

Stephanie Silva Pinto

**EFEITO DA ADIÇÃO DE *Bifidobacterium* BB-12  
MICROENCAPSULADA SOBRE AS PROPRIEDADES DE  
FROZEN IOGURTE**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências dos Alimentos.

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Renata Dias de Mello Castanho Amboni

Florianópolis

2012

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária  
da  
Universidade Federal de Santa Catarina

P659e Pinto, Stephanie Silva

Efeito da adição de Bifidobacterium BB-12 microencapsulada sobre as propriedades de frozen iogurte [dissertação] / Stephanie Silva Pinto ; orientadora, Renata Dias de Mello Castanho Amboni. - Florianópolis, SC, 2012.

145 p.: il., grafs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.

Inclui referências

1. Ciência dos alimentos. 2. Iogurte. 3. Probióticos. 4. Microencapsulação. 5. Inulina. 6. Reologia. I. Amboni, Renata Dias de Mello Castanho. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. III. Título.

CDU 663/664

**Stephanie Silva Pinto**

**EFEITO DA ADIÇÃO DE *Bifidobacterium* BB-12  
MICROENCAPSULADA SOBRE AS PROPRIEDADES DE  
FROZEN IOGURTE**

Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Ciência dos Alimentos, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.

Florianópolis, 29 de fevereiro de 2012.

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Roseane Fett  
Coordenadora do Programa

**Banca Examinadora:**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Renata Dias de Mello Castanho Amboni  
Orientadora - UFSC

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Neila Silvia Pereira dos Santos Richards  
UFSC

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marilde Terezinha Bordignon Luiz  
UFSC

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elane Schwinden Prudêncio  
UFSC



*Dedico este trabalho a minha família, em especial aos meus pais (Sergio e Beatriz), por todo apoio, incentivo e por sempre acreditarem em mim e ao Mitchel, pelo amor, paciência, compreensão e companheirismo.*



## **AGRADECIMENTOS**

A DEUS, que me deu força de vontade e saúde para conquistar mais esta etapa.

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, pelo aprendizado e oportunidade de realizar o mestrado.

À professora Dr<sup>a</sup>. Renata Dias de Mello Amboni, pela dedicação, confiança, incentivo e amizade.

As colegas do Laboratório de Leite e Derivados, Gielen, Brunna, Nathalia, Renata Magenis, Carol, Aureana, Ana Tanello, Ana Prudêncio, pela companhia e ajuda. Em especial à Carlise pelos conselhos e grande ajuda durante todas as etapas do trabalho, e à Isabella pelo auxílio nas análises laboratoriais.

À professora Elane, pelas sugestões e colaboração durante o trabalho.

À empresa Amoratto Sorvetes Artesanais e a empresária Rejane Zanotta, que viabilizou a realização desse trabalho. Também as funcionárias Elis, Vera e Sandra, que ajudaram na elaboração do frozen iogurte.

À Prof<sup>a</sup>. Edna e todos do Laboratório de Frutas e Hortaliças pelo carinho e disposição para ajudar nas análises.

Ao Prof. Pedro pelo auxílio nas análises reológicas e de textura.

Ao Prof. Ernani por viabilizar as análises microbiológicas no laboratório de Biotecnologia Alimentar.

Ao Adilson, pela ajuda nas análises estatísticas do questionário e análise sensorial.

Ao Carlão, pelas caronas até a Amoratto.

À banca, por aceitar o convite de participação e pelas contribuições fornecidas.

À Prof<sup>a</sup>. Eliana Furlong, que me incentivou a fazer o mestrado em Ciências dos Alimentos na UFSC.

A todos os professores, funcionários e colegas do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Ao REUNI e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio bolsa.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!



## Resumo

Em uma primeira etapa do trabalho foi avaliado o efeito da adição da bactéria probiótica *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulada por *spray drying*, utilizando diferentes combinações dos agentes encapsulantes leite desnatado reconstituído (LDR) (0, 10 e 20 %) e inulina (0, 10 e 20 %), em frozen iogurte. Foram avaliadas a viabilidade da bactéria probiótica e as propriedades físicas, químicas e reológicas, durante 90 dias de armazenamento do produto à  $-18 \pm 1$  °C. Os frozen iogurtes foram classificados como probióticos, pois apresentaram contagem de células viáveis superior a 6 log UFC/g, mesmo após 90 dias de armazenamento, e a microencapsulação com LDR e inulina melhorou a estabilidade da bifidobactéria no frozen iogurte. A adição das microcápsulas aumentou os valores de *overrun*, e o teor de sólidos totais, entretanto, não modificou a acidez e os tempos de primeiro gotejamento e derretimento total das amostras. O pH diminuiu durante o armazenamento, sendo que as amostras adicionadas de microcápsulas com LDR apresentaram maiores valores de pH. Para descrever o comportamento de fluxo dos frozen iogurtes foram aplicados os modelos Lei da Potência e Casson, sendo que as amostras foram caracterizadas como fluidos não-newtonianos, *shear thinning* e apresentaram área de histerese. A adição das diferentes microcápsulas influenciou as características reológicas do produto durante o armazenamento, principalmente nas amostras com microcápsulas preparadas com inulina. Em uma segunda etapa foi avaliada a aceitabilidade sensorial dos frozen iogurtes, assim como suas características físico-químicas, de cor e de textura. A adição das diferentes microcápsulas alterou o conteúdo de proteínas e cinzas das amostras de frozen iogurte, entretanto, não modificou o conteúdo de lipídios e os parâmetros de cor. A utilização de inulina como agente encapsulante e o aumento de sua concentração nas microcápsulas aumentaram a firmeza e a adesividade das amostras. Através da aplicação de um questionário pode-se verificar que a maioria dos indivíduos considera o frozen iogurte um alimento saudável, porém não costuma consumir este produto frequentemente. As amostras foram sensorialmente aceitas pelos julgadores, os quais relataram que consumiriam as amostras de frozen iogurte probiótico.

*Palavras-chave:* frozen iogurte, probiótico, microencapsulação, inulina, reologia, aceitabilidade sensorial.

## Abstract

In a first stage of the study were evaluated the effect of the addition of probiotic bacteria *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulated by spray drying, using as carrier agents different combinations of reconstituted skimmed milk (RSM) (0, 10 and 20 %) and inulin, in frozen yogurt. The viability of probiotic bacteria, as well as the physical, chemical and rheological properties, were evaluated during 90 days of storage at  $-18 \pm 1$  °C. During storage, the frozen yogurts could be classified as probiotics, since the viable cell counts remained above 6 log UFC/g. Moreover, the microencapsulation with RSM and inulin improved the stability of bifidobacteria in frozen yogurt. The addition of microcapsules increased the total solids content and the overrun values, however, no changes in titratable acidities and on first dripping times and complete melting times of samples. The pH values decreased during storage, and the samples added with microcapsules produced with RSM showed higher pH values. To describe the flow behavior of the frozen yogurts the Power Law and Casson models were applied, and the samples were characterized as non-newtonian and shear thinning fluid with hysteresis area. The addition of different microcapsules affected the rheological characteristics of the product during storage, particularly in samples containing microcapsules prepared with inulin. In a second stage were evaluated the sensory acceptability of frozen yogurts, as well as the physical-chemical, color and texture characteristics. The addition of different microcapsules changed the contents of proteins and ash and of frozen yogurt samples, however, not modified the fat content and the color attributes. The use of as carrier agent and the increase a higher concentration of inulin in the composition of the microcapsules increased the firmness and adhesiveness of samples. Through the questionnaire were verified that the majority of the individuals consider frozen yogurt a healthy food, but, not consume this product frequently. All samples were sensory accepted by the panelists, who reported that would consume the samples of probiotic frozen yogurt.

*Keywords:* frozen yogurt, probiotic, microencapsulation, inulin, rheology, sensorial acceptability.

## Lista de figuras

### Capítulo 1

<b>Figura 1.1</b>	Estrutura química da inulina.	33
<b>Figura 1.2</b>	Esquema do processo de microencapsulação pela técnica de <i>spray drying</i> .	37
<b>Figura 1.3</b>	Curvas de fluxo de alguns tipos de fluidos: (a) newtoniano; (b) dilatante ( <i>shear thickening</i> ); (c) pseudoplástico ( <i>shear thinning</i> ); (d) plástico de Bingham; (e) pseudoplástico com limite de escoamento.	42
<b>Figura 1.4</b>	Curvas de fluxo para fluidos não-newtonianos dependentes do tempo.	44
<b>Figura 1.5</b>	Reômetro rotacional com cilindro concêntrico.	47
<b>Figura 1.6</b>	Analisador de textura TA.XT <i>plus</i> .	50

### Capítulo 2

<b>Figura 2.1</b>	Variação nos valores de pH das amostras de frozen iogurte durante o armazenamento a $-18 \pm 1$ °C.	82
<b>Figura 2.2</b>	Viscosidade <i>versus</i> taxa de deformação das amostras de frozen iogurte no primeiro dia de armazenagem a $-18 \pm 1$ °C.	86
<b>Figura 2.3</b>	Curvas de fluxo, tensão de cisalhamento <i>versus</i> taxa de deformação, para as amostras de frozen iogurtes nos dias 1 (a), 30 (b), 60 (c), e 90 (d) de armazenamento.	91

### Capítulo 3

<b>Figura 3.1</b>	Firmeza das amostras de frozen iogurte obtida através da análise instrumental de textura.	118
<b>Figura 3.2</b>	Adesividade das amostras de frozen iogurte obtida através da análise instrumental de textura.	119
<b>Figura 3.3</b>	Frequência de notas da aceitabilidade dos atributos aroma, sabor, textura e aceitabilidade global das amostras de frozen iogurte, de acordo com escala hedônica de nove pontos “1- Desgostei extremamente, 2 - Desgostei moderadamente, 3 - Desgostei regularmente, 4 - Desgostei ligeiramente, 5 - Indiferente, 6 - Gostei ligeiramente, 7 - Gostei regularmente, 8 - Gostei moderadamente, 9 - Gostei extremamente”.	126

**Figura 3.4** Frequência de notas de intenção de consumo das amostras de frozen iogurte, de acordo com escala de cinco pontos “1 - Certamente não consumiria, 2- Provavelmente não consumiria, 3 – Talvez consumiria / talvez não consumiria, 4 - Provavelmente consumiria, 5 - Certamente consumiria”.

## Lista de tabelas

### Capítulo 1

<b>Tabela 1.1</b>	Composição química (g/100g) de diferentes tipos de frozen iogurte.	26
-------------------	--	----

### Capítulo 2

<b>Tabela 2.1</b>	Valores médios $\pm$ desvio padrão da contagem de células viáveis de <i>Bifidobacterium</i> BB-12 (log UFC/g) nas amostras de frozen iogurte durante 90 dias de armazenamento a $-18 \pm 1$ °C.	80
<b>Tabela 2.2</b>	Valores médios $\pm$ desvio padrão de <i>overrun</i> e propriedades de derretimento das amostras de frozen iogurte.	84
<b>Tabela 2.3</b>	Viscosidade aparente das amostras de frozen iogurte durante 90 dias de armazenamento a $-18 \pm 1$ °C.	88
<b>Tabela 2.4</b>	Parâmetros reológicos obtidos através dos modelos Lei da Potência ( $\sigma = K(\dot{\gamma})^n$ ) e Casson ( $\sigma^{0.5} = \sigma_0^{0.5} + (\eta_c \dot{\gamma})^{0.5}$ ) das amostras de frozen iogurte durante 90 dias de armazenamento a $-18 \pm 1$ °C.	90
<b>Tabela 2.5</b>	Área de histerese das amostras de frozen iogurte durante 90 dias de armazenamento a $-18 \pm 1$ °C.	93

### Capítulo 3

<b>Tabela 3.1</b>	Caracterização físico-química das amostras de frozen iogurte.	115
<b>Tabela 3.2</b>	Parâmetros de cor das amostras de frozen iogurte.	116
<b>Tabela 3.3</b>	Características sociodemográficas dos consumidores que participaram da pesquisa.	120
<b>Tabela 3.4</b>	Frequência de consumo de iogurte, sorvete e frozen iogurte dos consumidores que participaram da pesquisa.	122
<b>Tabela 3.5</b>	Atitude dos participantes do estudo frente às afirmativas de que iogurtes, sorvetes e frozen iogurte são alimentos saudáveis.	123

## Sumário

<b>Introdução</b>	17
Referências Bibliográficas	19
<b>Capítulo 1 – Revisão Bibliográfica</b>	23
1. Revisão Bibliográfica	25
1.1 Frozen iogurte	25
1.2 Probióticos	28
1.3 Prebióticos	31
1.4 Microencapsulação	34
1.4.1 Agentes encapsulantes	38
1.5 Análise reológica	40
1.6 Análise instrumental de textura	48
1.7 Análise sensorial	51
Referências Bibliográficas	54
<b>Capítulo 2 - Efeito da adição de <i>Bifidobacterium</i> BB-12 microencapsulada nas propriedades físicas, químicas e reológicas de frozen iogurte durante o armazenamento</b>	67
Resumo	69
Abstract	70
1. Introdução	71
2. Material e Métodos	73
2.1 Material	73
2.2 Preparo da suspensão de células	74
2.3 Microencapsulação pela técnica de <i>spray drying</i>	74
2.3.1 Preparo das soluções de alimentação	74
2.3.2 Microencapsulação	74
2.4 Elaboração do frozen iogurte probiótico	75
2.5 Enumeração de bifidobactéria	76
2.6 Análises físico-químicas	77
2.7 Medidas físicas	77
2.7.1 Determinação da incorporação de ar ( <i>overrun</i> )	77
2.7.2 Propriedades de derretimento	77
2.7.3 Medidas Reológicas	78
2.8 Análise estatística	79
3. Resultados e Discussão	79
3.1 Enumeração de bifidobactéria	79

3.2 Análises físico-químicas	81
3.3 <i>Overrun</i> e propriedades de derretimento	81
3.4 Medidas reológicas	85
4. Conclusão	93
Referências Bibliográficas	94
<b>Capítulo 3 - Influência da adição de <i>Bifidobacterium</i> BB-12 microencapsulada nas características físicas, químicas e aceitabilidade sensorial de frozen iogurte</b>	101
Resumo	103
Abstract	104
1. Introdução	105
2. Material e métodos	106
2.1 Material	106
2.2 Preparo da suspensão de células	107
2.3 Microencapsulação pela técnica de <i>spray drying</i>	107
2.3.1 Preparo das soluções de alimentação	107
2.3.2 Microencapsulação	108
2.4 Elaboração do frozen iogurte probiótico	108
2.5 Análises microbiológicas	109
2.6 Análises físico-químicas	110
2.7 Análise de cor	110
2.8 Análise instrumental de textura	111
2.9 Análise sensorial	111
2.10 Análise estatística	113
3. Resultados e Discussão	113
3.1 Análises microbiológicas	113
3.2 Análises físico-químicas	114
3.3 Análise de cor	116
3.4 Análise instrumental de textura	117
3.5 Análise sensorial	120
3.5.1 Questionário	120
3.5.2 Teste de aceitabilidade e intenção de consumo	124
4. Conclusão	127
Referências Bibliográficas	128
<b>Conclusões</b>	135

<b>Apêndice A</b> - Questionário para avaliação conhecimento e a atitude com relação ao consumo de frozen iogurte e produtos similares	137
<b>Apêndice B</b> – Ficha para avaliação sensorial da aceitabilidade e intenção de consumo das amostras de frozen iogurte.	140
<b>Anexo A</b> – Trabalhos parciais apresentados em eventos	143
<b>Anexo B</b> – Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC	145



## Introdução

Nas últimas décadas, a demanda no consumo de produtos alimentícios tem mudado consideravelmente. Os consumidores, cada vez mais, têm procurado alimentos que contribuam diretamente com a sua saúde, preocupando-se não somente com a obtenção de nutriente, mas também com a prevenção de enfermidades e promoção do bem estar físico e mental (SIRÓ et al., 2008). Neste contexto, os alimentos funcionais, como probióticos e prebióticos desempenham papel de destaque.

Probióticos são micro-organismos viáveis, que quando ingeridos em quantidades apropriadas, conferem um ou mais benefícios específicos a saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001). Os micro-organismos probióticos mais empregados em produtos alimentícios são pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (GOMES; MALCATA, 1999; RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010).

As sobremesas lácteas congeladas, como o frozen iogurte têm sido consideradas apropriadas para incorporação de culturas probióticas (DAVIDSON et al., 2000; GONÇALVES; EBERLE, 2008; ALVES et al., 2009). Contudo, a viabilidade e a estabilidade de probióticos nesses alimentos têm se mostrado como um desafio tecnológico, uma vez que estes micro-organismos apresentam sensibilidade a determinados fatores como elevados níveis de oxigênio, pH, acidez, tempo e temperatura de estocagem (AKIN; AKIN; KIRMACI, 2007; ANAL; SINGH, 2007). Métodos de microencapsulação têm sido aplicados com o intuito de melhorar a sobrevivência desses micro-organismos durante o processamento e a estocagem do alimento, e também durante a

passagem através do trato gastrointestinal (DING; SHAH, 2009). A técnica de *spray drying* está entre as mais utilizadas por apresentar altas taxas de produção, baixo custo de operação e poder ser aplicada em escala industrial (CORCORAN et al., 2004).

Bactérias probióticas podem ser encapsuladas empregando diferentes materiais como agentes encapsulantes, que incluem proteínas do leite e carboidratos complexos, incluindo prebióticos (ROSS et al., 2005; ROKKA; RANTAMAKI, 2010). Prebióticos, como a inulina, apresentam potencial para serem utilizados como agentes encapsulantes, podendo melhorar a sobrevivência destes micro-organismos (CORCORAN et al., 2004), uma vez que tem a capacidade de estimular seletivamente a multiplicação e/ou atividade dessas bactérias (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

A viabilidade de probióticos (*Lactobacillus casei* (Lc-01) e *Bifidobacterium lactis* (Bb-12) ) aplicados em sorvetes na forma livre e microencapsulada pela técnica de emulsão já foi comprovada em estudos realizados por Homayouni et al. (2008). Porém, pesquisas envolvendo a aplicação da cultura probiótica *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulada pela técnica de *spray drying*, utilizando leite desnatado reconstituído e inulina como agentes encapsulantes, em frozen iogurte ainda não foram relatadas. Além disso, o estudo das propriedades microbiológicas, físicas, químicas, além da aceitabilidade sensorial é importante para a caracterização do produto obtido.

O trabalho será apresentado na forma de artigos, dividido nos seguintes capítulos:

(a) Capítulo 1: embasamento bibliográfico abordando os principais temas envolvidos no trabalho: frozen iogurte, probióticos, prebióticos, microencapsulação, agentes encapsulantes, análise reológica, análise instrumental de textura e análise sensorial.

(b) Capítulo 2: efeito da adição de *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulada nas propriedades físicas, químicas e reológicas de frozen iogurte, cujo objetivo foi avaliar o efeito da adição de *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulada com diferentes concentrações de leite desnatado reconstituído e inulina, como agentes encapsulantes, nas propriedades microbiológicas, físicas, químicas e reológicas de frozen iogurte, durante 90 dias de armazenamento a  $-18 \pm 1$  °C.

(c) Capítulo 3: influencia da adição de *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulada nas características físicas e químicas e aceitabilidade sensorial de frozen iogurte, cujo objetivo foi avaliar a influência da adição da bactéria probiótica *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulada com diferentes concentrações de leite desnatado reconstituído e inulina nas características físicas, químicas e aceitabilidade sensorial de frozen iogurte.

## Referências Bibliográficas

AKIN, M.B.; AKIN, M.S.; KIRMACI, Z. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yoghurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. **Food Chemistry**, v. 104, p. 93-99, 2007.

ALVES, L.L.; RICHARDS, N.S.P.S.; BECKER, L.V.; ANDRADE, D.F.; MILANI, L.I.G.; REZER, A.P.S.; SCIPIONI, G.C. Avaliação sensorial e caracterização de frozen yogurt de leite de cabra com adição de cultura probiótica e prebiótico. **Ciência Rural**, v. 39, p. 2595-2600, 2009.

ANAL, A.K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Food Science and Technology**, v. 18, p. 240 - 251, 2007.

CORCORAN, B.M.; ROSS, R.P.; FITZGERALDS, G.F.; STANTON, C. Comparative survival of probiotic lactobacilli spray-dried in the presence of prebiotic substances. **Journal of Applied Microbiology**, v. 96, p. 1024–1039, 2004.

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. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.666-673, 2000.

DING, W.K.; SHAH, N.P. Effect of Various Encapsulating Materials on the Stability of Probiotic Bacteria. **Food Microbiology and Safety**, v. 74, p. 100-109, 2009.

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, 2001. 34p. Disponível em: [http://www.who.int/foodsafety/publications/fs\\_management/en/probiotics.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf). Acesso em 16 setembro de 2011.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v. 125, p.1401–1412, 1995.

GOMES, A.M.P.; MALCATA, F.X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science and Technology**, v.10, p. 139–157, 1999.

GONÇALVES, A.A.; EBERLE, I.R. Frozen yogurt com bactérias probióticas. **Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v.19, n.3, p. 291-297, 2008.

HOMAYOUNI, A.; AZIZI, A., EHSANI, M.R.; YARMAND, M.S.; RAZAVI, S.H. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. **Food Chemistry**, v. 111, p. 50–55, 2008a.

RANADHEERA, R.D.C.S; BAINEES S.K.; ADAMS M.C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, v. 43, p.1–7, 2010.

ROKKA, S.; RANTAMAKI, P. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. **European Food Research and Technology**, v. 231, n. 1, p. 1-12, 2010.

ROSSA, P.N.; SÁ, E.M.F.; BURIN, V. M.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Optimization of microbial transglutaminase activity in ice cream using response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 29-34, 2011.

SIRÓ, I.; KÁPOLNA, E.; KÁPOLNA, B.; LUGASI, A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance - A review. **Appetite**, v. 51, p. 456–467, 2008.



**Capítulo 1**  
**Revisão Bibliográfica**





## 1. Revisão Bibliográfica

### 1.1 Frozen iogurte

O frozen iogurte, também conhecido como sorvete de iogurte, foi lançado no mercado em meados da década de 70, sendo apresentado como uma nova opção de produto lácteo. Este alimento se tornou popular em diversos países, uma vez que combina as características físicas do sorvete com as propriedades sensoriais e nutricionais do iogurte (MARSHALL; GOFF; HARTEL, 2003; MIGUEL; ROSSI, 2003). Pelo fato de apresentar um baixo pH, possui como característica um sabor ácido acentuado em relação aos sorvetes tradicionais (MIGUEL; ROSSI, 2003).

A legislação brasileira classifica o frozen iogurte como um gelado comestível e o define como produto obtido basicamente de leite, submetido à fermentação láctea através da ação de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, ou a partir de iogurte com ou sem adição de outras substâncias alimentícias, sendo posteriormente aerado e congelado (BRASIL, 2000). Além disso, a legislação estabelece que o frozen iogurte deve conter em sua composição no mínimo 70 % de iogurte, 26 % de sólidos totais, 2,5 % de gordura de origem láctea e 2,5 % de proteínas do leite.

Os ingredientes utilizados na fabricação de sorvete são também empregados na produção de frozen iogurte (SOUKOULIS; TZIA, 2008). Dessa forma, os componentes de maior importância na formulação do frozen iogurte também incluem gordura, sólidos não gordurosos do leite, açúcares, estabilizantes e emulsificantes

(MARSHALL; GOFF; HARTEL, 2003). Segundo Tamime e Robinson (2000) o frozen iogurte pode ser classificado em três principais categorias, *soft*, *hard* ou *mousse*. Estes autores sugerem uma composição química aproximada para os diferentes tipos de frozen iogurte, as quais estão apresentadas na Tabela 1.1.

**Tabela 1.1:** Composição química (g/100g) de diferentes tipos de frozen iogurte.

Ingredientes	Frozen iogurte		
	<i>Soft</i>	<i>Hard</i>	<i>Mousse</i>
Gordura	2-6	2-6	3
Sólidos não gordurosos do leite	5-10	5-14	12
Açúcar	8-20	8-16	8
Estabilizante/Emulsificantes	0,2-1,0	0,2-1,0	2,4
% incorporação de ar ( <i>overrun</i> )	50-60	70-80	90

Fonte: Tamime e Robinson (2000).

De maneira geral, as operações envolvidas na produção de frozen iogurte são semelhantes àquelas empregadas na fabricação de sorvetes. Tais operações compreendem as etapas de mistura dos ingredientes, pasteurização, homogeneização, resfriamento, maturação, congelamento, envase e armazenamento (GOFF, 1997; ORDÓÑEZ et al., 2005). Entretanto, algumas modificações são necessárias uma vez que o frozen iogurte é submetido à fermentação láctea ou adicionado de iogurte. Dessa forma, o frozen iogurte pode ser obtido através de duas técnicas básicas de produção, denominadas acidificação direta e acidificação indireta. Na técnica de acidificação direta, uma mistura de sorvete base é inoculada com culturas ácido lácticas, incubada por um período de 12-18 horas, resfriada, simultaneamente congelada e batida, e

por fim, armazenada sob congelamento. Já a técnica de acidificação indireta envolve a produção de dois produtos base, uma mistura de sorvete e uma de iogurte. Tais produtos são combinados nas proporções desejadas, de acordo com a porcentagem de iogurte requerida. As etapas posteriores compreendem batimento/congelamento e estocagem (SOUKOULIS; CONSTANTINA, 2008).

Durante a fabricação de frozen iogurte, o ar incorporado na etapa de batimento fornece ao produto uma textura suave e influencia suas propriedades de derretimento e firmeza (SOFJAN; HARTEL, 2004). Em vista disso, a medida da quantidade ar incorporada durante as etapas de batimento e congelamento (*overrun*) deve ser avaliada e pode ser empregada para caracterizar este produto (ARBUCKLE, 1986; AKIN; AKIN; KIRMACI, 2007; SOUKOULIS; RONTOGIANNI; TZIA, 2010; REZAEI et al., 2011).

