

# Aplicação e Viabilidade de *L. Acidophilus*, *Bifidobacterium* e *S. Thermophilus* microencapsulados em *Frozen Yogurt* de soja

<sup>1</sup>, \*Renan Luiz Romano Gon, <sup>2</sup>Regiane da Silva Gonzalez, <sup>1</sup>Maria Josiane Sereia

<sup>1</sup> Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Campo Mourão, PR - Brasil.

<sup>1</sup> Departamento de Licenciatura em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Campo Mourão, PR - Brasil.

\* renanlrg@gmail.com

**Resumo:** A soja é um alimento funcional e se caracteriza por oferecer vários efeitos benéficos à saúde permitindo a ampliação da pesquisa para desenvolvimento de produtos funcionalizados como substitutos alternativos de derivados lácteos. Este estudo teve por objetivo elaborar a partir do extrato aquoso de soja um *frozen yogurt* enriquecido com cálcio e adicionado de uma cultura mista contendo *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus thermophilus* microencapsuladas. As micelas foram preparadas a partir de albumina e colágeno com a adição da cultura probiótica superativada. O *frozen yogurt* foi preparado à base de extrato aquoso de soja. As micelas de albumina e colágeno foram capazes de proteger os microrganismos probióticos do frio mantendo-os viáveis durante o armazenamento. As micelas promoveram a obtenção de um produto com características físicas, químicas e sensoriais adequadas a de um “gelado comestível”, mostrando que o *frozen yogurt* de soja pode ser considerado uma boa opção de produto para o mercado.

**Palavras-chaves:** Alimento funcional; Micelas; Probióticos; Gelado Comestível.

**Application and viability of *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* and *S. thermophilus* microencapsulated in soy frozen yogurt:** Soybean is a functional food and it is characterized by providing several beneficial health effects allowing the expansion of research and development of functionalized products as alternative substitutes of dairy products. This study aimed to elaborate frozen yogurt enriched with calcium and added a mixed culture containing *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* and *Streptococcus thermophilus* microencapsulated, from aqueous extract of soybean. The micelles were prepared from albumin and collagen with the addition of over activated probiotic culture. The frozen yogurt was prepared on the basis of aqueous extract of soybean. The micelles of albumin and collagen were able to protect the probiotic microorganisms from cold keeping them viable for storage. The micelles were able to obtain a product with adequate physical, chemical and sensory characteristics for an edible frozen, what shows that soy frozen yogurt may be a good choice of product for the market.

**Keywords:** Functional Food; Micelles; Probiotics; Edible Frosty.

Recebido: 24 de Novembro de 2014; aceito: 26 de Novembro de 2015, publicado: 11 de Dezembro de 2015.

DOI: 10.14685/rebrapa.v6i2.3446

## INTRODUÇÃO

Alimentos funcionais são alimentos ou ingredientes que se caracterizam por oferecer vários efeitos benéficos à saúde; além de suas funções nutricionais básicas podem desempenhar um papel potencialmente benéfico na redução do risco de doenças crônicas

degenerativas (BRASIL, 2009) Existem vários estudos que demonstraram que a redução do risco de inúmeras doenças, como câncer de esôfago, pulmão, próstata, mama, cólon e reto, doenças cardiovasculares, osteoporose, diabetes e sintomas da menopausa, estavam relacionados ao consumo de grãos ou produtos derivados da soja (CDR, 1999; TOLEDO, et al., 2007).

A substituição do leite de vaca pelo extrato hidrossolúvel de soja (“leite” de soja) seria adequada nutricionalmente, quando comparada apenas à quantidade de proteína, entretanto quando comparada a quantidade dos micronutrientes, como o cálcio, o extrato hidrossolúvel de soja não se torna adequado substituto para o leite bovino, já que o cálcio presente no mesmo é de 123mg/100mL (CASÉ, et al., 2005).

Derivados lácteos, por sua vez, como leites fermentados, iogurtes e outros produtos lácteos fermentados, além de possuírem cálcio, são os principais alimentos que veiculam os probióticos dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Estes probióticos favorecem as funções gastrintestinais, reduzindo o risco de constipação e câncer de cólon (CDR, 1999).

