicionados outro(s) ingrediente(s), desde que não descaracterize(m) o produto.” (BRASIL, 2005). Anteriormente, a legislação brasileira classificava gelado comestível, como “um produto elaborado com leite ou derivados lácteos, podendo ser adicionados de frutas, essências e outros ingredientes. Esta definição da portaria nº 379 de 26 de abril de 1999, que regulamentava aspectos referentes aos gelados comestíveis, foi revogada pela Resolução RDC nº 266 de 22 de setembro de 2005, em função das inovações nas formulações de sorvete. Esta resolução estabelece como requisito específico que a densidade aparente mínima seja de 475g/L.

### **3.1.3. Ingredientes**

Os ingredientes podem ser divididos em produtos lácteos e não lácteos. Os produtos lácteos fornecem gordura e sólidos não gordurosos do leite (SNGL). Entre os produtos não lácteos temos os adoçantes, os estabilizantes, os emulsificantes, os ovos, as frutas, as nozes, as essências, os produtos especiais e a água. A quantidade de sólidos na mistura, as gorduras, as proteínas, os carboidratos e os conteúdos minerais, em base seca, formam os sólidos totais do sorvete. O aumento destes sólidos totais, dentro dos limites, gera um aumento do valor nutritivo, da viscosidade e da resistência associado ao corpo e à textura do sorvete. Os ingredientes básicos dos sorvetes são: gordura láctea, SNGL, açúcar, estabilizantes, emulsificantes, essências e água (MARSHALL e ARBUCKLE, 1996).

#### **3.1.3.1. Produtos lácteos**

##### **3.1.3.1.1. Gordura Láctea**

A gordura do leite é o principal ingrediente do sorvete. Esta confere cremosidade e proporciona textura suave, dando corpo ao sorvete, mediante as estruturas de grânulos de gordura (AKOH, 1998; WALSTRA e JONKMAN, 1998). A melhor fonte de gordura láctea é o creme de leite fresco, porém existem outras fontes, como creme de leite congelado, manteiga, gordura láctea anidra, gordura láctea fracionada e misturas de leite concentrado (MARSHALL e ARBUCKLE, 1996).

### **3.1.3.1.2. Sólidos não gordurosos do leite**

Os SNGL são todos os sólidos do leite, com exclusão da gordura, sendo também chamados de extrato seco desengordurado. Os SGNL são provenientes do leite desnatado e consistem de 55% de lactose, 37% de proteína, 8% minerais. Eles contribuem para melhorar o corpo e a textura do sorvete, além de lhe dar maior palatabilidade, uma vez que, a intensidade e o tempo de permanência do sabor na boca estão relacionados com o conteúdo de sólidos na mistura. Os SNGL também são importantes para diminuir o ponto de congelamento e aumentar a viscosidade do líquido restante, além de a proteína cobrir a superfície dos glóbulos e as bolhas de ar, estabilizando a espuma (PEREDA, 2005).

### **3.1.3.2. Produtos não lácteos**

#### **3.1.3.2.1. Açúcares**

Os açúcares conferem corpo e textura ao sorvete, aumentando sua viscosidade e representando 25% da quantidade de sólidos totais. A principal finalidade do açúcar é conferir sabor doce ao produto final, aumentando a aceitabilidade por parte dos consumidores. O açúcar também diminui o ponto de congelamento da mistura, pois com a sua adição a pressão de vapor reduz, a temperatura de ebulição aumenta e a temperatura de congelamento diminui (PEREDA, 2005).

#### **3.1.3.2.2. Estabilizantes**

Os estabilizantes são compostos geralmente de polissacarídeos, como goma guar, xantana, carragenas, gelatina, alginato de sódio, carboximetil celulose, entre outros. Nos sorvetes, eles são utilizados em quantidades que variam de 0,1% a 0,5% (GOFF, 1997). Os estabilizantes servem como elo de todos os elementos devido ao aumento de volume que experimentam após sua hidratação. Quando usados em proporção exagerada, causam sabor amargo. São formados pela integração de agentes emulsificantes e espessantes. De uma maneira geral, os estabilizantes evitam a formação de cristais de gelo em maiores proporções, o que poderia contribuir para uma textura grossa do sorvete (PEREDA, 2005).

#### **3.1.3.2.3. Emulsificantes**

Os emulsificantes auxiliam substâncias incompatíveis, como água e manteiga, a se combinarem de forma a produzir um produto de estrutura uniforme e macia, reduzindo o tempo de batimento (STOGO, 1998). O uso de emulsificantes resulta em células de ar menores e com distribuição mais regulares na estrutura interna do sorvete (GOFF e JORDAN, 1989). Entretanto, o uso excessivo de emulsificante pode levar ao derretimento muito lento e a alterações nas características desejáveis de corpo e textura (MARSHALL e ARBUCKLE, 1996).

#### **3.1.3.2.4. Aromatizantes**

Aromas, corantes e acidulantes são adicionados para realçar o sabor e a cor, dando ao produto o aspecto desejado. Os acidulantes ainda contribuem para a sensação de frescor na boca ao diminuir o pH. Eles podem ser naturais ou artificiais. (PEREDA, 2005).

#### **3.1.4. Processamento de sorvetes**

A matéria-prima utilizada na fabricação do sorvete deve ter boa procedência e ser conservada de maneira adequada, com a finalidade de garantir a qualidade do produto final (VICENTE; CENZANO; VICENTE, 1996). As etapas que compõem a elaboração de sorvetes variam de acordo com a técnica escolhida, sendo, em geral, agrupadas em três etapas fundamentais: (1) mistura dos ingredientes e seu aquecimento, seguida de pasteurização; (2) congelamento após a homogeneização com o propósito de incorporar ar à mistura; (3) endurecimento, estágio onde a água não congelada do sorvete se deposita sobre os cristais de gelo, assim aumentando seu tamanho (NARAIN et al., 2006).

Na etapa 1, os ingredientes líquidos são colocados no equipamento de pasteurização para agitação e aquecimento, com o propósito de liquefazer a gordura, dissolver a sacarose e o estabilizante. Os ingredientes secos são misturados entre si previamente, para evitar a formação de grumos e adicionados em seguida à mistura no pasteurizador, antes que a temperatura atinja 50 °C. A homogeneização deve ser iniciada imediatamente após a mistura atingir a temperatura de pasteurização (ARMONDES, 1998).

A etapa 2 é considerada o estágio mais importante no processo de fabricação do sorvete, compreendendo o congelamento rápido com agitação da mistura para incorporação de ar (*overrun*) e formação de pequenos cristais de gelo, além do endurecimento do produto sem agitação para remover o calor de forma rápida (VICENTE, CENZANO e VICENTE, 1996; SOLER e VEIGA, 2001). Na etapa de congelamento, é fundamental que o

processo seja rápido, garantindo a formação de pequenos cristais de gelo, que conferem o aspecto cremoso característico do sorvete (NARAIN et al., 2006).

Na etapa 3, o sorvete é endurecido através da redução da temperatura a  $-20^{\circ}\text{C}$ , em túneis de endurecimento, com ar forçado a  $-40^{\circ}\text{C}$ .

Por fim obtemos o sorvete que é um sistema coloidal complexo composto por uma emulsão constituída de gotículas de gordura, de proteínas, de bolhas de ar e de cristais de gelo dispersos em uma fase aquosa, representada por uma solução concentrada de sacarose. Além disso, pode conter outros ingredientes, tais como emulsificantes e estabilizantes (GOFF, VERESPEJ e SMITH, 1999; CLARKE, 2005; GILLIES, GREENLEY e SUTCLIFFE, 2006).

A Figura 2 mostra uma representação esquemática do sorvete, e a Figura 3 mostra uma fotografia da estrutura do sorvete pela técnica de microscopia de varredura, onde podemos observar dispersos no açúcar, as várias fases do sorvete: bolhas de ar, cristais de gelo e gordura.

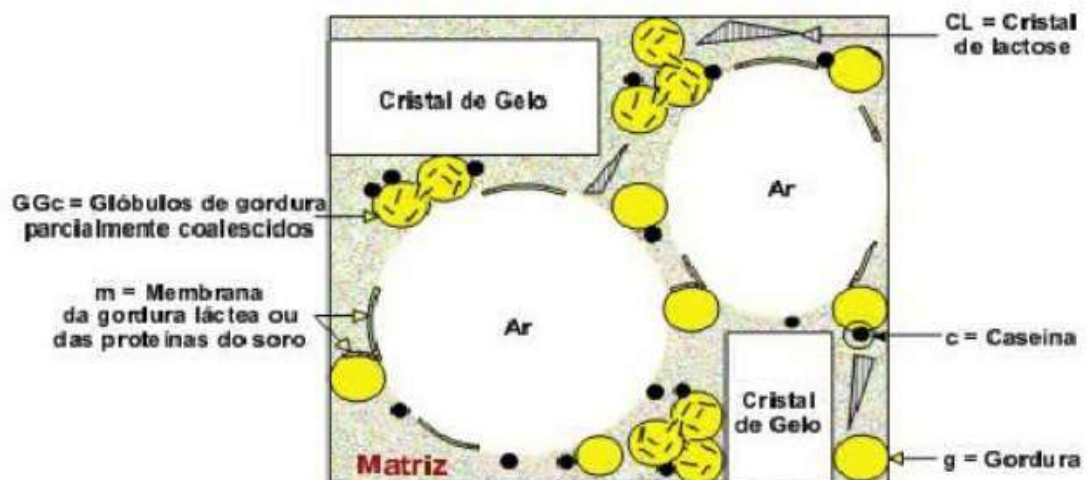


Figura 2: Representação esquemática do sorvete.

Fonte: BELCCHIOR, 2009.

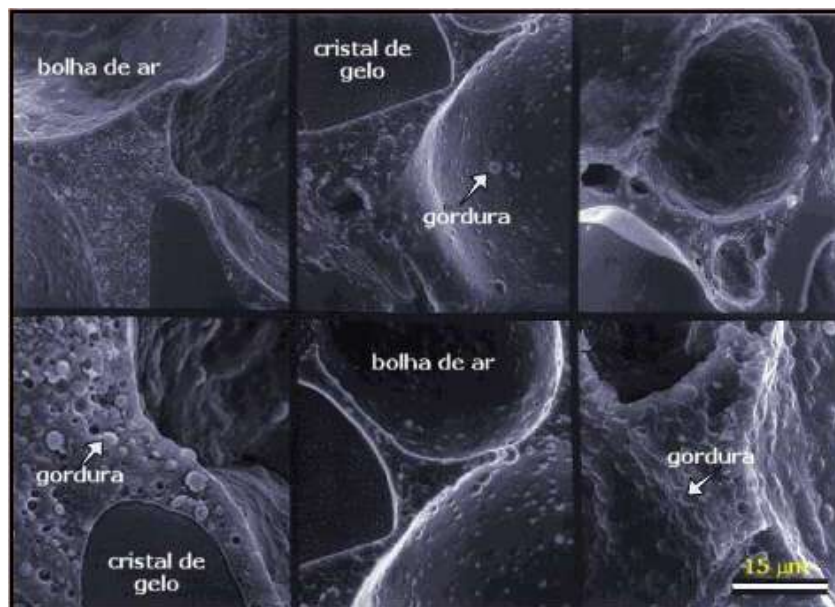


Figura 3: Imagem da estrutura de um sorvete pela técnica de microscopia de varredura.  
Fonte: BELCHIOR, 2009.

### 3.1.5. Defeitos

Os defeitos mais frequentes nos sorvetes são aqueles que afetam o sabor, a textura e a consistência. Na maioria das vezes, os defeitos de sabor são provenientes da utilização de ingredientes de baixa qualidade e/ou devido ao mau uso dos ingredientes. Um exemplo de ingrediente de baixa qualidade é a gordura, que pode gerar sabor oxidado ao sorvete. O sabor cozido é proveniente do superaquecimento do leite, e o sabor ácido é típico de produtos fermentados. O excesso ou a falta de açúcar, e o excesso de estabilizantes e emulsificantes influenciam a qualidade gustativa do sorvete (BELCHIOR, 2009).

A textura depende do número e do tamanho das partículas, da sua organização e distribuição na boca. Cristais de 40 a 50 µm em número suficiente geram textura granulosa e áspera ao produto. O defeito mais freqüente é a textura grossa e arenosa, provocada pela utilização de uma calda (denominação do sorvete antes da etapa de congelamento) mal equilibrada, pela produção inadequada e/ou pela má conservação. A textura grosseira e quebradiça é proveniente do baixo teor de SNGL, da insuficiência de estabilizante, da homogeneização a baixa pressão e/ou do congelamento muito lento. A textura arenosa é atribuída à formação de grandes cristais de lactose (BELCHIOR, 2009).

Outro defeito é o rápido derretimento encontrado em sorvetes com alto teor de sólidos totais e de gordura (BELCHIOR, 2009). Este defeito também pode ser relacionado ao uso excessivo de estabilizantes e emulsificantes, alto *overrun* ou a processos severos e com interações entre componentes que geram um gel muito estável (BELCHIOR, 2009).

### 3.2. Morango

O morangueiro (Figura 4) pertence à Família Rosaceae, ao gênero *Fragaria*, com cerca de 18 espécies e quatro híbridos. O híbrido *Fragaria x Ananassa Duch. Ex Rozier*, resultante da hibridação natural entre as espécies *F. chiloensis* e *F. virginiana*, é o mais cultivado nos últimos anos (SILVA et al., 2007).

O morangueiro é originário da América do Norte e do Chile, sendo os EUA o maior produtor mundial, seguido por Espanha, Rússia, Coreia do Sul, Japão, Polônia, Itália, Turquia e México (DUARTE FILHO et al., 2007; AGRIANUAL, 2008).

A produção de morangos no Brasil tem crescido nos últimos anos; estimando-se uma produção anual de 100 mil toneladas, com área ocupada de 3.500ha. Sua produção está concentrada nas regiões sul e sudeste, sendo os estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul os maiores produtores. Por ser uma cultura que abrange um grande contingente de mão-de-obra, o morango apresenta uma importância social e econômica muito grande, sendo geradora de emprego e renda para as comunidades envolvidas (ANTUNES et al., 2007; AGROSOFT, 2010).



Figura 4: Morangueiro.

Fonte: EMBRAPA, 2005.

O morango é um pseudofruto altamente perecível, com alta taxa respiratória e curta vida de prateleira. Em altas temperaturas, a respiração aumenta significativamente, levando

a um consumo das substâncias de reserva e, conseqüentemente, a senescência da fruta é acelerada. (NUNES et al., 1995). Portanto, a manutenção dos frutos em temperaturas baixas e a manipulação cuidadosa têm efeito benéfico na vida de prateleira e no controle da ocorrência de injúrias durante o manuseio e transporte dos frutos (EMBRAPA, 2005).