O interesse no consumo de frozen iogurte está relacionado, principalmente, com as propriedades nutricionais atribuídas a este produto (DAVIDSON et al., 2000). Além disso, o frozen iogurte mostra-se como uma alternativa ao consumo de sorvete (10 – 16 %) para pessoas que sofrem de obesidade, doenças cardiovasculares, e intolerância à lactose, devido ao seu baixo conteúdo de gordura (3,5 – 6 %) e reduzido teor de lactose, o qual depende do tipo e duração do processo fermentativo (MARSHALL; GOFF; HARTEL, 2003). Aliado ao baixo conteúdo de gordura, a adição de ingredientes funcionais, como probióticos e prebióticos, em frozen iogurte pode fornecer benefícios adicionais à saúde, além de ampliar seu apelo de alimento saudável e nutritivo.

## 1.2 Probióticos

Probióticos são micro-organismos viáveis, que quando ingeridos em quantidades apropriadas, conferem um ou mais benefícios específicos a saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001). Estes micro-organismos auxiliam na proteção do organismo humano contra infecções, uma vez que são capazes de melhorar o equilíbrio da microbiota do trato gastrointestinal (SANDERS, 2003). A ingestão de culturas probióticas pode proporcionar uma série de potenciais benefícios à saúde, dentre eles, a manutenção da microbiota do trato gastrointestinal, a proteção contra patógenos gastrointestinais, o melhoramento do sistema imunológico, a redução da intolerância a lactose, o alívio da constipação, a redução dos níveis de colesterol séricos e da pressão arterial, atividade anticarcinogênica e antimutagênica, e o melhoramento da utilização de nutrientes (SHAH, 2007; RANADHEERA; BAINEES; ADAMS, 2010).

Vários mecanismos de ação têm sido propostos para explicar os efeitos benéficos dos probióticos. Tais mecanismos ainda não foram completamente elucidados, entretanto, podem envolver a modificação do pH intestinal, ação contra patógenos através da produção de compostos antimicrobianos, competição por sítios de adesão, nutrientes e fatores de crescimento, estímulo das células do sistema imunológico e produção de lactase (COLLADO et al., 2009). Contudo, é importante salientar que os efeitos benéficos à saúde atribuídos a ingestão de probióticos, assim como seu mecanismo de atuação no organismo são dependentes do tipo de cepa (BURGAIN et al., 2011).

Os micro-organismos probióticos mais empregados em produtos alimentícios são pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (GOMES; MALCATA, 1999; ROKKA; RANTAMAKI, 2010; MOHAMMADI et al., 2011). Estes gêneros têm sido isolados de todas as porções do trato gastrointestinal de humanos saudáveis, sendo que o local de preferência para colonização intestinal dos lactobacilos e bifidobactérias são, respectivamente, o íleo terminal e o cólon (BIELECKA; BIEDRZYCKA; MAJKOWSKA, 2002). As espécies mais frequentemente empregadas como probióticos são *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium adolescentis*, entre outras (RANADHEERA; BAINEES; ADAMS, 2010).

Na produção de um alimento probiótico é fundamental que o micro-organismo possa ser cultivado em escala industrial e que o produto apresente vida média satisfatória e propriedades sensoriais aceitáveis (FARIA; BENEDET; GUERROUE, 2006). Entretanto, para desempenhar um efeito terapêutico no organismo a ingestão diária mínima recomendada de bactérias probióticas deve estar situada entre  $10^8$  e  $10^9$  células viáveis, as quais poderiam ser alcançadas com o consumo diário de pelo menos 100 g de um produto contendo entre  $10^6$  e  $10^7$  células viáveis por g (BOYLSTON et al., 2004). No Brasil, a legislação vigente estabelece que a quantidade mínima de células viáveis probióticas deve estar entre  $10^8$  e  $10^9$  UFC na recomendação

diária do produto pronto para o consumo e que esta quantidade seja declarada no rótulo do alimento (BRASIL, 2012).

O conteúdo de gordura, concentração e tipo de proteínas, açúcares e o pH do produto são alguns dos fatores que podem afetar a sobrevivência de probióticos nos alimentos. Em vista disso, os produtos lácteos são considerados, dentre outros alimentos, os suportes adequados para que as bactérias probióticas alcancem o trato gastrointestinal humano (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010). Diversos trabalhos têm evidenciado a aplicação de culturas probióticas em derivados lácteos. Gueimonde et al. (2004) avaliaram a viabilidade e a diversidade de culturas probióticas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* utilizadas em leites fermentados comerciais. Korbekandi et al. (2008) produziram um iogurte probiótico contendo *Lactobacillus casei* ssp. *Casei*, e analisaram a pós-acidificação, a viabilidade desta cultura e as características sensoriais do produto. Fritzen-Freire et al. (2010a) avaliaram a influência da incorporação de *Bifidobacterium* Bb-12 e ácido láctico nas propriedades de queijo Minas Frescal durante o armazenamento.

Além de bebidas lácteas fermentadas, iogurtes e queijos, sobremesas lácteas congeladas como sorvetes e frozen iogurte também têm sido utilizadas para incorporação de culturas probióticas à dieta (DAVIDSON et al., 2000; MAGARIÑOS et al., 2007; GONÇALVES; EBERLE, 2008; ALVES et al., 2009; TURGUT; CAKMAKCI, 2009; AL-SALEH; METWALLI; ISMAIL, 2011). Contudo, a manutenção da viabilidade de probióticos em alimentos mostra-se como um desafio tecnológico, principalmente naqueles que apresentam vida útil prolongada, como é o caso do frozen iogurte. Segundo Davidson et al.

(2000), a diminuição da viabilidade de bactérias probióticas em amostras de frozen iogurte ocorre, principalmente, devido à acidez do produto. Além disso, pesquisas revelam que embora as contagens de células probióticas tendam a diminuir durante o armazenamento, outros fatores como o efeito da operação de congelamento sobre a parede celular das bactérias e o excesso de oxigênio incorporado no batimento também estão associados à perda da viabilidade desses microorganismos (HOMAYOUNI et al., 2008a; AKIN; AKIN; KIRMACI, 2007; MOHAMMADI et al., 2011).

Consequentemente, a demanda industrial por tecnologias que garantam a estabilidade de probióticos em alimentos continua intensa, uma vez que uma alta sobrevivência é importante para que o alimento exerça efeito benéfico sobre a saúde (DOLEYRES; LACROIX, 2005). Dessa forma, métodos de microencapsulação têm sido aplicados com o intuito de aumentar a viabilidade de bactérias probióticas durante o processamento e armazenamento do alimento, e também durante a passagem através do trato gastrointestinal (DING; SHAH, 2009).

### **1.3 Prebióticos**

Prebióticos foram originalmente definidos por Gibson e Roberfroid (1995) como componentes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro, por estimularem seletivamente a proliferação ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon. No entanto, outra relato de Gibson et al. (2004) define prebiótico como um ingrediente seletivamente fermentado que confere mudanças

específicas na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal, proporcionando benefícios para a saúde e bem estar do hospedeiro.

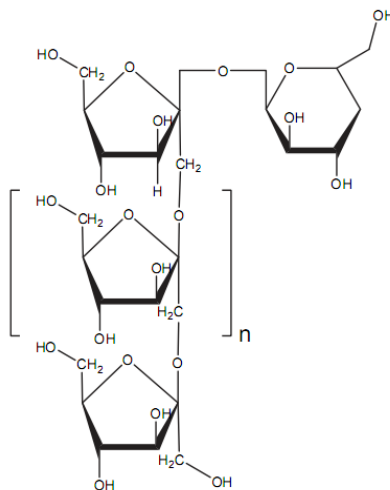
De acordo com Gibson et al. (2004), para que um ingrediente possa ser considerado prebiótico deve haver comprovação de que este ingrediente resiste à acidez gástrica, hidrólise por enzimas proveniente de mamíferos e a absorção gastrointestinal; é fermentado pela microbiota gastrointestinal; e estimula seletivamente o crescimento e/ou atividade das bactérias do trato gastrointestinal associadas à saúde e ao bem estar.

Os prebióticos mais comumente empregados incluem a inulina, trans-galacto-oligosacarídeos (TOS), lactulose, isomalto-oligosacarídeos (IMO), xilo-oligosacarídeos (XOS), oligossacarídeos da soja (SOS), glico-oligosacarídeos e fruto-oligosacarídeos (FOS) (MACFARLANE; STEED; MACFARLANE, 2008; WANG, 2009). No entanto, a inulina está entre os prebióticos de maior aplicação em alimentos (AKIN; AKIN; KIRMACI, 2007; CARDARELLI et al. 2008; BURITI; CASTRO; SAAD, 2010; OLIVEIRA et al. 2011).

A inulina, bem como sua forma mais curta, a oligofrutose, são polissacarídeos não digeríveis (frutanos) que ocorrem naturalmente em diversas plantas (alho, cebola, trigo, chicória, alcachofra e banana) como carboidratos de reserva (BOSSCHER, 2009). Apresenta estrutura química composta por ligações do tipo  $\beta$  (2 $\rightarrow$ 1) entre unidades de frutose, podendo apresentar uma unidade de glicose no final da cadeia (CARABIN; FLAMM, 1999) e seu grau de polimerização (número de unidades de monossacarídeos) varia entre 10 e 60 (BIEDRZYCKA;



BIELECKA, 2004). A estrutura química da inulina pode ser observada na Figura 1.1.



**Figura 1.1:** Estrutura química da inulina.

Fonte: De Vos et al. (2010)

A inulina é industrialmente extraída das raízes chicória e está disponível como um pó branco e inodoro. Apresenta solubilidade moderada em água (10 % em temperatura ambiente), o que a torna conveniente para incorporação em alimentos líquidos, e sabor neutro ou levemente adocicado (menos de 10 % de relação à sacarose), dependendo do comprimento da cadeia (BOSSCHER, 2009; CHARALAMPOPOULOS; RASTALL, 2012). A inulina é amplamente aplicada na indústria de alimentos como substituto de gordura, pois apresenta capacidade de se ligar a moléculas de água e formar uma rede de gel, resultando em uma textura suave e cremosa (FRANCK, 2002; KAUR; GUPTA, 2002). Devido a essas propriedades, a inulina é empregada principalmente em laticínios, incluindo leites fermentados,

iogurtes, queijos e sobremesas congeladas (CHARALAMPOPOULOS; RASTALL, 2012).

Prebióticos também têm sido utilizados como agentes encapsulantes na microencapsulação de probióticos (CORCORAN et al., 2004; ANANTA et al., 2005; CHEN et al., 2005; FRITZEN-FREIRE et al., 2012). De acordo com Corcoran et al. (2004) prebióticos apresentam potencial para serem empregados como agentes encapsulantes, podendo melhorar a sobrevivência de probióticos microencapsulados pelo processo de *spray drying*. Além disso, segundo Chen et al. (2005), a utilização de prebióticos como material encapsulante pode fornecer uma maior proteção aos probióticos no alimento e eventualmente no trato gastrointestinal, devido a sinergia que existe entre probióticos e prebióticos.

#### **1.4 Microencapsulação**

A tecnologia de microencapsulação é definida como o processo de empacotamento de materiais sólidos, líquidos ou gasosos em cápsulas extremamente pequenas, as quais podem liberar seus conteúdos de maneira controlada e sob a influência de condições específicas. As microcápsulas são constituídas por uma membrana semipermeável, esférica, fina e resistente que envolve um centro sólido/líquido (ANAL; SINGH, 2007). Essa tecnologia vem sendo empregada com êxito na indústria de cosméticos, farmacêutica e alimentícia (FÁVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

Na indústria de alimentos, a microencapsulação pode ser empregada com diversas finalidades, entre elas, transformar um líquido em um sólido, a fim de facilitar a manipulação; separar materiais

reativos; promover liberação controlada do material ativo encapsulado; controlar reações de oxidação; mascarar sabores, cores e odores de determinados componentes; estender a vida útil; e proteger contra a luz, umidade e perda nutricional dos componentes (ANAL; SINGH, 2007; FÁVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008).

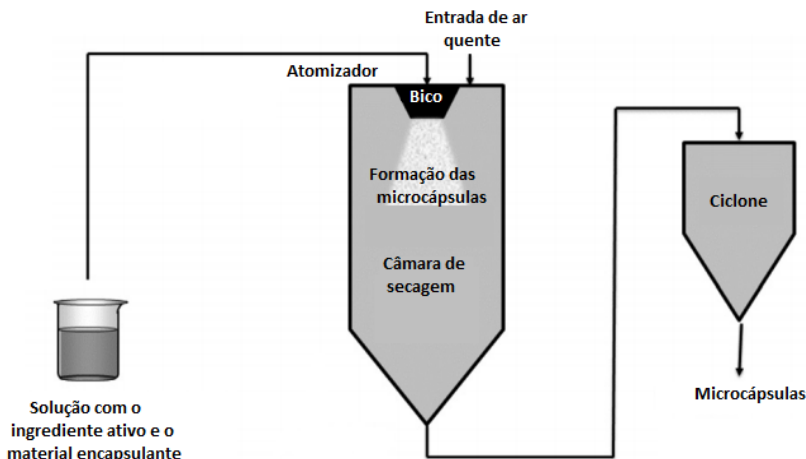
Os materiais que podem ser encapsulados para aplicação na indústria alimentícia incluem proteínas, lipídeos, carboidratos, ácidos, bases, vitaminas, polifenóis, enzimas e micro-organismos probióticos (FÁVARO-TRINDADE; PINHO; ROCHA, 2008; DE VOS et al., 2010; NAZARRO et al., 2011).

A microencapsulação de culturas probióticas tem sido realizada com a finalidade de proteger as células bacterianas contra danos causados pelo ambiente externo (DING; SHAH, 2009), auxiliando na resistência do micro-organismo ao processamento do alimento, baixas temperaturas de armazenagem, presença de oxigênio (HOMAYOUNI et al., 2008a), acidez (KAILASAPATHY et al., 2006), tempo de estocagem (PICOT; LACROIX et al., 2004; GONZÁLEZ-SÁNCHEZ et al., 2011), e condições do trato gastrointestinal (HOMAYOUNI et al., 2008b). Probióticos microencapsulados têm sido aplicados em produtos lácteos, tais como iogurte (PICOT; LACROIX et al., 2004; KAILASAPATHY et al., 2006; BRINQUES; AYUB et al., 2011), queijos (ÖZER; UZUN; KIRMACI, 2008; GONZÁLEZ-SÁNCHEZ et al., 2011) e sorvetes (HOMAYOUNI et al., 2008a).

Várias técnicas têm sido empregadas na microencapsulação de bactérias probióticas, tais como *spray drying*, emulsificação, extrusão e liofilização (ROKKA; RANTAMÄKI, 2010; SEMYONOV et al., 2010). A técnica de *spray drying* está entre as mais utilizadas por

apresentar altas taxas de produção, baixo custo de operação e poder ser aplicada em escala industrial (CORCORAN et al., 2004; BURGAIN et al., 2011).

O *spray drying* é uma operação unitária na qual um líquido é atomizado por uma corrente de ar quente e, instantaneamente, é transformado em pó. O líquido a ser pulverizado no *spray dryer* pode ser uma solução, uma emulsão ou uma suspensão (GHARSALLAOUI et al., 2007). O princípio da técnica de *spray drying* consiste em dissolver o material ativo em uma solução contendo o agente encapsulante escolhido. A solução é subseqüentemente pulverizada no equipamento e atomizada pelo contato com uma corrente de ar quente, o que promove a rápida remoção do solvente (água). Após, as microcápsulas são arrastadas pelo ar até o ciclone e recolhidas na parte inferior (DE VOS et al., 2010). Dependendo do material utilizado na alimentação e das condições de operação, o *spray drying* pode produzir um pó fino, com tamanho entre 10 e 50  $\mu\text{m}$  ou partículas com tamanhos maiores, entre 2 e 3 mm (GHARSALLAOUI et al., 2007). A Figura 1.2 apresenta um esquema de como ocorre a microencapsulação pela técnica de *spray drying*.



**Figura 1.2:** Esquema do processo de microencapsulação pela técnica de *spray drying*.

Fonte: adaptado de Burgain et al. (2011).

No entanto, as altas temperaturas requeridas para facilitar a evaporação da água no *spray dryer* podem causar uma diminuição na viabilidade das bactérias probióticas e reduzir sua atividade no produto final (NAZARRO et al., 2011). Devido a este fato, diversas pesquisas têm focado o estudo da viabilidade de bactérias probióticas submetidas ao processo de *spray drying* (FÁVARO-TRINDADE; GROSSO, 2002; LIAN; HSIAO; CHOU, 2002; CORCORAN et al., 2004; ANANTA; VOLKERT; KNORR, 2005; RODRÍGUEZ-HUEZO et al., 2007; FRITZEN-FREIRE et al., 2012). Tais estudos demonstraram que a sobrevivência de células probióticas após a operação de *spray drying* está relacionada com a espécie e a cepa da cultura, com as condições de secagem e também com o tipo de agente encapsulante empregado. Além disso, fatores como a concentração do agente encapsulante, tamanho da

partícula, contagem inicial de células e tipo de bactéria, devem ser considerados (BURGAIN et al., 2011).

#### 1.4.1 Agentes encapsulantes

Os materiais mais comumente utilizados na encapsulação de probióticos incluem polissacarídeos provenientes de algas (k-carragena, alginato), plantas (amido e seus derivados, goma arábica) ou bactérias (gelana, xantana) e proteínas de origem animal (leite, gelatina) (ROKKA; RANTAMÄKI, 2010). No entanto, outros agentes encapsulantes como o leite desnatado reconstituído (LDR) e prebióticos, também têm sido empregados.

O LDR tem mostrado efeito na melhoria da sobrevivência de micro-organismos em processos de desidratação, particularmente no processo de *spray drying* (FU; CHEN, 2011). Lian, Hsiao e Chou (2002) avaliaram a sobrevivência de diferentes cepas de bifidobactéria submetidas ao processo de *spray drying* utilizando gelatina, goma arábica, amido solúvel e LDR como agentes encapsulantes e verificaram que a utilização de 10 % de LDR permitiu a obtenção de maiores porcentagens de sobrevivência das bifidobactérias. Além disso, a redução da sobrevivência causada pelo aumento da temperatura de saída do equipamento foi menos pronunciada quando se utilizou LDR como agente encapsulante.

Segundo Meng et al. (2008) a eficácia da utilização de LDR como agente encapsulante pode estar relacionada com as proteínas do leite, as quais podem prevenir lesões celulares através da estabilização dos constituintes da membrana celular. Por outro lado, Fu e Chen (2011)

sugerem que o efeito protetor do LDR como agente encapsulante pode estar associado com a lactose do LDR, a qual interage com a membrana celular das bactérias, ajudando a manter sua integridade, de maneira similar ao que ocorre com dissacarídeos não-redutores, como a trealose e a sacarose. Este mecanismo, no entanto, não foi completamente explicado, uma vez que o efeito da lactose, um dissacarídeo redutor, na manutenção da integridade da membrana celular é duvidoso.

Prebióticos, como fruto-oligossacarídeos (FOS), polidextrose e inulina têm sido aplicados como agentes encapsulantes de probióticos (CORCORAN et al., 2004; ANANTA et al., 2005; CHEN et al., 2005; FRITZEN-FREIRE et al., 2012). Corcoran et al. (2004) investigaram a viabilidade de lactobacilos probióticos microencapsulados por *spray drying* utilizando diferentes combinações de LDR e prebióticos (polidextrose e inulina) como agentes encapsulantes durante 8 semanas de estocagem. Os resultados demonstraram que o emprego de 10 % de inulina na solução de alimentação conduziu a maior sobrevivência das bactérias do que a utilização de 20 % de inulina. Entretanto, o uso de polidextrose e inulina como agentes encapsulantes não aumentou a viabilidade das bactérias durante a estocagem.

Chen et al. (2005) estudaram a microencapsulação de diferentes probióticos utilizando prebióticos (FOS e IMO), um peptídeo, e alginato como agente encapsulantes e verificaram que o emprego de 1 % de alginato, 1 % de peptídeo e 3 % de FOS resultou em uma maior sobrevivência dos probióticos. Além disso, os resultados demonstraram que a adição de prebióticos às cápsulas de alginato forneceu maior proteção para os micro-organismos durante a estocagem.

Fritzen-Freire et al. (2012) avaliaram o efeito da substituição parcial de LDR com prebióticos (inulina, oligofrutose, e inulina enriquecida com oligofrutose) na viabilidade de *Bifidobacterium* BB-12, microencapsulada pela técnica de *spray drying*, durante 180 dias de estocagem. Foi observado que a substituição parcial do LDR por oligofrutose enriquecida com inulina aumentou a contagem inicial de bifidobactérias nas microcápsulas e que as microcápsulas produzidas com oligofrutose e inulina enriquecida com oligofrutose ofereceram melhor proteção para as bactérias durante a estocagem.

De acordo com De Vos et al. (2010), o fato da inulina não ser facilmente hidrolisada a qualifica como um material encapsulante para ser utilizado em microcápsulas que necessitam alcançar o cólon e resistir à passagem pela parte superior do trato gastrointestinal. Contudo, dependendo do agente encapsulante empregado, a aplicação de probióticos microencapsulados em alimentos poderia modificar as características do produto, causando alterações no sabor e na textura durante a estocagem. Dessa forma, o estudo das propriedades químicas, reológicas e sensoriais do produto torna-se fundamental.

### 1.5 Análise reológica

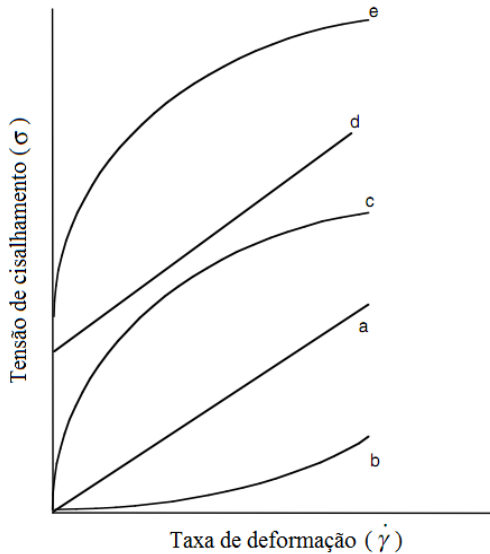
Reologia é a ciência que estuda a deformação e/ou fluxo da matéria, avaliando a maneira como os materiais respondem a aplicação de uma força e deformação (STEFFE, 1996). O conhecimento das propriedades reológicas dos produtos alimentícios é importante para projeto de equipamentos, controle dos processos de fabricação e também para aceitabilidade deste produto pelo consumidor (ABU-JDAYIL,



2003). Entretanto, os alimentos são materiais complexos estruturalmente e reologicamente e, em muitos casos, consistem de misturas de sólidos, bem como de componentes estruturais fluidos (TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005).

Um dos parâmetros fundamentais que caracterizam o comportamento de fluxo de alimentos líquidos e semi-sólidos é a viscosidade, que é um parâmetro intrínseco, sendo a medida da resistência do fluido ao movimento quando aplicada uma tensão de cisalhamento (TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005). A viscosidade depende não apenas da temperatura e composição do produto, mas também da tensão de cisalhamento, tempo e taxa de deformação aplicados (ABU-JDAYAIL, 2003).

Devido à grande variedade de estruturas e composições, os alimentos apresentam diferentes características reológicas, podendo apresentar um comportamento newtoniano ou não newtoniano, que pode ou não ser dependente do tempo, bem como viscoelástico (ALVARADO; AGUILERA, 2001), sendo essa classificação baseada na relação entre tensão de cisalhamento e taxa de deformação (TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005). A equação matemática entre estas variáveis é conhecida como equação de fluxo, e sua representação gráfica é denominada curva de fluxo (MACHADO, 2002). A Figura 1.3 apresenta curvas de fluxo para alguns tipos de fluidos.



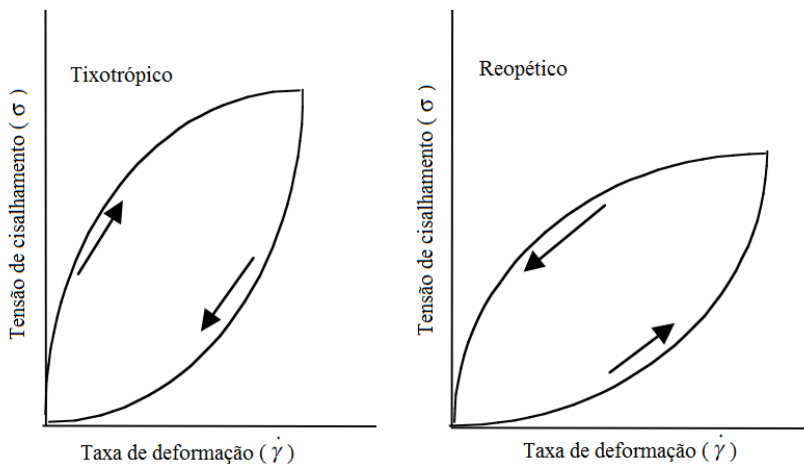
**Figura 1.3:** Curvas de fluxo de alguns tipos de fluidos: (a) newtoniano; (b) dilatante (*shear thickening*); (c) pseudoplástico (*shear thinning*); (d) plástico de Bingham; (e) pseudoplástico com limite de escoamento. Fonte: Ibarz e Barbosa-Cánovas (2003).

Para um fluido newtoniano existe uma proporcionalidade entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação e, dessa forma, a viscosidade é única e absoluta, pois a razão entre essas duas variáveis é constante. Por outro lado, todo fluido cuja relação entre tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento não é constante é denominado de não-newtoniano. A viscosidade desses fluidos não é única e varia com a magnitude da taxa de cisalhamento (STEFFE, 1996; MACHADO, 2002).