Probióticos são culturas puras ou mistas de microrganismos vivos, que quando ingeridos em quantidades adequadas promovem benefícios a saúde do hospedeiro. São definidos como suplementos alimentares, pois beneficiam quem os consome melhorando o balanço intestinal. Esses microrganismos podem ser incluídos na preparação numa ampla gama de produtos, incluindo alimentos, medicamentos e suplementos dietéticos (FULLER, 1992; FAO, WHO, 2001; SANDERS, 2003; WGO, 2011).

Uma alternativa para produtos lácteos enriquecidos com probióticos, de acordo com Alves et al. (2009), é o sorvete do tipo *frozen yogurt*, o qual possui um sabor agradável e uma textura atrativa, além de possuir baixo teor de gordura em relação ao sorvete convencional. Além disso, alguns estudos demonstraram que é possível produzir *frozen yogurt* com adição de probióticos, porém os microrganismos devem sobreviver à estocagem a frio. Neste caso estes microrganismos podem ser protegidos através da microencapsulação.

A microencapsulação consiste num processo de empacotamento de materiais sólidos, líquidos ou gasosos em cápsulas que podem liberar seu conteúdo de maneira controlada e sob influência de condições específicas (FAVARO-TRINDADE, PINHO, ROCHA, 2008). Na indústria de alimentos a microencapsulação

pode ser empregada em diversas finalidades como, promover liberação controlada de um material ativo encapsulado, controlar reações de oxidação, mascarar sabores, cores e odores de determinados componentes, aumentar a vida útil, e proteger contra a luz, umidade e perda nutricional dos componentes (PINTO, 2012).

Com base no descrito acima pode-se comprovar a existência de um vasto campo de pesquisa para desenvolvimento de produtos funcionalizados como alternativa a substitutos de derivados lácteos. Neste sentido produtos a base de soja com melhor aceitação global, menor custo e com propriedades funcionais necessitam serem desenvolvidos.

O presente trabalho teve por objetivo a aplicação de micelas de albumina e colágeno contendo *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus thermophilus* microencapsuladas em *frozen yogurt* a base de extrato hidrossolúvel de soja visando o desenvolvimento de um produto funcional com boa aceitação global para atender um público alvo com intolerância a lactose.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Preparo Da Cultura Probiótica

Realizou-se a ativação da cultura de *Lactobacillus acidophilus* LA-5® (10<sup>6</sup>UFC/g), *Bifidobacterium* BB-12® (10<sup>6</sup>UFC/g) e *Streptococcus thermophilus* (concentração não especificada pelo fabricante) da marca Bio Rich® dissolvendo-se uma alíquota de 2 gramas da cultura probiótica em 200 mL de leite desnatado UHT (*Ultra High Temperature*), previamente esterilizado e resfriado em frasco asséptico, o qual foi incubado em estufa bacteriológica a ±37°C por um período de 12 horas.

### Síntese e Preparo das Micelas

A síntese de micelas de albumina e colágeno foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Zheng et al. (2004), com algumas modificações.

Para o preparo das micelas de albumina e colágeno contendo a cultura mista de *L. acidophilus*, *Bifidobacterium*, e *S. thermophilus*, preparou-se inicialmente 400 mL de uma solução de colágeno a 20% em água aquecida à temperatura de  $\pm 60^{\circ}\text{C}$ , e 400 mL de solução de albumina a 10% em água à  $20^{\circ}\text{C}$ . A incorporação de 200 mL das bactérias ativadas ocorreu agitando-se por 3 minutos em agitador mecânico (Fisatom, Mod. 713D) com uma velocidade de 450 rpm (rotações por minuto). Após a mistura de albumina, colágeno e as bactérias, adicionou-se à mistura 6 mL de Tween 80 e agitou-se por 3 minutos, com o objetivo de dar início a formação das micelas.

Em seguida, adicionou-se a esta mistura 800 mL de água gelada a temperatura de  $2^{\circ}\text{C}$  e agitou-se por mais 3 minutos. Neste momento ocorreu a formação das micelas de albumina e colágeno as quais se reticularam por meio da adição de 320 mL da solução de  $\text{CaCl}_2$  a 8%. Logo após, ajustou-se o pH da solução em 4, com a utilização do ácido clorídrico (HCl), fazendo com que as micelas diminuíssem o seu tamanho. Em seguida, centrifugou-se a solução para ocorrer a decantação das micelas. Posterior à centrifugação, as micelas foram armazenadas em frascos assépticos e em geladeira, à temperatura de  $\pm 5^{\circ}\text{C}$ .