O congelamento do morango para uso posterior é um dos métodos de conservação mais utilizado, uma vez que o congelamento bem conduzido preserva a cor e o sabor, afetando unicamente a textura. Entretanto, para algumas finalidades, ainda se pratica a conservação por aditivos químicos e, também a pasteurização em recipientes herméticos. (Embrapa, 2005).

### **3.3. Polpa de fruta**

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas in natura (BRASIL ALIMENTOS, 2009), porém, por serem perecíveis, grande parte dessas frutas sofre deterioração em poucos dias, tendo sua comercialização dificultada, especialmente a longas distâncias. A produção de polpas de frutas congeladas tem se destacado como uma importante alternativa para o aproveitamento dos frutos durante a safra, permitindo a estocagem das polpas fora da época de produção dos frutos *in natura* (BRUNINI et al, 2002).

Segundo a Instrução Normativa nº1, de 7 de Janeiro de 2000, do MAPA, a polpa de fruta é definida como o produto não fermentado, não concentrado, não diluído, obtido de frutos polposos, através de processo tecnológico adequado, com um teor mínimo de sólidos totais, proveniente da parte comestível do fruto (BRASIL, 2000a).

A polpa de fruta será obtida de frutas frescas, sãs e maduras com características físicas, químicas e organolépticas do fruto. A polpa de fruta não deverá conter terra, sujidade, parasitas, fragmentos de insetos e pedaços das partes não comestíveis da fruta e da planta (BRASIL, 2000a).

Atualmente, o mercado de polpas tem apresentado expressivo crescimento, com grande potencial mercadológico, especialmente pela variedade de frutas e sabores agradáveis. As polpas das mais diversas frutas têm sido utilizadas como ingrediente para elaboração de sucos, sorvetes e doces (SANTOS et al, 2008).

### **3.4. Alimentos Funcionais**

O desenvolvimento de novos produtos alimentícios torna-se, cada vez mais desafiador, pois deve suprir a expectativa do consumidor para alimentos que sejam,

simultaneamente, saborosos e saudáveis. Esta geração de consumidores conscientes tem mudado seus hábitos alimentares devido aos benefícios comprovados de uma alimentação balanceada, dentre eles a redução do risco de desenvolvimento de doenças como obesidade e doenças cardiovasculares (CRUZ, 2009).

Os alimentos funcionais também podem ser chamados de nutracêuticos, possuindo um efeito promotor da saúde através de mecanismos não previstos na nutrição convencional. Entretanto, cabe ressaltar que esse efeito restringe-se à promoção da saúde reduzindo o risco de doenças e não a cura. Dessa forma, os alimentos funcionais devem ser administrados como forma de prevenção (CRUZ et al., 2007; KOMATSU et al, 2008; SHAHIDI, 2009).

O termo “alimentos funcionais” surgiu no Japão quando o governo japonês passou a investir no desenvolvimento de alimentos com o objetivo de reduzir os gastos com a saúde pública, dada a elevada expectativa de vida naquele país. Na década de 1980, o Japão era o único país que tinha formulado uma regulação específica para os alimentos funcionais, que eram chamados de Alimentos para Uso Específico de Saúde (FOSHU). (BADARÓ, 2009).

#### **3.4.1. Probióticos**

O termo “probiótico”, de origem grega, significa “para a vida”. A definição mais utilizada, atribuída por FULLER (1989), é “suplemento alimentar microbiano vivo, que afeta de forma benéfica seu receptor, através da melhoria do balanço microbiano intestinal. Entretanto, estes microrganismos probióticos devem ser ingeridos em quantidade recomendada, promovendo benefícios à saúde (FAO/WHO, 2001).

O probiótico deve ser capaz de gerar produto final de sabor e textura aceitáveis, com população mínima de  $10^6$  UFC/g (GOMES e MALCATA, 1999a; SHAH, 2001; SHEEHAN et al., 2007), assegurando a manutenção de número elevado de células viáveis durante o armazenamento do alimento e sua passagem pelo processo gastrointestinal.

É importante definir o período de tempo no qual os microrganismo probióticos permanecem viáveis em quantidade necessária para exercer função benéfica ao organismo ( $10^6$ UFC/g). Esta viabilidade no produto irá depender de fatores como, o processo ao qual o microorganismo foi submetido, a manipulação do alimento e o seu armazenamento. A possibilidade de se aplicar microrganismos probióticos, diretamente no produto, sem uma etapa prévia de fermentação, como a exigida por alguns alimentos, contribui para uma maior eficiência de processo, ao diminuir o tempo de produção dos alimentos e também de



minimizar o requerimento de equipamentos especiais em algumas plantas de processamento, além de se minimizar a interferência no sabor do produto desenvolvido (CORRALES et al. 2007) .

Bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e, em menor escala, *Enterococcus faecium*, são mais freqüentemente empregadas como suplementos probióticos para alimentos, uma vez que elas têm sido isoladas de todas as porções do trato gastrointestinal do humano saudável. O íleo terminal e o cólon parecem ser, respectivamente, o local de preferência para colonização intestinal dos lactobacilos e bifidobactérias (CHARTERIS et al., 1998; BIELECKA et al., 2002). Na Tabela 1, estão listados alguns microrganismo utilizados como probióticos.

Tabela 1: Principais microrganismo utilizados como probióticos.

<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Bifidobacterium spp.</i>	Outros
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium animalis</i> (incluindo a subespécie <i>B. lactis</i> )	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Lactobacillus casei shirota</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	
<i>Lactobacillus casei variedade rhamnosus</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>	
<i>Lactobacillus casei variedade defensis</i>		
<i>Lactobacillus paracasei</i>		
<i>Lactococcus lactis</i>		

Fonte: BRASIL, 2008

A maior parte das espécies probióticas é representada por bactérias ácido lácticas. As bactérias ácido lácticas são compostas por gêneros microbianos que apresentam alguns fenótipos comuns: Gram-positivos, quase sempre catalase negativas, não formam esporos e acumulam ácido láctico no meio como produto do metabolismo primário. Todos os componentes do grupo láctico são fastidiosos e estão presentes em ambientes

nutricionalmente ricos, como vegetais, leite, carne e trato intestinal. São anaeróbios, anaeróbios facultativos ou microaerofílicos (FERREIRA, 2003).

Alguns aspectos funcionais que devem ser levados em consideração: ausência de toxicidade ou patogenicidade, habilidade de sobreviver à acidez gástrica e aos sais biliares, habilidade de colonizar a mucosa intestinal e capacidade de exercer um efeito de melhoria da saúde do hospedeiro (PIMENTEL, 2011).

As bactérias probióticas podem ser homofermentativas ou heterofermentativas. As bifidobactérias são heterofermentativas, pois, além de produzirem ácido láctico, também produzem ácido acético, responsável pelo sabor desagradável de vinagre (BALLUS, 2010).

#### **3.4.1.1. Gênero *Lactobacillus***

Os *Lactobacillus* são geralmente caracterizados como Gram-positivos, incapazes de formar esporos, desprovidos de flagelos, possuindo forma bacilar ou cocobacilar e aerotolerantes ou anaeróbios. Como microorganismo heterofermentativo, produz quase que exclusivamente ácido láctico a partir da degradação de glicose, embora possam produzir algum acetaldeído (GOMES e MALCATA, 1999b).

Atualmente, 56 espécies do gênero *Lactobacillus* foram reconhecidas, das quais 18 estão na microbiota intestinal de humanos e são consideradas de interesse como probióticos. Dentre as bactérias lácticas deste gênero, destacam-se *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. casei* - *subsp. paracasei* e *subsp. tolerans*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. johnsonii*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* e *L. salivarius*. (BADARÓ et al., 2009)

O *Lactobacillus acidophilus* (Figura 5) é o probiótico mais utilizado. Essas bactérias normalmente habitam os intestinos e a vagina, proporcionando proteção contra a entrada e proliferação de microrganismos patogênicos. Isto se deve à produção de ácido láctico e peróxido de hidrogênio, entre outros compostos, que inibem o crescimento destas (HEALTH AND AGE, 2011). Os *Lb. acidophilus* são fracos formadores de ácidos e, por esta razão, são especialmente utilizados em iogurtes suaves. Crescem em temperatura entre 20 a 48°C, sendo a temperatura ótima de crescimento 37°C (FRANCO, LANDGRAF e DESTRO, 1996). Os lactobacilos contribuem com sabor e aroma em alimentos fermentados, produzindo vários compostos voláteis, como o diacetil e seus derivados (SILVA e STAMFORD, 2000).



Figura 5: Visualização microscópica de células de *Lactobacillus acidophilus*.

Fonte: <http://cahoney-l-acidophilus.pbworks.com/w/page/6327462/Pictures>

O grupo *Lactobacillus casei* compreende bactérias lácticas fenotipicamente e geneticamente heterogêneas, capazes de manter o equilíbrio de vários ambientes. Destacam-se nesse grupo os lactobacilos típicos do hospedeiro humano, os quais incluem as espécies *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* e *Lactobacillus rhamnosus* e *Lactobacillus zeae* (FELIS et al. 2001; HOLZAPFEL e SCHILLINGER, 2002). As cepas de *Lactobacillus casei/paracasei* têm sido amplamente estudadas com relação a suas propriedades promotoras à saúde, sendo freqüentemente empregadas como probióticos em alimentos industrializados (STILES e HOLZAPFEL, 1997; FELIS et al., 2001; ITSARANUWAT et al., 2003; MÉDICI et al., 2004; VÁSQUEZ et al., 2005).

O *Lactobacillus paracasei* (Figura 6) é uma bactéria mesófila Gram-positiva, em forma de bastão, não produz esporos, não possui capacidade de motilidade, anaeróbica e não possui citocromos. Pode ser encontrada em vários ambientes, como produtos lácteos crus ou fermentados, tratos intestinais e sistemas reprodutivos de animais. O seu pH ótimo de crescimento é 5,5, e o ácido láctico que este produz através da fermentação é extremamente importante, pois permite produzir queijo e iogurte, reduzir os níveis de colesterol, aumentar a resposta imune, controlar a diarreia, aliviar a intolerância à lactose, inibir patógenos intestinais e o seu uso como probiótico.



Figura 6: Visualização microscópica de células de *Lactobacillus paracasei*.

Fonte: [http://www.buyprobiotics.com/Probiotic\\_Gallery.html](http://www.buyprobiotics.com/Probiotic_Gallery.html)

O *Lactobacillus rhamnosus* (Figura 7) faz parte da microbiota intestinal saudável do homem (GORBACH, 2002), e seus benefícios em relação à prevenção de distúrbios intestinais têm sido amplamente estudados. Quando comparado com outros microrganismos probióticos, mostrou maior tolerância às condições do trato gastrointestinal e melhor sobrevivência, quando adicionado a alimentos funcionais (LANDERSJÖ et al., 2002).

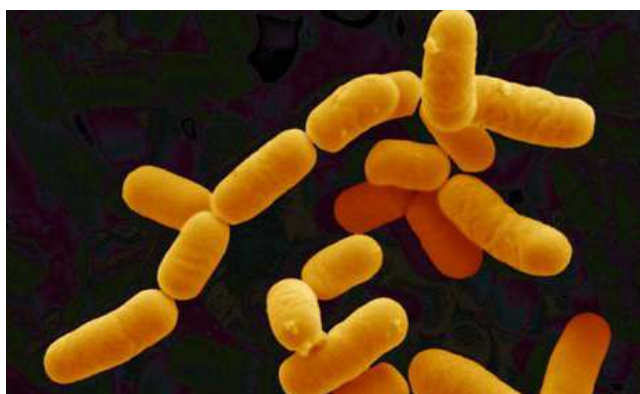


Figura 7: Visualização microscópica de células de *Lactobacillus rhamnosus*.

Fonte: <http://www.guardian.co.uk/lifeandstyle/2009/oct/06/probiotic-eu-ruling>

### 3.4.1.2. Gênero *Bifidobacterium*

As bifidobactérias são habitantes naturais do intestino humano e animal. Sua população é influenciada por fatores como idade, dieta, antibióticos, estresse, dentre outros. As bifidobactérias são bastonetes, Gram-positivas, anaeróbias, possuem formato de Y e requerem nutrientes especiais, o que dificulta seu isolamento e crescimento em laboratório. Todas as espécies de *bifidum* fermentam a lactose e crescem bem em leite. Sua temperatura de crescimento situa-se entre 20°C a 46°C e morrem a 60°C. O pH ótimo é de 6,5 - 7,0 e não há crescimento em pH < 5,1 ou pH > 8,0 (ARUNACHALAM, 1999).

As bifidobactérias são consideradas benéficas devido à produção de ácido láctico, acético e de pequena quantidade de ácido fórmico, causando redução do pH do cólon e inibindo o crescimento de patógenos no intestino humano (SILVA,2007).

Dentre as bactérias pertencentes ao gênero *Bifidobacterium* destacam-se *Bifidobacterium lactis* (Figura 8), *B. infantis*, *B. animalis*, *B. adolescentis*, *B. breve* e *B. thermophilum*, *B. longum*, *B.bifidum* (SAAD, 2006).

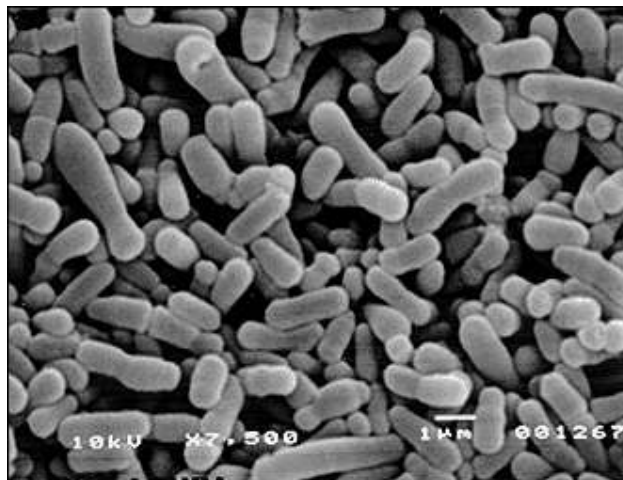


Figura 8: Visualização microscópica de células de *Bifidobacterium lactis*.

Fonte: <http://probioticsreviewed.com/probiotic-strains/bifidobacterium-lactis/>

### 3.4.1.3. Características Tecnológicas e Sensoriais

Os microrganismos devem cumprir alguns critérios necessários para serem probióticos. As principais características tecnológicas para as bactérias serem classificadas como probióticas são: propriedades sensoriais agradáveis, resistência aos bacteriófagos, viabilidade durante o processamento e estabilidade no produto e durante a estocagem (BALLUS et al., 2010).

Sobretudo, com relação ao processamento de alimentos, deseja-se que as cepas sejam adequadas para a produção industrial em larga escala, resistindo a condições de processamento como a liofilização ou secagem por *spray drying* (STANTON et al., 2003). A fermentação deve ocorrer entre 37 e 40°C, pois é a faixa de temperatura na qual os probióticos melhor se multiplicam (BADARÓ et al., 2009).