Os fluidos não-newtonianos podem ser classificados em independentes ou dependentes do tempo e viscoelásticos. Os fluidos independentes do tempo podem ser divididos em pseudoplásticos (*shear*

*thinning*), quando o fluido apresenta uma diminuição na viscosidade com o aumento da taxa de deformação, ou dilatantes (*shear thickening*), quando o fluido apresenta um aumento na viscosidade com o aumento da taxa de deformação (DAUBERT; FOEGEDING, 2003). Fluidos pseudoplásticos e dilatantes não necessitam de uma tensão de cisalhamento mínima para que seja iniciado o escoamento do fluido. Quando um fluido não-newtoniano independente do tempo necessita de uma tensão de cisalhamento inicial para se movimentar este é classificado como plástico de Bingham. A tensão inicial necessária para que o fluido escoe é denominada limite de escoamento, sendo que após atingir essa tensão o material se comporta como newtoniano (MACHADO, 2002).

Os fluidos que apresentam uma dependência da tensão de cisalhamento com o tempo para uma taxa de deformação constante são considerados dependentes do tempo. Estes são classificados em reopéticos e tixotrópicos. Quando a tensão cisalhante ou a viscosidade aumentam com o tempo, mantendo-se constante a taxa de deformação, o fluido é chamado reopético. Já, se a tensão de cisalhamento ou a viscosidade diminuem com o tempo de aplicação de uma taxa de deformação, este é dito tixotrópico (MACHADO, 2002; ABU-JDAYIL, 2003). A Figura 1.4 apresenta curvas de fluxo para fluidos não-newtonianos dependentes do tempo.



**Figura 1.4:** Curvas de fluxo para fluidos não-newtonianos dependentes do tempo.

Fonte: Ibarz e Barbosa-Cánovas (2003).

Para realizar uma comparação entre materiais, ou amostras, os dados experimentais devem ser ajustados empregando-se equações ou modelos matemáticos (REZAEI et al., 2011). Dessa forma, o comportamento dos fluidos pode ser caracterizado através de modelos reológicos, que relacionam tensão de cisalhamento e taxa de deformação. O modelo mais simples é o newtoniano, entretanto, a maioria dos alimentos não apresenta esse tipo de comportamento e requer modelos mais complexos para sua caracterização (OLIVEIRA, 2005; TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005). Diversos modelos são aplicados a fluidos não-newtonianos, sendo que os normalmente utilizados para ajuste das curvas de fluxo de sorvetes e frozen iogurte são os modelos da Lei da Potência (Ostwald-de Waale),

Herschel–Bulkley e Casson (EL-NAGAR et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2008; SOUKOULIS; LEBESI; TZIA, 2009; REZAEI et al., 2011).

O modelo Lei da Potência está apresentado na Equação 1, onde  $\sigma$  é a tensão de cisalhamento (Pa),  $\dot{\gamma}$  é a taxa de deformação ( $s^{-1}$ ),  $K$  (Pa.s) é o índice de consistência e  $n$  é o índice de comportamento de fluxo (adimensional). O índice de comportamento de fluxo está relacionado com o afastamento do fluido do modelo newtoniano. Dessa forma, para fluidos newtonianos  $n$  é igual a 1, pseudoplásticos, o valor de  $n$  é menor do que 1, e para fluidos dilatantes o valor de  $n$  é maior do que 1 (BOURNE 2002; REZAEI et al., 2011).

$$\sigma = K(\dot{\gamma})^n \quad (1)$$

O modelo de Herschel–Bulkley está apresentado na Equação 2, onde  $\sigma$  é a tensão de cisalhamento (Pa),  $\sigma_0$  é o limite de escoamento (Pa),  $K$  é o índice de consistência (Pa.s<sup>n</sup>),  $\dot{\gamma}$  é a taxa de deformação ( $s^{-1}$ ) e  $n$  é o índice de comportamento de fluxo (adimensional). Este modelo é semelhante ao modelo lei da potência, porém, com a inclusão do limite de escoamento ( $\sigma_0$ ) (BOURNE 2002).

$$\sigma = \sigma_0 + K(\dot{\gamma})^n \quad (2)$$

O modelo de Casson está apresentado na Equação 3, onde  $\sigma$  é a tensão de cisalhamento (Pa),  $\sigma_0$  é o limite de escoamento (Pa),  $\eta_c$  é

a viscosidade de Casson (Pa.s) e  $\dot{\gamma}$  é a taxa de deformação ( $s^{-1}$ ). Este modelo foi desenvolvido por Casson (1959) inicialmente para aplicação em tintas de impressão, entretanto, foi considerado eficaz para análise de alguns alimentos (BOURNE, 2002). É principalmente utilizado para descrever o comportamento reológico de chocolates (STEFFE, 1996), porém também tem sido empregado para caracterizar iogurte (MULLINEUX; SIMMONS, 2008) e frozen iogurte (REZAEI et al., 2011).

$$\sigma^{0,5} = \sigma_0^{0,5} + (\eta_c \dot{\gamma})^{0,5} \quad (3)$$

Reômetros e viscosímetros são os equipamentos utilizados para determinar as propriedades reológicas de fluidos, através medida da resistência do fluido ao fluxo quando aplicada uma determinada força ou tensão produzida por uma quantidade de fluxo conhecida. Viscosímetros capilares, reômetros rotacionais, reômetros oscilatórios, entre outros, estão entre os equipamentos empregados na realização de medidas reológicas (TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005). Na Figura 1.5 pode ser visualizado um reômetro rotacional.



**Figura 1.5:** Reômetro rotacional com cilindro concêntrico.

Fonte: acervo do autor

Devido à complexidade de sua estrutura, a reologia de sorvetes pode ser afetada por vários fatores, incluindo presença de componentes (gorduras, polissacarídeos, proteínas, entre outros) e concentração destes, agregação protéica, cristalização e coalescência dos glóbulos de gordura, entre outros (SOUKOULIS; LEBESI; TZIA, 2009). O comportamento reológico de sorvetes e frozen iogurtes foi estudado por diversos autores (EL-NAGAR et al., 2002; AKALIN; ERISIR, 2008; OLIVEIRA et al., 2008; SOUKOULIS; LEBESI; TZIA, 2009; REZAEI et al., 2011; ROSSA et al., 2011), os quais verificaram que esses alimentos apresentam comportamento não-newtoniano, sendo caracterizados como fluidos pseudoplásticos.

Akalin e Erisir (2008) analisaram o efeito da suplementação com oligofrutose ou inulina nas características reológicas de sorvete probiótico com baixo teor de gordura e verificaram que houve diferença de viscosidade entre todas as amostras, ocorrendo um aumento nas viscosidades dos sorvetes adicionados de oligofrutose e inulina.

Oliveira, Souza e Monteiro (2008) avaliaram as propriedades reológicas de cinco diferentes tipos de sorvetes comerciais (creme, creme light, limão, iogurte e soja banana), em três temperaturas (-2, 0 e 2 °C) e caracterizaram o comportamento através do ajuste de diferentes modelos reológicos. Os resultados mostraram que as diferentes amostras apresentaram comportamento não-newtoniano nas temperaturas estudadas e que o modelo Lei da Potência ajustou melhor os dados obtidos para quatro das cinco amostras. Todas as amostras foram caracterizadas pseudoplásticas, entretanto, apenas as amostras de sabor creme e limão apresentaram comportamento tixotrópico.

Rezaei et al. (2011) investigaram o efeito da adição de goma guar (0,1 %, 0,2 %, 0,3 %) e goma arábica (0,1 %, 0,3 %, 0,5 %) nas propriedades de fluxo de frozen iogurte. Os autores observaram que o frozen iogurte contendo 0,3 % de goma guar apresentou maior viscosidade. O modelo Lei da Potência foi o que melhor ajustou os dados e todas as amostras de frozen iogurte apresentaram comportamento não-newtoniano e pseudoplástico.

## **1.6 Análise instrumental de textura**

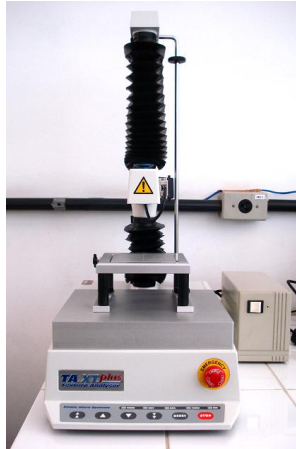
Textura é um atributo de parâmetros múltiplos que corresponde à manifestação sensorial e funcional da estrutura, propriedades mecânicas e de superfície dos alimentos, sendo detectada através dos sentidos da visão, audição, tato e cinestésico (SZCZESNIAK, 2002). Ainda pode ser definida como a manifestação sensorial da estrutura ou composição interna dos produtos relacionada com a reação à tensão e medida de propriedades mecânicas (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2007).



A textura tem sido vista não como um atributo isoladamente, mas formada por um conjunto de características do alimento e que se expressam sobre o termo textura. Esse conjunto de características foi definido por Szczesniak (1963) em três grupos, os quais englobam as características mecânicas e geométricas e ainda aquelas características que não dependem diretamente da aplicação de uma força, ou do tamanho, forma ou distribuição da partícula no alimento, mas são percebidas oralmente nos receptores somáticos (QUEIROZ; TREPTOW, 2006).

As características mecânicas são aquelas relacionadas com a reação dos alimentos a aplicação de uma força, dividindo-se em duas categorias: primárias (firmeza, coesividade, elasticidade, adesividade) e secundárias (fraturabilidade, mastigabilidade e gomosidade) (QUEIROZ; TREPTOW, 2006). Dentre estas características, a firmeza e a adesividade tem sido utilizadas na caracterização da textura de frozen iogurtes (EI-NAGAR et al., 2002; MILANI; KOOCHEKI, 2011). A firmeza pode ser definida como a força necessária para atingir uma determinada deformação, enquanto que a adesividade, o trabalho necessário para vencer as forças de atração entre o alimento e outra superfície (TUNICK, 2000).

Um dos equipamentos para medida de textura de alimentos é o Analisador de Textura TA.XT, o qual foi desenvolvido pela *Stable Micro Systems* especialmente para análise de alimentos (BOURNE, 2002). Este equipamento apresenta controles eletrônicos precisos e utiliza um *software* para agrupar os dados e os gráficos, sendo muito sensível e versátil (ANZALDÚA-MORALES, 1994). A Figura 1.6 mostra o Analisador de Textura TA.XT *plus*.



**Figura 1.6:** Analisador de textura TA.XT *plus*.

Fonte: acervo do autor.

No processo de fabricação de sorvetes e frozen iogurte, a etapa de congelamento é uma das mais importantes para determinação da textura final do alimento. A qualidade final do produto, a textura suave e a sensação de frio percebida pelos consumidores estão relacionadas com a formulação e com a estrutura do sorvete, ou seja, distribuição, tamanho e morfologia das bolhas de ar e cristais de gelo (CAILLET et al., 2003).

Diversos estudos utilizando medidas de textura são realizados em sobremesas congeladas com o intuito de avaliar a influência da adição de um determinado ingrediente. El-Nagar et al. (2002) examinaram o efeito da adição de inulina (5, 7 e 9 %) na textura de frozen iogurtes e verificaram que as amostras apresentaram um aumento na firmeza e na adesividade.

Akalin, Karagözlü e Ünal (2008) avaliaram a firmeza e a adesividade de sorvetes com diferentes teores de gordura (3, 6 e 10 %),

preparados utilizando 4 % de inulina ou 4 % de isolado protéico do soro como substituto de gordura. Foi observado que os sorvetes com menor teor de gordura apresentaram maior firmeza e adesividade e que a adição de inulina ou isolado protéico de soro também contribuiu para o aumento destes atributos.

Milani e Koocher (2011) avaliaram o efeito da adição de xarope de tâmaras (25% e 30 %) como substituto de açúcar e goma guar (0,1 %, 0,2 % e 0,3 %) como substituto de gordura na firmeza de frozen iogurte com baixo teor de gordura. O aumento na concentração de goma guar diminuiu a firmeza e aumentou a adesividade das amostras. Por outro lado, o aumento na concentração de xarope de tâmaras causou o aumento da firmeza, porém não alterou a adesividade.

### **1.7 Análise sensorial**

A análise sensorial pode ser definida como a disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, tato e audição (ABNT, 1993). Apresenta estreita relação com o controle de qualidade dos alimentos, tornando-se uma importante ferramenta na definição de propriedades efetivamente subjetivas e que são fundamentais para aceitação e preferência dos produtos pelos consumidores (QUEIROZ; TREPTOW, 2006).

Dessa forma, a análise sensorial encontra ampla aplicação na indústria de alimentos, podendo ser empregada na seleção de matérias-primas, desenvolvimento de novos produtos, melhoramento de formulações, modificações nos processos de fabricação e avaliação das

condições de armazenamento e vida útil (LANZILLOTTI; LANZILLOTTI, 1999; MEHINAGIC et al., 2003).

Os métodos de avaliação sensorial são classificados em métodos discriminativos, descritivos e subjetivos (afetivos). Os métodos discriminativos estabelecem diferenças qualitativas e/ou quantitativas entre amostras. Nos métodos descritivos as características do alimento são descritas de maneira objetiva, podendo ser avaliadas sob ponto de vista qualitativo ou quantitativo. Já os métodos subjetivos objetivam avaliar a opinião do consumidor através de sua preferência e/ou aceitação de um produto (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2007).

A preferência e aceitação de um produto por parte do consumidor nos testes subjetivos são conceitos distintos. A preferência pode ser entendida como a expressão do mais alto grau de gostar, implicando na escolha de um produto sobre o outro, sendo considerados fatores como a qualidade do alimento, região e hábitos alimentares do consumidor. A aceitação é a experiência caracterizada por uma atitude positiva, ou seja, é o fato de um determinado indivíduo ser favorável ao consumo de um produto e pode variar de acordo com o poder aquisitivo e grau de cultura do consumidor (QUEIROZ; TREPTOW, 2006; DUTCOSKY, 2007; HEIN et al., 2008).

Na determinação do grau de aceitação são utilizadas várias formas de escalas, destacando-se a escala hedônica e a escala de atitude (HEIN et al., 2008). A escala hedônica mede o grau em que o consumidor gosta ou desgosta de um determinado atributo ou do produto como um todo (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2007). De maneira geral, as escalas hedônicas estruturadas com 5, 7 ou 9 pontos são as mais utilizadas em indústrias de alimentos e também em

pesquisas (CRUZ, et al., 2010). Entretanto, a escala hedônica de 9 pontos, é a mais comumente empregada para testar a aceitabilidade dos alimentos. É uma escala bipolar balanceada em torno de um ponto neutro no centro, com quatro categorias positivas e quatro categorias negativas de cada lado. A cada categoria é associada uma expressão, as quais são organizadas de maneira a sugerir uma continuidade entre os vários graus de gostar e desgostar (LIM et al., 2011). Já a escala de atitude, uma modificação da escala hedônica clássica, permite conhecer a intenção de consumo de um determinado produto. A análise se refere ao produto como um todo, e não a uma característica específica, visando que o indivíduo responda com base na sua primeira impressão (QUEIROZ; TREPTOW, 2006).

Tanto na escala hedônica como na de atitude as expressões são associadas a valores numéricos que possibilitam a interpretação dos resultados pela aplicabilidade de análises estatísticas. Além disso, em ambas as escalas, a apresentação das amostras deve ser feita por meio de um estímulo único, com intervalos de tempo entre as amostras (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002; QUEIROZ; TREPTOW, 2006).

Na maioria dos casos, o emprego de metodologias sensoriais para o desenvolvimento de alimentos probióticos e prebióticos envolve a aplicação de testes afetivos com escalas hedônicas e/ou de atitude (AKIN; AKIN; KIRMACI, 2007; CASTRO et al., 2008; ALVES et al., 2009; FRITZEN-FREIRE et al., 2010b). Alguns estudos mostram que o sabor é primeiro atributo avaliado com respeito à escolha de um alimento, seguido pelos benefícios à saúde (TUORILA; CARDARELLO, 2002; CRUZ et al., 2010). Estes estudos também indicaram que os consumidores não estão interessados em consumir um

alimento funcional se o ingrediente adicionado conferir sabor desagradável ao produto, mesmo que isso resulte em vantagens para a saúde.

De maneira geral, a incorporação de ingredientes prebióticos em sorvetes exerce maior influência no sabor e na textura, enquanto que a adição de probióticos afeta principalmente o sabor (MOHAMMADI et al., 2011). É importante destacar que as opções tecnológicas disponíveis para o desenvolvimento de alimentos probióticos, tais como microencapsulação e aumento na quantidade de inóculo, empregadas com o intuito de manter a viabilidade das bactérias, pode prejudicar as características sensoriais do alimento causando alterações no sabor e na textura desses produtos (CRUZ et al. 2010). Entretanto, já foi mostrado que é possível a utilização da tecnologia de microencapsulação sem que haja um decréscimo na aceitação do produto (KAILASAPATHY, 2006; HOMAYOUNI et al., 2008; ÖZER et al., 2008).

### Referências Bibliográficas

ABU-JDAYIL, B. Modelling the time-dependent rheological behavior of semisolid foodstuffs. **Journal of Food Engineering**, v.57, p.97-102, 2003.

AKALIN, A.S.; KARAGÖZLÜ, C.; ÜNAL, G. Rheological properties of reduced-fat and low-fat ice cream containing whey protein isolate and inulin. **European Food Research and Technology**, v. 227, p. 889-895, 2008.

AKALIN, A.S.; ERISIR, D. Effects of inulin and oligofrutose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in low-fat probiotic ice cream. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 4, p. 184 – 188, 2008.

AKIN, M.B.; AKIN, M.S.; KIRMACI, Z. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yoghurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. **Food Chemistry**, v. 104, p. 93-99, 2007.

AL-SALEH, A. A.; METWALLI, A.A.M.; ISMAIL, E.A. Physicochemical properties of probiotic frozen yoghurt made from camel milk. **International Journal of Dairy Technology**, v.64, p. 557-562, 2011.

ALVES, L.L.; RICHARDS, N.S.P.S.; BECKER, L.V.; ANDRADE, D.F.; MILANI, L.I.G.; REZER, A.P.S.; SCIPIONI, G.C. Avaliação sensorial e caracterização de frozen yogurt de leite de cabra com adição de cultura probiótica e prebiótico. **Ciência Rural**, v. 39, p. 2595-2600, 2009.

ANAL, A.K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Food Science and Technology**, v. 18, p. 240 - 251, 2007.

ANANTA, E.; VOLKERT, M.; KNORR, D. Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. **International Dairy Journal**, v. 15 , p. 399–409, 2005.

ANZALDÚA-MORALES, A. **La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica**. Zaragoza: Acribia, 1994. 198p.  
ALVARADO, J.D.; AGUILERA, J.M. **Métodos para medir Propiedades Físicas em Indústrias de Alimentos**. Ed. Acribia S.A. Zaragoza, 2001. 410 p.

ARBUCKLE, W. S. **Ice Cream**. 14 ed. Westport: Avia Publishing Company. New York : Van Nostrand Reinhold, 1986. 483 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Terminologia – NBR 12806**. São Paulo: ABNT, 1993, 8p.

BIEDRZYCKA, E.; BIELECKA, M. Prebiotic effectiveness of fructans of different degrees of polymerization. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, p. 170-175, 2004.

BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. **Food Research International**, v.35, n.2/3, p.125-131, 2002.

BOSSCHER, D. Fructan prebiotics derived from inulin. In: CHARALAMPOPOULOS D.; RASTALL, A. **Probiotics and prebiotics science and technology**, New York: Springer, 2009.

BOURNE, M.C. **Food texture and viscosity: concept and measurement**. 2 ed. Academic Press, San Diego. 427p. 2002.

BOYLSTON, T. D.; VINDEROLA, C. G.; GHODDUSI, H. B.; REINHEIMER, J. A. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 375–387, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Gelados Comestíveis, Preparados, Pós para o Preparo e Bases para Gelados Comestíveis. **Consulta Pública nº. 28, de 01 de junho de 2000**. Disponível em: [http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[3217-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[3217-1-0].PDF). Acesso em: 30 de janeiro de 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos Com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde**. Disponível em: [http://anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm). Acesso em: 9 de janeiro de 2012.

BRINQUES, G.B.; AYUB, M.A.Z. Effect of microencapsulation on survival of *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, and yogurt. **Journal of Food Engineering**, v. 103, p. 123–128, 2011.

BURGAIN, J.; GAIANI, C.; LINDER, M.; SCHER, J. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. **Journal of Food Engineering**, v. 104, p. 467–483, 2011.

BURITI, F.C.A.; CASTRO, I.A.; SAAD, S.M.I. Effects of refrigeration, freezing and replacement of milk fat by inulin and whey protein



concentrate on texture profile and sensory acceptance of synbiotic guava mousses. **Food Chemistry**, v. 123 p. 1190–1197, 2010.

CAILLET, A.; COGNÉ, C.; ADRIEU, J.; LAURENT, P.; RIVOIRE, A. Characterization of ice cream structure by direct optical microscopy. Influence of freezing parameters. **Food Science and Technology**, v.36 , p. 743–749, 2003.

CARABIN, I.G.; FLAMM, W.G. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v.30, p.268-282, 1999.

CARDARELLI, H.R.; BURITI, F.C.A.; CASTRO, I.A.; SAAD, S.M.I. Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially synbiotic petit-suisse cheese. **LWT-Food Science and Technology**, v. 41, p. 1037–1046, 2008.

CASTRO, F.D; CUNHA, T.M.; BARRETO, P.L.M.; AMBONI, R.D.M.C.; PRUDÊNCIO, E.S. Effect of oligofructose incorporation on the properties of fermented probiotic lactic beverages. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, p. 68-74, 2008.

CHARALAMPOPOULOS, D.; RASTALL, R.A. Prebiotics in foods. **Current Opinion in Biotechnology**, 2012, doi:10.1016/j.copbio.2011.12.028.

CHEN, K.N.; CHEN, M.J.; LIU, J.R.; LIN, C.W.; CHIU, H.Y. Optimization of Incorporated Prebiotics as Coating Materials for Probiotic Microencapsulation. **Journal of Food Science**, v. 70, p. 260-266, 2005.

COLLADO, M.C.; ISOLAURI, E.; SALMINEN, S.; SANZ, Y. The Impact of Probiotic on Gut Health. **Current Drug Metabolism**, v. 10, p. 68-78, 2009.

CORCORAN, B.M.; ROSS, R.P.; FITZGERALDS, G.F.; STANTON, C. Comparative survival of probiotic lactobacilli spray-dried in the presence of prebiotic substances. **Journal of Applied Microbiology** , v. 96, p. 1024–1039, 2004.

CRUZ, A.G.; CADENA, R.S.; WALTER, E.H.M; MORTAZAVIAN, A.M.; GRANATO, D.; FARIA, J.A.F.; BOLINI, H.M.A. Sensory analysis: relevance for prebiotic, probiotic and symbiotic product development. **Comprehensive Reviews and Food Science and Safety**, v. 9 p. 358–373, 2010.

DAUBERT, C. R.; FOEGEDING, E. A. Rheological principles for food analysis. In S. S. Nielsen (Ed.). **Food analysis**. 3.ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, p. 507–508, 2003.

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. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.666-673, 2000.

DE VOS, P.; FAAS, M.M.; SPASOJEVIC, M.; SIKKEMA, J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. **International Dairy Journal**, v. 20, p. 292–302, 2010.

DING, W.K.; SHAH, N.P. Effect of Various Encapsulating Materials on the Stability of Probiotic Bacteria. **Food Microbiology and Safety**, v. 74, p. 100-109, 2009.

DOLEYRES, Y.; LACROIX, C. Technologies with free and immobilised cells for probiotic bifidobacteria production and protection. **International Dairy Journal**, v. 15, p. 973-988, 2005.

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

EL-NAGAR, G.; CLOWES, G.; TUDORICA, C.M.; KURI, V.; BRENNAN, C.S. Rheological quality and stability of yog-ice cream with added inulin. **International Journal of Dairy Technology**, v. 55, p. 89-93, 2002.

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, 2001. 34p. Disponível em:

[http://www.who.int/foodsafety/publications/fs\\_management/en/probiotics.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf). Acesso em 16 setembro de 2011.

FARIA, C.P.; BENEDET, H.D.; GUERROUE, J.L. Parâmetros de produção de leite de búfala fermentado por *Lactobacillus casei*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.3, 2006.

FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de análise sensorial**. Campinas: ITAL/LAFISE, 2002. 116p.

FÁVARO-TRINDADE, C.S.; GROSSO, C.R.F. Microencapsulation of *L. acidophilus* (La -05) and *B. lactis* (Bb - 12) and evaluation on their survival at the pH values of the stomach and in bile. **Journal of Microencapsulation**, v. 19, n. 4, p. 485-494, 2002.

FÁVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 11, p. 103-112, 2008.

FRITZEN-FREIRE C.B.; MÜLLER, C.M.O.; LAURINDO, J.B.; PRUDÊNCIO E.S. The influence of *Bifidobacterium* Bb-12 and lactic acid incorporation on the properties of Minas Frescal cheese. **Journal of Food Engineering**, v.96, p. 621–627, 2010a.

FRITZEN-FREIRE, C.B.; MÜLLER; C.M.O.; LAURINDO, J.B.; AMBONI, R.D.M.C; PRUDÊNCIO, E.S. The effect of direct acidification on the microbiological, physicochemical and sensory properties of probiotic Minas Frescal cheese. **International Journal of Dairy Technology**, v. 64, p. 561-567, 2011b.