### Caracterização das Micelas

#### *Análise Microscópica*

Foi realizada com o microscópio óptico (BIOVAL, modelo L2000A), com câmera acoplada ao computador (DCM130E), com o intuito de verificar a estrutura polimérica micelar. As medidas dos diâmetros foram obtidas através do programa Image Tool.

#### *Intumescimento*

O intumescimento foi determinado segundo a metodologia descrita por Peppas et al. (2000), no qual retira-se uma amostra de micela, e após sua pesagem inicial colocou-se em uma estufa a  $100^{\circ}\text{C}$  até ocorrer a secagem completa. Após a secagem pesou-se a amostra novamente e verificou-se o quanto de água a micela perdeu.

A análise de intumescimento foi realizada em triplicata.

### *Elaboração do Frozen Yogurt de Soja*

As formulações do *frozen yogurt* a base de extrato hidrossolúvel de soja foram elaboradas de acordo com a metodologia descrita por Oliveira, Sereia, Oliveira (2012), com algumas modificações.

O preparo ocorreu em duas etapas, sendo elas o preparo da base e o preparo da calda. Para base utilizou-se 2,0 L de extrato hidrossolúvel de soja, o qual foi preparado de acordo com as recomendações do fabricante (Olivebra). A este volume adicionou-se uma mistura sólida de 0,3% de carbonato de cálcio, 1% de goma guar, 1% de amido modificado, 10% de açúcar. A mistura foi homogeneizada em liquidificador industrial por 5 minutos. Após a homogeneização, realizou-se tratamento térmico, em banho-maria sob agitação manual intermitente até atingir a temperatura de  $\pm 90^{\circ}\text{C}$  por 10 minutos. Em seguida a base foi resfriada até atingir a temperatura de  $\pm 36^{\circ}\text{C}$  e maturada em câmara fria à temperatura de  $\pm 7^{\circ}\text{C}$  por 18 horas.

Para elaboração da calda, 2,0 L da base foi homogeneizada, em liquidificador industrial, com 5% de extrato hidrossolúvel de soja em pó, 5% de glicose e 1,3% de emulsificante.

A calda foi congelada em sorveteira vertical (Fort Frio) à temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  (Figura 1). As micelas foram adicionadas no final do processo de congelamento na proporção de 10% sobre o volume congelado. No tratamento controle foi adicionado 10% da cultura láctica não microencapsulada.

As formulações de *frozen yogurt* foram analisadas por meio de análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais.