Dentre os alimentos que empregam probióticos, os produtos lácteos - leites fermentados, sorvetes e queijos - representam a maior parte. Segundo BALLUS et al. (2010), os produtos lácteos dominam o segmento de probióticos, pois o consumidor já possui o hábito de consumir estes produtos com microrganismo viáveis benéficos à saúde. Outra justificativa é que as tecnologias empregadas podem ser facilmente adaptadas, garantindo a sobrevivência dos probióticos.

A fermentação contribui para as propriedades probióticas, além de melhorar a viabilidade e a produtividade dos microrganismos. As transformações do processo de fermentação geram produtos como o ácido láctico, o ácido acético, reduzindo o pH do alimento e melhorando a qualidade sensorial do produto (BADARÓ et al., 2009).

Durante o desenvolvimento de um produto com alegação probiótica, é necessário atenção quanto à viabilidade das bactérias no alimento. Dessa forma torna-se um desafio para a indústria de alimentos manter o microrganismo viável após o processamento do alimento. Os fatores mais importantes que podem causar a perda da viabilidade dos probióticos são a redução do pH do meio e o acúmulo de ácidos orgânicos devido à fermentação e ao crescimento. A interação entre as espécies, a concentração de açúcares (pressão osmótica) e o teor de oxigênio dissolvido também podem interferir na viabilidade das bactérias probióticas (BALLUS et al., 2010).

Uma alternativa para o setor de embalagens plásticas permeáveis ao oxigênio é a adição de ácido ascórbico, pois este remove o oxigênio do meio. Segundo SHAH (2000), a cisteína também pode ser adicionada, pois será fonte de nitrogênio, agindo como fator de crescimento, além de reduzir o potencial redox do meio. Segundo DAVE e SHAH (1998), o soro de queijo em pó e o concentrado de proteínas do soro podem servir como fontes de

peptídeos e aminoácidos, liberados durante o tratamento térmico do leite no processamento do iogurte.

Técnicas de microencapsulação e imobilização em substratos são temas de pesquisas visando a proteção e viabilidade das culturas probióticas durante a produção, estocagem e passagem do alimento probiótico pelo trato gastrointestinal. Resultados mostram que as culturas podem ser significativamente protegidas (ROSS, DESMOND e STANTON, 2005). Durante o armazenamento de sobremesas geladas probióticas, como o *frozen yogurt* e o sorvete, o congelamento e o descongelamento serão responsáveis por injúrias às células, ocasionando morte celular, inibição do desenvolvimento e prejudicando a atividade metabólica (ALAMPRESE et al., 2002). Segundo DAVIDSON et al. (2000), a baixa viabilidade de microrganismos probióticos ocorre pela acidez excessiva do produto ( $\text{pH} \leq 4,5$ ), por injúria devido ao frio e pela toxicidade do oxigênio, já esperada devido à incorporação de ar ao sorvete durante sua produção, para a obtenção de um *overrun* adequado.

Muitas pesquisas envolvendo probióticos estão voltadas para produtos como leites fermentados e iogurtes, sendo estes os principais produtos comercializados no mundo contendo culturas probióticas. A Europa é, atualmente, o maior mercado de probióticos, devido ao seu alto nível de conhecimento dos benefícios dos iogurtes probióticos e do leite fermentado. O mercado dos EUA também está crescendo rapidamente, devido à afinidade geral da população norte-americana em relação a suplementos probióticos na dieta. (MARKET AND MARKET, 2011). Alguns exemplos de probióticos comerciais estão na Tabela 2.

Tabela 2: Principais produtos probióticos comerciais.

Nome Comercial	Descrição	Produtor
Actimel	Bebida probiótica de iogurte com culturas <i>L.casei</i> imunitass	Danone, França
Activia	iogurte cremoso contendo Bifidus ActiRegularis®	Danone, França
Gefilus	Vasta gama de produtos LGG	Valio, Finlândia
Hellus	Produtos lácteos contendo <i>Lactobacillus fermentum</i> ME-3	Tallinna Piimatööstuse AS, Estônia
Jovita Probiotisch	Mistura de cereais, frutas e iogurte probiótico	H&J Bruggen, Alemanha
Pohadka	iogurte com culturas probióticas	Valašské Meziříčí Dairy, Republica Tcheca
ProViva	Bebida de fruta natural e iogurte de diferentes sabores contendo <i>Lactobacillus plantarum</i>	Skåne mejerier, Suça
Rela	iogurtes, leites e sucos cultivados com <i>L. reuteri</i>	Ingman Foods, Finlândia
Revital Active	iogurte e bebida de iogurte com probióticos	Olma, República Tcheca
Snack Fibra	Lanches e barras com fibras naturais e minerais e vitaminas extra	Celigëta, Spain
SOYosa	Produtos a base de soja e aveia, incluindo bebida refrescante e iogurte probiótico	Bioferme, Finlândia
Soytreat	Tipo de Kefir com seis probióticos	Lifeway, EUA
Yakult	Bebida láctea contendo <i>Lactobacillus casei Shirota</i>	Yakult, Japão
Yosa	iogurte de aveia aromatizado com frutas naturais e bagas contendo bactéria probiótica ( <i>Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium lactis</i> )	Bioferme, Finlândia
Vitality	iogurte com pré- e próbioticos e ômega-3	Müller, Alemanha
Vifit	Bebida de iogurte com LGG, vitaminas e minerais	Campina, Holanda

Fonte: SIRÓ et al., 2008.



#### **3.4.1.4. Efeitos Fisiológicos dos Microrganismo Probióticos – Mecanismos de Ação**

Segundo SAAD (2006), os três possíveis mecanismos de atuação atribuídos aos probióticos são:

1. Supressão do número de células viáveis através da produção de compostos com atividade antimicrobiana, da competição por nutrientes e da competição por sítios de adesão.
2. Alteração do metabolismo microbiano, através do aumento ou da diminuição da atividade enzimática.
3. Estímulo da imunidade do hospedeiro, através do aumento dos níveis de anticorpos e do aumento da atividade dos macrófagos.

O espectro de atividade dos probióticos pode ser dividido em efeitos nutricionais, fisiológicos e antimicrobianos (SAAD, 2006).

Para exercer um impacto benéfico à saúde, a concentração de probióticos no produto deve atingir níveis adequados (LOURENS-HATTINGH e VILJEON, 2001).

No Brasil, a Anvisa aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde. Esta norma tem como objetivo padronizar os procedimentos a serem adotados para a avaliação de segurança, o registro e a comercialização de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e/ ou de saúde (BRASIL, 2002). De acordo com a Anvisa (BRASIL, 2008), a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada na faixa de  $10^8$  a  $10^9$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por 100g na recomendação diária do produto pronto para consumo, e a população de probiótico deve ser declarada no rótulo do produto. Dessa forma, os probióticos devem alcançar populações acima de  $10^6$  a  $10^7$  UFC/g ou mL de bioproduto para serem de importância fisiológica ao consumidor (SAAD, 2006) para compensar a redução do número de microrganismo viáveis durante a passagem pelo trato gastrointestinal (SHAH, 2000).

Alguns benefícios estão devidamente documentados, enquanto outros têm demonstrado bons resultados em estudos com animais. Porém, são necessários estudos adicionais com humanos para comprovar as alegações (SHAH, 2001). Os benefícios

atribuídos aos probióticos são específicos de cada espécie e cepa, ou seja, nem todos os probióticos exercem todas as funções.

Em relação à nutrição do hospedeiro, pode-se destacar a contribuição dos probióticos no aumento da digestibilidade das proteínas e gorduras, maior absorção de minerais como cálcio e ferro e equilíbrio de conteúdo em várias vitaminas. Estes benefícios tornam o leite fermentado um alimento natural rico nutricionalmente e recomendado para o consumo humano (GOMES e MALCATA, 1999a).

A Tabela 3 apresenta os benefícios potenciais de alimentos funcionais preparados com bactérias probióticas para a saúde e a nutrição.

Tabela 3: Benefícios potenciais de alimentos funcionais preparados com bactérias probióticas para a saúde e a nutrição.

<b>Benefícios</b>	<b>Possíveis causas e mecanismos</b>
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 e MALCATA., 1999a.

### 3.4.2. Prebióticos

Os prebióticos são definidos como ingredientes nutricionais não digeríveis pelo homem que afetam benéficamente o hospedeiro, estimulando seletivamente o crescimento e a atividade de uma ou mais espécies de bactérias benéficas intestinais, melhorando a saúde do seu hospedeiro (GIBSON e ROBERFROID, 1995).

Para uma substância ser classificada como prebiótico, ela não pode ser hidrolisada ou absorvida na parte superior do trato gastrointestinal. Deve ser um substrato seletivo para um limitado número de bactérias comensais benéficas do cólon, as quais terão crescimento e/ou metabolismo estimulados, sendo capaz de alterar a microbiota intestinal favorável e induzir os efeitos benéficos intestinais ou sistêmicos ao hospedeiro (COLLINS e GIBSON, 1999).

A lactulose e os fructooligossacarídeos (FOS) são os prebióticos mais estudados e comercializados. A lactulose aumenta a atividade lactofermentativa de populações de *Lactobacillus* e o FOS estimula o crescimento de *Bifidobacterium* (NICOLI e VIEIRA, 2000).

Entre os oligossacarídeos de ocorrência natural, os fructooligossacarídeos (FOS) são os principais compostos reconhecidos e utilizados em alimentos, aos quais se atribuem propriedades prebióticas (NITSCHKE e UMBELINO, 2002). Dependendo do comprimento da cadeia, definida pelo número de unidades de monossacarídeos e também chamada grau de polimerização (DP), os FOS podem ser chamados de oligofrutoses (DP < 10, DP média = 4,8) ou inulina (DP 2 - 60, média = 12) (GIBSON e ROBERFROID, 1995; NINESS, 1999).

A inulina e a oligofrutose pertencem a uma classe de carboidratos denominada frutanos. São considerados ingredientes funcionais, uma vez que exercem influência sobre processos fisiológicos e bioquímicos no organismo, resultando em melhoria da saúde e em redução no risco de aparecimento de diversas doenças. As principais fontes de inulina e oligofrutose empregadas na indústria de alimentos são a chicória (*Cichorium intybus*) e a alcachofra de Jerusalém (*Helianthus tuberosus*) (CARABIN e FLAMM, 1999; KAUR e GUPTA, 2002).

Alguns efeitos atribuídos aos prebióticos são: a modulação de funções fisiológicas como a absorção de cálcio e, possivelmente, no metabolismo lipídico; redução do risco de câncer de cólon; modulação da composição da microbiota intestinal, a qual exerce um papel primordial na fisiologia intestinal (ROBERFROID, 2002).

### 3.4.2.1. Inulina

A inulina é uma fibra alimentar que é parte de plantas ou carboidratos análogos que são resistentes à digestão e absorção no intestino delgado humano e são, completamente ou parcialmente, fermentadas no intestino grosso, fornecendo energia principalmente para o crescimento bacteriano. Dividem-se em fibras solúveis (pectinas,  $\beta$ -glucana, gomas, inulina e polidextrose) e fibras insolúveis (celulose, hemicelulose, lignina, cutina, suberina, ceras de plantas, quitina e quitosana) (VAN DENDER et al, 2005)

Dentre as fibras alimentares disponíveis no mercado, a inulina é um exemplo de oligossacarídeo que tem tido aceitação crescente, uma vez que não é digerida nem absorvida no intestino delgado, e conseqüentemente chega ao cólon como uma molécula intacta, agindo como substrato fermentável para bifidobactérias e Lactobacilos. Por funcionar como um prebiótico, a inulina está associada às melhorias nos sistemas gastrointestinal e imunológico (OHR, 2002 e TUNGLAND, 2005).

A inulina é um carboidrato de reserva presente em mais de 30.000 espécies vegetais, formado por uma cadeia de moléculas de frutose e uma molécula de glicose terminal (OLIVEIRA, 2004). Muitos alimentos possuem naturalmente FOS em sua composição, como pode ser observado na Tabela 4. Atualmente somente a inulina extraída da raiz de chicória (*Chicorium intybus*) é comercializada como um ingrediente purificado.

Tabela 4: Ocorrência natural de frutooligossacarídeos (FOS) em alimentos.

<b>Alimento</b>	<b>Inulina (%)</b>	<b>Oligofutose (%)</b>
Cebolas	2 – 6	2 - 6
Chicória (raízes)	15 – 20	5 - 10
Aspargos	1 – 30	1 - 20
Alho	9 – 16	3 - 6
Banana	0,3 - 0,7	0,3 - 0,7
Trigo	1 – 4	1 - 4
Centeio	0,5 - 1,0	0,5 - 1,0
Cevada	0,5 - 1,5	0,5 - 1,5
Alho-poró	3 – 10	2,5 - 8,0

Fonte: ROBERFROID (1993) e GIBSON, WILLIS e VAN LOO (1994).

O cientista alemão Rose foi quem isolou pela primeira vez, em 1804, uma “substância peculiar”, a partir de um extrato aquoso de *Inula helenium*, e que mais tarde foi denominada inulina por Thomson, em 1818 (FRANCK, 2006). Em meados do século XIX, a rota bioquímica foi elucidada. Entretanto, suas propriedades de resistência à digestão só foram descobertas no início do século XX. Mais recentemente é que foram descritas as propriedades benéficas à saúde deste tipo de carboidrato e, conseqüentemente, a produção industrial despertou maior interesse (NITSCHKE e UMBELINO, 2002).

Segundo a Lista de Alegações de Propriedade Funcional Aprovadas da Anvisa, a alegação “A inulina contribui para o equilíbrio da microbiota intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”, pode ser usada desde que a porção do produto pronto para consumo forneça no mínimo 3g de inulina se o alimento for sólido ou 1,5g se o alimento for líquido. (BRASIL, 2008)

A inulina e a oligofrutose extraídas da chicória são classificadas legalmente como ingredientes alimentícios (e não como aditivos) em todos os países da União Européia, bem como na Suíça e na Noruega. As autoridades na Austrália, Canadá, Israel, Japão e Nova

Zelândia chegaram à mesma conclusão. Nos Estados Unidos, foi confirmado o status GRÃS (Generally Recognized As Safe) para inulina e oligofrutose (NEVEN, 2001).

A inulina é um carboidrato pertencente ao grupo de polissacarídeos chamado frutanas, composto por uma cadeia principal de unidades de frutose, unidas por ligações  $\beta$ -(2,1)- frutofuranosídicas, com uma unidade de glicose terminal. Sua fórmula pode ser descrita como GF<sub>n</sub>, onde G representa a molécula de glicose, F a molécula de frutose e n o número de unidades de frutose (SILVA, 1996; VAN LOO et al., 1995; ROBINSON, 1995). (Figura 9)

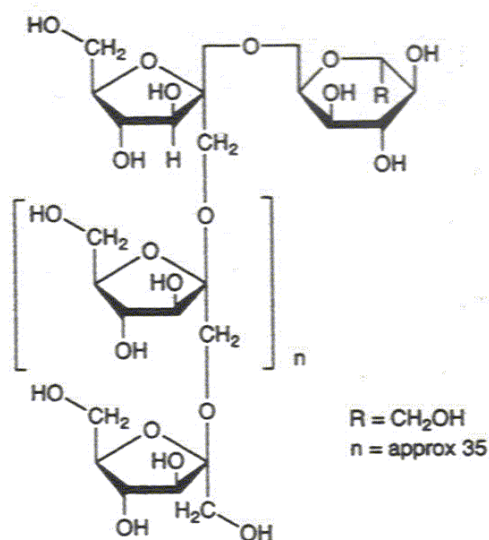


Figura 9: Estrutura química da Inulina.