FRITZEN-FREIRE, C.B; PRUDÊNCIO, E.S.; AMBONI, R.D.M.C; PINTO, S.S; NEGRÃO-MURAKAMI, A.; MURAKAMI, F.S. Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the presence of prebiotics. **Food Research International**, v. 45, p. 306–312, 2012.

FRANK, A. Technological functionality of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v. 87, p. S287–S291, 2002.

FU, N.; CHEN, X. D. Towards a maximal cell survival in convective thermal drying processes. **Food Research International**, v. 44, p. 1127–1149, 2011.

GIBSON, G.R.; PROBERT, H.M.; VAN LOO, J.; RASTALL, R.A.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Review**, v.17, p.259-275, 2004.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v. 125, p.1401–1412, 1995.

GOFF, H.D. Colloidal aspects of ice cream – a review. **International Dairy Journal**, v.7, p. 363–373, 1997.

GOMES, A.M.P.; MALCATA, F.X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science and Technology**, v.10, p. 139–157, 1999.

GONÇALVES, A.A.; EBERLE, I.R. Frozen yogurt com bactérias probióticas. **Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v.19, n.3, p. 291-297, 2008.

GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, F.; AZAOLA, A.; GUTIÉRREZ-LOPEZ, F.; HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ. Viability of microencapsulated *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* BB12 in kefir during refrigerated storage. **International Journal of Dairy Technology**, v. 63, p. 431-436.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview **Food Research International**, v. 40, p. 1107–1121, 2007.

GUEIMONDE, M.; DELGADO, S.; MAYO, B.; RUAS-MADIEDO, P.; MARGOLLES, A.; REYES-GAVILÁN, C.G. Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in

commercial fermented milks. **Food Research International**, v. 37, p. 839–850, 2004.

HEIN, K. A.; JAEGER, S. R.; CARR, B. T.; DELAHUNTY, C. M. Comparison of five common acceptance and preference methods. **Food Quality and Preference**, v.19, p. 651–661, 2008.

HOMAYOUNI, A.; AZIZI, A., EHSANI, M.R.; YARMAND, M.S.; RAZAVI, S.H. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. **Food Chemistry**, v. 111, p. 50–55, 2008a.

HOMAYOUNI, A.; EHSANI, M.R.; AZIZI, A. RAZAVI, S.H.; YARMAND, M.S. Growth and survival of probiotic strains in simulated ice cream conditions. **Journal of Applied Science**, v.8, n.2, p. 379-382, 2008b.

IBARZ, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V., eds. **Unit operations in food engineering**. Boca Raton: CRC Press, 2003. 889 p.

KAILASAPATHY, K. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. **Food Science and Technology**, v. 39, p. 1221-1227, 2006.

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

KORBKANDI, H.; JAHADI, M.; MARACY, M.; ABEDI, D.; JALALI, M. Production and evaluation of a probiotic yogurt using *Lactobacillus casei ssp. casei*. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, p. 75- 79, 2008.

LANZILLOTTI, R. S.; LANZILLOTTI, H. S. Análise sensorial sob o enfoque da decisão fuzzy. **Revista de Nutrição**, v.12, n.2, p.145-157, 1999.

LIAN, W. C.; HSIAO, H. C.; CHOU, C. C. Survival of bifidobacteria after spray-drying. **International Journal of Food Microbiology**, v. 74, p.79–86, 2002.

LIM, J. Hedonic scaling: A review of methods and theory. **Food Quality and Preference**, v. 22 p. 733–747, 2011.

MACFARLANE, G.T.; STEED, H.; MACFARLANE, S. Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. **Journal of Applied Microbiology**, v. 104, p. 305–344, 2008.

MACHADO, J. C. V. **Reologia e Escoamento de Fluidos: Ênfase na Indústria do Petróleo**. Editora Interciência, Rio de Janeiro. 2002, p.1-37.

MAGARIÑOS, H.; SELAIVE, S.; FLORES, M.C.M.; PIZARRO, O. Viability of probiotic micro-organisms (*Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis* Bb-12) in ice cream. **International Journal of Dairy Technology**, v.60, p. 128-134, 2007.

MARSHALL, R. T.; GOFF, H. D.; HARTEL, R. W. **Ice Cream**. 6. ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2003.

MEHINAGIC, E.; ROYERA, G. Ê; BERTRAND, D.; SYMONEAUX, R.; LAURENS,F.; JOURJON, F. Relationship between sensory analysis, penetrometry and visible NIR spectroscopy of apples belonging to diferent cultivars. **Food Quality and Preference**, v.14, p. 473-484, 2003.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. 4.ed., Boca Raton, FL.: CRC Press, 448 p., 2007.

MENG, X.C.; STANTON, C.; FITZGERALD, G.F.; DALY, C.; ROSS, R.P. Anhydrobiotics: The challenges of drying probiotic cultures. **Food Chemistry**, v. 106, p. 1406–1416, 2008.

MIGUEL, D.P.; ROSSI, E. A. Viabilidade de bactérias ácido lácticas em sorvetes de iogurte durante o período de estocagem. **Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v.14, n.1, p. 93-96, 2003.

MILANI, E.; KOOCHEK, A. The effects of date syrup and guar gum on physical, rheological and sensory properties of low fat frozen yoghurt dessert. **International Journal of Dairy Technology**, v. 64, p. 121-129, 2011.

MOHAMMADI, R.; MORTAZAVIAN, A.M.; KHOSROKHAHA, R.; CRUZ, A.G. Probiotic ice cream: viability of probiotic bacteria and sensory properties. **Annals of Microbiology**, v. 61, p. 411-424, 2011.

MULLINEUX, G.; SIMMONS, M.J.H. Influence of rheological model on the processing of yoghurt. **Journal of Food Engineering**, v. 84, p. 250–257, 2008.

NAZZARO, F.; PIERANGELO, O.; FRATIANNI, F.; COPPOLA, R. Microencapsulation in food science and biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology** .2011. doi:10.1016/j.copbio.2011.10.001

OLIVEIRA, K.H. **Caracterização Reológica de Diferentes Tipos de Sorvete**. 65 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Curso de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

OLIVEIRA, K.H.; SOUZA, J.A.R.; MONTEIRO, A.R. Caracterização reológica de sorvetes. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, 2008.

OLIVEIRA, R.P.S.; PEREGO, P.; OLIVEIRA, M.N.; CONVERTI, A. Effect of inulin as prebiotic and synbiotic interactions between probiotics to improve fermented milk firmness. **Journal of Food Engineering**, v. 107, p. 36–40, 2011.

ORDÓÑEZ, J.A.; DÍAZ, O.; COBOS, A.; HOZ, L. **Tecnologia de alimentos – Alimentos de origem animal**. Vol.2. Porto Alegre: Artmed, 2005.

ÖZER, B.; UZUN, Y.S.; KIRMACI, H.A. Effect of Microencapsulation on Viability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-12 during Kasar Cheese Ripening. **International Journal of Dairy Technology**, v. 61, p. 237-244, 2008.

PICOT, A., & LACROIX, C. Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 505–515, 2004.

QUEIROZ, M.I.; TREPTOW, R.O. **Análise sensorial para avaliação da qualidade dos alimentos**. 1.ed. Rio Grande: Editora da FURG, 2006. 266p.

RAMCHANDRAN, L.; SHAH, N. P. Characterization of functional, biochemical and textural properties of symbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p. 819–827, 2010.

REZAEI, R.; KHOMEIRI, M.; KASHANINEJAD, M.; AALAMI, M. Effects of guar gum and arabic gum on the physicochemical, sensory and flow behavior characteristics of frozen yoghurt. **International Journal of Dairy Technology**, v. 64, p. 563–568, 2011.

RODRÍGUEZ-HUEZO, M.E.; DURÁM-LUGO, R.; PRADO-BARRAGÁN, L.A.; CRUZ-SOSA, F.; LOBATO-CALLEROS, C.; ALVAREZ-RAMÍRES, J.; VERNON-CARTER, E.J. Pre-selection of protective colloids for enhanced viability of *Bifidobacterium bifidum* following *spray-drying* and storage, and evaluation of aguamiel as thermoprotective prebiotic, **Food Research International**, v.40, p. 1299-1306, 2007.

ROKKA, S.; RANTAMAKI, P. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. **European Food Research and Technology**, v. 231, n. 1, p. 1-12, 2010.

ROSSA, P.N.; SÁ, E.M.F.; BURIN, V. M.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Optimization of microbial transglutaminase activity in ice cream using response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 29-34, 2011.

SANDERS, M.E. Probiotics: considerations for human health. **Nutrition Reviews**, v.61, n.3, p.91-99, 2003.



SEMYONOV, D.; RAMON, O.; KAPLUN, Z.; LEVIN-BRENER, L.; GUREVICH, N.; SHIMONI, E. Microencapsulation of *Lactobacillus paracasei* by spray freeze drying. **Food Research International**, v. 43, p. 193–202, 2010.

SHAH, N.P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 1262–1277, 2007.

SOFJAN, R. P.; HARTEL, R.W. Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice cream. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 255–262, 2004.

SOUKOULIS, C.; TZIA, C. Impact of the acidification process, hydrocolloids and protein fortifiers on the physical and sensory properties of frozen yogurt. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, p.170-177, 2008.

SOUKOULIS, C. LEBESI, D.; TZIA, C. Enrichment of ice cream with dietary fibre: Effects on rheological properties, ice crystallisation and glass transition phenomena. **Food Chemistry**, v. 115, p. 665–671, 2009.

SOUKOULIS, C.; RONTOGIANNI, E.; TZIA, C. Contribution of thermal, rheological and physical measurements to the determination of sensorially perceived quality of ice cream containing bulk sweeteners. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 634-641, 2010.

STEFFE, J.F. **Rheological methods in food process engineering**. 2. ed. Freeman Press, 1996. 412p.

SZCZESNIAK, A.S. Classification of texture characteristics. **Journal of Food Science**, v.28, p.385-409, 1963.

SZCZESNIAK, A.S. Texture is a sensory property. **Food Quality and Preference**, v.13, p.215-225, 2002.

TABILO-MUNIZAGA, G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Rheology for the food industry. **Journal of Food Engineering**, v.67, p.147-156, 2005.

TUNICK, M.H. Rheology of dairy foods that gel, stretch, and fracture. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1892-1898, 2000.

TAMIME, A.Y.; ROBINSON, R.K. **Yoghurt Science and technology**. 3.ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2000.

TUORILA, H.; CARDELLO, A.V. Consumer responses to an off-flavour in juice in the presence of specific health claims. **Food Quality and Preference**, v.13, p. 561–569, 2002.

TURGUT, T.; ÇAKMAKCI, S. Investigation of the possible use of probiotics in ice cream manufacture. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, n. 3, 2009.

WANG, Y. Prebiotics: Present and future in food science and technology. **Food Research International**, v. 42, p. 8–12, 2009.

## **Capítulo 2**

**Efeito da adição de *Bifidobacterium* BB-12  
microencapsulada nas propriedades físicas, químicas e  
reológicas de frozen iogurte durante o armazenamento**



**Efeito da adição de *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulada nas propriedades físicas, químicas e reológicas de frozen iogurte durante o armazenamento.**

**Resumo**

Amostras de frozen iogurte foram adicionadas de microcápsulas contendo *Bifidobacterium* BB-12 produzidas com diferentes agentes encapsulantes (leite desnatado reconstituído e inulina). A viabilidade da cultura probiótica foi avaliada, assim como o efeito da adição das microcápsulas nas propriedades químicas, físicas e reológicas do frozen iogurte durante 90 dias de estocagem. A contagem de bifidobactérias manteve-se praticamente estável nas amostras adicionadas das microcápsulas, enquanto que o frozen iogurte com bactéria livre apresentou um decréscimo em torno de 34 % após 90 dias. A adição das microcápsulas aumentou o conteúdo de sólidos totais e os valores de *overrun*, entretanto, não influenciou a acidez titulável e os tempos de primeiro gotejamento e derretimento completo. O valores de pH diminuíram em todas as amostras de frozen iogurte durante a estocagem, sendo que o maior valor de pH foi observado na amostra contendo microcápsulas produzidas com leite desnatado reconstituído. Todos os frozen iogurtes apresentaram comportamento não newtoniano, sendo caracterizados como fluidos pseudoplásticos. As amostras adicionadas das microcápsulas apresentaram maior viscosidade aparente e aquelas adicionadas das microcápsulas produzidas com inulina mostraram uma maior área de histerese ao final do período de estocagem.

*Palavras-chave:* frozen iogurte, probiótico, bifidobactéria, microencapsulação, inulina.

---

**Effect of the addition of microencapsulated *Bifidobacterium* BB-12  
on the physical, chemical and rheological properties of frozen  
yogurt during storage**

**Abstract**

Samples of frozen yogurt were added with microcapsules containing *Bifidobacterium* BB-12 produced with different contents of carrier agents (reconstituted skim milk and inulin). The viability of this probiotic culture was evaluated, as well as the effect of addition of microcapsules on the physical, chemical and rheological properties of frozen yogurt during 90 days of storage. The counts of bifidobacteria maintained practically stable in the samples added with the microcapsules, while the frozen yogurt added with free bacteria showed a decrease of about 34 % after 90 days. The addition of the microcapsules increased the total solids content and the overrun values, however, it did not influence on titratable acidities or on first dripping and complete melting times. The pH values decreased in all the frozen yogurt samples during storage and the highest pH values were noted in the samples containing microcapsules produced with reconstituted skim milk. All the frozen yogurts showed non-Newtonian behavior with shear thinning characteristics. The samples added with microcapsules had greater apparent viscosity and those added with microcapsules produced with inulin showed a larger hysteresis area at the end of storage period.

*Keywords:* frozen yogurt, probiotic, bifidobacteria, microencapsulation, inulin.

## 1. Introdução

Nas últimas décadas a demanda por alimentos funcionais cresceu consideravelmente, devido à preocupação dos consumidores com a influência que os alimentos exercem sobre a saúde (SIRÓ et al., 2008; MOHAMMADI, et al., 2011). Os alimentos funcionais são definidos como alimentos que contem algum componente capaz de promover benefícios à saúde, além dos nutrientes tradicionalmente conhecidos, (SHAH, 2007). Dentre estes alimentos funcionais destacam-se aqueles com adição de probióticos. Probióticos são micro-organismos vivos, que quando administrados em quantidades apropriadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001). *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são os gêneros de bactérias mais comumente empregados como probióticos na produção de produtos lácteos (MOHAMMADI, et al., 2011). Entretanto, a concentração mínima de bactérias probióticas necessária para causar um resultado benéfico à saúde tem sido geralmente aceita como entre  $10^8$  e  $10^9$  células, as quais podem ser alcançadas com um consumo diário de pelo menos 100 g de um produto contendo entre  $10^6$  e  $10^7$  células viáveis por g (GOMES; MALCATA, 1999; BOYLSTON et al., 2004).

Bifidobactérias têm sido incorporadas em diversos alimentos lácteos, tais como iogurte (RAMCHANDRAN; SHAH, 2010; CAPELA; HAY; SHAH, et al., 2006), leites fermentados (SENDRA et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2011), queijos (ONG; HENRIKSSON; SHAH, 2006; FRITZEN-FREIRE et al., 2010), sorvete (AKIN; AKIN; KIRMACI, 2007; TURGUT; CAKMAKCI, 2009) e frozen iogurte (DAVIDSON et al., 2000). Frozen iogurte é uma sobremesa láctea

fermentada e congelada, que combina características físicas do sorvete com as propriedades sensoriais e nutricionais do iogurte (MARSHALL; GOFF; HARTEL, 2003). Contudo, a sobrevivência de microorganismos probióticos em sobremesas lácteas congeladas é influenciada por diversos fatores, incluindo acidez, pH, efeito da operação de congelamento, tempo e temperatura de armazenamento e toxicidade ao oxigênio (AKIN; AKIN; KIRMACI, 2007; HOMAYOUNI et al., 2008).

A microencapsulação é uma técnica promissora empregada com o intuito de conferir proteção física e melhorar a estabilidade de bactérias probióticas em alimentos funcionais (KAILASAPATHY, 2006; HOMAYOUNI et al., 2008; BRINQUES; AYUB, 2011). A técnica de *spray drying* é comumente utilizada na microencapsulação de componentes alimentares (GHARSALLAOUI et al., 2007) e apresenta algumas vantagens como rapidez, custo de produção relativamente baixo, alta reprodutibilidade e ser adequada para várias aplicações industriais (BURGAIN et al., 2011). Contudo, a taxa de sobrevivência de culturas probióticas durante o processo de *spray drying* depende de uma série de fatores, como o tipo de cepa utilizada, temperatura de saída do equipamento e a utilização de agentes encapsulantes (MENG et al. 2008).

Agentes encapsulantes como leite desnatado reconstituído (LDR) e inulina têm sido adicionados ao meio de alimentação do *spray dryer* para proteger a viabilidade de probióticos (CORCORAN et al., 2004; ANANTA; VOLKERT; KNORR, 2005; FRITZEN-FREIRE et al., 2012). LDR têm apresentado efeito na melhoria da sobrevivência de células durante a desidratação no processo de *spray drying* (FU; CHEN;



2011). A inulina é um carboidrato não digerível conhecido por apresentar propriedades prebióticas, como a habilidade de estimular o crescimento de bactérias probióticas (AKIN; AKIN; KIRMACI, 2007). Devido a essas características, a inulina pode ser empregada como matriz em cápsulas que precisam alcançar o cólon e sobreviver à parte superior do trato gastrointestinal (DE VOS et al., 2010). Além disso, prebióticos como a inulina podem atuar como termoprotetores e, dessa forma, manter a viabilidade de probióticos após o processo de *spray drying* (ROSS et al., 2005; FRITZEN-FREIRE et al. 2011).

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição de *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulada com diferentes concentrações de leite desnatado reconstituído e inulina, como agentes encapsulantes, nas propriedades microbiológicas, físicas, químicas e reológicas de frozen iogurte, durante 90 dias de armazenamento a  $-18 \pm 1$  °C.

## 2. Material e Métodos

### 2.1 Material

Cultura probiótica contendo *Bifidobacterium* BB-12 (BB-12<sup>®</sup>, Chr.Hansen, Hønsholm, Denmark) foi utilizada. Leite em pó desnatado (Molico<sup>®</sup>, Nestlé, São Paulo, Brazil) e inulina (Orafti<sup>®</sup>HPX, Orafti, Tienen, Belgium) (DP  $\geq$  23) foram utilizados como agentes encapsulantes. MRS agar (Difco, Sparks, USA), cloreto de lítio (Vetec, Rio de Janeiro, Brazil), propionato de sódio (Fluka, Neu-Ulm, Germany) e AnaeroGen<sup>®</sup> (Oxoid, Hampshire, UK) foram empregados na realização das análises microbiológicas. Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico (p.a.).

## 2.2 Preparo da suspensão de células

O preparo da suspensão de células foi realizado de acordo com metodologia descrita por Fritzen-Freire et al. (2012). Cultura pura e liofilizada DVS (Direct Vat Set) de *Bifidobacterium* BB-12 foi reidratada na concentração de 2,5 % (p/v) em uma solução estéril de leite desnatado reconstituído (LDR) 12 % (p/v) e congelada em frascos de vidro estéreis a  $-18 \pm 1$  °C. Antes de ser inoculada nas três soluções de alimentação do *spray dryer* ou ser adicionada ao frozen iogurte controle como bactéria livre (não-encapsulada), a cultura estoque foi reativada em estufa a  $37 \pm 1$  °C durante duas horas.

## 2.3 Microencapsulação pela técnica de *spray drying*

### 2.3.1 Preparo das soluções de alimentação

Três soluções de alimentação foram preparadas de acordo com os procedimentos descritos por Fritzen-Freire et al. (2012) através da combinação dos seguintes agentes encapsulantes: 20 % (p/v) de leite desnatado reconstituído (LDR), 10 % (p/v) de LDR e 10% de inulina, e 20 % (p/v) de inulina. Todos os meios foram homogeneizados em água destilada, tratados termicamente a  $80 \pm 2$  °C por 30 minutos e resfriados a  $4,0 \pm 2$  °C. A cultura estoque de *Bifidobacterium* BB-12 foi inoculada nas três soluções de alimentação na concentração de 10% (v/v).

### 2.3.2 Microencapsulação

O processo de microencapsulação foi realizado em *spray dryer* de escala laboratorial (Buchi B-290 mini spray dryer, Flawil, Switzerland),

operado com temperatura de entrada de ar de 150 °C e temperatura de saída de ar  $55 \pm 3^\circ\text{C}$ . As soluções de alimentação contendo *Bifidobacterium* BB-12 foram mantidas sob agitação a temperatura ambiente ( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e introduzidas na câmara de secagem utilizando uma bomba peristáltica com vazão de alimentação de  $6 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , taxa de fluxo do ar de secagem de  $35 \text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$  e pressão de ar de 0,7 MPa. As microcápsulas foram coletadas na base do ciclone, transferidas para frascos de vidros estéreis e armazenadas a  $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ .

#### 2.4 *Elaboração do frozen iogurte probiótico*

Para a preparação do frozen iogurte, água, leite em pó integral e leite em pó desnatado foram primeiramente homogeneizados e culturas lácteas (*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) foram adicionadas a mistura e incubadas à temperatura de 40 °C *overnight*. Creme de leite (35 % de gordura; Nestlé, Araçatuba, SP, Brasil), açúcar, glicose, xarope de glicose 40 DE (Karo<sup>®</sup>, Garanhuns, PE, Brasil) e emulsificante Emustab (Duas Rodas, Jaraguá do Sul, SC, Brasil) foram adicionados e a mistura foi tratada termicamente a 80 °C por 25 s, resfriada e maturada a 8 °C por 24 horas. Após a maturação, a mistura foi dividida em quatro porções de 4 L (Controle, F1, F2 e F3). A uma das porções foi acrescentado 0,6 % (v/v) da solução estoque contendo *Bifidobacterium* BB-12 (frozen iogurte Controle), enquanto que nas outras três porções (F1, F2 e F3) foram adicionados 2 % (p/v) das diferentes formulações de microcápsulas com probiótico. F1 foi adicionada das microcápsulas preparadas com 20 % (p/v) de LDR, F2 foi adicionada das microcápsulas preparadas com 10 % de LDR (w/v) e 10% de inulina e F3 foi adicionada das

microcápsulas preparadas com 20 % (p/v) de inulina. As amostras de frozen iogurte foram produzidas utilizando uma produtora horizontal em batelada com capacidade de 8 Kg (MDG<sup>®</sup>, model PHD 80-100, São Carlos, Brasil) onde foram batidas e congeladas. As amostras foram acondicionadas em potes plásticos de 100 mL e 1000 mL e estocadas a  $-18 \pm 1$  °C.

### 2.5 Enumeração de bifidobactéria

A contagem de células viáveis de bifidobactérias foi realizada em todas as amostras de frozen iogurte nos dias 1, 30, 60 e 90 de armazenamento a  $-18 \pm 1$  °C. Para contagem das bactérias encapsuladas, primeiramente as bactérias foram liberadas das cápsulas de acordo com metodologia descrita por Sheu, Marshall e Heymann (1993). Vinte e cinco gramas de amostra foram misturadas em 25 mL de tampão fostato (0,1 M, pH 7,0) e homogeneizadas em agitador magnético durante 10 minutos. A amostra contendo bactéria livre (Controle) foi tratada da mesma maneira, com o intuito de manter as mesmas condições de análise. Para enumeração de bifidobactéria, as amostras foram submetidas à diluição seriada utilizando água peptonada 0,1 % (p/v) e plaqueadas utilizando meio MRS ágar modificado com adição de 0,2 % (p/v) de cloreto de lítio e 0,3 % (p/v) de propionato de sódio (MRS-LP), de acordo com metodologia proposta por Vinderola and Reinheimer (1999). As placas foram incubadas utilizando jarras de anaerobiose contendo AnaeroGen<sup>®</sup> a  $37 \pm 1$  °C por 72 horas e os resultados foram expressos em log unidade formadora de colônia por grama ( $\log \text{UFC g}^{-1}$ ). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

## 2.6 Análises físico-químicas

As amostras de frozen iogurte foram analisadas com relação ao conteúdo de sólidos totais (% p/p), através de secagem em estufa a  $100 \pm 1$  °C por 3,5 horas, e acidez titulável (% ácido láctico) de acordo com metodologia da AOAC (2005). Os valores de pH foram obtidos através de método potenciométrico, utilizando um pHmetro (MP220, Metler-Toledo, Greifensee, Switzerland). Todas as análises foram realizadas em triplicata nos dias 1, 30, 60 e 90 de armazenamento a  $-18 \pm 1$  °C.

## 2.7 Medidas físicas

### 2.7.1 Determinação da incorporação de ar (overrun)

A incorporação de ar das amostras de frozen iogurte foi determinada de acordo com metodologia descrita por Marshall, Goff e Hartel (2003). Um determinado volume de calda e o mesmo volume de frozen iogurte foram pesados e o *overrun* foi calculado utilizando a Equação 1.

$$\text{Overrun}(\%) = \frac{\text{massa da calda} - \text{massa do frozeniogurte}}{\text{massa do frozeniogurte}} \times 100 \quad (1)$$

### 2.7.2 Propriedades de derretimento

Os tempos de primeiro gotejamento e derretimento total foram medidos de acordo com metodologia proposta por Akin, Akin, Kirmaci (2007), com modificações, nos dias 1, 30, 60 e 90 dias de

armazenamento a  $-18 \pm 1$  °C. Aproximadamente 50 g de amostra, inicialmente a  $-18$  °C foram deixadas para derreter a  $20$  °C sobre uma peneira de 2 mm de abertura, acima de um cilindro graduado. Os tempos de primeiro gotejamento e derretimento completo foram expressos em segundos e as análises foram realizadas em duplicata.