**Figura 1.** Etapa de congelamento do *frozen yogurt*.

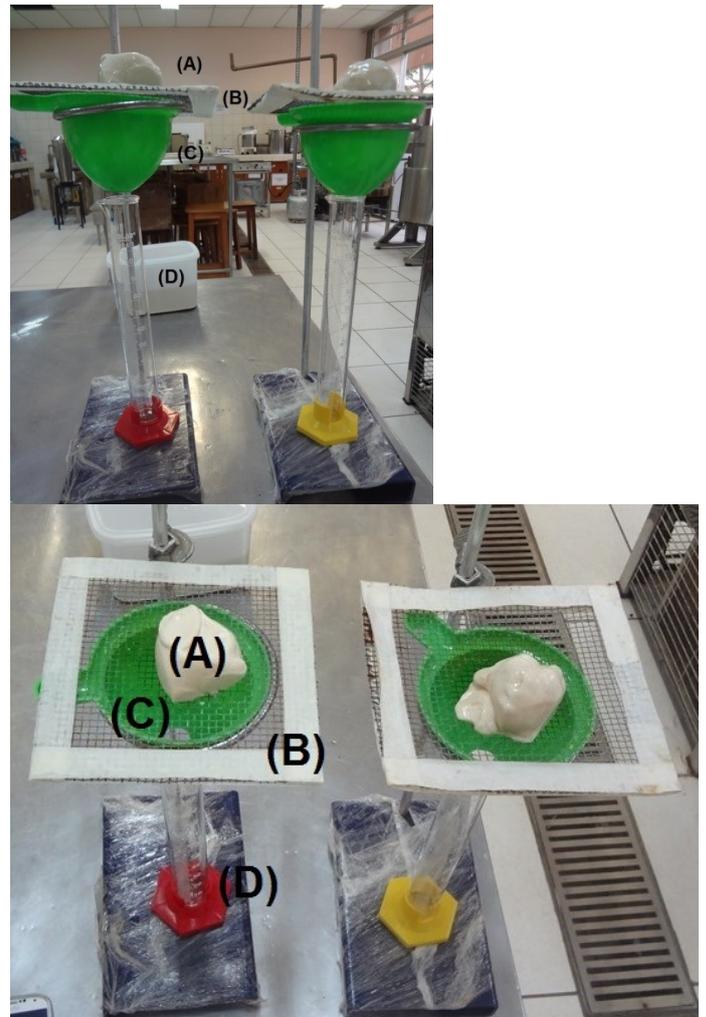
## Análises Físico-Químicas

### Determinação de pH

Realizou-se determinação de pH por meio do método potenciométrico seguindo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008). Determinou-se o pH utilizando um pHmetro (MS tecnopon Equip. Especiais Ltda, modelo mPA-210) previamente calibrado, operando-o de acordo com as instruções do manual do fabricante. A leitura foi realizada a cada sete dias durante 42 dias experimentais.

### Derretimento (*melting test*)

O teste de derretimento foi realizado segundo metodologia proposta por Rechsteiner (2009). Amostras de *frozen* de aproximadamente 50 mL foram congeladas por aproximadamente 60 minutos em freezer vertical, em seguida, transferiu-se este volume para uma tela de malha metálica de abertura 0,5 cm como pode ser observado na Figura 2. Registrou-se o volume de *frozen* drenado a cada cinco minutos com a temperatura ambiente do laboratório entre  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , sem circulação de ar. A partir dos dados foi construído o gráfico do tempo total gasto em função do volume derretido. Utilizou-se uma regressão linear para determinar o tempo inicial de derretimento a partir da intersecção da reta com o eixo x.



**Figura 2.** Esquema ilustrativo do teste de derretimento das amostras de *frozen*: Amostra de *Frozen* (A); Tela de Malha (B); Funil (C); Proveta (D).

### Overrun

A porcentagem de *overrun* que representa a quantidade de ar incorporada à calda durante o congelamento foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Gonçalves, Eberle (2008). Mediu-se o volume da calda e, após o congelamento o volume do *frozen*. O cálculo da porcentagem de incorporação de ar nos tratamentos foi realizado de acordo com a Equação 1.

$$\%overrun = \frac{(V_f - V_i)}{V_i} \cdot 100 \quad (1)$$

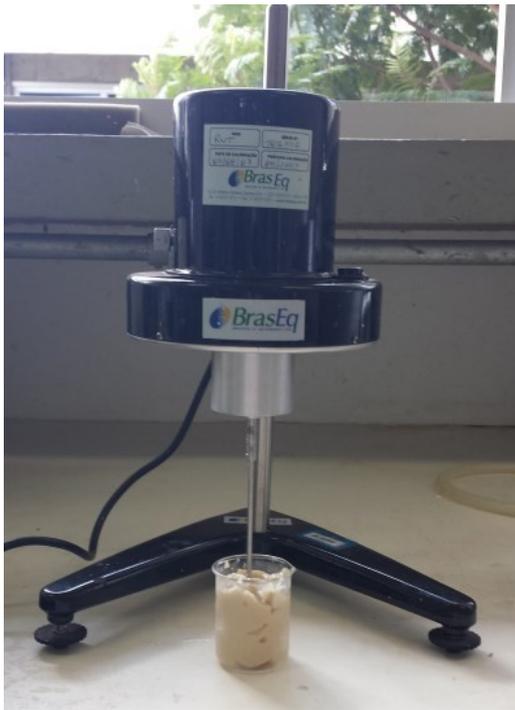
Em que:

$V_i$  = Volume inicial da calda, em mL

$V_f$  = Volume final do *frozen*, em mL

### Viscosidade Aparente

Análise de viscosidade aparente foi realizada segundo a metodologia descrita por (ALVES, 2013). As amostras de *frozen yogurt* de soja em triplicatas foram resfriadas em banho de água com temperatura controlada à  $\pm 25^\circ\text{C}$  e agitadas a velocidade de 20rpm em viscosímetro digital (Brookfield, modelo RVT), acoplado de um spindle nº5 (Figura 3). O valor da viscosidade aparente foi calculado em centipoise utilizando-se a tabela de fator de correção em função da velocidade e da agulha utilizada, disponibilizado pelo fornecedor do equipamento.