Fonte: YAGINUMA, 2007.

A inulina extraída de plantas, após a secagem, apresenta-se como um pó branco, amorfo, higroscópico, com odor e sabor neutros, densidade de aproximadamente 580 g/L. (ORAFTI, 2011),

Estão descritas na Tabela 5 as especificações da composição da fibra solúvel Orafti®GR (nome comercial da inulina).

Tabela 5: Especificações da composição da fibra solúvel Orafti®GR .

Parâmetro	Resultado
Inulina	≥ 90%
Glicose + frutose + sacarose	≤ 10%
Matéria seca	97 ± 2,0%
Carboidratos	> 99,5%
Média do DP da inulina	≥ 10
Cinzas	< 0,2%
Condutividade (15°Brix)	< 250µS/cm
Metais Pesados	Pb ≤ 0.02 mg/kg
	As ≤ 0.03 mg/kg
	Cd, Hg ≤ 0.01mg/kg
pH (10°Brix)	5,0 – 7,0

Legenda: DP: Grau de polimerização

Fonte: Ficha do Produto (Orafti®GR)

Dentre as características tecnológicas da inulina se tem:

- Substituição de gordura: a inulina pode estabilizar a água em uma estrutura cremosa com a mesma textura da gordura. Isto permite aos formuladores de produtos substituir parte da quantidade de gordura com a inulina e reduzir o valor calórico do mesmo. Sem comprometer o sabor, esta substituição garante uma textura suave e cremosa.
- Melhora de sabor e textura: a inulina pode ser utilizada para melhorar o corpo e a palatabilidade de produtos com baixo teor de gordura, fornecendo tanto suavidade e cremosidade, combinados a um excelente sabor. Também melhora a estabilidade de mousses e espumas.
- Fácil processamento: na maioria dos casos, as propriedades de substituição de gordura da inulina podem ser obtidas sem mudanças importantes no processo de



produção. A inulina pode ser incorporada junto com outros ingredientes (ORAFI, 2011).

As diferenças no tamanho das cadeias da inulina e das oligofrutoses são também responsáveis pelas diferenças entre as suas propriedades. Devido às cadeias mais longas, a inulina é menos solúvel que as oligofrutoses e possui capacidade de formar microcristais quando misturada com água e leite. Estes microcristais interagem para formar uma mistura cremosa e macia, promovendo a sensação de presença de gordura. A inulina tem sido utilizada com sucesso como substituto da gordura, em recheios prontos, sobremesas congeladas e molhos (NEVEN, 2001; NITSCHKE e UMBELINO, 2002; BONDT, 2003; MONTAN, 2003).

A aplicação da inulina na indústria de alimentos deve-se, principalmente, às propriedades que a tornam capaz de substituir o açúcar ou a gordura, com a vantagem de não resultar em incremento calórico. Pode-se, desse modo, empregá-la como ingrediente em uma série de alimentos, tais como chocolates, sorvetes, iogurtes, dentre outros. Sua utilização em produtos com baixa caloria e teor de gordura reduzido já é bastante difundida em países da Europa, nos Estados Unidos e no Canadá (TONELI, 2008).

Além de atuar como substituto do açúcar ou da gordura, a inulina apresenta, também, algumas propriedades funcionais. Ela atua no organismo de maneira similar às fibras dietéticas, contribuindo para melhorar as condições do sistema gastrointestinal (OLIVEIRA, 2004).

A inulina é fermentada no cólon, resultando em um aumento de bifidobactéria e produção de ácidos graxos de cadeia curta favorecendo a absorção e retenção do cálcio. A combinação desses efeitos favoráveis tem sido reportada por ser efetiva na redução de lesões pré-cancerosas no cólon em ratos e, conseqüentemente, reduzindo o risco de câncer de cólon (MENDOZA et al., 2001).

### **3.4.3. Simbióticos**

O conceito de simbiótico alia o fornecimento de microrganismo probióticos juntamente com substâncias prebióticas específicas que estimulem seu desenvolvimento e atividade, potencializando o efeito de ambos os produtos (MENTEN, 2002). Essa combinação pode melhorar a sobrevivência de organismos probióticos, pela presença de

substratos específicos para a fermentação, resultando em vantagens para o hospedeiro (COLLINS e GIBSON, 1999).

O consumo regular de prebióticos e probióticos acontece na profilaxia e no tratamento de uma série de condições patológicas, a maior parte na esfera da gastroenterologia (MARTEAU et al, 2001; CHERMESH e ELIAKIM, 2006).

Indivíduos portadores da Síndrome do Intestino Curto, geralmente são mal nutridos e possuem intestino dilatado, resultando em um crescimento exagerado de determinadas bactérias maléficas. Um estudo mostrou que a combinação de *Bifidobacterium brevis*, *Lactobacillus casei* e Galacto-oligossacarídeos (terapia simbiótica), durante dois anos de tratamento, melhorou satisfatoriamente a motilidade e a função absorptiva intestinal (KANAMORI et al., 2001).

Existem evidências de benefícios relacionados ao consumo de prebióticos e probióticos, mas que ainda estão em fase de estudo por diversos grupos de pesquisa. Dentre os benefícios, pode-se citar: redução de sintomas de alergias alimentares (SALMINEN et al., 1998; MORAIS e JACOB, 2006), redução de infecção por *Helicobacter pylori* (CRUCHET et al, 2003; MARTEAU et al, 2001), redução do colesterol e concentração de triglicerídeos plasmáticos (LOURENS-HATTINGH e VILJOEN, 2001; SCHEINBACH, 1998; SCHREZENMEIR e VRESE, 2001), prevenção do câncer de cólon e outros tipos de câncer (MARTEAU et al, 2001; SALMINEN et al., 1998), atenuação da síndrome do intestino irritável e doença de Crohn (MARTEAU et al, 2001; SALMINEN et al., 1998); eliminação dos sintomas da intolerância à lactose (LOURENS-HATTINGH e VILJOEN, 2001; SALMINEN et al., 1998; SCHEINBACH, 1998; VRESE et al, 2001; MONTALTO et al., 2006), entre outros.

Na aplicação em alimentos, o ideal é que o ingrediente selecionado seja um substrato metabolizável pelo microrganismo probiótico no intestino, o que possibilitaria um aumento na capacidade de sobrevivência do probiótico. Um exemplo, seria o probiótico bifidobactéria, associado ao prebiótico galacto-oligassacarídeo (SANTOS et al., 2006). Outros exemplos de alimentos simbióticos incluem as bifidobactérias associadas à frutooligossacarídeos, e *Lactobacillus* associados a lactitol (KIMURA, 2002).

### **3.5. Análise sensorial**

Análise sensorial é uma ciência utilizada para evocar, medir, analisar e interpretar reações às características de alimentos e outros materiais da forma como são percebidos pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição. A análise sensorial de alimentos se aplica nas etapas de desenvolvimento de um produto, no controle de qualidade e na seleção

de métodos instrumentais que tenham correlação com atributos sensoriais de alimentos (MININ, 2006).

No Brasil, a análise sensorial surgiu em 1967, no Instituto Agronômico de Campinas sendo realizada apenas para café e utilizando métodos de diferença e hedônicos. Entretanto, a análise sensorial já se desenvolvia anteriormente em outros países impulsionada pela expansão do conceito de controle de produção e de processo nas indústrias de alimentos na década de 40. Apenas na década de 50, houve um grande desenvolvimento dos métodos de avaliação sensorial, seguindo este avanço significativo até a década de 70 (SOUZA et al., 2010).

As metodologias sensoriais se dividem em três grupos: testes discriminativos, testes descritivos e testes afetivos (LUTZ; 2008).

Os testes sensoriais discriminativos ou de diferença são considerados métodos objetivos utilizados em análise sensorial de alimentos, bebidas e água, já que medem as opiniões de indivíduos minimizados. Estes testes medem atributos específicos pela discriminação simples, indicando por comparações se existem ou não diferenças estatísticas entre amostras. Os testes discriminativos ou de diferença mais empregados em análise sensorial são o triangular, o duo-trio, a ordenação, a comparação pareada, a comparação múltipla ou diferença do controle (LUTZ, 2008).

Os testes sensoriais descritivos são utilizados em análise sensorial de alimentos, bebidas e água. Eles descrevem os componentes ou parâmetros sensoriais e medem a intensidade na qual são percebidos. Os julgadores são treinados para usar a escala de forma consistente em relação à equipe e às amostras, durante todo período de avaliação, e, desta forma, o teste requer um tempo prolongado até se obter o resultado, com os custos sendo elevados. As técnicas descritivas mais utilizadas são: perfil de sabor, perfil de textura, a análise descritiva quantitativa (ADQ) e o tempo-intensidade (LUTZ, 2008).

Os testes afetivos são utilizados em análise sensorial de alimentos, bebidas e água. Neste teste o julgador expressa seu estado emocional ou sua reação afetiva ao escolher um produto pelo outro. Ésta é a forma mais usada para se medir a opinião de um grande número de consumidores com respeito as suas preferências, os seus gostos e as suas opiniões. As escalas mais utilizadas são: de intensidade, hedônica, de ideal e de atitude ou de intenção. Os julgadores não necessitam de treinamento, bastando apenas consumirem com frequência o produto em avaliação. Os testes afetivos em função do local de aplicação podem ser de laboratório, localização central e uso doméstico (LUTZ, 2008).

No presente trabalho foi realizado o teste de aceitação por escala hedônica. Neste teste, o provador indica a sua reação subjetiva sobre o produto, indicando se gosta ou não

do produto, se o aceita ou não, ou se o prefere a outro produto. Estas provas apresentam grande variabilidade e seus resultados são difíceis de interpretar, já que tratam de opiniões completamente pessoais. Este tipo de teste é utilizado normalmente em uma das seguintes situações: manutenção das características de um dado produto, melhoria ou otimização de um produto, desenvolvimento de novos produtos e avaliação do potencial de mercado (NORONHA, 2003).

As escalas mais utilizadas são as de 7 e 9 pontos, que contêm os termos definidos situados, por exemplo, entre “gostei muitíssimo” e “desgostei muitíssimo”, contendo um ponto intermediário com o termo “nem gostei; nem desgostei”. É importante que as escalas possuam número balanceado de categorias para gosto e desgosto. As amostras codificadas com algarismos de três dígitos e aleatorizadas são apresentadas ao julgador para avaliar o quanto gosta ou desgosta de cada uma delas através da escala previamente definida. Sua preferência é obtida por inferência (LUTZ, 2008).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Matérias-primas

Foram utilizadas as seguintes matérias-primas para a elaboração das amostras de sorvete:

- Leite UHT integral de origem bovina 3% de gordura da marca Elegê®
- Creme de leite com teor de gordura mínimo de 25% da marca Regina®
- Açúcar refinado especial da marca União®
- Emulsificante e estabilizante neutro para sorvete da marca Emustab®
- Polpa de morango da marca Icefruit®
- Sabor para sorvete morango da marca Duas Rodas®
- Prebiótico (Inulina) Orafiti-Beneo GR. da Clariant®
- Culturas lácticas (Lacto-Pró®) da SKL Functional Nutrition®

### 4.2. Elaboração do leite fermentado

De acordo com a Resolução nº 5, de 13 de novembro de 2000 (BRASIL, 2000b), define-se o Leite Fermentado ou Cultivado como um produto resultante da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado, por fermentos lácticos próprios, cuja fermentação se realiza com um ou vários dos seguintes cultivos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium sp.*, *Streptococcus salivarius subsp thermophilus* e/ou outras bactérias ácido lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final.

Para produzir o leite fermentado, foram utilizadas as culturas lácticas do Lacto-Pró® (contendo como microorganismos *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*).

A cultura láctica foi empregada na proporção de 1g para cada litro de leite.

O leite fermentado foi produzido (Figura 10) na iogurteira comercial da marca Fun Kitchen (Figura 11) para a etapa de fermentação, conforme o diagrama de blocos apresentado na Figura 12.



Figura 11: logurteira comercial utilizada na elaboração do leite fermentado.

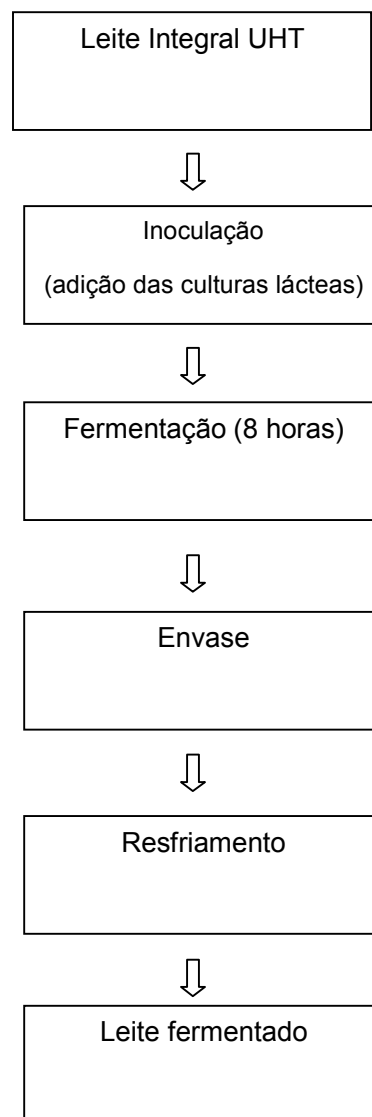


Figura 12: Diagrama de blocos do processo de produção de leite fermentado.



Figura 10: Leite fermentado produzido após 8 horas de fermentação.

#### 4.3. Formulação do sorvete

A partir de algumas formulações já existentes de sorvete de morango foi desenvolvida a formulação do sorvete descrita na Tabela 6 para produzir 1 litro de sorvete de morango :

Tabela 6: Formulação do sorvete de morango.

<b>Ingredientes</b>	<b>Quantidade</b>
Leite Fermentado	350mL
Creme de leite	200mL
Açúcar	80g
Emulsificante e estabilizante	5g
Polpa de morango	200g
Sabor para sorvete morango	10g
Inulina	61g

A quantidade utilizada de emulsificante e estabilizante estava de acordo com o Regulamento Técnico específico de Aditivos Alimentares, RDC nº 3, de 15 de janeiro de 2007 (BRASIL, 2007).

#### 4.4. Elaboração do sorvete

O sorvete foi produzido conforme o diagrama de blocos apresentado na Figura 13.