### 2.7.3 Medidas reológicas

As medidas reológicas das amostras de frozen iogurte foram realizadas utilizando um reômetro rotacional com cilindro concêntrico (Brookfield Engineering Laboratories model DV-III Ultra, Stoughton, MA, USA) e spindle ULA. As medidas reológicas foram coletadas através do *software* Rheocalc<sup>®</sup> 32 versão 3.2 (Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Middleboro, MA, USA). O reômetro foi controlado termostaticamente por um banho de água circulante (TECNAL model TE-184, São Paulo, Brasil) a  $4,0 \pm 0,1$  °C, e as amostras foram deixadas em repouso por 20 min para garantir a estabilidade de temperatura. As curvas de fluxo foram geradas pelo aumento linear da taxa de deformação de  $4,89$  s<sup>-1</sup> a  $75,83$  s<sup>-1</sup> nos primeiros 15 minutos (curva ascendente) e retornou para  $4,89$  s<sup>-1</sup> nos 15 minutos seguintes (curva descendente). A velocidade de rotação foi aumentada de 2 rpm para 62 rpm, aumentando 2 rpm a cada 30 s. O comportamento de fluxo foi descrito através do modelo Lei da Potência, de acordo com a Equação 2, e do modelo de Casson, de acordo com a Equação 3:

$$\sigma = K(\dot{\gamma})^n \quad (2)$$

$$\sigma^{0,5} = \sigma_0^{0,5} + (\eta_c \dot{\gamma})^{0,5} \quad (3)$$

onde  $\sigma$  é a tensão de cisalhamento (Pa),  $\dot{\gamma}$  é a taxa de deformação ( $s^{-1}$ ),  $K$  é o índice de consciência ( $Pa s^{-1}$ ),  $n$  é o índice de comportamento de fluxo,  $\sigma_0$  é o limite de escoamento (Pa) e  $\eta_c$  é a viscosidade de Casson (Pa.s). A viscosidade na curva ascendente a taxa de deformação constante de  $50 s^{-1}$  foi considerada como a viscosidade aparente ( $\eta$ ) das amostras de frozen iogurte, a qual de acordo com Bourne (2002), representa a viscosidade aproximada àquela sentida na boca. O comportamento tixotrópico dos frozen iogurtes foi avaliado pelo cálculo da área de histerese entre as curvas de fluxo ascendente e descendente. Todos os valores foram obtidos em duplicata.

## 2.8 Análise estatística

Todos os dados foram expressos como média e desvio padrão. Análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey com 5 % de significância foram empregados para verificar a existência de diferenças entre os resultados. Os dados foram tratados utilizando o *software* STATISTICA version 6.0 (2001) (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA).

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1 Enumeração de *bifidobactéria*

A Tabela 2.1 apresenta a contagem de células viáveis de *Bifidobacterium* BB-12 nas amostras de frozen iogurte durante a

estocagem. A contagem para todas as amostras de frozen iogurte permaneceu acima de 6 log UFC/g durante todo período de armazenamento, o que, de acordo com Boylston et al. (2004), é o nível recomendado de micro-organismos probióticos em alimentos no momento do consumo. No entanto, de acordo com Ng, Yeung, e Tong et al. (2011), para probióticos adicionados em alimentos, quantidades adicionais de células tendem a ser exigidas antes do processamento para compensar a morte celular durante as etapas de processamento e estocagem.

**Tabela 2.1:** Valores médios  $\pm$  desvio padrão da contagem de células viáveis de *Bifidobacterium* BB-12 (log UFC/g) nas amostras de frozen iogurte durante 90 dias de armazenamento a  $-18 \pm 1$  °C.

Dias de armazenamento	Frozen iogurte			
	Controle	F1	F2	F3
1	12,08 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	7,39 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	7,14 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	7,03 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>
30	8,20 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	7,42 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	7,08 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	7,07 $\pm$ 0,01 <sup>ab</sup>
60	8,00 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>	7,36 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>	6,91 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	7,00 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>
90	7,95 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	7,34 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	7,05 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	7,36 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>

<sup>a,b,c</sup> Letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ( $P < 0,05$ ) entre os diferentes períodos de armazenamento para cada frozen iogurte estudado.

Controle= frozen iogurte adicionado de bactéria probiótica na forma livre; F1= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20 % (p/v) de LDR; F2= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 10 % (p/v) de LDR e 10% de inulina; e F3= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20% de inulina (p/v).

O número de células probióticas no frozen iogurte adicionado de bactéria livre (Controle) reduziu substancialmente (3,88 log UFC/g) durante os primeiros 30 dias de armazenamento. No entanto, a contagem decresceu somente 0,25 log UFC/g durante o restante do período de estocagem. O mesmo comportamento foi observado por Homayouni et



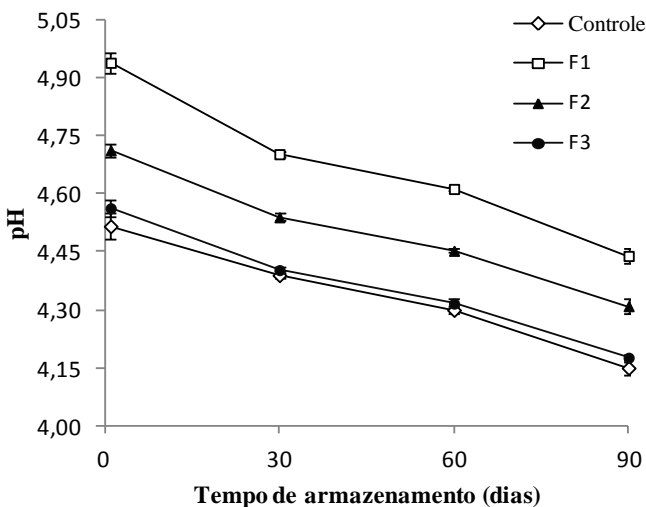
al. (2008), que verificaram que a taxa de mortalidade aparente de *Bifidobacterium* BB-12 adicionada em sorvete foi maior imediatamente após o produto ser congelado e diminuiu durante o restante período de armazenamento. Este decréscimo na contagem de bifidobactéria provavelmente ocorreu devido a injúrias causadas pelo congelamento do produto, que eventualmente conduziu a morte celular. Além disso, como o frozen iogurte é um produto batido, e as bifidobactérias são microorganismos anaeróbios, a toxicidade ao oxigênio e o estresse mecânico na operação de batimento podem ter resultado em uma redução ainda maior na contagem de células viáveis. Resultados similares com relação à sobrevivência de *Bifidobacterium lactis* BL-01 em sorvetes foram obtidos por Akin, Akin e Kirmaci (2007), que verificaram um decréscimo em torno de 4 log UFC/g na amostra controle após 90 dias de estocagem.

A contagem de bifidobactérias nas amostras adicionadas de bactéria encapsulada (F1, F2 e F3) apresentaram comportamento similar durante o armazenamento. A viabilidade nos frozen iogurtes F1 e F2 manteve-se constante ( $P > 0,05$ ) durante todo período de estocagem.

### 3.2 Análises físico-químicas

As amostras Controle, F1, F2 e F3 apresentaram teor de sólidos totais (p/p) que variaram de 30,26 a 30,32; 30,94 a 31,00; 30,88 a 30,92 e 31,12 a 31,13, respectivamente. Contudo, não foram observadas diferenças significativas durante o período de armazenamento para cada amostra de frozen iogurte estudada. As amostras adicionadas de microcápsulas (F1, F2 e F3) apresentaram maior teor de sólidos ( $P <$

0,05) que o frozen iogurte adicionado de bactéria livre. Tais resultados eram esperados uma vez que as amostras F1, F2 e F3 foram adicionadas de 2 % (p/v) das diferentes formulações de microcápsulas. Valores similares foram verificados por Akin, Akin, Kirmaci et al. (2007) para sorvetes contendo 15 % de açúcar e com adição de 1 % e 2 % de inulina.



**Figura 2.1:** Variação nos valores de pH das amostras de frozen iogurte durante o armazenamento a  $-18 \pm 1$  °C. Resultados expressos como média  $\pm$  desvio-padrão. Controle=frozen iogurte adicionado de bactéria probiótica na forma livre; F1=frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20 % (p/v) de LDR; F2= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 10 % (p/v) de LDR e 10% de inulina; e F3= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20% de inulina (p/v).

Os valores de pH diminuíram ( $P < 0,05$ ) durante o período de armazenamento de maneira similar para todas as amostras de frozen iogurte (Figura 2.1). Não foram verificadas diferenças ( $P > 0,05$ ) entre o pH das amostras Controle e F3 durante a estocagem. Os maiores valores de pH foram observados nas amostras adicionadas das microcápsulas

produzidas com LDR (F1 e F2). Estes resultados sugerem que o pH do LDR, o qual, segundo relatado por Thamer e Penna (2006), é aproximadamente de 6,44, pode ter contribuído para elevar o pH das amostras.

Durante os 90 dias de armazenamento, a acidez titulável (% ácido láctico) dos frozen iogurtes Controle, F1, F2 e F3 apresentaram valores que variaram de 0,715 a 0,743; 0,705 a 0,719; 0,713 a 0,720; e 0,711 a 0,735, respectivamente. Entretanto, nenhuma mudança significativa na acidez titulável das amostras foi verificada durante o período de armazenamento ou entre as amostras, provavelmente por causa da baixa temperatura de estocagem (-18 °C). Alamprese et al. (2002) relataram que a acidez de sorvetes com adição de *Lactobacillus johnsonii* estocado a -16 e -28 °C durante 90 dias permaneceu constante. Resultados similares foram observados por Basyigit et al. (2006) em sorvetes probióticos produzidos com sacarose e aspartame e por Al-Saleh, Metwalli e Ismail (2011) em frozen iogurte produzido com leite de camela.

### 3.3 *Overrun e propriedades de derretimento*

Os valores de *overrun* estão mostrados na Tabela 2.2. Os maiores valores foram observados nas amostras contendo microcápsulas ( $P < 0,05$ ). Contudo, a adição de inulina na composição das microcápsulas não apresentou efeito significativo sobre os valores de *overrun*. Akin, Akin, Kirmaci (2007) também relataram que a adição de inulina (1 e 2 %) em sorvetes probióticos não influenciou o *overrun* das amostras.

**Tabela 2.2:** Valores médios  $\pm$  desvio padrão de *overrun* e propriedades de derretimento das amostras de frozen iogurte.

Frozen iogurte	Dias de armazenamento	<i>Overrun</i> (%)	Tempo de primeiro gotejamento (s)	Tempo de derretimento completo (s)
<b>Controle</b>	1	30,40 $\pm$ 0,73 <sup>a</sup>	1145 $\pm$ 84 <sup>Aa</sup>	3797 $\pm$ 69 <sup>ABab</sup>
	30	-	1032 $\pm$ 140 <sup>Aa</sup>	3892 $\pm$ 42 <sup>Aa</sup>
	60	-	1235 $\pm$ 12 <sup>Aa</sup>	3974 $\pm$ 41 <sup>Aa</sup>
	90	-	1155 $\pm$ 9 <sup>Aa</sup>	4112 $\pm$ 42 <sup>Ba</sup>
<b>F1</b>	1	36,71 $\pm$ 1,77 <sup>ab</sup>	921 $\pm$ 46 <sup>Aa</sup>	3710 $\pm$ 38 <sup>Aa</sup>
	30	-	958 $\pm$ 113 <sup>ABa</sup>	3961 $\pm$ 58 <sup>ABa</sup>
	60	-	1266 $\pm$ 51 <sup>Ba</sup>	4106 $\pm$ 116 <sup>Ba</sup>
	90	-	1188 $\pm$ 88 <sup>ABa</sup>	4227 $\pm$ 89 <sup>Ba</sup>
<b>F2</b>	1	37,65 $\pm$ 0,81 <sup>b</sup>	1093 $\pm$ 88 <sup>Aa</sup>	3917 $\pm$ 59 <sup>Ab</sup>
	30	-	1149 $\pm$ 35 <sup>Aa</sup>	3950 $\pm$ 100 <sup>Aa</sup>
	60	-	1366 $\pm$ 142 <sup>Aa</sup>	3957 $\pm$ 232 <sup>Aa</sup>
	90	-	1328 $\pm$ 34 <sup>Aa</sup>	4244 $\pm$ 85 <sup>Aa</sup>
<b>F3</b>	1	37,29 $\pm$ 2,60 <sup>b</sup>	1144 $\pm$ 36 <sup>Aa</sup>	3831 $\pm$ 8 <sup>ABab</sup>
	30	-	1201 $\pm$ 54 <sup>ABa</sup>	3931 $\pm$ 65 <sup>ABa</sup>
	60	-	1437 $\pm$ 56 <sup>Ba</sup>	4072 $\pm$ 45 <sup>BCa</sup>
	90	-	1240 $\pm$ 103 <sup>ABa</sup>	4196 $\pm$ 23 <sup>Ca</sup>

<sup>A,B,C</sup> Letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ( $P < 0,05$ ) entre os diferentes períodos de armazenamento para cada frozen iogurte estudado. <sup>a,b,c</sup> Letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ( $P < 0,05$ ) para as amostras de frozen iogurte estudados no mesmo período de armazenamento.

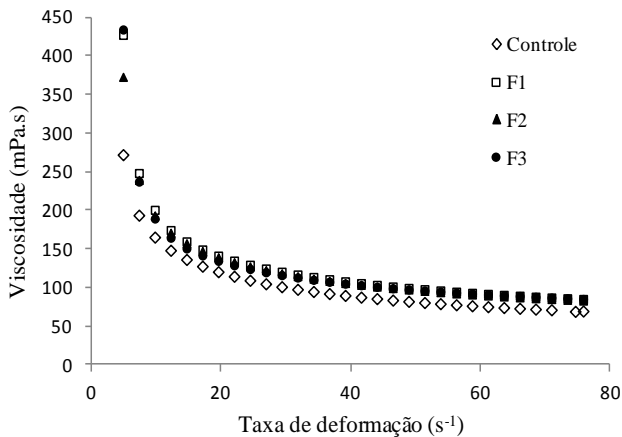
Controle= frozen iogurte adicionado de bactéria probiótica na forma livre; F1= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20 % (p/v) de LDR; F2= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 10 % (p/v) de LDR e 10% de inulina; e F3= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20% de inulina (p/v).

A mudança de um aspecto da formulação ou nas condições de processamento do produto pode provocar modificações em vários aspectos estruturais do sorvete (MUSE; HARTEL, 2004). No entanto, neste estudo, a adição das diferentes microcápsulas contendo bactérias probióticas no frozen iogurte não apresentou efeito nos tempos de primeiro gotejamento e derretimento completo durante os 90 dias de armazenamento ( $P > 0,05$ ) (Tabela 2). De maneira geral, os tempos de

derretimento completo das amostras aumentaram durante o armazenamento ( $P < 0,05$ ). Este fato provavelmente ocorreu, segundo relatado por Akalin e Erisir (2008), devido a recristalização do gelo no período de armazenamento. Na recristalização, os cristais pequenos derretem ao mesmo tempo em que os cristais grandes são formados. Durante o armazenamento, as mudanças que ocorrem na estrutura dos cristais de gelo são reforçadas por flutuações de temperatura, uma vez que os cristais pequenos, os quais possuem ponto de fusão ligeiramente inferior, são mais sensíveis a essas variações que os cristais maiores (AKALIN; ERISIR, 2008).

### *3.4 Medidas Reológicas*

A viscosidade aparente das amostras de frozen iogurte diminuiu com o aumento da taxa de deformação, indicando um comportamento de fluido não newtoniano (Figura 2.2). Rossa et al. (2011) sugeriram que o decréscimo na viscosidade em sorvetes ocorre parcialmente devido a agregação dos glóbulos de gordura, que diminuem de tamanho durante o cisalhamento e, conseqüentemente, reduzem a viscosidade da amostra. Uma redução na viscosidade aparente com o aumento na taxa de deformação também foi observada por Oliveira, Souza e Monteiro (2008) e Rezaei et al. (2011) em sorvetes e frozen iogurte, respectivamente.



**Figura 2.2:** Viscosidade *versus* taxa de deformação das amostras de frozen iogurte no primeiro dia de armazenagem a  $-18 \pm 1$  °C. Controle= frozen iogurte adicionado de bactéria probiótica na forma livre; F1= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20 % (p/v) de LDR; F2= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 10 % (p/v) de LDR e 10% de inulina; e F3= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20% de inulina (p/v).

A viscosidade aparente para as amostras de frozen iogurte nos dias 1, 30, 60 e 90 de armazenamento estão mostrados na Tabela 2.3. As amostras adicionadas das microcápsulas (F1, F2 e F3) apresentaram maior viscosidade aparente ( $P < 0,05$ ) do que o frozen iogurte com bactéria livre (Controle) durante os 90 dias de estocagem. Este aumento ocorreu provavelmente devido ao maior conteúdo de sólidos totais das amostras com microcápsulas. Isik et al. (2011) relacionaram o aumento da viscosidade com o aumento no conteúdo de gordura e sólidos totais em frozen iogurtes tradicionais (35,13% de sólidos totais e 6 % de gordura) e com reduzido teor de gordura (32,13 % de sólidos totais e 3 % de gordura). Akin, Akin, Kirmaci (2007) também detectaram um aumento na viscosidade de sorvetes com diferentes níveis de açúcar com

um correspondente aumento no conteúdo de sólidos totais. Somente o frozen iogurte F3 apresentou um aumento na viscosidade aparente ( $P < 0,05$ ) após 90 dias de armazenamento, entretanto, não foram observadas diferenças significativas quando comparadas com a amostra F2. Este aumento pode estar relacionado com a maior concentração de inulina na composição das microcápsulas adicionadas ao frozen iogurte F3. El-Nagar et al. (2002) e Soukoulis, Lebesi e Tzia (2009) relataram que a inulina contribui para a modificação nas propriedades físicas de frozen iogurte e sorvete devido à sua capacidade de se ligar com a água. Meyer et al. (2011) relataram que essas variações também podem ser explicadas pelas interações que ocorrem entre a inulina e as proteínas do leite. Um aumento na viscosidade aparente durante o período de armazenamento também foi observado por Donkor et al. (2007) em iogurtes probióticos com ou sem de inulina durante 28 dias de estocagem e por Debon, Prudêncio e Petrus (2010) em leites fermentados com ou sem adição de inulina durante 21 dias de estocagem.

**Tabela 2.3:** Viscosidade aparente das amostras de frozen iogurte durante 90 dias de armazenamento a  $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Frozen iogurte	Dias de armazenamento	Viscosidade aparente $\eta$ (mPa.s)
<b>Controle</b>	<b>1</b>	80,46 <sup>Aa</sup>
	<b>30</b>	88,02 <sup>Aa</sup>
	<b>60</b>	89,50 <sup>Aa</sup>
	<b>90</b>	79,15 <sup>Aa</sup>
<b>F1</b>	<b>1</b>	97,31 <sup>Ab</sup>
	<b>30</b>	94,86 <sup>Aab</sup>
	<b>60</b>	99,15 <sup>Aa</sup>
	<b>90</b>	91,02 <sup>Aab</sup>
<b>F2</b>	<b>1</b>	95,65 <sup>Ab</sup>
	<b>30</b>	99,59 <sup>Aab</sup>
	<b>60</b>	98,06 <sup>Aa</sup>
	<b>90</b>	108,12 <sup>Abc</sup>
<b>F3</b>	<b>1</b>	96,00 <sup>Ab</sup>
	<b>30</b>	102,10 <sup>Ab</sup>
	<b>60</b>	99,7 <sup>Aa</sup>
	<b>90</b>	115,20 <sup>Bc</sup>

<sup>A,B,C</sup> Letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ( $P < 0,05$ ) entre os diferentes períodos de armazenamento para cada frozen iogurte estudado. <sup>a,b,c</sup> Letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ( $P < 0,05$ ) para as amostras de frozen iogurte estudados no mesmo período de armazenamento.

Controle= frozen iogurte adicionado de bactéria probiótica na forma livre; F1= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20 % (p/v) de LDR; F2= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 10 % (p/v) de LDR e 10% de inulina; e F3= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20% de inulina (p/v).

Os parâmetros reológicos obtidos através dos modelos Lei da Potência e Casson para as amostras de frozen iogurte nos dias 1, 30, 60 e 90 de armazenamento estão apresentados na Tabela 2.4. Ambos os modelos adequadamente os dados das curvas de tensão de cisalhamento *versus* taxa de deformação de todas as amostras ( $R^2 > 0,995$ ). O modelo da Lei da Potência foi empregado para encontrar o índice de consistência ( $K$ ) e o índice de comportamento de fluxo ( $n$ ) (Tabela



2.3). Durante o armazenamento, os índices de comportamento de fluxo das amostras de frozen iogurte apresentaram comportamento *shear thinning* ( $n < 1$ ), os quais variaram de 0,512 a 0,654. Estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos por El-Nagar et al. (2002), Oliveira, Souza e Monteiro (2008), Soukoulis, Lebesi e Tzia (2009) e Rezaei et al. (2011), os quais relataram que as propriedades reológicas de sorvetes e frozen iogurte são descritas como *shear thinning*. Como observado para a viscosidade aparente, os frozen iogurtes adicionados das microcápsulas contendo inulina (F2 e F3) apresentaram um aumento ( $P < 0,05$ ) no índice de consistência durante o período de armazenamento. Contudo, não foram encontradas diferenças significativas entre essas amostras, indicando que um aumento na concentração de inulina na composição das microcápsulas não afetou esse parâmetro.

O modelo de Casson foi empregado para calcular o limite de escoamento de Casson ( $\sigma_0$ ) e a viscosidade de Casson ( $\eta_c$ ) (Tabela 2.4). De maneira geral, os frozen iogurtes F2 e F3 apresentaram um aumento no limite de escoamento de Casson durante o período de armazenamento. Este aumento pode ter sido causado devido ao aumento na viscosidade aparente das amostras, o que provavelmente ocorreu devido à retenção de água pela inulina. Rezaei et al. (2011) observaram um aumento no limite de escoamento de Casson com um aumento na viscosidade de frozen iogurtes com diferentes concentrações de goma guar e goma arábica. Os valores encontrados para a viscosidade de Casson foram maiores nos frozen iogurtes adicionados de microcápsulas (F1, F2 e F3), como observado para a viscosidade aparente, provavelmente devido ao maior conteúdo de sólidos totais dessas

amostras. No entanto, nenhuma diferença foi verificada para a viscosidade de Casson ( $P > 0,05$ ) durante o período de armazenamento dos frozen iogurtes estudados neste trabalho.

**Tabela 2.4:** Parâmetros reológicos obtidos através dos modelos Lei da Potência ( $\sigma = K(\dot{\gamma})^n$ ) e Casson ( $\sigma^{0,5} = \sigma_0^{0,5} + (\eta_c \dot{\gamma})^{0,5}$ ) das amostras de frozen iogurte durante 90 dias de armazenamento a  $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ .

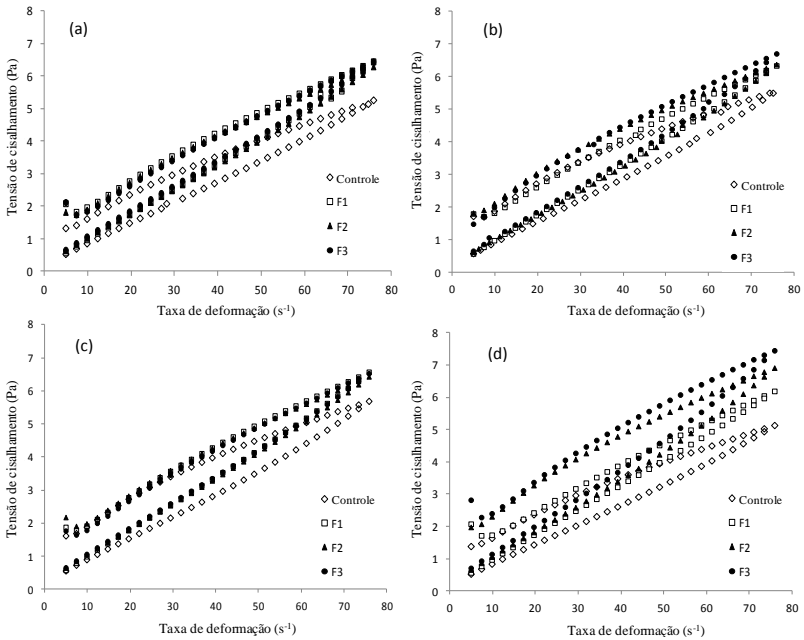
Frozen iogurte	Dias de armazenamento	Modelos					
		Lei da Potência			Casson		
		K (Pa.s <sup>n</sup> )	n	R <sup>2</sup>	$\sigma_0$ (Pa)	$\eta_c$ (mPa.s)	R <sup>2</sup>
<b>Controle</b>	<b>1</b>	0,420 <sup>Aa</sup>	0,582 <sup>Aa</sup>	0,999	0,536 <sup>Aa</sup>	32,70 <sup>Aa</sup>	0,999
	<b>30</b>	0,605 <sup>Aa</sup>	0,512 <sup>Aa</sup>	0,998	0,748 <sup>Aa</sup>	30,77 <sup>Aa</sup>	0,996
	<b>60</b>	0,564 <sup>Aa</sup>	0,566 <sup>Aa</sup>	0,996	0,739 <sup>Aa</sup>	31,87 <sup>Aa</sup>	0,996
	<b>90</b>	0,443 <sup>Aa</sup>	0,622 <sup>Aa</sup>	0,999	0,509 <sup>Aa</sup>	30,72 <sup>Aa</sup>	0,998
<b>F1</b>	<b>1</b>	0,460 <sup>Aa</sup>	0,608 <sup>Aab</sup>	0,999	0,584 <sup>Aa</sup>	42,14 <sup>Ab</sup>	0,997
	<b>30</b>	0,406 <sup>Ab</sup>	0,631 <sup>Ab</sup>	0,998	0,507 <sup>Ab</sup>	43,20 <sup>Ab</sup>	0,998
	<b>60</b>	0,467 <sup>Aa</sup>	0,608 <sup>Ab</sup>	0,997	0,570 <sup>Ab</sup>	43,66 <sup>Ab</sup>	0,998
	<b>90</b>	0,356 <sup>Aa</sup>	0,654 <sup>Ab</sup>	0,995	0,391 <sup>Aa</sup>	42,40 <sup>Ab</sup>	0,996
<b>F2</b>	<b>1</b>	0,460 <sup>Aa</sup>	0,614 <sup>Aab</sup>	0,999	0,592 <sup>Aa</sup>	40,40 <sup>Abc</sup>	0,998
	<b>30</b>	0,631 <sup>Ba</sup>	0,531 <sup>Ba</sup>	0,999	0,824 <sup>Ba</sup>	35,35 <sup>Aa</sup>	0,998
	<b>60</b>	0,514 <sup>Aa</sup>	0,508 <sup>Aab</sup>	0,997	0,643 <sup>ABa</sup>	40,30 <sup>Ab</sup>	0,998
	<b>90</b>	0,695 <sup>Bb</sup>	0,526 <sup>Ba</sup>	0,997	0,854 <sup>Bb</sup>	41,60 <sup>Ab</sup>	0,998
<b>F3</b>	<b>1</b>	0,409 <sup>Aa</sup>	0,632 <sup>Ab</sup>	0,997	0,486 <sup>Aa</sup>	44,93 <sup>Ac</sup>	0,998
	<b>30</b>	0,536 <sup>Bab</sup>	0,580 <sup>Bc</sup>	0,999	0,614 <sup>Aab</sup>	44,05 <sup>Ab</sup>	0,998
	<b>60</b>	0,418 <sup>Aa</sup>	0,637 <sup>Ab</sup>	0,998	0,478 <sup>Aab</sup>	47,83 <sup>Ac</sup>	0,999
	<b>90</b>	0,622 <sup>Bb</sup>	0,572 <sup>Ba</sup>	0,999	0,825 <sup>Bb</sup>	44,78 <sup>Ab</sup>	0,998

<sup>A,B,C</sup> Letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ( $P < 0,05$ ) entre os diferentes períodos de armazenamento para cada frozen iogurte estudado. <sup>a,b,c</sup> Letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ( $P < 0,05$ ) para as amostras de frozen iogurte estudados no mesmo período de armazenamento.