**Figura 3.** Viscosímetro Brookfield.

### Teor de Cálcio

A dosagem do teor de cálcio das amostras foi determinada por titulação complexométrica,

com EDTA seguindo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008). A análise do teor de Cálcio foi realizada em triplicata.

### Análises Microbiológicas

#### Contagem de Coliformes a $35^\circ\text{C}$ e a $45^\circ\text{C}$ pela Técnica do NMP

Para a contagem de coliformes a  $35^\circ\text{C}$  e a  $45^\circ\text{C}$  pela técnica do NMP (Número Mais Provável), procedeu-se segundo a Instrução Normativa de 62 (BRASIL, 2003).

#### Enumeração dos Microrganismos Probióticos

Para enumeração dos microrganismos probióticos seguiu-se pela metodologia de Vinderola et al. (2000), e teve como objetivo, verificar se a cultura probiótica atingiu a concentração mínima de  $1,0 \cdot 10^6$  UFC/g (Unidades Formadoras de Colônias) no produto durante seis semanas de armazenamento (BRASIL, 2000). As diluições seriadas de  $10^{-1}$  até  $10^{-6}$  foram preparadas em água peptonada 0,1%. Para o preparo das placas semeou-se 1mL das diluições em duplicatas em placas de Petri adicionando-se 15mL de Ágar de Man, Rogosa e Sharpe (MRS) para *Lactobacillus*. Após, incubou-se as placas sob anaerobiose pelo emprego de sachet de anaerobiose (PROBAC, São Paulo, Brasil) e jarra de anaerobiose em estufa bacteriológica à temperatura de  $\pm 37^\circ\text{C}$  por 72 horas. A avaliação da sobrevivência da cultura foi realizada pela contagem das colônias utilizando contador de colônias (Phoenix, modelo CP600).

#### Análise Sensorial

Para análise sensorial o projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), titulado como: Desenvolvimento de *Frozens* Funcionais Linha Clean Label, com o número do Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE): 02027012.3.0000.0092.

Para a avaliação sensorial utilizou-se o teste afetivo de aceitação por escala hedônica de 9

pontos descrita por Dutcosky (2011), tendo como extremos 1 – Desgostei muitíssimo e 9 – Gostei muitíssimo. O teste foi realizado com 100 provadores não treinados, que receberam individualmente 20 g de cada amostra em copos plásticos descartáveis codificados com números aleatórios de três dígitos, acompanhados de uma colher descartável, um copo com água potável e as fichas de respostas.

Os provadores foram instruídos a avaliarem as amostras em relação à percepção global de suas características. Juntamente a esse teste, estabeleceu-se se o provador possuía intolerância a lactose e à intenção de compra para cada produto.

### *Análises Estatísticas dos Dados*

Os dados obtidos das análises foram submetidos a análises de variância (ANOVA) com comparação de Tuckey ao nível de 5% de probabilidade de erro, analisados pelo programa *Statistica (Statsoft)* versão 8.0 segundo Granato et al. (2010).