Para o preparo do sorvete (Figuras 14, 15, 16) foi necessário para o processo de congelamento o uso da sorveteira da marca Fun Kitchen (Figura 17) para a produção de 1 litro de sorvete.

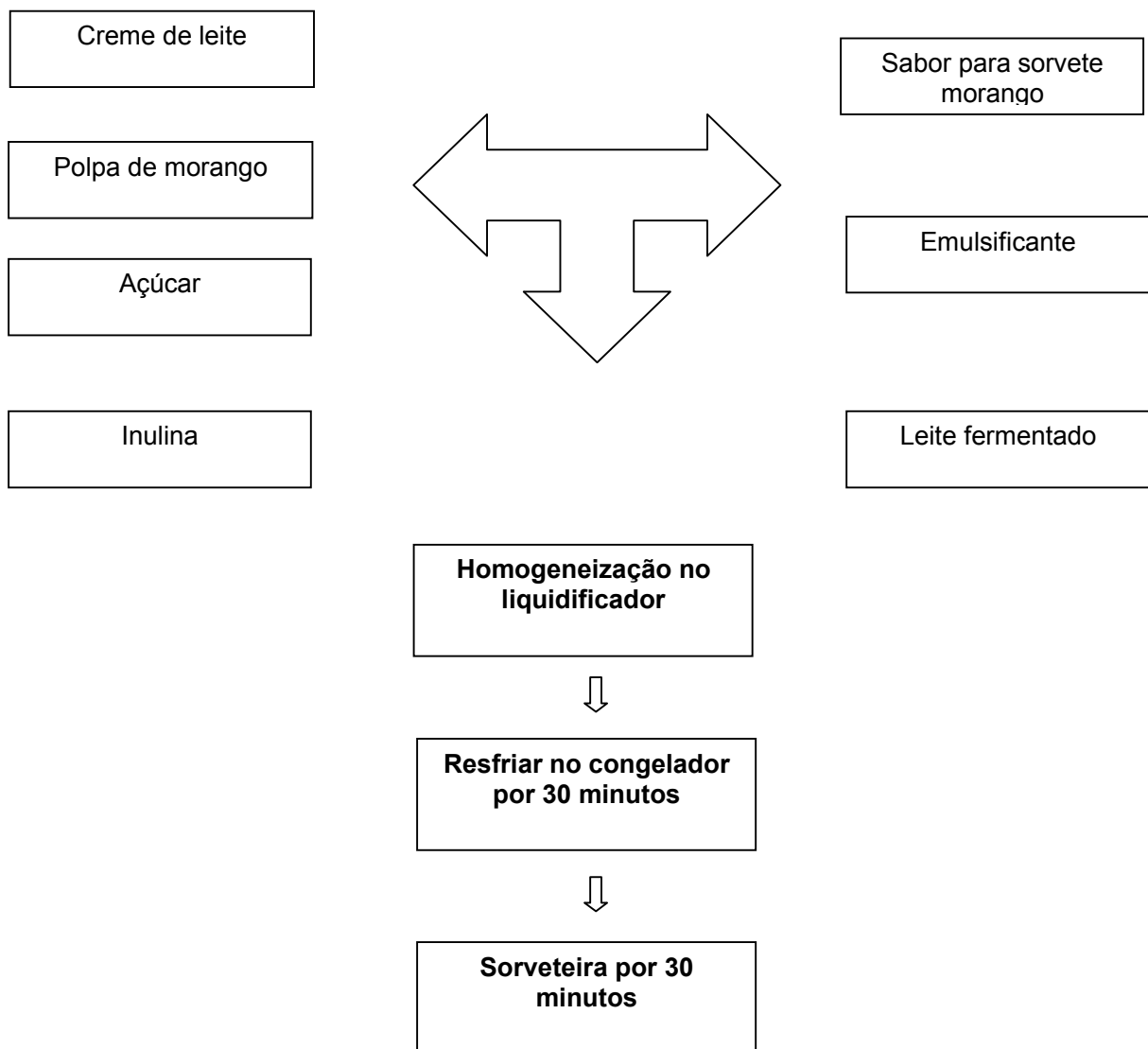


Figura 13: Diagrama de blocos do processo de produção de sorvete.





Figura 17: Sorveteira comercial utilizada na elaboração do sorvete.



Figura 14: Calda após a etapa de homogeneização.



Figura 15: Sorvete após as etapas de congelamento e aeração na sorveteira.



Figura 16: Sorvete após o envase para as análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais.

#### 4.5. Análises Físico-Químicas

As análises físico-químicas do sorvete produzido foram realizadas no Departamento de Tecnologia de Alimentos do instituto de tecnologia, no Laboratório Analítico de Alimentos e Bebidas – LAAB, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) (proteínas e lipídeos) e no Departamento de Engenharia Bioquímica da Escola de Química/UFRJ do centro tecnológico, no Laboratório de Microbiologia Industrial (pH, sólidos solúveis totais e *overrun*).

As análises realizadas foram baseadas nos métodos físico-químicos para Análise de Alimentos, conforme descrito na publicação do Instituto Adolfo Lutz (2008). Uma unidade amostral de sorvete foi analisada quanto aos seguintes parâmetros e métodos:

- Valor de pH: pH foi determinado utilizando-se o pHmetro digital;
- Sólidos solúveis totais: pelo refratômetro ABBE digital;
- Proteínas: foi determinado pelo método de Kjeldahl (anexo1)
- Lipídeos: foi determinado pelo método de Gerber (anexo1)
- *Overrun*: é definido como incorporação de ar no sorvete através de batimento e processo de congelamento simultâneo. Calculou-se este aumento de volume segundo a fórmula descrita por MOSQUIM, 1999:

$$\% \text{ Overrun} = \frac{[\text{peso da calda} - \text{peso do sorvete}]}{[\text{peso do sorvete}]} \times 100$$

Sendo assim, foi pesada a calda formada antes de ser adicionada na sorveteira, e após o processo de congelamento na sorveteira, calculando com a fórmula descrita acima o *overrun*.

#### **4.6. Análises Microbiológicas**

As análises microbiológicas das condições higiênico-sanitárias foram realizadas no Departamento de Tecnologia de Alimentos do Instituto de Tecnologia, no Laboratório Analítico de Alimentos e Bebidas – LAAB, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e as análises da viabilidade dos probióticos foram realizadas no Departamento de Engenharia Bioquímica da Escola de Química/UFRJ do centro tecnológico, no Laboratório de Microbiologia Industrial.

##### **4.6.1. Condições higiênico-sanitárias**

Segundo a RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001, da Anvisa, (BRASIL, 2001) as análises microbiológicas obrigatórias para a avaliação das condições higiênico-sanitárias de fabricação de sorvetes são Coliformes Totais, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella*. Estas análises foram realizadas segundo a seguinte metodologia da Instrução Normativa nº 62 do MAPA (BRASIL, 2003). (Anexo 2)

##### **4.6.2. Viabilidade dos microrganismos probióticos**

Uma unidade amostral do sorvete foi quantificada quanto ao número de células viáveis das bactérias ácido lácticas através das técnicas de plaqueamento por superfície, logo após o processamento (tempo zero) e nos 7°, 14°, 21°, 28° dias de armazenamento a -15°.

Primeiramente, foi coletado 1mL de sorvete e diluído com 9 mL de água peptonada (peptona bacteriológica) 0,1% p/v nas diluições de  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ , sempre com agitação entre uma diluição e outra para total homogeneização da solução. Alíquotas de 0,1mL de cada diluição foram então transferidas para as placas que continham meio MRS-ágar (HiMedia – Peptona 10,0g/L; extrato de carne 10,0g/L; extrato de levedura 5,0g/L; dextrose 20,0g/L; polisorbato 80 1,0g/L; citrato de amônia 2,0g/L; acetato de sódio 5,0g/L; sulfato de magnésio 0,1g/L; sulfato de manganês 0,05g/L; fosfato dipotássio 2,0g/L). Depois, as placas foram colocadas em uma jarra de anaerobiose e incubadas em estufa, a 37°C, por 72 horas. Esse procedimento pode ser visualizado na Figura 18.

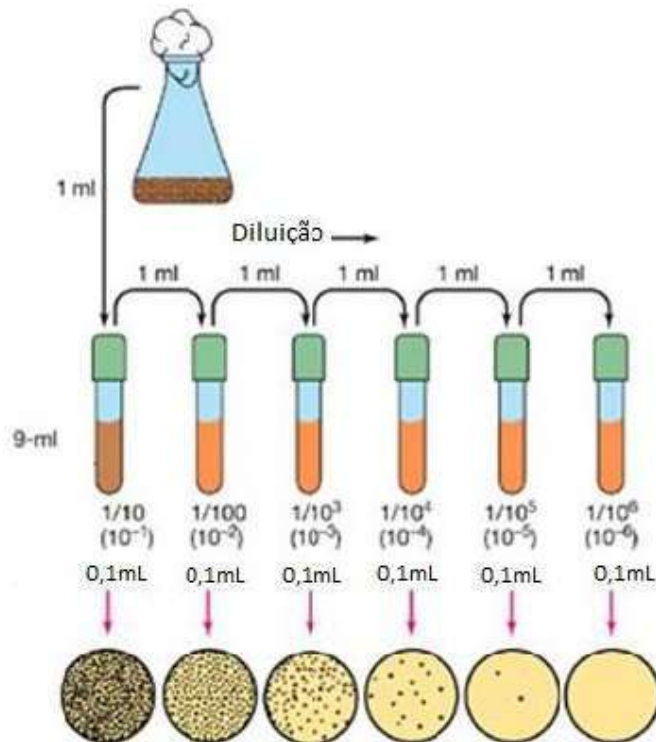


Figura 18: Procedimento para plaqueamento das bactérias ácido lácticas.

Este procedimento foi realizado em fluxo laminar previamente exposto à luz UV por 30 minutos. Todos os materiais utilizados também foram previamente esterilizados em autoclave por 15 minutos a 121°C.

A contagem das bactérias ácido lácticas foi feita pela técnica de quantificação de colônias.

#### 4.7. Análise sensorial

Foi produzido um novo sorvete para a análise sensorial, que foi armazenado no freezer. Antes do teste de análise sensorial, este sorvete foi mantido a temperatura de 10 a 12°C, que é a temperatura indicada para avaliação do odor e sabor, conforme descrito na publicação do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008).

Com o objetivo de verificar a qualidade dos sorvetes, foi realizada a avaliação sensorial. Os atributos estabelecidos foram: aparência, cor, aroma, consistência e sabor.

O sorvete foi submetido à avaliação sensorial por uma equipe de 50 provadores não treinados, de faixa etária entre 16 e 79 anos, da cidade do Rio de Janeiro, de diferentes

classes sociais. Além de avaliarem os atributos, solicitou-se que os provadores respondessem também a intenção de compra do produto caso o encontrassem à venda no mercado.

Na avaliação do sorvete, foi utilizado um teste afetivo por escala hedônica de 9 pontos, no qual o valor numérico 1 corresponde a “degostei extremamente” e o 9 “gostei extremamente”. O modelo de ficha utilizado para avaliar a aceitabilidade dos produtos é apresentado na Figura 19.

A amostra do sorvete foi apresentada aos provadores em copos plásticos descartáveis, de 30 mL de capacidade, com talheres plásticos descartáveis à temperatura de 10 a 12°C.

Os resultados foram avaliados através da média de cada atributo estabelecido.

Ficha de avaliação sensorial

Data: \_\_\_\_\_ Sexo:  M  F Idade: \_\_\_\_\_

Você está recebendo 1 amostra de sorvete. Por favor, avalie para todos os atributos o quanto você gostou ou desgostou do produto utilizando a escala abaixo:

9- gostei extremamente  
8- gostei muito  
7- gostei moderadamente  
6- gostei ligeiramente  
5- indiferente  
4- degostei ligeiramente  
3- degostei moderadamente  
2- degostei muito  
1- degostei extremamente

Aparência	Sabor	Cor	Aroma	Consistência

Você compraria este produto caso fossem comercializado?  Sim  Não

Comentários: \_\_\_\_\_

Figura 19: Ficha utilizada para avaliação da qualidade sensorial do sorvete de morango com características funcionais.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Formulação do sorvete

No plaqueamento feito com o leite fermentado e com o sorvete logo após o processamento, obtiveram-se os seguintes resultados, com os respectivos desvios-padrão, dos microrganismo probióticos, descritos na Tabela 7.

Tabela 7: Plaqueamento do leite fermentado e do sorvete no tempo zero.

Leite fermentado (UFC/g)	Sorvete (UFC/g)
$3,2 \times 10^8 \pm 0,28$	$1,9 \times 10^7 \pm 0,35$

De acordo com a Tabela 7, pode-se observar que o sorvete se encaixa como produto probiótico, já que no momento do consumo, é recomendado que o alimento probiótico tenha, no mínimo,  $10^6$  UFC/g (SHAH, 2001; SHEEHAN et al., 2007).

O decréscimo das bactérias ácido lácticas do leite fermentado para o sorvete pode estar relacionado à diluição devido ao volume dos demais ingredientes adicionados. Pode também o batimento do leite fermentado no liquidificador, juntamente com os demais ingredientes, provavelmente ter causado uma tensão de cisalhamento durante a homogeneização permitindo a morte de células viáveis. Além disso, na etapa de congelamento na sorveteira, os microorganismos entram em contato com uma temperatura baixa durante o batimento, o que pode levar à morte de células viáveis.

### 5.2. Análises Físico-Químicas

Na Tabela 8 foram disponibilizados os resultados expressos em valores médios, com os respectivos desvios-padrão, referentes às determinações de pH, sólidos solúveis, proteínas, lipídeos e *overrun*.

Tabela 8: Caracterização físico-química do sorvete de morango no tempo zero.

Análise	Resultados
pH	5,4 ± 0,03
Sólidos solúveis totais (°Brix)	30,7 ± 0,46
Proteínas (%)	1,20 ± 0,03
Lipídeos (%)	6,8 ± 0,80
Overrun (%)	12,5
Densidade aparente (g/L)	900,0

A Portaria nº 379 de 26/04/99 (BRASIL, 1999a), que regulamentava aspectos referentes aos gelados comestíveis, foi revogada pela Resolução RDC nº 266 de 22/09/05 (BRASIL, 2005), a qual não estabelece o mínimo dos parâmetros físico-químicos para cada tipo de gelado comestível. Entretanto, apenas para efeito de comparação, utilizou-se os dados que fixavam o padrão identidade para gelados comestíveis da portaria revogada como um dos parâmetros.

O resultado dos sólidos totais estaria de acordo com o estabelecido pela legislação, na Portaria nº 379 de 26/04/99, da Anvisa, na qual o mínimo para sólidos totais era de 26°Brix.

SILVEIRA *et al.* (2009), que avaliaram a qualidade de quatro marcas de sorvetes tipo tapioca, fabricados e comercializados na cidade de Fortaleza, encontraram valores para sólidos totais de 39,46°Brix; 38,55°Brix; 37,28°Brix; 39,52°Brix.