K, índice de consistência; n, índice de comportamento de fluxo; R<sup>2</sup>, coeficiente de determinação;  $\sigma_0$ , limite de escoamento de Casson;  $\eta_c$ , viscosidade de Casson;  $\eta$ , viscosidade aparente a 50 s<sup>-1</sup>.

Controle= frozen iogurte adicionado de bactéria probiótica na forma livre; F1= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20 % (p/v) de LDR; F2= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 10 % (p/v) de LDR e 10% de inulina; e F3= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20% de inulina (p/v).

Os reogramas para as amostras de frozen iogurte estão apresentados na Figura 2.3, sendo observadas diferentes curvas durante o período de armazenamento.



**Figura 2.3:** Curvas de fluxo, tensão de cisalhamento *versus* taxa de deformação, para as amostras de frozen iogurtes nos dias 1 (a), 30 (b), 60 (c), e 90 (d) de armazenamento. Controle = frozen iogurte adicionado de bactéria probiótica na forma livre; F1= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20 % (p/v) de LDR; F2= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 10 % (p/v) de LDR e 10% de inulina; e F3= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20% de inulina (p/v).

Os reogramas mostram que o frozen iogurte adicionado de bactéria livre (Controle) apresentou menores valores de tensão de cisalhamento quando comparado com as amostras adicionadas das microcápsulas (F1, F2 e F3) durante todo o período de armazenamento. Após 90 dias, o comportamento reológico das amostras contendo as

microcápsulas preparadas com diferentes concentrações de inulina (F2 e F3) diferiu do comportamento das amostras Controle e F1. Isto pode ter ocorrido devido ao aumento da viscosidade aparente após 90 dias.

As amostras F2 e F3 apresentaram uma maior área de histerese (Tabela 2.5) ao final do período de estocagem, indicando uma mudança na estrutura do sistema. Este aumento da área de histerese pode estar relacionado com o aumento da viscosidade aparente após 90 dias de armazenamento. Segundo relatado por Hernández (1996), um fluido tixotrópico de maior viscosidade pode apresentar uma maior área de histerese que um fluido menos viscoso, mesmo quando ocorre um aumento na quebra da estrutura do fluido menos viscoso. Um aumento na área de histerese como consequência do aumento da viscosidade também foi observado por Debon, Prudêncio e Petrus (2010) em leites fermentados com adição de inulina. Torres, Tárrega e Costell (2010) observaram que a área de histerese variou durante o período de armazenamento de sobremesas lácteas contendo inulina de cadeia longa, como no presente trabalho. Além disso, o aumento na área de histerese ao longo do tempo foi maior nas amostras preparadas com leite desnatado e inulina, enquanto que a amostra controle, a qual continha somente leite desnatado, apresentou menor área de histerese. O mesmo comportamento foi observado neste estudo, embora não tenham sido verificadas diferenças significativas entre as amostras até 60 dias de armazenamento.

Por fim, o comportamento reológico das amostras de frozen iogurte praticamente não foi afetado pela adição das microcápsulas contendo inulina, provavelmente devido pequena concentração utilizada. De acordo com Meyer et al. (2011), quando a inulina é empregada em

alimentos em pequenas concentrações, as propriedades reológicas não são fortemente afetadas por causa do efeito limitado da inulina sobre viscosidade do alimento.

**Tabela 2.5:** Área de histerese das amostras de frozen iogurte durante 90 dias de armazenamento a  $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Frozen iogurte	Dias de armazenamento	Área de histerese
Controle	1	45,51 <sup>Aa</sup>
	30	62,34 <sup>Aab</sup>
	60	65,29 <sup>Aa</sup>
	90	49,62 <sup>Aa</sup>
F1	1	55,55 <sup>Aa</sup>
	30	47,16 <sup>Aa</sup>
	60	55,04 <sup>Aa</sup>
	90	35,87 <sup>Ba</sup>
F2	1	53,07 <sup>Aa</sup>
	30	69,50 <sup>Ab</sup>
	60	56,92 <sup>Aa</sup>
	90	78,63 <sup>Ac</sup>
F3	1	45,50 <sup>Aa</sup>
	30	60,48 <sup>ABab</sup>
	60	48,70 <sup>Aa</sup>
	90	72,27 <sup>Bc</sup>

<sup>A,B,C</sup> Letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ( $P < 0,05$ ) entre os diferentes períodos de armazenamento para cada frozen iogurte estudado. <sup>a,b,c</sup> Letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ( $P < 0,05$ ) para as amostras de frozen iogurte estudados no mesmo período de armazenamento.

Controle= frozen iogurte adicionado de bactéria probiótica na forma livre; F1= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20 % (p/v) de LDR; F2= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 10 % (p/v) de LDR e 10% de inulina; e F3= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20% de inulina (p/v).

#### 4. Conclusão

A microencapsulação utilizando LDR e inulina como agentes encapsulantes melhorou a estabilidade de *Bifidobacterium* BB-12 no

frozen iogurte, enquanto que a bactéria probiótica adicionada na forma livre apresentou um decréscimo de 4,13 log UFC/g durante o período de armazenamento. Todas as amostras de frozen iogurte apresentaram uma diminuição do pH durante a estocagem, entretanto, a utilização de LDR como agente encapsulante promoveu o aumento dos valores de pH. Além disso, foi observado que a adição das microcápsulas aumentou o conteúdo de sólidos totais e os valores de *overrun*. Os modelos Lei da Potência e de Casson foram aplicados com sucesso para descrever o comportamento de fluxo dos frozen iogurte, os quais apresentaram comportamento não newtoniano e *shear thinning*. A adição das microcápsulas aumentou a viscosidade aparente das amostras. Além disso, no final do período de estocagem, uma maior área de histerese foi observada para as amostras adicionadas das microcápsulas contendo inulina (F2 e F3).

### Referências Bibliográficas

AKALIN, A.S.; ERIŞİR, D. Effects of inulin and oligofructose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in low-fat probiotic ice cream. **Journal of Food Science**, v. 78, p. 184-188, 2008.

AKIN, M.B.; AKIN, M.S.; KIRMACI, Z. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yoghurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. **Food Chemistry**, v. 104, p. 93-99, 2007.

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. **International Dairy Journal**, v.12, p. 201-208, 2002.

AL-SALEH, A. A.; METWALLI, A.A.M.; ISMAIL, E.A. Physicochemical properties of probiotic frozen yoghurt made from camel milk. **International Journal of Dairy Technology**, v.64, p. 557-562, 2011.

ANANTA, E.; VOLKERT, M.; KNORR, D. Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. **International Dairy Journal**, v. 15, p. 399-409, 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the association analytical chemists**. 18th. Edition. Maryland, USA, 2005.

BASYIGIT, G.; KULEASAN, H.; KARAHAN A.G. Viability of human-derived probiotic lactobacilli in ice cream produced with sucrose and aspartame. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 33, p. 796–800, 2006.

BOURNE, M.C. **Food texture and viscosity: concept and measurement**. 2 ed. Academic Press, San Diego. 427 p. 2002.

BOYLSTON, T. D.; VINDEROLA, C. G.; GHODDUSI, H. B.; REINHEIMER, J. A. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 375–387, 2004.

BRINQUES, G.B.; AYUB, M.A.Z. Effect of microencapsulation on survival of *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, and yogurt. **Journal of Food Engineering**, v. 103, p. 123–128, 2011.

BURGAIN, J.; GAIANI, C.; LINDER, M.; SCHER, J. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. **Journal of Food Engineering**, v. 104, p. 467–483, 2011.

CORCORAN, B.M.; ROSS, R.P.; FITZGERALD, G.F.; STANTON, C. Comparative survival of probiotic lactobacilli spray-dried in the presence of prebiotic substances. **Journal of Applied Microbiology**, v. 96, p. 1024–1039, 2004.

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. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 666-673, 2000.

DEBON, J.; PRUDÊNCIO, E.P.; PETRUS, J.C.C. Rheological and physico-chemical characterization of prebiotic microfiltered fermented milk. **Journal of Food Engineering**, v. 99, p. 128–135, 2010.

DE VOS, P.; FAAS, M. M.; SPASOJEVIC, M.; SIKKEMA, J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. **International Dairy Journal**, v. 20, p. 292–302, 2010.

DONKOR, O.N.; NILMINI, S.L.I.; STOLIC, P.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N.P. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 657–665, 2007.

EL-NAGAR, G.; CLOWES, G.; TUDORICA, C.M.; KURI, V.; BRENNAN, C.S. Rheological quality and stability of yog-ice cream with added inulin. **International Journal of Dairy Technology**, v.55, p. 89-93, 2002.

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, 2001. 34p. Disponível em: [http://www.who.int/foodsafety/publications/fs\\_management/en/probiotics.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf). Acesso em 16 setembro de 2011.

FRITZEN-FREIRE, C.B; MÜLLER, C.M.O.; LAURINDO, J.B.; PRUDÊNCIO, E.S. The influence of *Bifidobacterium* Bb-12 and lactic acid incorporation on the properties of Minas Frescal cheese. **Journal of Food Engineering**, v. 96, p. 621-627, 2010.

FRITZEN-FREIRE, C.B; PRUDÊNCIO, E.S.; AMBONI, R.D.M.C; PINTO, S.S; NEGRÃO-MURAKAMI, A.; MURAKAMI, F.S. Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the presence of prebiotics. **Food Research International**, v. 45, p. 306–312, 2012.



FU, N.; CHEN, X. D. Towards a maximal cell survival in convective thermal drying processes. **Food Research International**, v. 44, p. 1127-1149, 2011.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview **Food Research International**, v. 40, p. 1107–1121, 2007.

GOMES, A.M.P.; MALCATA, F.X. *Bifidobacterium spp.* and *Lactobacillus acidophilus*: biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science and Technology**, v.10, p. 139–157, 1999.

HERNÁNDEZ, M.J. **Caracterización reológica de hidrogeles de MCC-NaCMC + almidón. Tixotropía y sinergismo**. Ph.D. Thesis. Universitat de València, Valencia, Spain, 1996.

HOMAYOUNI, A.; AZIZI, A., EHSANI, M.R.; YARMAND, M.S.; RAZAVI, S.H. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. **Food Chemistry**, v. 111, p. 50–55, 2008.

ISIK, U.; BOYACIOGLU, D.; CAPANOGLU, E.; NILUFER ERDIL, D. Frozen yogurt with added inulin and isomalt. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 1647-1656, 2011.

KAILASAPATHY, K. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. **Food Science and Technology**, v. 39, p. 1221-1227, 2006.

MARSHALL, R.T.; GOFF, H.D.; HARTEL, R.W. **Ice cream**. 3 ed. Aspen Publishers, New York, 2003.

MENG, X.C.; STANTON, C.; FITZGERALD, G.F.; DALY, C.; ROSS, R.P. Anhydrobiotics: The challenges of drying probiotic cultures. **Food Chemistry**, v. 106, p. 1406–1416, 2008.

MEYER, D.; BAYARRI, S.; TÁRREGA, A.; COSTELL, E. Inulin as texture modifier in dairy products. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1881-1890, 2011.

MOHAMMADI, R.; MORTAZAVIAN, A.M.; KHOSROKHAHA, R.; CRUZ, A.G. Probiotic ice cream: viability of probiotic bacteria and sensory properties. **Annals of Microbiology**, v. 61, p. 411-424, 2011.

MUSE, M.R.; HARTEL, R.W. Ice cream structural elements that affect melting rate and hardness. **Journal Dairy Science**, v. 87, p. 1-10, 2004.

NG, E.W.; YEUNG, M.; TONG, P.S. Effects of yogurt starter cultures on the survival of *Lactobacillus acidophilus*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 145, p. 169–175, 2011.

ONG, L.; HENRIKSSON, A.; SHAH, N. P. Development of probiotic Cheeddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. paracasei* and *Bifidobacterium* spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 446-456, 2006.

OLIVEIRA, K.H.; SOUZA, J.A.R.; MONTEIRO, A.R. Caracterização reológica de sorvetes. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 592-598, 2008.

OLIVEIRA, R.P.S.; PEREGO, P.; OLIVEIRA, M.N.; CONVERTI, A. Effect of inulin as prebiotic and synbiotic interactions between probiotics to improve fermented milk firmness. **Journal of Food Engineering**, v. 107, p. 36–40, 2011.

RAMCHANDRAN, L.; SHAH, N. P. Characterization of functional, biochemical and textural properties of symbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p. 819–827, 2010.

REZAEI, R.; KHOMEIRI, M.; KASHANINEJAD, M.; AALAMI, M. Effects of guar gum and arabic gum on the physicochemical, sensory and flow behavior characteristics of frozen yoghurt. **International Journal of Dairy Technology**, v. 64, p. 563–568, 2011.

ROSS, R.P.; DESMOND, C.; FITZGERALD, G.F.; STANTON, C. Overcoming the technological hurdles in the development of probiotic foods. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p. 1410–1417, 2005.

ROSSA, P.N.; SÁ, E.M.F.; BURIN, V. M.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Optimization of microbial transglutaminase activity in ice cream using response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 29-34, 2011.

SENDRA, E.; FAYOS, P.; LARIO, Y.; FERNANDEZ-LOPEZ, J.; SAYAS-BARBERA, E.; PEREZ-ALVARE, J.A. Incorporation of citrus fibers in fermented milk containing probiotic bacteria. **Food Microbiology**, v. 25, p. 13–21, 2008.

SHEU, T. Y.; MARSHALL, R. T.; HEYMANN, H. Improving survival of culture bacteria in frozen desserts by microentrapment. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 1902–1907, 1993.

SHAH, N.P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 1262–1277, 2007.

SIRÓ, I.; KÁPOLNA, E.; KÁPOLNA, B.; LUGASI, A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance - A review. **Appetite**, v. 51, p. 456–467, 2008.

SOUKOULIS, C.; LEBESI, D.; TZIA, C. Enrichment of ice cream with dietary fibre: Effects on rheological properties, ice crystallisation and glass transition phenomena. **Food Chemistry**, v. 115, p. 665–671, 2009.

STATSOFT Inc. **STATISTICA (data analysis system) version 6.0**. Tulsa, OK: StatSoft Inc., 2001.

THAMER, K.G.; PENNA, A.L.B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 589 -595, 2006.

TORRES, J.D; TÁRREGA, A.; COSTELL, E. Storage stability of starch-based dairy desserts containing long-chain inulin: Rheology and particle size distribution. **International Dairy Journal**, v. 20, p. 46–52, 2010.

TURGUT, T., & CAKMAKCI, S. Investigation of the possible use of probiotics in ice cream manufacture. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, p. 444-451, 2009.

---

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. **International Dairy Journal**, v. 9, p. 497–505, 1999.

### **Capítulo 3**

**Influência da adição de *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulada nas características físicas, químicas e aceitabilidade sensorial de frozen iogurte**



---

**Influencia da adição de *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulada nas características físicas e químicas e aceitabilidade sensorial de frozen iogurte**

**Resumo**

Amostras de frozen iogurtes adicionadas de *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulada com diferentes concentrações de leite desnatado reconstituído e inulina foram avaliadas com relação à aceitabilidade sensorial e características físicas e químicas. A adição das diferentes formulações de microcápsulas modificou o conteúdo de sólidos totais, proteínas, cinzas e os valores de pH, porém não alterou o teor de lipídios, a acidez e a cor das amostras. A utilização de inulina como agente encapsulante contribuiu para o aumento da firmeza das amostras, entretanto, apenas o frozen iogurte acrescido das microcápsulas produzidas com 20 % de inulina apresentou um aumento na adesividade. Através de um questionário aplicado com intuito de avaliar a atitude com relação ao consumo de frozen iogurte verificou-se que a frequência de consumo desse produto é menor do que a de iogurtes e sorvetes. No entanto, a maioria dos indivíduos que responderam ao questionário concorda que frozen iogurte é um alimento saudável. As amostras apresentaram boa aceitabilidade, sendo que a maioria dos consumidores demonstrou intenção de consumir este produto.

*Palavras-chave:* frozen iogurte, probiótico, microencapsulação, inulina, análise sensorial.

---

**Influence of addition of microencapsulated *Bifidobacterium* BB-12  
on the physical and chemical characteristics and sensorial  
acceptability of frozen yogurt**

**Abstract**

Samples of frozen yogurts added *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulated with different concentration of reconstituted skimmed milk and inulin were evaluated regarding sensory acceptability and physical and chemical characteristics. The addition of different formulations of microcapsules changed the contents of solid total, proteins and ash and the pH values, however, not modified the fat content, the acidity and the color of samples. The use of inulin as carrier agent contributed to raise the firmness of samples, however, only the frozen yogurt added with microcapsules prepared with 20% of inulin showed an enhancement in adhesiveness. Through the questionnaire applied in order to assess the attitude toward the consumption of frozen yogurt was verified that the frequency of consumption of this product is lower when compared with yogurts and ice cream. Nevertheless, the majority of the individuals that answered the questionnaire agree that frozen yogurt is a healthy food. All samples showed good acceptability and the majority stated that would consume this product.

Keywords: frozen yogurt, probiotic, microencapsulation, inulin, sensory analysis.



## 1. Introdução

Frozen iogurte, também conhecido como sorvete de iogurte, é uma sobremesa láctea congelada que apresenta como principal característica o sabor ácido, sendo produzida através da fermentação com *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* (BRASIL, 2000; ISIK et al., 2011). Este alimento possui baixo teor de gordura e reduzido teor de lactose e, dessa forma, apresenta-se como uma alternativa ao consumo de sorvete (TAMIME; ROBINSON, 2000; MARSHALL; GOFF; HARTEL, 2003). Além disso, a suplementação deste produto com micro-organismos probióticos pode fornecer benefícios adicionais à saúde do consumidor (DAVIDSON et al., 2000), principalmente através da manutenção do equilíbrio e composição do trato gastrointestinal, o que auxilia na proteção contra patógenos (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010).

A viabilidade de culturas probióticas adicionadas frozen iogurte tem sido objeto de estudo em diversas pesquisas (DAVIDSON et al., 2000; GONÇALVES; EBERLE, 2008; AL-SALEH; METWALLI; ISMAIL, 2011). Contudo, o estresse mecânico e incorporação de ar que ocorrem na operação de batimento, o processo de congelamento e também a acidez podem resultar na diminuição da viabilidade de probióticos nesse tipo de produto (DAVIDSON et al., 2000; AKIN; AKIN; KIRMACI, 2007; HOMAYOUNI et al., 2008). Dessa forma, a utilização da tecnologia de microencapsulação pode ser uma alternativa capaz de conferir proteção as células probióticas contra danos causados pelo ambiente externo (DING; SHAH, 2009). Dentre as tecnologias empregadas na microencapsulação de probióticos a de *spray drying* está entre as mais utilizadas por ser economicamente viável, sendo possível

obter altas taxas de produção em escala industrial (CORCORAN et al., 2004; GHARSALLAOUI et al., 2007).

Probióticos podem ser encapsulados empregando diferentes materiais como agentes encapsulantes, incluindo proteínas do leite e carboidratos complexos, como prebióticos (ROSS et al., 2005; ROKKA; RANTAMAKI, 2010). Leite desnatado reconstituído (LDR) e prebióticos, como a inulina, apresentam potencial para serem empregados como agentes encapsulantes, podendo ser úteis no melhoramento da sobrevivência de probióticos durante o processo de *spray drying* (CORCORAN et al., 2004; ANANTA et al., 2005; FRITZEN-FREIRE et al., 2012).

Entretanto, a adição de culturas probióticas, assim como a utilização de tecnologias, como a de microencapsulação, podem modificar as características sensoriais dos alimentos, causando alterações no sabor e textura, podendo interferir na aceitabilidade deste tipo de produto pelo consumidor (CRUZ et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da adição da bactéria probiótica *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulada com diferentes concentrações de leite desnatado reconstituído e inulina nas características físicas, químicas e aceitabilidade sensorial de frozen iogurte.

## 2. Material e Métodos

### 2.1 Material

Cultura probiótica contendo *Bifidobacterium* BB-12 (BB-12<sup>®</sup>, Chr.Hansen, Hønhsholm, Denmark) foi utilizada. Leite em pó desnatado

(Molico<sup>®</sup>, Nestlé, São Paulo, Brazil) e inulina (Orafti<sup>®</sup>HPX, Orafiti, Tienen, Belgium) ( $DP \geq 23$ ) foram utilizados como agentes encapsulantes. MRS agar (Difco, Sparks, USA), cloreto de lítio (Vetec, Rio de Janeiro, Brazil), propionato de sódio (Fluka, Neu-Ulm, Germany) e AnaeroGen<sup>®</sup> (Oxoid, Hampshire, UK) foram empregados na realização das análises microbiológicas. Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico (p.a.).

## 2.2 Preparo da suspensão de células

O preparo da suspensão de células foi realizada de acordo com metodologia descrita por Fritzen-Freire et al. (2012). Cultura pura e liofilizada DVS (Direct Vat Set) de *Bifidobacterium* BB-12 foi reidratada na concentração de 2,5 % (p/v) em uma solução estéril de leite desnatado reconstituído (LDR) 12 % (p/v) e congelada em frascos de vidro estéreis a  $-18 \pm 1$  °C. Antes de ser inoculada nas três soluções de alimentação do *spray dryer* ou ser adicionada ao frozen iogurte controle como bactéria livre (não-encapsulada), a cultura estoque foi reativada em estufa a  $37 \pm 1$  °C durante duas horas.

## 2.3 Microencapsulação pela técnica de spray drying

### 2.3.1 Preparo das soluções de alimentação

Três soluções de alimentação foram preparadas de acordo com os procedimentos descritos por Fritzen-Freire et al. (2012) através da combinação dos seguintes agentes encapsulantes: 20 % (p/v) de leite desnatado reconstituído (LDR), 10 % (p/v) de LDR e 10% de inulina, e 20 % (p/v) de inulina. Todos os meios foram homogeneizados em água

destilada, tratados termicamente a  $80 \pm 2$  °C por 30 minutos e resfriados a  $4,0 \pm 2$  °C. A cultura estoque de *Bifidobacterium* BB-12 foi inoculada nas três soluções de alimentação na concentração de 10% (v/v).

### 2.3.2 Microencapsulação

O processo de microencapsulação foi realizado em *spray dryer* de escala laboratorial (Buchi B-290 mini spray dryer, Flawil, Switzerland), operado com temperatura de entrada de ar de 150 °C e temperatura de saída de ar  $55 \pm 3$ °C. As soluções de alimentação contendo *Bifidobacterium* BB-12 foram mantidas sob agitação a temperatura ambiente ( $20 \pm 2$ °C) e introduzidas na câmara de secagem utilizando uma bomba peristáltica com vazão de alimentação de  $6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , taxa de fluxo do ar de secagem de  $35 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$  e pressão de ar de 0,7 MPa. As microcápsulas foram coletadas na base do ciclone, transferidas para frascos de vidros estéreis e armazenadas a  $-18 \pm 1$  °C.