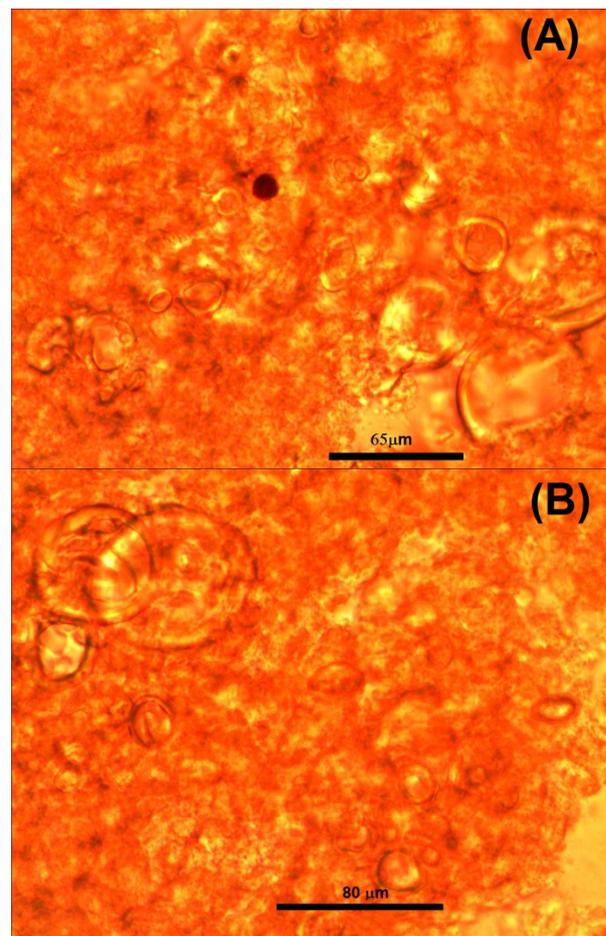
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Caracterização das Micelas

#### *Análise Microscópica*

A síntese de micelas de albumina e colágeno foi comprovada por meio da análise das imagens obtidas por microscopia óptica (Figura 4).

O tamanho das micelas obtidas variou de 15 a 80  $\mu\text{m}$ . Segundo Rodrigues, Moraes, Silva (2012), micelas menores que 100  $\mu\text{m}$  são desejáveis para aplicação em alimentos uma vez que as mesmas não serão perceptíveis na análise sensorial. A dispersão de tamanho pode estar associada ao método de agitação utilizado, o qual por ser de baixa rotação, não foi suficiente para impedir que as micelas obtidas se agregassem segundo esse mesmo autor.