O resultado do teor de lipídeos do sorvete de morango com propriedades funcionais estaria de acordo com a Portaria nº 379 de 26/04/99, da Anvisa, que contemplava para os sorvetes de morango, o mínimo para gorduras comestíveis de 3,0 (g/100g).

Segundo BERNARDI *et al.* (2004) foi encontrado o pH de 4,5 e 5,0 nos sorvetes de acerola com propriedades probióticas formulado pelos autores. ALVES *et al.* (2009) encontraram pH de 5,5 no frozen iogurte elaborado a partir de iogurte de leite de cabra com

adição de cultura probiótica e prebiótico. Sendo assim, o pH encontrado no sorvete de morango está parecido com dos autores citados.

O *overrun* determina a quantidade de ar incorporado na massa durante o processo de batimento (na elaboração do sorvete de morango com propriedades simbióticas deste experimento a duração do batimento foi de 30 minutos), aumentando seu volume final, tornando-o mais leve e suave. Pela Tabela 8, o percentual de *overrun* obtido neste sorvete foi de 12,5%.

O ar incorporado durante o batimento (*overrun*) torna o sorvete leve, macio e saboroso. A quantidade de ar no sorvete influenciará bastante no corpo, na textura e no paladar. Com isso, a incorporação de ar em excesso provocará uma mistura esponjosa e com pouco sabor; enquanto a ausência, ou quantidade insuficiente de incorporação de ar produzirá um sorvete pegajoso e pesado. (AMIOT, 1991)

O *overrun* também é importante porque aumenta o rendimento, permitindo a redução do preço do sorvete. Sendo assim, uma uniformidade na incorporação de ar durante a produção do sorvete influenciará no faturamento da indústria (RECHSTEINER, 2009).

A Resolução RDC nº 266 de 22/09/05, da Anvisa, estabelece um padrão de 475g/litros de densidade aparente mínima em gelados comestíveis. O valor obtido de densidade aparente no produto desenvolvido foi de 900,00g/L, estando dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente.

### **5.3. Análises microbiológicas**

#### **5.3.1. Condições higiênico-sanitárias**

Os resultados das análises microbiológicas obrigatórias para a avaliação das condições higiênico-sanitárias do sorvete de morango (Tabela 9 e Figuras 20, 21, 22) demonstraram que o produto encontrava-se perfeitamente nas condições de consumo, não representando riscos para o consumidor. Isto ocorre pelo fato do produto se encontrar dentro dos padrões estabelecidos pela Resolução nº12, de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA (BRASIL 2001), a qual estabelece o máximo de  $5 \times 10^6$  NMP/g de Coliformes, a 45°C,  $5 \times 10^2$  UFC/g de *Staphylococcus* coagulase positiva e ausência de *Salmonella*.



Tabela 9: Resultados das análises microbiológicas encontrados no sorvete de morango.

Análises	Resultado
Coliformes Totais NMP/g	< 1,0x10
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i> /g	<1,0x10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella</i> sp /25g	Ausente



Figura 20: Ilustração da ausência de crescimento na pesquisa de Coliformes Totais no sorvete de morango.



Figura 21: Ilustração do plaqueamento do sorvete de morango para pesquisa de *Staphylococcus*.

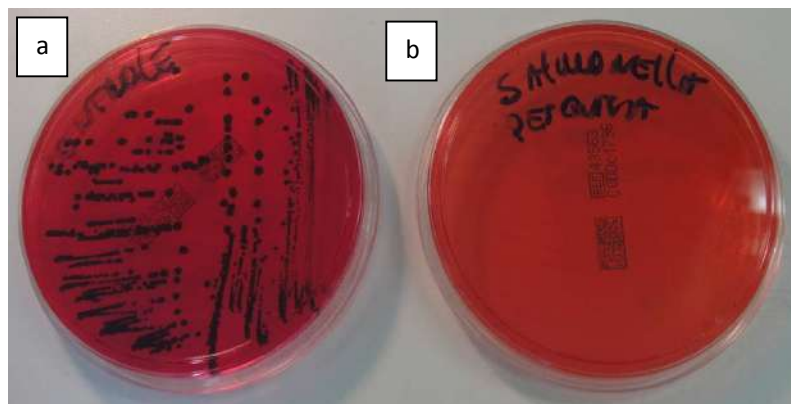


Figura 22: Ilustração do: (a) controle positivo e (b) plaqueamento do sorvete de morango para pesquisa de *Salmonella*.

### 5.3.2. Viabilidade dos microrganismos

A análise da vida de prateleira do produto é de grande importância, uma vez que é necessário assegurar que as características microbiológicas e sensoriais do alimento não estejam alteradas no momento do consumo.

No momento do consumo, é recomendado que o alimento probiótico tenha, no mínimo,  $10^6$  UFC/g de microrganismos probióticos (BRASIL, 2000b; SHAH, 2001; SHEEHAN et al., 2007).

Na Tabela 10, encontram-se os resultados para a quantificação de microrganismo viáveis, expressos em valores médios, durante o período de estocagem, a  $-15^{\circ}\text{C}$ . A quantificação corresponde ao número total de microrganismo lácticos, sem distinção entre *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* (Figura 24). A curva média em logUFC/g da contagem está apresentada na Figura 23.

Segundo os resultados apresentados na Tabela 10, pode-se afirmar que o sorvete de morango conserva suas características probióticas durante pelo menos 28 dias de armazenamento a  $-15^{\circ}\text{C}$ , já que apresentou uma contagem de bactérias ácidos lácticas superior ao mínimo recomendado.

Também se pode observar pela Tabela 10, que os microrganismos probióticos se mantiveram praticamente com a mesma quantidade de células viáveis durante o tempo de estocagem.

Tabela 10: Quantificação celular total no sorvete de morango ao longo da vida de prateleira

Tempo (dias)	UFC/g
0	$1,9 \times 10^7 \pm 0,35$
7	$2,0 \times 10^7 \pm 0,14$
14	$2,1 \times 10^7 \pm 0,07$
21	$1,7 \times 10^7 \pm 0,28$
28	$1,6 \times 10^7 \pm 0,15$

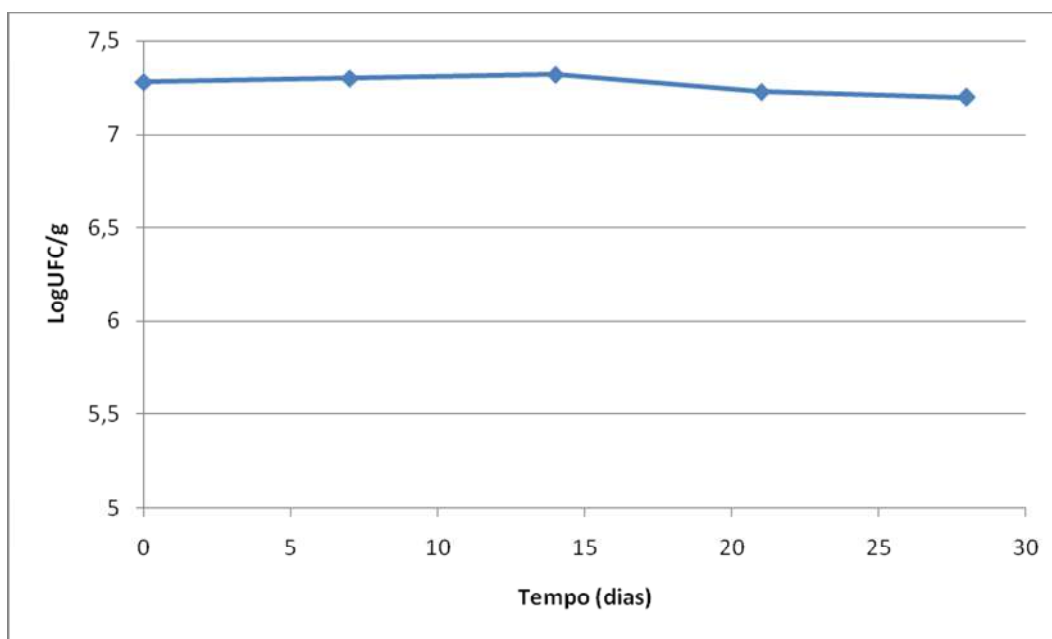


Figura 23: Viabilidade das bactérias ácido lácticas durante 28 dias de armazenamento sob refrigeração.



Figura 24: Plaqueamento dos microrganismo probióticos no 28º dia de armazenamento do sorvete de morango.

Trabalhos realizados por HEKMAT e MCMAHON (1992), CHRISTIANSEN et al. (1996), HAGEN e NARVHUS (1999), HAYNES e PLAYNE (2002) e KILASAPATHY e SULTANA (2003), demonstraram ser possível a incorporação de microrganismos probióticos em sorvetes, apresentando resultados com elevados valores de microrganismos viáveis no produto.

KILASAPATHY e 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 e PLAYNE (2002) demonstraram que é possível a 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  $-20^{\circ}\text{C}$ , o número de células viáveis ficou entre  $0,5 \times 10^7$  a  $1,0 \times 10^7$  UFC/g.

HEKMAT e 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<sup>7</sup> UFC/mL.

BERNARDI et al. (2004) produziram sorvete de acerola com *Bifidobacterium longum* e *Bifidobacterium lactis* no qual avaliaram a resistência por 15 semanas de armazenamento do produto a -18°C em que permaneceram viáveis em torno 10<sup>8</sup>UFC/g.

GONÇALVES e EBERLE (2008) desenvolveram um *frozen* iogurte funcional, com *Bifidobacterium*, acrescido de inulina, armazenado a -18°C por 60 dias e obtiveram na contagem das células viáveis de 10<sup>6</sup>UFC/g.

## 5.4. Análise sensorial

### 5.4.1. Avaliação da qualidade

Através da escala hedônica de 9 pontos, os provadores puderam avaliar os atributos de aparência, sabor, cor, aroma e consistência do sorvete de morango, e os resultados se encontram na Tabela 11 e na Figura 25.

Tabela 11: Médias e desvios-padrão dos atributos sensoriais de sorvete de morango.

Atributos	Aparência	Sabor	Cor	Aroma	Consistência
	8,02 ± 1,07	7,72 ± 0,95	7,49 ± 1,14	7,72 ± 0,85	7,83 ± 0,98

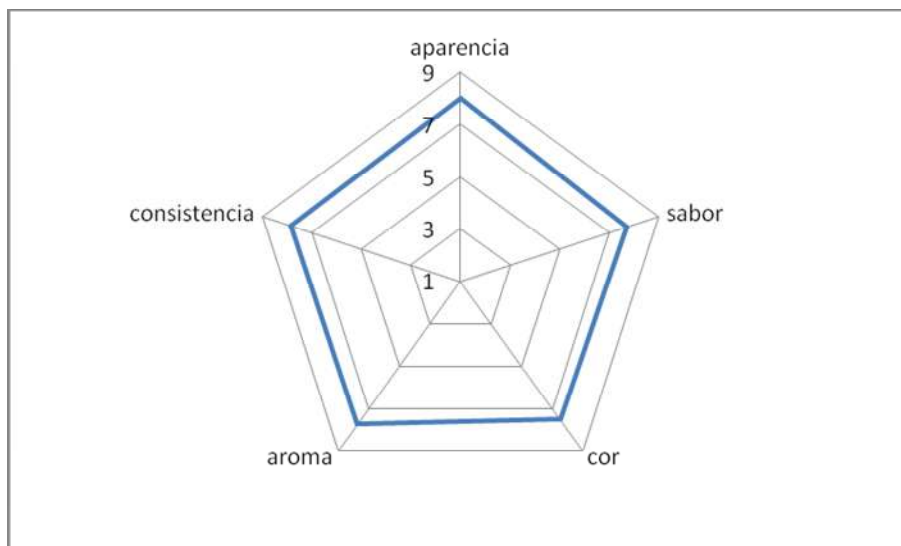


Figura 25: Gráfico aranha das médias dos atributos sensoriais do sorvete de morango.

Em relação ao atributo aparência, a média dos valores apresentados corresponde à referência “gostei muito”.

Os atributos sabor, aroma e consistência ficaram classificados entre “gostei moderadamente” e “gostei muito”.

Um dos aspectos visuais fundamentais na qualidade e aceitabilidade do produto refere-se à cor obtida através de pigmentos naturais existentes no alimento ou pela adição de corantes (BOBBIO et al., 1995). O sorvete de morango apresentou cor característica deste tipo de produto, devido à adição da polpa de morango e do sabor para sorvete. Nesse atributo, a média dos valores foi correspondente entre “gostei moderadamente” e “gostei muito”.

Juntamente com as fichas de análise sensorial, os consumidores puderam relatar suas observações para melhorar o produto, além de comentários de aprovação dos produtos. Dentre os comentários, os que se destacaram foram: “Este produto lembra o gosto do Danoninho”, “A cor não parece com a do sorvete da Kibon, mas parece mais com a cor da polpa de morango de supermercado”, “O sabor e a aparência fazem com que as pessoas fiquem muito influenciadas em comprar o produto”.

#### 5.4.2. Avaliação da intenção de compra

A Figura 26 mostra os resultados da intenção de compra do sorvete de morango para consumidores não treinados.

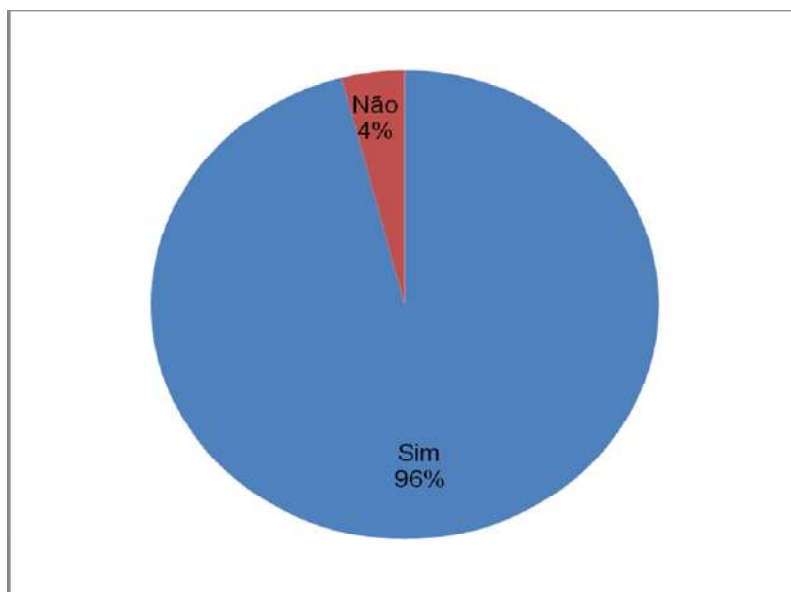


Figura 26: Resultado da intenção de compra com provadores não treinados.