### 2.4 Elaboração do frozen iogurte probiótico

Para a preparação do frozen iogurte, água, leite em pó integral e leite em pó desnatado foram primeiramente homogeneizados e culturas lácteas (*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) foram adicionadas a mistura e incubadas à temperatura de 40 °C *overnight*. Creme de leite (35 % de gordura; Nestlé, Araçatuba, SP, Brasil), açúcar, glicose, xarope de glicose 40 DE (Karo®, Garanhuns, PE, Brasil) e emulsificante Emustab (Duas Rodas, Jaraguá do Sul, SC, Brasil) foram adicionados e a mistura foi tratada termicamente a 80 °C por 25 s, resfriada e maturada a 8 °C por 24 horas. Após a maturação, a mistura foi dividida em quatro porções de 4 L

(Controle, F1, F2 e F3). A uma das porções foi acrescentado 0,6 % (v/v) da solução estoque contendo *Bifidobacterium* BB-12 (frozen iogurte Controle), enquanto que nas outras três porções (F1, F2 e F3) foram adicionados 2 % (p/v) das diferentes formulações de microcápsulas com probiótico. F1 foi adicionada das microcápsulas preparadas com 20 % (p/v) de LDR, F2 foi adicionada das microcápsulas preparadas com 10 % de LDR (w/v) e 10% de inulina e F3 foi adicionada das microcápsulas preparadas com 20 % (p/v) de inulina. As amostras de frozen iogurte foram produzidas utilizando uma produtora horizontal em batelada com capacidade de 8 Kg (MDG<sup>®</sup>, model PHD 80-100, São Carlos, Brasil) onde foram batidas e congeladas. As amostras foram acondicionadas em potes plásticos de 100 mL e 1000 mL e estocadas a  $-18 \pm 1$  °C.

### 2.5 Análises microbiológicas

Para realizar a contagem de *Bifidobacterium* BB-12 no frozen iogurte, primeiramente as bactérias foram liberadas das cápsulas de acordo com metodologia descrita por Sheu, Marshall e Heymann (1993). Vinte e cinco gramas de amostra foram misturadas em 25 mL de tampão fostato (0,1 M, pH 7,0) e homogeneizadas em agitador magnético durante 10 minutos. A amostra de frozen iogurte contendo bactéria livre (Controle) foi tratada da mesma maneira, com o intuito de manter as mesmas condições de análise. Para enumeração de bifidobactéria, as amostras foram submetidas à diluição seriada utilizando água peptonada 0,1 % (p/v) e plaqueadas utilizando meio MRS ágar modificado com adição de 0,2 % (p/v) de cloreto de lítio e 0,3 % (p/v) de propionato de sódio (MRS-LP), de acordo com

metodologia proposta por Vinderola and Reinheimer (1999). As placas foram incubadas utilizando jarras de anaerobiose contendo AnaeroGen<sup>®</sup> a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  por 72 horas e os resultados foram expressos em log unidade formadora de colônia por grama (log UFC/g). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Antes da realização da análise sensorial, a fim de garantir a segurança dos consumidores, as amostras de frozen iogurte foram submetidas ensaios microbiológicos de Coliformes a  $45^\circ\text{C}$ , *Estafilococos* coagulase positiva e *Salmonella* sp, conforme metodologia da APHA (2001).

## 2.6 Análises físico-químicas

As amostras de frozen iogurte foram analisadas quanto ao teor de sólidos totais (% p/p), teor de lipídeos (% p/p), teor de proteínas (% p/p), teor de cinzas (% p/p) e acidez titulável (% ácido láctico), conforme metodologia da AOAC (2005), enquanto os valores de pH foram obtidos através de método potenciométrico, utilizando um pHmetro (MP220, Metler-Toledo, Greifensee, Switzerland). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

## 2.7 Análise de cor

A análise de cor das amostras de frozen iogurte foi determinada utilizando um colorímetro (Minolta Chroma Meter CR-400, Osaka, Japão), ajustado para operar com iluminante D65 e ângulo de observação de  $10^\circ$ , previamente calibrado. A escala CIELab foi empregada para calcular os valores dos parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , onde o

parâmetro  $L^*$  representa a luminosidade de preto (0) para branco (100),  $a^*$  representa a variação da coloração da amostra de verde (-) para vermelho (+) e  $b^*$  representa a variação da coloração de azul (-) para amarelo (+). Foram realizadas cinco medidas na superfície externa de cada amostra de frozen iogurte a  $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ .

### 2.8 *Análise instrumental de textura*

As análises de textura foram realizadas segundo metodologia descrita por El-Negar et al. (2002) com modificações. A textura das amostras foi avaliada utilizando um texturômetro TAXT plus Texture Analyser (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido) e software Texture Exponent 32 (Stable Systems, versão 4.0.13.0, 2007). As amostras foram mantidas em recipientes de 100 mL e armazenadas a temperatura de  $-18 \pm 1^\circ\text{C}$  até o momento da análise. Para cada amostra, foram realizadas cinco medidas utilizando um probe cilíndrico de 6 mm de diâmetro acoplado a um peso de 50 Kg, profundidade de penetração no centro geométrico de 25 mm e velocidade de  $1 \text{ mm s}^{-1}$ .

A firmeza foi considerada como a força máxima (N) obtida no pico de compressão durante a penetração do probe, enquanto que a adesividade foi considerada como a força máxima (N) negativa obtida quando o probe é retirado da amostra.

### 2.9 *Análise sensorial*

Antes da realização da análise sensorial, este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade

Federal de Santa Catarina, processo N° 2089 (Anexo C). As pessoas que aceitaram participar da pesquisa assinaram um termo de livre consentimento e esclarecimento.

A análise sensorial foi realizada em duas etapas. Na primeira etapa um grupo de 177 pessoas incluindo alunos, professores e funcionários do Centro de Ciências Agrárias, responderam a um questionário de autopreenchimento (Apêndice A) contendo questões estruturadas aplicado com o intuito de avaliar o conhecimento e a atitude com relação ao consumo de frozen iogurte e produtos similares. O questionário continha questões relacionadas às características sociodemográficas (sexo, idade e escolaridade) e hábitos de consumo de frozen iogurte, iogurte e sorvete.

Na segunda etapa foi verificada a aceitabilidade e intenção de consumo das amostras de frozen iogurte. Os testes sensoriais foram realizados no laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, de acordo com metodologia descrita por Meilgaard, Civille e Carr (2007), uma semana após a elaboração dos frozen iogurtes. As amostras foram apresentadas monadicamente em dias alternados a 50 julgadores não treinados, consumidores de iogurte e sorvete. As amostras de frozen iogurte foram mantidas a temperatura de  $-18 \pm 1$  °C até o momento das análises. Aproximadamente 30 g de amostra foram servidas aos julgadores em embalagens plásticas descartáveis codificadas com números de três dígitos aleatórios. A aceitabilidade das amostras de frozen iogurte foi avaliada com relação aos atributos aroma, sabor, textura e aceitabilidade global através de uma escala estruturada de nove pontos, ancorada nos extremos (1) desgostei extremamente e (9)



gostei extremamente (Apêndice B). Para a avaliação da intenção de consumo foi utilizada uma escala de cinco pontos ancorada nos extremos (1) certamente não consumiria e (5) certamente consumiria (Apêndice B).

### *2.11 Análise estatística*

Os resultados obtidos nas análises físico-químicas, de cor e de textura foram avaliados utilizando o software STATISTICA versão 6.0 (STATSOFT INC., 2001) através de análise de variância (ANOVA), sendo as médias dos resultados comparadas entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Os dados da análise sensorial foram tratados utilizando software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011) por meio de estatística descritiva e estatística não paramétrica utilizando teste de Friedman, o qual permite a comparação dos resultados através da ordenação (*ranks*) dos valores obtidos.

## **3. Resultados e Discussão**

### *3.1 Análises microbiológicas*

As amostras de frozen iogurte Controle, F1, F2 e F3 apresentaram contagem de células viáveis probióticas iguais a  $8,26 \pm 0,03$  log UFC/g,  $8,11 \pm 0,08$  log UFC/g,  $8,16 \pm 0,03$  log UFC/g e  $7,85 \pm 0,05$  log UFC/g, respectivamente. A amostra de frozen iogurte adicionada de bactéria livre (Controle), assim como aquelas adicionadas de bactéria microencapsulada (F1, F2 e F3) foram consideradas alimentos

probióticos, uma vez que apresentaram contagens superiores a 6 log UFC/g. De acordo com Gomes e Malcata (1999) e Mohammadi et al. (2011) a concentração mínima necessária de bactérias probiótica no produto para que este exerça um efeito benéfico no organismo deve ser de 6 log UFC/g ou mL no momento do consumo. A sobrevivência de bactérias probióticas adicionadas em sorvetes na forma livre e microencapsulada também foi observada por Homayouni et al. (2008) e por Lorenz (2009).

As análises microbiológicas de Coliformes à 45°C, Estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* sp indicaram ausência desses microorganismos, garantindo a segurança dos consumidores das amostras de frozen iogurte avaliadas.

### 3.2 Análises físico-químicas

A Tabela 3.1 apresenta os resultados referentes à caracterização físico-química das amostras de frozen iogurte. A adição das diferentes microcápsulas alterou o conteúdo de sólidos totais, proteínas, cinzas e pH das amostras de frozen iogurte, entretanto, não modificou o conteúdo de lipídios e a acidez. O conteúdo de sólidos totais aumentou ( $P < 0,05$ ) mediante a adição das microcápsulas nas amostras. As amostras de frozen iogurte F1 e F2 apresentaram maior teor de proteínas e cinzas ( $P < 0,05$ ), provavelmente devido à presença do LDR nas microcápsulas. De acordo com Machado, Oliveira e Cunha (1999), o leite em pó desnatado apresenta cerca de 30 % de proteínas e 1189 mg/100g de cálcio, o que pode ter contribuído para este aumento. Valores semelhantes para o teor de sólidos totais e proteínas foram encontrados por Al-Saleh, Metwalli e Ismail (2011) em frozen iogurtes

com probióticos produzidos a partir de leite de vaca e de leite de camela. O teor de cinzas das amostras encontra-se na faixa recomendada por Tamime e Robinson (2000), os quais reportam valores entre 0,7 e 1,0 %. Além disso, todos frozen iogurtes atenderam as especificações da legislação brasileira que estabelece que o produto contenha no mínimo 26 % de sólidos totais, 2,5 % de lipídios e 2,5 % de proteínas (BRASIL, 2000).

**Tabela 3.1:** Caracterização físico-química das amostras de frozen iogurte.

	Amostras			
	Controle	F1	F2	F3
<b>Sólidos totais</b> (% p/p)	30,26 ± 0,12 <sup>a</sup>	30,94 ± 0,16 <sup>b</sup>	30,88 ± 0,20 <sup>b</sup>	31,12 ± 0,15 <sup>b</sup>
<b>Proteínas</b> (% p/p)	3,62 ± 0,05 <sup>a</sup>	4,03 ± 0,03 <sup>b</sup>	3,89 ± 0,09 <sup>b</sup>	3,50 ± 0,02 <sup>a</sup>
<b>Lipídios</b> (% p/p)	3,22 ± 0,19 <sup>a</sup>	3,23 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,33 ± 0,13 <sup>a</sup>	3,43 ± 0,03 <sup>a</sup>
<b>Cinzas</b> (% p/p)	0,81 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,97 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,93 ± 0,03 <sup>bc</sup>	0,88 ± 0,02 <sup>c</sup>
<b>Acidez</b> (% ácido láctico)	0,72 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,70 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,70 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,72 ± 0,01 <sup>a</sup>
<b>pH</b>	4,23 ± 0,02 <sup>a</sup>	4,60 ± 0,01 <sup>b</sup>	4,45 ± 0,01 <sup>c</sup>	4,25 ± 0,01 <sup>a</sup>

\* Resultados expressos como média ± desvio-padrão.

<sup>a,b,c</sup> Letras minúsculas sobrescritas na mesma linha indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras.

Controle= frozen iogurte adicionado de bactéria probiótica na forma livre; F1= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20 % (p/v) de LDR; F2= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 10 % (p/v) de LDR e 10% de inulina; e F3= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20% de inulina (p/v).

Os valores de pH das amostras (Tabela 3.1) aumentaram com o aumento no conteúdo de LDR ( $P < 0,05$ ) como agente encapsulante (20% em F1 e 10% em F2), não sendo observadas diferenças significativas entre os frozen iogurtes Controle e F3. Estes resultados sugerem que o pH do LDR, o qual de acordo com Thamer e Penna

(2006) é aproximadamente 6,44, pode ter contribuído para o aumento do pH das amostras.

### 3.3 Análise de cor

A Tabela 3.2 apresenta os valores dos parâmetros de cor para as amostras de frozen iogurte avaliadas.

**Tabela 3.2:** Parâmetros de cor das amostras de frozen iogurte.

Amostras	L*	a*	b*
<b>Controle</b>	89,84 ± 0,47	-2,13 ± 0,13	9,66 ± 0,46
<b>F1</b>	90,23 ± 0,25	-2,08 ± 0,10	9,32 ± 0,36
<b>F2</b>	90,12 ± 0,43	-2,03 ± 0,14	9,08 ± 0,58
<b>F3</b>	89,84 ± 0,27	-2,12 ± 0,14	9,38 ± 0,66

\* Resultados expressos como média ± desvio-padrão.

Controle = frozen iogurte adicionado de bactéria probiótica na forma livre; F1= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20 % (p/v) de LDR; F2= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 10 % (p/v) de LDR e 10% de inulina; e F3=frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20% de inulina (p/v).

Visto que as amostras estudadas foram preparadas à base de iogurte natural, não sendo acrescentados corantes ou polpa de frutas, a cor do produto é proveniente da coloração dos principais ingredientes utilizados. Foram observados valores altos para o parâmetro L\*, os quais se devem à coloração branca dos ingredientes lácteos empregados. De acordo com Nozière et al. (2006) a aparência branca do leite é resultado da dispersão das micelas de caseína e dos glóbulos de gordura, os quais são responsáveis pela difusão da luz incidente com consequente aumento dos valores de L\*. Com relação aos parâmetros a\* e b\* as

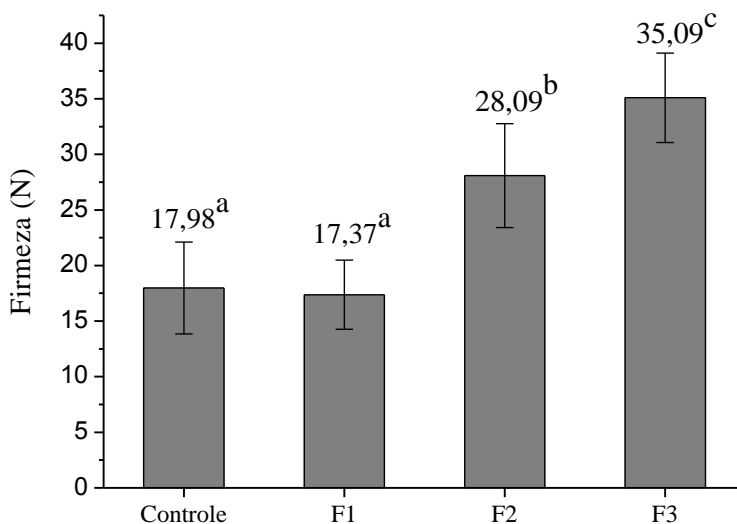
amostras apresentam valores negativos de  $a^*$ , indicando uma tendência à cor verde, e positivos de  $b^*$ , indicando uma tendência à cor amarela. Da mesma forma, tais resultados podem ser decorrentes dos pigmentos riboflavina e carotenóides presentes no leite. Segundo Nozière et al. (2006) a riboflavina (vitamina B2) caracteriza-se como um composto de coloração verde presente na fase aquosa, enquanto que os carotenóides, pigmentos lipossolúveis representados principalmente pelo  $\beta$ -caroteno, são responsáveis pela coloração amarelada do leite.

Contudo, a adição das microcápsulas contendo LDR e inulina no frozen iogurte não modificou ( $P < 0,05$ ) os valores dos parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ . Aryana e McGrew (2007) também não observaram variações nos parâmetros de cor de iogurtes probióticos acrescidos de inulina com diferentes graus de polimerização e atribuíram este comportamento ao fato da inulina apresentar coloração branca, similar ao do leite em pó desnatado. Resultados similares foram encontrados por Akalin, Karagözlü e Ünal (2007), os quais verificaram que a adição de 4% de inulina não apresentou efeito sobre a cor de sorvetes contendo 3 % e 6 % de gordura.

### *3.4 Análise instrumental de textura*

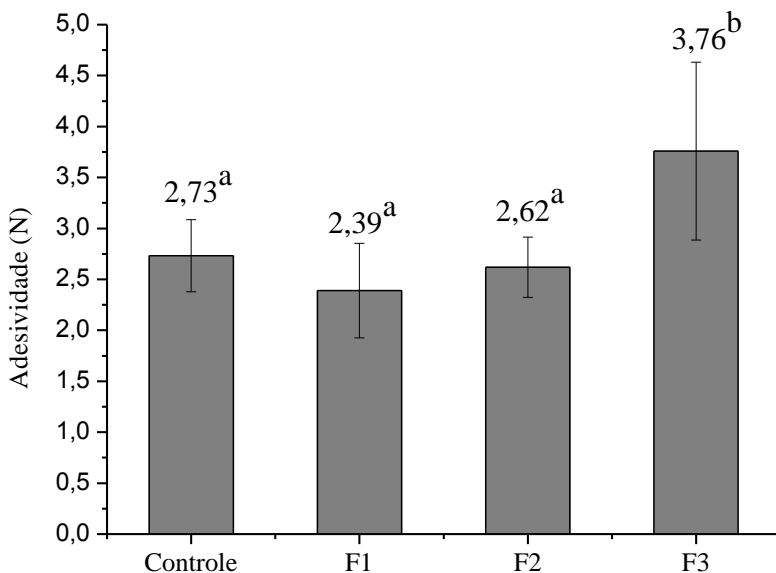
Os valores de firmeza das amostras de frozen iogurte estão apresentados na Figura 3.1. A utilização de inulina como agente encapsulante contribuiu para o aumento da firmeza das amostras F2 e F3 ( $P < 0,05$ ). Além disso, o aumento no conteúdo de inulina nas microcápsulas proporcionou um aumento na firmeza ( $P < 0,05$ ). Resultados semelhantes foram observados por El-Nagar et al. (2002) em

frozen iogurte e por Akalin e Erişir (2008) em sorvetes probióticos com baixo teor de gordura. Estes autores relacionaram este comportamento com a capacidade da inulina de ligar-se à água, resultando em uma diminuição das taxas de cristalização do gelo, e com sua habilidade de formar uma rede de gel, podendo melhorar a firmeza do produto. Buriti, Castro e Saad (2010) também verificaram aumento na firmeza de mousses contendo 2 % de inulina e 2 % de concentrado protéico de soro e relacionaram este comportamento com a capacidade da inulina e das proteínas do soro de se ligar à água, além da possibilidade de interação entre os dois ingredientes.



**Figura 3.1:** Firmeza das amostras de frozen iogurte obtida através da análise instrumental de textura. Resultados expressos como média  $\pm$  desvio-padrão. Letras minúsculas indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras. Controle = frozen iogurte adicionado de bactéria probiótica na forma livre; F1= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20 % (p/v) de LDR; F2= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 10 % (p/v) de LDR e 10% de inulina; e F3= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20% de inulina (p/v).

Os valores de adesividade das amostras de frozen iogurte estão mostrados na Figura 3.2.



**Figura 3.2:** Adesividade das amostras de frozen iogurte obtida através da análise instrumental de textura. Resultados expressos como média  $\pm$  desvio-padrão. Letras minúsculas indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras. Controle = frozen iogurte adicionado de bactéria probiótica na forma livre; F1= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20 % (p/v) de LDR; F2= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 10 % (p/v) de LDR e 10% de inulina; e F3= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20% de inulina (p/v).

De maneira similar, foi verificado um aumento ( $P < 0,05$ ) na adesividade do frozen iogurte acrescido das microcápsulas produzidas somente com inulina (F3). Entretanto, a amostra adicionada das microcápsulas preparadas com inulina e LDR (F2), não diferiu ( $P > 0,05$ ) das amostras Controle e F1. El- Nagar et al. (2002) também verificaram um aumento na adesividade de frozen iogurtes com um

aumento na concentração de inulina e relacionaram este resultado com a formação de uma matriz de gel viscosa. Milani et al. (2011) observaram uma correlação exponencial ( $R^2 = 0,97$ ) entre a adesividade e a viscosidade de amostras de frozen iogurte adicionadas de goma guar e xarope de tâmara, indicando que o aumento na adesividade foi resultado do aumento da viscosidade das amostras.

### 3.5 Análise sensorial

#### 3.5.1 Questionário

Os dados sociodemográficos dos consumidores que se disponibilizaram a preencher o questionário estão apresentados na Tabela 3.3.

**Tabela 3.3:** Características sociodemográficas dos consumidores que participaram da pesquisa.

<b>Características</b>	<b><i>n</i></b>	<b>%</b>
<b>Sexo</b>		
Masculino	41	23,2
Feminino	136	76,8
<b>Idade</b>		
entre 18-27 anos	136	76,8
entre 28-37 anos	30	16,9
entre 38-47 anos	6	3,4
entre 48-57 anos	4	2,3
acima de 58 anos	1	0,6
<b>Escolaridade</b>		
Ensino médio completo	9	5,1
Ensino superior incompleto	102	57,6
Ensino superior completo	66	37,3

*n*: número de pessoas = 177; % : percentual do total de pessoas



A maioria dos participantes era do sexo feminino (76,8 %), apresentava faixa etária entre 18 a 27 anos (76,8 %) e possuía ensino superior incompleto (57,6 %).

Quando questionados sobre o que consideraram mais importante na compra de um alimento, os consumidores avaliaram o benefício à saúde como o fator mais importante ( $P < 0,05$ ), seguido pelo preço e pela aparência ( $P > 0,05$ ) e por último a marca ( $P < 0,05$ ). De acordo com Szakály et al. (2011), os consumidores estão cada vez mais preocupados com a saúde e tem dado mais atenção a qualidade nutricional dos alimentos incorporados em sua dieta.

A Tabela 3.4 mostra a frequência de consumo de frozen iogurte e de produtos com características semelhantes (iogurtes e sorvetes). O iogurte foi o alimento com maior frequência de consumo, sendo que 40,1 % dos consumidores relataram consumir este produto de 1 a 3 vezes por semana. Com relação ao sorvete, 54,8 % dos indivíduos disseram consumir este produto de 1 a 2 por mês. Entretanto, o frozen iogurte apresentou frequência de consumo menor que a dos sorvetes tradicionais, sendo que maioria dos indivíduos (50,3 %) relatou consumir este produto menos de uma vez ao mês. Além disso, 27,7 % relataram nunca terem consumido frozen iogurte. Apesar de ter sido introduzido no mercado em meados dos anos 70 e ser popular nos Estados Unidos (MIGUEL; ROSSI, 2003), somente nos últimos anos o frozen iogurte começou a ser disseminado no Brasil. Além do mais, devido ao seu alto valor agregado, o frozen iogurte é comercializado a preços mais elevados que os sorvetes tradicionais, fato que influencia o consumidor no momento da compra deste alimento. Estudos realizados por Opdahl e Baer (1991) verificaram que 81,2 % dos consumidores que

provaram amostras de frozen iogurte comprariam o produto em questão caso se seu preço fosse o mesmo de sorvetes tradicionais.

Contudo, 95,5 % dos indivíduos demonstraram intenção de consumir um frozen iogurte com ingredientes capazes de melhorar o funcionamento do intestino.

**Tabela 3.4:** Frequência de consumo de iogurte, sorvete e frozen iogurte dos consumidores que participaram da pesquisa.

<b>Frequência de consumo</b>	<b><i>n</i></b>	<b>%</b>
<b>Iogurte</b>		
Todos dias	18	10,2
4-6 vezes por semana	29	16,4
1-3 vezes por semana	71	40,1
1-2 vezes por mês	42	23,7
menos do que uma vez por mês	17	9,6
<b>Sorvete</b>		
Todos dias	0	0,0
4-6 vezes por semana	0	0,0
1-3 vezes por semana	19	10,7
1-2 vezes por mês	97	54,8
menos do que uma vez por mês	61	34,5
<b>Frozen iogurte</b>		
Todos dias	1	0,6
4-6 vezes por semana	1	0,6
1-3 vezes por semana	3	1,7
1-2 vezes por mês	34	19,2
menos do que uma vez por mês	89	50,3
nunca	49	27,7

*n*: número de pessoas = 177; % : percentual do total de pessoas

A atitude dos consumidores com relação às afirmativas de que iogurtes, sorvetes e frozen iogurte são alimentos saudáveis está apresentada na Tabela 3.5.

**Tabela 3.5:** Atitude dos participantes do estudo frente às afirmativas de que iogurtes, sorvetes e frozen iogurte são alimentos saudáveis.

<b>Afirmativas</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>“Iogurtes são alimentos saudáveis”</b>		
Concordo fortemente	42	23,7
Concordo	120	67,8
Nem concordo nem discordo (Não sei)	9	5,1
Discordo	6	3,4
Discordo fortemente	0	0,0
<b>“Sorvetes são alimentos saudáveis”</b>		
Concordo fortemente	3	1,7
Concordo	37	20,9
Nem concordo nem discordo (Não sei)	53	29,9
Discordo	81	45,8
Discordo fortemente	3	1,7
<b>“Frozen iogurte é um alimento saudável”</b>		
Concordo fortemente	16	9,0
Concordo	103	58,2
Nem concordo nem discordo (Não sei)	52	29,4
Discordo	5	2,8
Discordo fortemente	1	0,6

n: número de pessoas = 177; % : percentual do total de pessoas

A maioria dos indivíduos concordou (67,8 %) ou concordou fortemente (23,7 %) que iogurtes são alimentos saudáveis. De fato, o consumo deste produto está relacionado à imagem positiva de alimento saudável e nutritivo, associado as suas propriedades sensoriais. Além disso, o iogurte fornece níveis mais elevados de proteínas, carboidratos, cálcio e vitaminas que os encontrados no leite. Com relação aos sorvetes, 45,8 % dos consumidores discordaram que estes sejam alimentos saudáveis. Este comportamento provavelmente ocorreu, pois, apesar de existirem sorvetes com teor de gordura reduzido, normalmente

este produto apresenta altos teores de gordura (10 – 16 %) (AKALIN; KARAGÖZLÜ; ÜNAL, 2007). O frozen iogurte foi considerado um alimento saudável por 67,2 % dos consumidores. Uma vez que o frozen iogurte é elaborado a partir de iogurte, este alimento associa o valor nutricional do iogurte com o sabor refrescante do sorvete. Além disso, o frozen iogurte apresenta baixo teor de gordura (2 - 6 %), quando comparado com os sorvetes tradicionais (TAMIME; ROBINSON, 2000; ALVES et al., 2009).