**Figura 1.** Micelas de albumina e colágeno, contendo bactérias probióticas, com objetiva de 40x (A - 65 $\mu\text{m}$ , B - 80 $\mu\text{m}$ ).

#### *Intumescimento*

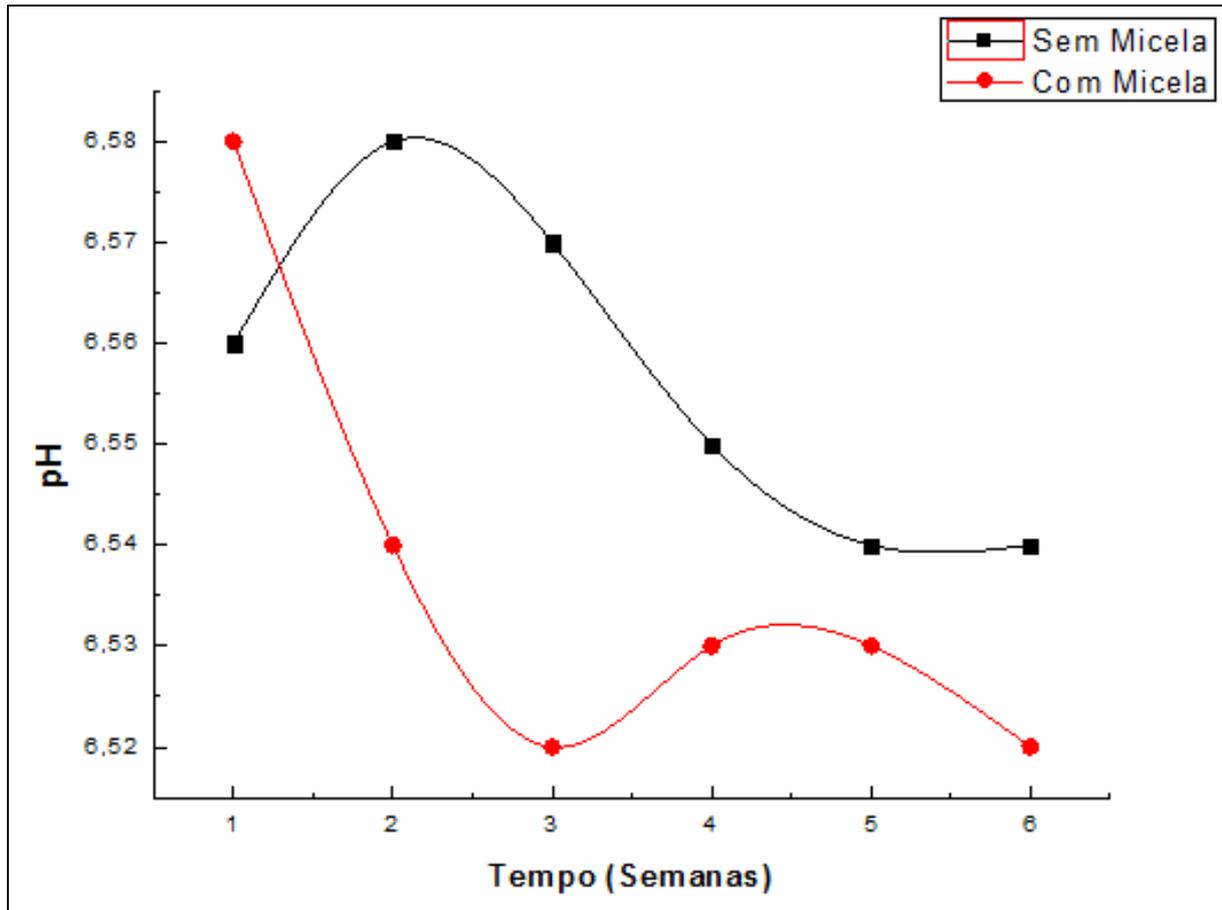
O teor de água médio absorvido pelas micelas foi de  $5,85 \pm 1,11\%$ . De acordo com Peppaset al. (2000), o teor de água absorvido por materiais poliméricos hidrofílicos e reticulados, pode ser caracterizado através da determinação do grau de intumescimento. Quanto mais hidrofílica for a rede polimérica, maior é o teor de água absorvido. A água contida dentro desses sistemas poliméricos pode ser utilizada como forma de incorporar princípios ativos hidrossolúveis além de formar um ambiente propício para bactérias.