Analisando a Figura 26, pode-se observar que, em grande parte, os provadores são potenciais compradores do produto, já que 96% dos provadores responderam na ficha de análise sensorial que comprariam o produto caso este fosse comercializado.

## 6. CONCLUSÕES

- Nas análises físico-químicas obteve-se para sólidos totais 30,7° Brix, proteínas 1,20%, lipídeos 6,8% e pH 5,4. A densidade aparente (900g/L) está de acordo com a Resolução RDC nº 266 de 22/09/05, da Anvisa;
- Os resultados das análises microbiológicas obrigatórias mostraram que o sorvete se encontra em condições de consumo, assegurando a qualidade do produto;
- O sorvete de morango conservou suas características probióticas durante pelo menos 28 dias de armazenamento, pois apresentou uma contagem de bactérias ácidos lácticas superior ao mínimo recomendado;
- Na avaliação sensorial, o sorvete de morango teve ótima aceitação;
- Na análise da intenção de compra do sorvete, a maioria dos provadores compraria o produto.



## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIA, Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação, 2011.
- ABIS, Associação Brasileira das Indústrias de Sorvete, 2011.
- AGRIANUAL. Morango: balanço Mundial. **Anuário da agricultura brasileira**, São Paulo, p. 419, 2008.
- AGROSOFT. Brasil, 2010. Disponível em: < [www.agrosoft.org.br](http://www.agrosoft.org.br) > Acessado em: 06/12/2011
- AKOH, J. fats, oils and fat replaces. **Food Technology**, v.52, n.3, p.47-53, 1998.
- ALAMPRESE, C.; FOSCHINO, R.; ROSSI, M.; POMPEI, C.; SAVANI, L. Survival of *Lactobacillus johnsonii* La1 and influence of its addition in retail-manufactured ice cream produced with different sugar and fat concentrations. **Int. Dairy J.**, v.12, p.201-208, 2002.
- ALMEIDA, A. L. F. et al. **Revista Food Ingredients** – Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria de Alimentos e Bebidas –“Sorvetes – Um mercado sempre pronto para crescer”. nov/dez – 2001.
- ALVAREZ, V.B.; WOLTERS, C.L.; VODOVOTZ, Y.; JI, T. Physical properties of ice cream containing milk protein concentrates. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 3, p. 862-871,2005.
- ALVES L. L.; RICHARDS N.S.P.S; BECKER L.V.; DE ANDRADE D.F. MILANI L.I.G.; REZER A.P.S., SCIPIONI C.G. Aceitação sensorial e caracterização de frozen yogurt de leite de cabra com adição de cultura probiótica e prebiótico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.9, p.2595-2600, dez, 2009.
- AMIOT, J. Ciencia y tecnología de la leche. **Zaragoza**: Acribia, 1991.
- ANDRIGHETTO, C.; GOMES, M.I.F.V.; Produção de picolés utilizando leite acidófilo, Braz. **J. Food Technol.**, v.6, n.2, p. 267-271, jul./dez., 2003.
- ANTUNES, L. E. C.; DUARTE FILHO, J. D.; CALEGARIO, F. F.; COSTA, H.; REISSER JUNIOR, C. Produção integrada de morango (PIMo) no Brasil. In: Morango: conquistando novas fronteiras. **Informe Agropecuário**: Belo Horizonte, v.28, n.236, p.34-39, jan./fev. 2007.
- ARMONDES, M.P.O. **Aspectos microbiológicos e higiênico-sanitários de sorvetes em suas etapas de elaboração, produzidos artesanalmente na cidade de Goiânia**. 83 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical)- Instituto de Patologia e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 1998.
- ARUNACHALAM, K. D. Role of bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. **Nutrition Research**, v. 19, n. 10, p. 1559-1597, 1999.

- BADARÓ, A. C. L.; GUTTIERRES A. P. M.; REZENDE A. C. V.; STRINGHETA P. C.  
Alimentos probióticos: aplicações como promotores da saúde humana Parte 2. NUTRIR GERAIS – **Revista Nutrir Gerais**, v. 3, p.2, fev./jul. 2009.
- BALLUS, C.A.; KLAJN,V.M.; CUNHA, M.F.; OLIVEIRA, M.L.; FIORENTINI, A.M. Aspectos científicos e tecnológicos do emprego de culturas probióticas na elaboração de produtos lácteos fermentados: Revisão. **B.ceppa**, Curitiba, v. 28, n. 1, p. 85-96, jan./jun. 2010.
- BELCHIOR, N.C.; **Sorvete**. Monografia – Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais. 2009.
- BERNARDI, Sabrina ; BODINI, Renata Barbosa ; ALMEIDA, Eduardo de ; FÁVARO-TRINIDADE CS . Viabilidade de *Bifidobacterium longum* e *Bifidobacterium lactis* em sorvete de acerola. In: **XIX CBCTA**, 2004, Recife. Anais do XIX CBCTA. v. 1, 2004.
- BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. **Food Res. Int.**, Amsterdam, v.35, n.2/3, p.125-131, 2002.
- Bifidobacterium lactis*. Disponível em:  
< <http://probioticsreviewed.com/probiotic-strains/bifidobacterium-lactis/>>. Acessado em: 06/12/2011
- BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. Manual de laboratorio de quimica dos alimentos. São Paulo: **Livraria Varela**, 129 p, 1995.
- BONDT, V. Novas Tendências para Bebidas Funcionais. **Revista Brasil Alimentos**, n.18, jan/fev 2003
- BRASIL. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 379, de 26 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico referente a gelados comestíveis preparados, pós para preparo e bases para gelados comestíveis, constante do anexo desta portaria. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 29 de abr. 1999a.
- BRASIL. Resolução nº. 18, de 30 de abril de 1999. Regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. ANVISA, **Diário Oficial da Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 03 maio 1999b.
- BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento. Instrução Normativa nº 01/00, de 07/01/00. Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de fruta. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. Seção I, p.54-58. 10 jan 2000a.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução nº 5, de 13 de novembro de 2000. Oficializar os padrões de identidade e qualidade de leites fermentados. **Diário Oficial da União**, 27 Nov. 2000b.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF. 10 jan. 2001.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC– nº. 02, de 07 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionas e ou de Saúde. **Diário Oficial da União**, 09 jan. 2002.
- BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (DISPOA). Instrução Normativa nº62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 de agosto de 2003.
- BRASIL, Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 266, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento gelados comestíveis e preparados para gelados comestíveis. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 de set. 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. VisaLegis. *Resolução RDC n.3, de 15 de janeiro de 2007*. Aprova a "Atribuição de Aditivos e seus Limites Máximos para a Categoria de Alimentos 3: Gelados Comestíveis", **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. 27/03/2007.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. IX-Lista de Alegações de Propriedade Funcional Aprovadas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, julho de 2008.
- BRASIL ALIMENTOS. 2009. Disponível em: <[www.brasilalimentos.com.br/](http://www.brasilalimentos.com.br/)>. Acessado em: 06/12/2011
- BRUNINI, M. A.; DURIGAN, J. F.; De OLIVEIRA, A. L. Avaliação das alterações em polpa de manga "Tommy-Atkins" congeladas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 651-653, 2002.
- CADENA, R.S.. **Sorvete sabor creme tradicional e "light": Perfil sensorial e instrumental**. 2008. 125 p. Dissertação ( Mestrado em alimentos e Nutrição) –

Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

- 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.
- CHARTERIS, W.P.; KELLY, P.M.; MORELLI, L.; COLLINS, J.K. Ingredient selection criteria for probiotic microorganisms in functional dairy foods. *Int. J. Dairy Technol.*, Long Hanborough, v.51, n.4, p.123-136, 1998.
- CHERMESH, I.; ELIAKIM, R. Probiotics and the gastrointestinal tract: where are we in 2005? *World Journal of Gastroenterology*, v. 12, n. 6, p. 853-857, 2006.
- CLARKE, C. The science of ice cream. *Chemistry and Industry*, London, v. 24, n. 19, p. 22-23, 2005.
- COLLINS, M.D., GIBSON, G.R. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *American Journal Clinical Nutrition*, v.69, p.1052S-1057S, 1999.
- CORRALES, A.; HENDERSON, M.; MORALES, I. Sobrevivência de microrganismo probióticos *Lactobacillus acidophilus* y *bifidobacterium lactis* em helado batido. **Revista Chilena de Nutrición, Bromatología y Toxicología.** Vol. 34, Nº2, págs: 157-163, Junio 2007
- CORTE, F.F.D.; **Desenvolvimento de frozen yogurt com propriedades funcionais.** 2008. 100 p. Dissertação (Mestrado em ciência e tecnologia de alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul.
- CHRISTIANSEN, P.S.; EDELSTEN, D.; KRISTIANSEN, J.R.; NIELSEN, E.W. Some properties of ice cream containing *Bifidobacterium bididum* and *Lactobacillus acidophilus*. *Milchwissenschaft*, v.51, n.9, p. 502-504, 1996.
- CRUCHET, S.; OBREGON, M. C.; SALAZER, G.; DIAZ, E.; GOTTELAND, M. E.; GOTTELAND, M. Effect of the ingestion of a dietary product containing *Lactobacillus johnsonii* La1 on *Helicobacter pylori* colonization in children. **Applied Nutritional Investigation**, v. 19, n. 9, p. 716-721, 2003.
- CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F.; VAN DENDER, A. G. F. Packaging system and probiotic dairy foods. **Food Research International**, v. 40, n. 8, p. 951-956, 2007.
- CRUZ, A.G.: **Tecnologia de Produtos Lácteos Probióticos.** Departamento de **Tecnologia de Alimentos**, Universidade Estadual de Campinas, 2009.
- DAVE, R.I.; SHAH, N.P. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. *Journal of Dairy Science*, v. 81, n. 11, p. 2804-2816, 1998.

- DAVIDSON, R.H.; DUNCAN, S.E.; HACKNEY, C.R.; EIGEL, W.N.; BOLING, J.W. Probiotic culture survival and implications in fermented frozen yogurt characteristics. **J. Dairy Science.**, v.83, p.666-673, 2000.
- DUARTE FILHO, J.; ANTUNES, L.E.C.; PÁDUA, J.G. Cultivares, **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.28, n.236, p. 20-23, 2007.
- EMBRAPA. 2005. Disponível em: <  
<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/SistemaProducaoMorango/cap14.htm>>. Acessado em: 06/12/2011
- FAO/WHO. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Córdoba, Argentina.2001. Disponível em:  
 < <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/009/y6398e.pdf>>. Acessado em: 04/12/2011
- FELIS, G.E.; DELLAGLIO, F.; MIZZI, L.; TORRIANI, S. Comparative sequence analysis of a recA gene fragment brings new evidence for a gange in the taxonomy of the Lactobacillus casei group. **Int.J. Syst. Evol. Microbiol.**, Reading, v.51, p.2113-2117, 2001.
- FELLOWS, P.J.; **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Práticas**, Artemed, 2. ed., p.429–450, 2006.
- FERREIRA, C. L.L.F. **Prebióticos e probióticos: Atualização e prospecção** - Biblioteca Central da UFV- Viçosa, MG, 206p.:il.2003.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF M.; DESTRO, M. T. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996, 182 p.
- FRANK, A.; STEPHEN, A. M., PHILLIPS, G. O., & WILLIAMS, P. A. Inulin. In: Food Polisaccharides and Their Applications. Second edition. **Taylor & Francis Group**, p. 335-349, 2006.
- FULLER, R. A review: probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 66, p. 365-378, 1989.
- GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v. 125, n.6, p. 1401-1412, June 1995.
- GIBSON, G. R.; WILLIS, C. L.; VAN LOO, J. Non-digestible oligosaccharides and bifidobacteria – implications for health. **International Sugar Journal**, v. 96, p. 381-387, 1994.
- GILLIES, D.G.; GREENLEY, K.R.; SUTCLIFFE, L.H. Esr/spin probe study of ice cream. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 14, p. 4943-4947, 2006.

- GOFF, H.D.; JORDAN, W.K. Action of emulsifiers in promoting fat destabilization during the manufacture of ice cream. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.1,p.18-29, 1989.
- GOFF, H.D. Colloidal aspects of ice cream – A review. **International Dairy Journal**, v.7, n.6, p.363-373, 1997.
- GOFF, H.D.; VERESPEJ, E.; SMITH, A.K. A study of fat and air structures in ice cream. **International Dairy Journal**, Barking, v. 9, n. 11, p. 817-829, 1999.
- GOMES, A.M.P., MALCATA, F.X. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas. **Boletim de Biotecnologia**, v.64, p.12-22, 1999a.
- 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, 1999b.
- GONÇALVES, A. A; EBERLE, I.R. Frozen yogurt com bactérias probióticas . **Alim. Nutr.**, Araraquara v.19, n.3, p. 291-297, jul./set. 2008.
- GORBACH, S. L. Probiotics in the third millennium. **Digestive and Liver Disease**, Milan, Italy, v. 34, n. 2, p. 2-7, 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.
- HEALTH AND AGE. **Lactobacillus acidophilus**. 2011. Disponível em: [www.healthandage.com/html/res/com/ConsSupplements/Lactobacillusacidophiluscs.html](http://www.healthandage.com/html/res/com/ConsSupplements/Lactobacillusacidophiluscs.html).
- 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.
- HOLZAPFEL, W.H.; SCHILLINGER, U. Introduction to pre- and probiotics. **Food Res Int.**, Amsterdam, v.35, n.2/3, p.109-116, 2002.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ; **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**, 4. ed., p. 279-320, 2008.
- ITSARANUWAT, P.; AL-HADDAD, K. S. H.; ROBINSON, R. K. The potential therapeutic benefits of consuming 'health-promoting' fermented dairy products: a brief update. **Int. J. Dairy Technol.**, v.56, n.4, p.203-210, 2003.