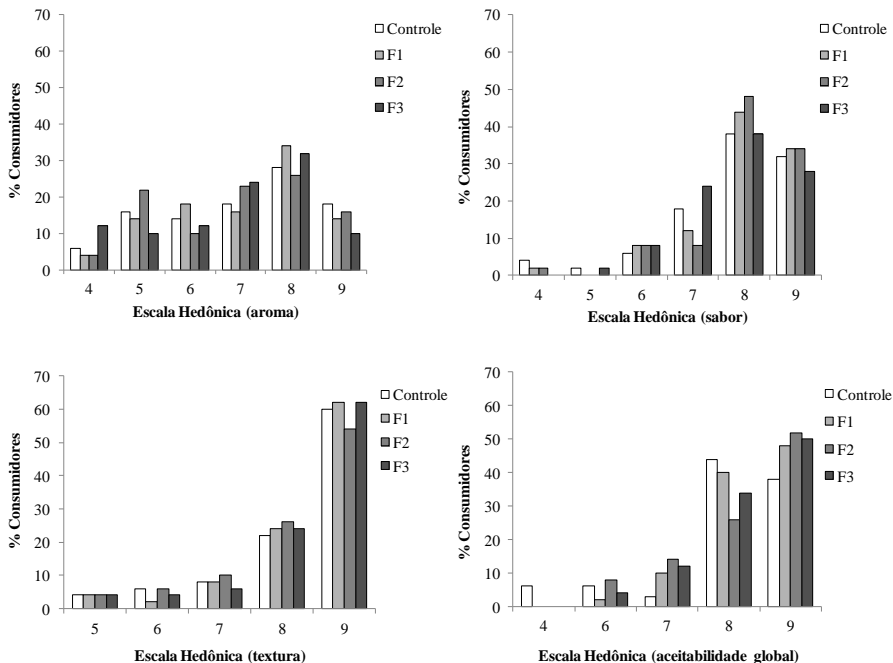
Quando questionados sobre o conhecimento do que é um alimento probiótico, 87,57 % dos consumidores declararam saber o que são alimentos probióticos. Esta alta percentagem provavelmente está relacionada com o nível de escolaridade dos indivíduos e com o local onde foi aplicado o questionário. Viana et al. (2007) avaliaram o conhecimento sobre alimentos probióticos na cidade do Rio de Janeiro com indivíduos de diferentes escolaridades (29,8 % possuíam ensino fundamental, 38,8% possuíam ensino médio e 31,4 % possuíam ensino superior). Foi observado que somente 29,05 % dos consumidores definiram alimentos probióticos corretamente, como sendo alimentos que contribuem para o equilíbrio da microbiota do trato gastrointestinal, entretanto, foi verificado que o nível de escolaridade não influenciou o conhecimento sobre alimentos probióticos.

### *3.5.2 Teste de aceitabilidade e intenção de consumo*

Com relação à aceitabilidade (Figura 3.3), foi observado que a maioria dos consumidores classificou os atributos aroma e sabor com nota 8, que na escala representa “gostei moderadamente”, e os atributos

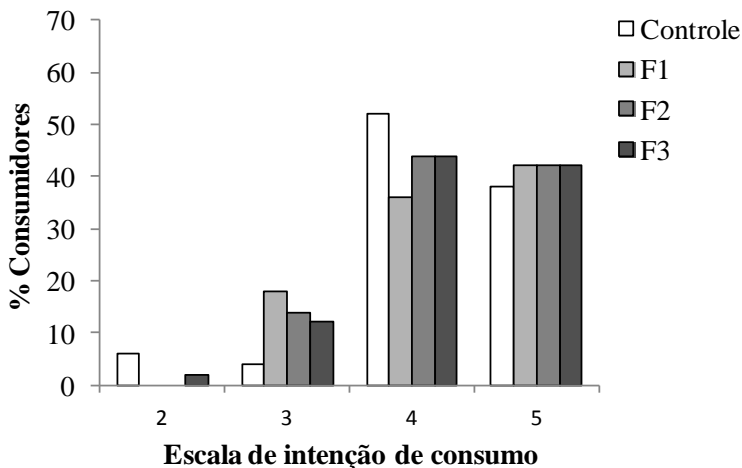
---

textura e aceitabilidade global com nota 9, que na escala representa “gostei extremamente”, mostrando que todas as amostras de frozen iogurte foram sensorialmente aceitas. Além disso, não foi observada diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre as amostras de frozen iogurte, indicando que a adição das microcápsulas formuladas com LDR e inulina não interferiu na aceitabilidade dos atributos avaliados. Akin, Akin e Kirmaci (2007) também observaram que a adição de inulina não teve efeito sobre os atributos sensoriais de sorvetes probióticos. Estudos realizados por Homayouni et al. (2008) verificaram que a adição de probióticos na forma livre e microencapsulada com alginato não interferiu nas propriedades sensoriais de sorvetes simbióticos. Por outro lado, Kailasapathy (2006) observou melhor textura em iogurtes contendo células probióticas microencapsuladas com alginato.



**Figura 3.3:** Frequência de notas da aceitabilidade dos atributos aroma, sabor, textura e aceitabilidade global das amostras de frozen iogurte, de acordo com escala hedônica de nove pontos “1 - Desgostei extremamente, 2 - Desgostei moderadamente, 3 - Desgostei regularmente, 4 - Desgostei ligeiramente, 5 - Indiferente, 6 - Gostei ligeiramente, 7 - Gostei regularmente, 8 - Gostei moderadamente, 9 - Gostei extremamente”. Controle= frozen iogurte adicionado de bactéria probiótica na forma livre; F1= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20 % (p/v) de LDR; F2= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 10 % (p/v) de LDR e 10% de inulina; e F3= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20% de inulina (p/v).

Quanto à intenção de consumo (Figura 3.4), as amostras foram classificadas pelos consumidores principalmente com notas 4 e 5, que correspondem na escala a “provavelmente consumiria” e certamente consumiria”, confirmando os resultados obtidos para aceitabilidade.



**Figura 3.4:** Frequência de notas de intenção de consumo das amostras de frozen iogurte, de acordo com escala de cinco pontos “1 - Certamente não consumiria, 2- Provavelmente não consumiria, 3 – Talvez consumiria / talvez não consumiria, 4 - Provavelmente consumiria, 5 - Certamente consumiria”. Controle= frozen iogurte adicionado de bactéria probiótica na forma livre; F1= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20 % (p/v) de LDR; F2= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 10 % (p/v) de LDR e 10% de inulina; e F3= frozen iogurte adicionado de microcápsulas produzidas com 20% de inulina (p/v).

#### 4. Conclusão

As amostras de frozen iogurte adicionadas de probióticos na forma livre ou microencapsulada com leite em pó desnatado e/ou inulina apresentaram diferenças com relação ao teor de sólidos totais, proteínas, cinzas e pH. A utilização de inulina como material encapsulante e o aumento de sua concentração nas microcápsulas contribuíram para o aumento da firmeza das amostras. Contudo, apenas o frozen iogurte que continha microcápsulas preparadas somente com inulina apresentou um aumento na adesividade. Através da análise de dados coletados em

questionário pode-se verificar que a maioria dos indivíduos considera o frozen iogurte um alimento saudável, porém não costuma consumir este produto frequentemente. Todas as amostras de frozen iogurte foram sensorialmente aceitas pelos julgadores, os quais afirmaram que provavelmente ou certamente consumiriam este produto, indicando que a adição da bactéria probiótica na forma livre e microencapsulada com LDR e inulina não interferiu na aceitabilidade sensorial das amostras. Dessa forma, a adição da bactéria probiótica *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulada com inulina em frozen iogurte apresenta-se como uma opção de alimento funcional, ampliando o apelo de alimento saudável normalmente atribuído ao produto.

### Referências Bibliográficas

AKALIN, A.S.; KARAGÖZLÜ, C.; ÜNAL, G. Rheological properties of reduced-fat and low-fat ice cream containing whey protein isolate and inulin. **European Food Research and Technology**, v. 227, p. 889-895, 2008.

AKALIN, A.S.; ERISIR, D. Effects of inulin and oligofrutose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in low-fat probiotic ice cream. **Food Journal of Food Science**, v. 73, p. 184 -188, 2008.

AKIN, M.B; AKIN, M.S.; KIRMACI, Z. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. **Food Chemistry**, v. 104, p. 93-99, 2007.

AL-SALEH, A.A.; METWALLI, A.A.M.; ISMAIL, E.A. Physicochemical properties of probiotic frozen yoghurt made from camel milk. **International Journal of Dairy Technology**, v. 64, p. 1- 6, 2011.



ALVES, L.L.; RICHARDS, N.S.P.S.; BECKER, L.V.; ANDRADE, D.F.; MILANI, L.I.G.; REZER, A.P.S.; SCIPIONI, G.C. Avaliação sensorial e caracterização de frozen yogurt de leite de cabra com adição de cultura probiótica e prebiótico. **Ciência Rural**, v. 39, p. 2595-2600, 2009.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA.  
**Compendium of methods of the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington D.C., 2001. 676p.

ANANTA, E.; VOLKERT, M.; KNORR, D. Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. **International Dairy Journal**, v. 15 , p. 399–409, 2005.

ARYANA, K.J.; MCGREW, P. Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, p. 1808-1814 2007.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC.  
**Official methods of analysis of the association analytical chemists**. 18.ed. Maryland, USA, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Gelados Comestíveis, Preparados, Pós para o Preparo e Bases para Gelados Comestíveis. **Consulta Pública nº. 28, de 01 de junho de 2000**. Disponível em: [http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[3217-1-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[3217-1-0].PDF). Acesso em: 30 de janeiro de 2011.

BOYLSTON, T. D.; VINDEROLA, C. G.; GHODDUSI, H. B.; REINHEIMER, J. A. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: Challenges and rewards. **International Dairy Journal**, v.14, p.375-387, 2004.

BURITI, F.C.A.; CASTRO, I.A.; SAAD, S.M.I. Effects of refrigeration, freezing and replacement of milk fat by inulin and whey protein concentrate on texture profile and sensory acceptance of synbiotic guava mousses. **Food Chemistry**, v.123, p.1190–1197, 2010.

CORCORAN, B.M.; ROSS, R.P.; FITZGERALDS, G.F.; STANTON, C. Comparative survival of probiotic lactobacilli spray-dried in the presence of prebiotic substances. **Journal of Applied Microbiology**, v. 96, p. 1024–1039, 2004.

CRUZ, A.G.; CADENA, R.S.; WALTER, E.H.M.; MORTAZAVIAN, A.M.; GRANATO, D.; FARIA, A.F.; BOLINI, H.M.A. Sensory Analysis: Relevance for Prebiotic, Probiotic, and Synbiotic Product Development. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, p. 358-373, 2010.

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. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.666-673, 2000.

DING, W. K.; SHAH, N. P. Effect of various encapsulating materials on the stability of probiotic bacteria. **Journal of Food Science**, v. 74, p. M100–M107, 2009.

EL-NAGAR, G.; CLOWES, G.; TUDORICA, C.M.; KURI, V.; BRENNAN, C.S. Rheological quality and stability of yog-ice cream with added inulin. **International Journal of Dairy Technology**, v. 55, p. 89-93, 2002.

FRITZEN-FREIRE, C.B; PRUDÊNCIO, E.S.; AMBONI, R.D.M.C; PINTO, S.S; NEGRÃO-MURAKAMI, A.; MURAKAMI, F.S. Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the presence of prebiotics. **Food Research International**, v. 45, p. 306–312, 2012.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, p.1107–1121, 2007.

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

GONÇALVES, A.A.; EBERLE, I.R. Frozen yogurt com bactérias probióticas. **Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v.19, n.3, p. 291-297, 2008.

HOMAYOUNI, A.; AZIZI, A.; EHSANI M. R.; YARMAND M. S.; RAZAVI S. H. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. **Food Chemistry**, v.111, p.50-55, 2008.

ISIK, U.; BOYACIOGLU, D.; CAPANOGLU, E.; NILUFER ERDIL, D. Frozen yogurt with added inulin and isomalt. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 1647-1656, 2011.

KAILASAPATHY, K. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. **Food Science and Technology**, 39, 1221-1227, 2006.

LORENZ, J.G. **Comparação dos métodos de emulsificação e spray drying na microencapsulação de *Lactobacillus Acidophilus* (LA-5) e aplicação em sorvete**. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Programa de Pós graduação em Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

MACHADO, M.F.; OLIVEIRA, F.A.R.; CUNHA, L.M. Effect of milk fat and total solids concentration on the kinetics of moisture uptake by ready-to-eat breakfast cereal. **International Journal of Food Science and Technology**, v.34, p. 47-57, 1999.

MARSHALL, R. T.; GOFF, H. D.; HARTEL, R. W. **Ice Cream**. 6. ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2003.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2007.

MIGUEL, D.P.; ROSSI, E. A. Viabilidade de bactérias ácido lácticas em sorvetes de iogurte durante o período de estocagem. **Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v.14, n.1, p. 93-96, 2003.

MILANI, E.; KOOCHEK, A. The effects of date syrup and guar gum on physical, rheological and sensory properties of low fat frozen yoghurt dessert. **International Journal of Dairy Technology**, v. 64, p. 121-129, 2011.

MOHAMMADI, R.; MORTAZAVIAN, A.M.; KHOSROKHAHA, R.; CRUZ, A.G. Probiotic ice cream: viability of probiotic bacteria and sensory properties. **Annals of Microbiology**, v. 61, p. 411-424, 2011.

NOZIÈRE, P.; GRAULET, B.; LUCAS, A.; MARTIN, B.; GROLIER, P.; DOREAU, M. Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. **Animal Feed Science and Technology**, v.131, p.418-450, 2006.

OPDAHL, L. J.; BAER, R.J. Composition and consumer acceptance of frozen yogurts utilizing whey protein concentrates. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 4151- 4163, 1991.

R Development Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>. 2011.

RANADHEERA, R.D.C.S; BAINES S.K.; ADAMS M.C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, v. 43, p.1–7, 2010.

ROKKA, S.; RANTAMAKI, P. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. **European Food Research and Technology**, v. 231, p. 1-12, 2010.

ROSS, R.P.; DESMOND, C.; FITZGERALD, G.F.; STANTON, C. Overcoming the technological hurdles in the development of probiotic foods. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p. 1410–1417, 2005.

SHEU, T. Y.; MARSHALL, R. T.; HEYMANN, H. Improving survival of culture bacteria in frozen desserts by microentrapment. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 1902–1907, 1993.

SZAKÁLY, Z.; SZENTE, V.; KÖVÉR, G.; POLERECZKI, Z.; SZIGETI, O. The influence of lifestyle on health behavior and

preference for functional foods. **Appetite** (2011),  
doi:10.1016/j.appet.2011.11.003

STATSOFT INC. **STATISTICA (Data Analysis System) Version 6.0.**  
StatSoft Inc., Tulsa, OK, 2001.

TAMIME, A.Y.; ROBINSON, R.K. **Yoghurt Science and technology.**  
3. ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2000.

THAMER, K.G.; PENNA, A.L.B. Caracterização de bebidas lácteas  
funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico.  
**Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 589 -595, 2006.

VIANA, J. V.; CRUZ, A. G.; ZOELLNER, S. S.; SILVA, R.;  
BATISTA, A. L. D. Probiotic foods: consumer perception and attitudes.  
**International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p.1577-  
1580, 2008.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Culture media for the  
enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus*  
in the presence of yoghurt bacteria. **International Dairy Journal**, v. 9,  
p. 497–505, 1999.



## Conclusões

- As amostras de frozen iogurte adicionadas de *Bifidobacterium* BB-12 na forma livre e microencapsulada foram consideradas probióticas, pois apresentaram contagem de células viáveis superior a 6 log UFC/g durante os 90 dias de armazenamento.
- A microencapsulação utilizando leite desnatado reconstituído e inulina como agentes encapsulantes melhorou a estabilidade de *Bifidobacterium* BB-12 durante o armazenamento do frozen iogurte por 90 dias a -18 °C.
- A adição das diferentes microcápsulas alterou o conteúdo de sólidos totais, proteínas, cinzas, pH e *overrun* das amostras de frozen iogurte, contudo não modificou a acidez, as propriedades de derretimento, o conteúdo de lipídeos e os atributos de cor.
- Os modelos Lei da Potência e de Casson foram aplicados com sucesso para descrever o comportamento de fluxo dos frozen iogurte. As amostras de frozen foram caracterizadas como fluidos não-newtonianos, *shear thinning* e com presença de área de histerese, sendo que a adição das diferentes microcápsulas influenciou as características reológicas do produto durante o armazenamento.
- A utilização de inulina como agente encapsulante e o aumento de sua concentração nas microcápsulas influenciaram a firmeza e a adesividade das amostras de frozen iogurte.
- A adição das microcápsulas nas amostras de frozen iogurte não teve efeito sobre a aceitação sensorial pelos julgadores, os quais afirmaram que provavelmente ou certamente consumiriam o produto. Os dados obtidos através do questionário indicaram que a maioria dos

indivíduos considera o frozen iogurte um alimento saudável, porém não consome este produto com frequência.

- Por fim, a adição de *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulada com inulina em frozen iogurte mostra-se como uma interessante alternativa de alimento funcional, ampliando o apelo de alimento saudável e nutritivo conferido ao produto.



**Apêndice A – Questionário para avaliação conhecimento e a atitude com relação ao consumo de frozen iogurte e produtos similares.**

**QUESTIONÁRIO**

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

1) Sexo:

Feminino  Masculino

2) Idade:

entre 18 – 27 anos  entre 28 – 37 anos  entre 38 – 47 anos  
 entre 48 – 57 anos  acima de 58 anos

3) Escolaridade:

Ensino fundamental (1º Grau) incompleto  
 Ensino fundamental (1º Grau) completo  
 Ensino médio (2º Grau) incompleto  
 Ensino médio (2º Grau) completo  
 Ensino superior incompleto  
 Ensino superior completo

4) O que você leva mais em consideração na compra de um alimento?  
Ordene do mais ao menos importante (nota 1 a 4).

benefício à saúde  preço  marca  aparência

5) Com que frequência você consome cada um dos seguintes alimentos?

Iogurte

Todos dias  
 4-6 vezes por semana  
 1-3 vezes por semana  
 1-2 vezes por mês  
 menos do que uma vez por mês

**Sorvete**

- Todos dias
- 4-6 vezes por semana
- 1-3 vezes por semana
- 1-2 vezes por mês
- menos do que uma vez por mês

**Frozen iogurte (Sorvete a base de iogurte natural)**

- Todos dias
- 4-6 vezes por semana
- 1-3 vezes por semana
- 1-2 vezes por mês
- menos do que uma vez por mês
- nunca

**6) Qual é sua opinião sobre as seguintes afirmativas:**

“Iogurtes são alimentos saudáveis”

- Concordo fortemente
- Concordo
- Nem concordo nem discordo (Não sei)
- Discordo
- Discordo fortemente

“Sorvetes são alimentos saudáveis”

- Concordo fortemente
- Concordo
- Nem concordo nem discordo (Não sei)
- Discordo
- Discordo fortemente

“Frozen iogurte é um alimento saudável”

Concordo fortemente

Concordo

Nem concordo nem discordo (Não sei)

Discordo

Discordo fortemente

**7)** Você consumiria um frozen iogurte que tivesse ingredientes capazes de melhorar o funcionamento do intestino?

Sim

Não

**8)** Você sabe o que é um alimento probiótico?

Sim

Não

**Apêndice B – Ficha para avaliação sensorial da aceitabilidade e  
intenção de consumo das amostras de frozen iogurte.**

**TESTE DE ACEITABILIDADE**

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Instruções: Utilizando a escala abaixo represente o quanto você gostou ou desgostou da amostra, com relação ao atributo:

**Aroma**

- (1) Desgostei extremamente
- (2) Desgostei moderadamente
- (3) Desgostei regularmente
- (4) Desgostei ligeiramente
- (5) Indiferente
- (6) Gostei ligeiramente
- (7) Gostei regularmente
- (8) Gostei moderadamente
- (9) Gostei extremamente

Código da amostra: \_\_\_\_\_

Valor atribuído: \_\_\_\_\_

Comentários: \_\_\_\_\_

**Sabor**

- (1) Desgostei extremamente
- (2) Desgostei moderadamente
- (3) Desgostei regularmente
- (4) Desgostei ligeiramente
- (5) Indiferente
- (6) Gostei ligeiramente
- (7) Gostei regularmente
- (8) Gostei moderadamente
- (9) Gostei extremamente

Código da amostra: \_\_\_\_\_

Valor atribuído: \_\_\_\_\_

Comentários: \_\_\_\_\_

**Textura**

- (1) Desgostei extremamente
- (2) Desgostei moderadamente
- (3) Desgostei regularmente
- (4) Desgostei ligeiramente
- (5) Indiferente
- (6) Gostei ligeiramente
- (7) Gostei regularmente
- (8) Gostei moderadamente
- (9) Gostei extremamente

Código da amostra: \_\_\_\_\_

Valor atribuído: \_\_\_\_\_

Comentários: \_\_\_\_\_

**Aceitabilidade global**

- (1) Desgostei extremamente
- (2) Desgostei moderadamente
- (3) Desgostei regularmente
- (4) Desgostei ligeiramente
- (5) Indiferente
- (6) Gostei ligeiramente
- (7) Gostei regularmente
- (8) Gostei moderadamente
- (9) Gostei extremamente

Código da amostra: \_\_\_\_\_

Valor atribuído: \_\_\_\_\_

Comentários: \_\_\_\_\_

**TESTE DE INTENÇÃO DE CONSUMO**

Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Instruções: Utilizando a escala abaixo avalie qual seria sua atitude caso você encontrasse esse produto no mercado.

- (1) certamente não consumiria
- (2) provavelmente não consumiria
- (3) talvez consumiria /talvez não consumiria
- (4) provavelmente consumiria
- (5) certamente consumiria

Código da amostra: \_\_\_\_\_

Valor atribuído: \_\_\_\_\_

Comentários: \_\_\_\_\_

Obrigada!

## Anexo A – Trabalhos parciais apresentados em eventos.


**Certificamos que o trabalho**

**“INFLUÊNCIA DA MICROENCAPSULAÇÃO COM DIFERENTES AGENTES  
ENCAPSULANTES NA VIABILIDADE DE BIFIDOBACTERIUM BB-12 ADICIONADA EM  
FROZEN IOGURTE”**  
de autoria de

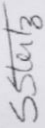
**STEPHANIE SILVA PINTO; ISABELLA DE BONA MUÑOZ; CARLISE BEDDIN FRITZEN  
FREIRE; ELANE SCHWINDEN PRUDÊNCIO; RENATA DIAS DE MELLO CASTANHO  
AMBONI**

foi apresentado no XI Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos – XI ERSCTA, realizado no período de 09 a 11 de outubro de 2011, no Centro de Eventos CIETEP/FIEPR, em Curitiba – PR.

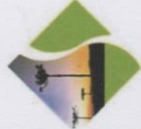
Curitiba, 11 de outubro de 2011



**Rupércio Alvares Cançado**  
Coordenador da Comissão Científica do XI ERSCTA




**Sônia Cachoeira Stertz**  
Presidente do XI ERSCTA




**XI ERSCTA**  
9 a 11  
de outubro  
de 2011

**Realização**



**Organização**



XI Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos



# Certificado

Certificamos que o trabalho intitulado “**AVALIAÇÃO DO PH E ACIDEZ DE FROZEN IOGURTE ADICIONADO DE BIFIDOBACTERIUM BB-12 MICROENCAPSULADA**” de autoria **PINTO,SS; FRITZEN-FREIRE,CB; MUÑOZ,I.B; PRUDÊNCIO,ES; AMBONI,RDMC** foi apresentado na Sessão de Pôster no 9 SLACA - Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos: “*Ciência de Alimentos e Qualidade de Vida: Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade*”, realizado de 5 a 8 de Novembro de 2011, Campinas - São Paulo - Brasil.

  
Dr. Mario Roberto Marostica Jr.  
Coordenador do Comitê de Programação

  
Dra. Gabriela Alves Macedo  
Coordenadora do Comitê Científico


  
Dra. Helena Teixeira Godoy

  
Dra. Gláucia Maria Pastore  
Presidente do Evento



## Anexo B – Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC.

Certificado https://sistema.cep.ufsc.br/certificado/certificado.php?id\_pesquisa=2089



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão  
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos

**CERTIFICADO** Nº 2089

O Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH) da Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Santa Catarina, instituído pela PORTARIA N.º 0584-GR/99 de 04 de novembro de 1999, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEPSH, considerando o conteúdo no Regimento Interno do CEPSH, **CERTIFICA** que os procedimentos que envolvem seres humanos no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP

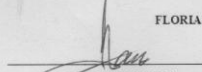
**APROVADO**

**PROCESSO:** 2089      **FR:** 436548

**TÍTULO:** APLICAÇÃO DE Bifidobacterium BB-12 MICROENCAPSULADA EM FROZEN IOGURTE E AVALIAÇÃO DE SUA ESTABILIDADE NO ARMAZENAMENTO

**AUTOR:** Renata Dias de Mello Castanho Amboni, Stephanie Silva Pinto

**FLORIANÓPOLIS, 08 de Novembro de 2011.**



---

Coordenador do CEPSH UFSC  
Dr. Washington Portela de Souza  
Coordenador do CEP/PRPe/UFSC