- 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.
- KANAMORI Y, HASHIZUME K, SUGIYAMA M, MOROTOMI M, YUKI N. Combination therapy with *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus casei*, and galactooligosaccharides dramatically improved the intestinal function in a girl with short bowel syndrome: a novel synbiotics therapy for intestinal failure. **Digestive Diseases and Sciences**, Estados Unidos, v.46, n° 9, p. 2010-2016, 2001.
- KAUR, N.; GUPTA, A.K. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. **J. Biosci.**, Bangalore, v.27, p.703-714, 2002
- KIMURA Y.O. Alimentos Simbióticos. **Revista de Laticínios**, São Paulo, v.7, n° 40, p.22-23, 2002.
- KOMATSU, T.R.; BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n. 3, jul/set., 2008.
- KURMANN, J. A.; RASIC, J. L. The health potential of products containing bifidobacteria. In: ROBINSON, R.K. (Ed.). Therapeutic properties of fermented milk. London: **Elsevier Applied Sciences**. p. 117-158. 1991
- Lactobacillus acidophilus*. Disponível em:  
<<http://cahoney-l-acidophilus.pbworks.com/w/page/6327462/Pictures>>. Acessado em: 06/12/2011
- Lactobacillus paracasei*. Disponível em:  
<[http://www.buyprobiotics.com/Probiotic\\_Gallery.html](http://www.buyprobiotics.com/Probiotic_Gallery.html)>. Acessado em: 06/12/2011
- Lactobacillus rhamnosus*. Disponível em:  
<<http://www.guardian.co.uk/lifeandstyle/2009/oct/06/probiotic-eu-ruling>>. Acessado em: 06/12/2011.
- LANDERSJÖ, C.; YANG Z.; HUTUNNEN E.; WIDMALM G. Structural studies of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus rhamnosus* strain GG (ATCC 53103). **Biomacromolecules**, Washington, USA, v. 3, n. 4, p. 880-884, 2002.
- LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, v. 11, n. 1-2, p. 1-17, 2001.
- MARKETS AND MARKETS, Probiotic Market – Advanced Technologies and Global Market (2009 – 2014). 2011. Disponível em: <<http://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/probiotic-market-advanced-technologies-nd-global-mercado-69.html>>

- MARSHALL, R.T.; ARBUCKLE, W.S. Ice cream. New York: **International Thomson Publishing**, 5ª ed., 349p, 1996.
- MARTEAU, P. R.; VRESE, M.; CELLIER C. J.; SCHREZENMEIR J. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. **American Journal Clinical Nutrition**, v. 73. n. 2, 430s-436s, 2001. Suppl S.
- MÉDICI, M.; VINDEROLA, C. G.; PERDIGÓN, G. Gut mucosal immunomodulation by probiotic fresh cheese. **Int. Dairy J.**, v.14, p.611-618, 2004.
- MENDOZA, E.; GARCÍA, M.L.; CASAS, C.; SELGAS, M.D. Inulin as fat substitute in low fat, dry fermented sausages. **Meat Science**, v.57, p.387-393, 2001
- MENTEN, J. F. M. Probióticos, prebióticos e aditivos fitogênicos na nutrição de aves. In: **Simpósio sobre ingredientes na alimentação animal**, 2., 2002, Uberlândia, MG. Anais... Uberlândia: CBNA, 2002. p. 251-276.
- MIGUEL, D.P.; ROSSI, E.A.; Viabilidade de bactérias ácido lácticas em sorvetes de iogurte durante o período de estocagem, **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.14, n.1, p. 93-96, 2003.
- MININ, V. P. R. **Análise Sensorial – Estudo com consumidores**. Editora UFV: Viçosa. 225p.2006.
- MONTALTO M, Curigliano V, Santoro L, et al. Management and treatment of lactose malabsorption. **World J Gastroenterol** 2006;12:187– 91.
- MONTAN, M., As fibras invisíveis, **Revista Brasil Alimentos**, n 19, v.4, 2003.
- MORAIS, M. B.; JACOB, C. M. A. The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice. **J. Pediatr.**, v. 82, n. 5, 2006
- MORETTI, R.H.; **Elaboração de Sorvetes, Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia**, 2. Ed., p. 1–118, 1979.
- MOSQUIM, M. C. A. **Fabricando sorvete com qualidade**. São Paulo: Varela, 1999. 62p, 120p., 1999.
- NARAIN, N.; FERREIRA, D.S.; ARAGÃO, G.C.; ARAGÃO, W.M. Tecnologia do processamento do fruto. In: silva júnior, j. F.; lédo, a. S. A cultura da mangaba. Aracajú: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, cap. 17, p. 221-232. 2006.
- NEVEN, E. Inulina e oligofrutose – ingredientes multifuncionais para o desenvolvimento de produtos lácteos, **Revista Leite e Derivados**, n. 6, v. 11., 2001.
- NICOLI, J. R.; VIEIRA, L. Q. Probióticos, prebióticos e simbióticos: Moduladores do ecossistema digestivo. **Ciências Hoje**, v. 28, n. 163, p. 34 - 38, 2000.
- NINESS, K. R. Inulin and oligofuctose: what are they? **Journal of Nutrition**, v. 129, n. 7S, p. 1402s-1406s, 1999.



- NITSCHKE, M.; UMBELINO, D. C. Frutooligosacarídeos: novos ingredientes funcionais. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia**, v. 36, n. 1, p. 27-34, 2002.
- NORONHA J. F.; **Análise sensorial** – Metodologia. Escola Superior Agrária de Coimbra, 2003.
- NUNES, M.C.N.; BRECHT, J.K.; SARGENT, S.A. et al. Effects of delays to cooling and wrapping on strawberry quality (cv. Sweet Charlie). **Food Control**, Madrid, v.6, n.6, p.323-328, 1995.
- NUTRINEWS. Sorvete: Um alimento que é uma tentação. 2000. Disponível em: <http://www.nutrinews.com.br/edicoes/0001/mat01.html> Acessado em: 01/12/2011
- OHR, L M. Improving the gut feeling. **FoodTechnology**, Chigaco, IL, v. 56, n. 10, p. 67-70, 2002.
- OLIVEIRA R.A.; PARK K.J.; CHIORATO M.; PARK K.J.B.; NOGUEIRA R.I. Otimização de extração de inulina de raízes de chicória. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.6, n.2, p.131-140, 2004
- ORAFI. 2011. Disponível em: <http://www.orafiti.com>. Acessado em: 06/12/2011
- PEREDA, J.A.O.; RODRÍGUEZ, M.I.C.; ÁLVAREZ, L.F.; SANZ, M.L.G.; MINGUILLÓN, G.D.G.F.; PERALES, L.L.H.; CORTECERO, M.D.S.; **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal**, Artmed, v.2, p. 116–118, 2005.
- PIMENTEL, T.C. Probióticos e Benefícios à saúde. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 4, n. 1, p. 101-107, jan./abr. 2011
- RECHSTEINER M.S. **Desenvolvimento de amidos fosfatados de batata-doce e mandioca e aplicação como substitutos de gordura em sorvetes**. Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP. Botucatu – SP. Dezembro 2009.
- ROBERFROID, M.B. Dietary fiber, inulin and oligofructose: a review comparing their physiological effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 2, p. 103-148, 1993.
- ROBERFROID, M.B. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**. v. 34, Suppl. 2, p. 105-10, 2002.
- ROBINSON, R. K. The potential of inulin as a functional ingredient. **British Food Journal. Bradford.**, v.97, n.4, p.30-32, 1995.
- ROSS, R.P.; DESMOND, C.; STANTON, C. Overcoming the technological hurdles in the development of probiotic foods. **J. Appl. Microbiol.**, v.98, p.1410-1417, 2005.
- SAAD, S.M.I.; Probióticos e prebióticos: o estado da arte, **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 42, n. 1, jan./mar., 2006

- SALMINEN, S.; OUWEHAND, A. C.; ISOLAURI, E. Clinical applications of probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 563-572, 1998.
- SANTOS C.A.A.; COELHO A.F.S.; CARREIRO S.C. Avaliação microbiológica de polpas de frutas congeladas **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 28(4): 913-915, out.-dez. 2008.
- SANTOS E.F.; JACOBUCCI H.B.; QUEIROZ M.M.; DIAS N.F.G.P. Alimentos funcionais. **Revista de Pesquisas Biológicas da UNIFEV**, São Paulo, n° 1, p 13-19, jan./jul.2006.
- SANTOS, G.G.; Sorvete – Processamento, tecnologia e substitutos da sacarose. **Ensaio e Ciência**, v.13, n.2, 2009.
- SCHEINBACH, S. Probiotics: functionality and commercial status. **Biotechnology Advances**, v. 16, n. 3, p. 581-608, 1998.
- SCHREZENMEIR, J.; VRESE, M. Probiotics, prebiotics and synbiotics – approaching a definition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, p. 361s-364s, 2001.
- SHAH, N.P. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 4, p. 894-907, 2000.
- SHAH, N. P. Functional foods from probiotics and prebiotics, *Food Technology*, v. 55, p. 46-53, 2001.
- SHAHIDI, F. Nutraceuticals and functional foods: Whole versus processed foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 9, p. 376-387, 2009.
- SHEENAN, V.M., ROSS, P., FITZGERALD, F. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v.8, n.2, p. 279-284, 2007.
- SILVA, A.F.; DIAS, M.S.C.; MARO, L.A.C. Botânica e fisiologia do morangueiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.28, n.236, p. 7-13, 2007.
- SILVA, L. L.; STAMFORD, T. L. M. Alimentos probióticos: uma revisão. **Higiene Alimentar**, v. 14, n. 68-69, p. 41-50, 2000.
- SILVA, R.F. Use of inulin as a natural texture modifier. **Cereal Foods World**. St. Paul. v.41, n.10, p.792-795, 1996.
- SILVA, S.V. **Desenvolvimento de logurte probiótico com prebiótico**. Dissertação de Mestrado- Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, UFSM, 2007.
- SILVEIRA H.G. ; NETA N.A.S.; PINTO R.S.; RODRIGUES M.C.P.; COSTA J.M.C. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica de sorvetes do tipo tapioca. Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 1, p. 60-65, jan-mar, 2009.

- SOLER, M.P.; VEIGA, P.G. Sorvetes. Campinas: **ITAL/CIAL**. 68 p. (Especial, 1), 2001.
- SOUZA, J.C.B.; COSTA, M.R.; DE RENSIS, C.M.V.B.; SIVIERI, K.; Sorvete: Composição, processamento e viabilidade da adição de probiótico, **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.21, n.1, p. 155-165, jan./mar., 2010.
- STANTON, C.; DESMOND, C.; COAKLEY, M.; COLLINS, J. K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R. P. Challenges facing development of probiotic-containing functional foods. In: FARNWORTH, E. R. (Ed.). **Handbook of fermented functional foods**. Boca Raton: CRC Press. p.27-58, 2003.
- STILES, M. E.; HOLZAPFEL, W. H. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. **Int. J. Food Microbiol.**, v.36, p.1-29, 1997.
- STOGO, M. Ice cream and frozen desserts: a commercial guide to production and marketing. **Danvers: John Wiley and Sons**, Inc, 560p.1998.
- TONELI J.T.C.L; PARK K.J.; MURR F.E.X.; NEGREIROS A.A. Efeito da umidade sobre a microestrutura da inulina em pó. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 28(1): 122-131, jan.-mar. 2008.
- TUNGLAND, B. C. Inulin: A comprehensive scientific review. Disponível em: <[http://members.shaw.ca/duncancrow/inulin\\_review.html](http://members.shaw.ca/duncancrow/inulin_review.html)>. Acesso em: 12 set. 2011
- VAN DENDER, A. G. F.; BOSI, M. G.; CONRADO, P. B. Fibra alimentar e a sua utilização na fabricação de produtos lácteos funcionais. **Leite e Derivados**, São Paulo, v. 14, n. 82, p. 107-115, 2005.
- VAN LOO, J.; COUSSEMENT, P.; LEENHEER, L. DE; HOEBREGS, H.; SMITS, G. On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **Boca Raton**. v.35, n.6, p.525-552, 1995.
- VÁSQUEZ A.; MOLIN G.; PETERSSON B.; ANTONSSON, M.; AHRNE S. DNA-based classification and sequence heterogeneities in the 16S rRNA genes of *Lactobacillus casei/paracasei* and related species. *Syst. Appl. Microbiol.*, v.28, p.430-441, 2005.
- VICENTE, A.M.; CENZANO, I.; VICENTE, J.M. **Manual de indústrias dos alimentos**. São Paulo: Varela, 599p.1996.
- VRESE, M.; STEGELMANN, A.; RICHTER, B.; FENSELAU, S.; LAUE, C.; SCHREZENMEIR. Probiotic – compensation for lactose insufficiency. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 73, n. 2, p. 421s-429s, 2001. Suplemento.
- WALSTRA, P.; JONKMAN, M. Session I: Emulsion and foam stabilization. In: **International Dairy Federation, Ice Cream** – Proceedings of the international Symposium held in Athens. p.17-24, 1998.

YAGINUMA, S.R. Extração e Purificação parcial de inulina a partir de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) por adsorção em resinas de troca iônica. 2007. Disponível em <  
<http://www.ufsc.br/>>. Acessado em: 06/12/2011

## 8. ANEXOS

### ANEXO 1 – Metodologia da análise físico-química de proteínas e lipídeos

- Proteínas: foi determinado pelo método de Kjeldahl, que baseia-se no aquecimento da amostra com ácido sulfúrico para digestão até que o carbono e hidrogênio sejam oxidados. O nitrogênio da proteína é reduzido e transformado em sulfato de amônio. Adiciona-se NaOH concentrado e aquece-se para liberação da amônia dentro do volume conhecido de uma solução de ácido bórico, formando borato de amônio. O borato de amônio formado é dosado com uma solução ácida (HCl) padronizada;
- Lipídeos: foi determinado pelo método de Gerber, que baseia-se na quebra da emulsão do leite pela adição de ácido sulfúrico e álcool isoamílico, na centrifugação e posterior determinação da gordura;

**ANEXO 2 – Metodologia das análises microbiológicas segundo Instrução Normativa nº 62 do MAPA (BRASIL, 2003)**

- Coliformes Totais e termotolerantes: A amostras foram diluídas em tubos com Caldo Lauril Sulfato com tubos de Durhan invertidos e incubados á 35°C entre 24-48 horas. Os tubos positivos foram repicados para o Caldo Bile Verde Brilhante 2% para o teste confirmatório. Para a contagem de coliformes termotolerantes foi utilizado Caldo EC (Caldo *Escherichia coli*) oriundos dos tubos positivos para coliformes totais e estas foram mantidas em banho á 44,5oC entre 24-48 horas.
- *Staphylococcus coagulase positiva*: Foi transferido 0,1 ml da diluição 10<sup>-1</sup> para o centro da placa contendo ágar Baird Parker (Merck - Peptona de caseína 10,0g/L; extrato de carne 5,0g/L; extrato de levedura 1,0 g/L; piruvato de sódio 10,0 g/L; glicina 12,0 g/L; cloreto de lítio 5,0 g/L; agar 15,0 g/L ). Assim foi incubado a 37°C por 24 horas.
- *Salmonella*: foram adicionados 25 g da amostra (pesados assepticamente) a 225 mL de caldo BHI, e depois incubados a 37° C, por 24 horas. Após esse tempo, transferiu-se 1 mL da cultura em caldo BHI para 10 mL de caldo tetracionato e incubou-se em banho a 37°C por 24 h. Assim foi feita uma alçada da cultura obtida em tetracionato em meio *Salmonella Shigella* Agar (SSA) (Biomerieux – extracto de bovino 5,0g/L; hidrolisado pancreático de caseína 2,5g/L; hidrolisado péptico de tecido animal 2,5g/L; lactose 10,0g/L; sais biliares 8,5g/L; citrato de sódio 8,5g/L; tiosulfato de sódio 8,5g/L; citrato férrico 1,0g/L; vermelho neutro 0,025g/L; ágar 13,5g/L; brilliant green 0,330mg/L) e incubou a 37°C por 24 horas.