## Análises Físico-Químicas do Frozen

### Determinação de pH

Os valores de pH para o tratamento controle variou de 6,54 a 6,56 durante as seis semanas de

armazenamento. Para o tratamento com bactérias microencapsuladas o pH variou de 6,52 a 6,58 (Figura 5). Não foi observado diferenças significativas a nível de 5%.



**Figura 2.** Valores do pH das amostras de *frozen* com micela e sem micela durante o tempo de armazenamento.

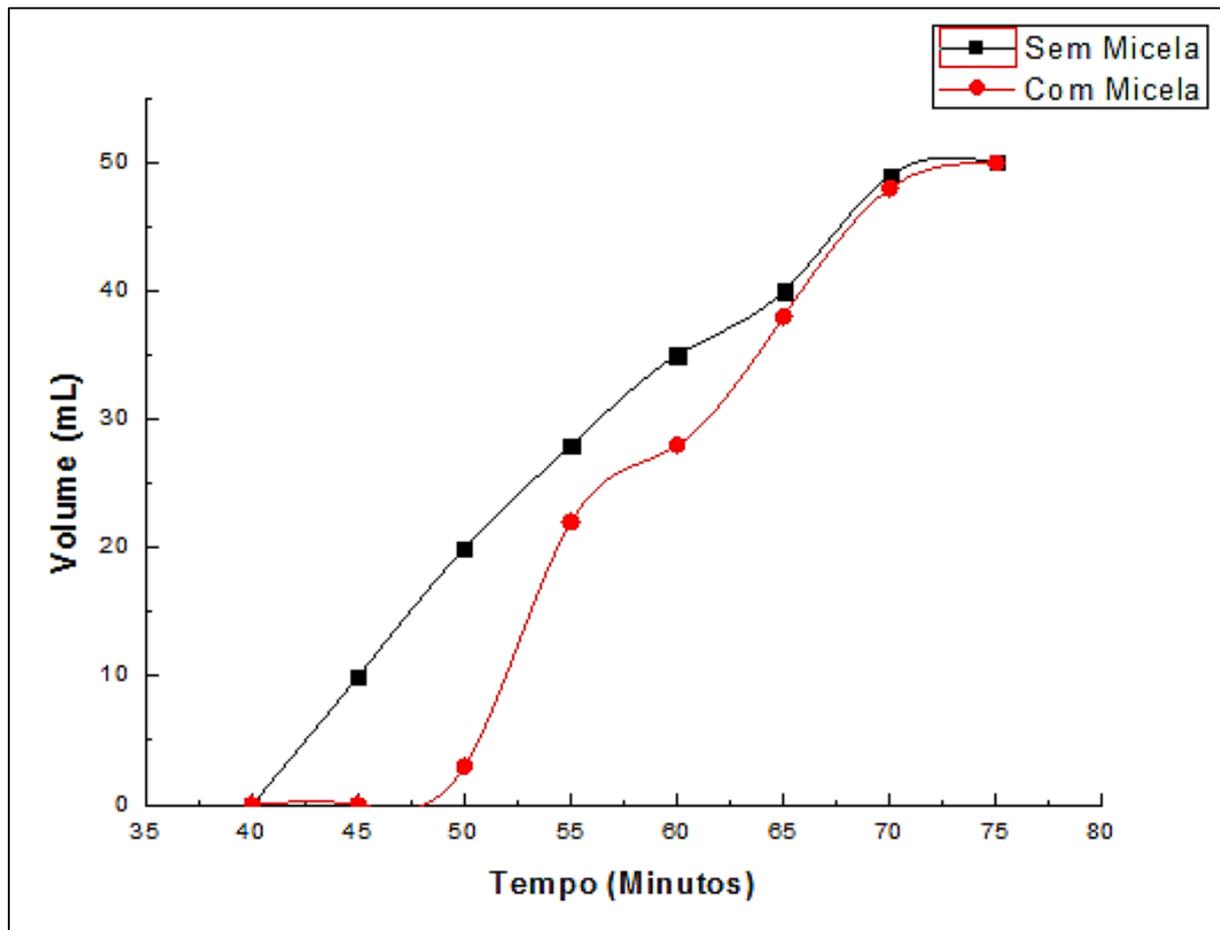
Ao contrário do observado em *frozen yogurt* convencional, o pH elevado observado nos *frozens* elaborados com leite de soja foi desejável sob o ponto de vista sensorial, uma vez que a fermentação e o aumento de acidez poderia resultar em sabores e odores indesejáveis.

Estudo realizado por Viana, Bueno, Góes-Favoni (2011), para avaliar a qualidade de bebida fermentada de soja tipo iogurte, utilizando a mesma cultura mista empregada neste trabalho observaram a formação de odores característicos de ácido acético. Miguel (2009),

desenvolvendo sorvete de “iogurte” simbiótico à base de extrato aquoso de soja e de yacon observou que as bifidobactérias utilizam os açúcares presentes na soja como fonte de carbono, liberando mono e dissacarídeos e produzindo ácido lático e acético.

### Derretimento (*melting test*)

A Tabela 1 e a Figura 6 apresentam os dados obtidos na análise de derretimento das formulações estudadas. O gráfico representa o volume por tempo, no qual se pode observar qual dos dois tratamentos possui um menor tempo de derretimento.



**Figura 3.** Gráfico do derretimento do *frozen* a base de “leite” soja em função do tempo.

**Tabela 1.** Regressão linear para determinação do tempo inicial de derretimento.

	Equação	R <sup>2</sup>	Tempo Inicial de Derretimento (min)
<i>Frozen Yogurt com Micela</i>	$y = 1,8457x - 83,857$	0,9559	45,43 <sup>a</sup>
<i>Frozen Yogurt sem Micela</i>	$y = 1,3571x - 48,286$	0,977	35,58 <sup>b</sup>

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa a nível de 5%.

A regressão linear mostrou que a incorporação das micelas de albumina e colágeno proporcionou aumento significativo ( $p < 0,05$ )

para o tempo inicial de derretimento do *frozen* tratado em relação ao controle. Conforme Muse, Hartel (2004), a mudança de um aspecto da formulação ou nas condições de processamento do produto pode provocar modificações em vários aspectos estruturais do sorvete.

### **Overrun**

A quantidade de ar incorporada nos *frozen yogurt* a base de extrato aquoso de soja com e sem adição de micela foi de  $34,23 \pm 3,26\%$  e  $33,47 \pm 1,64\%$  respectivamente. As amostras apresentaram uma porcentagem de *overrun* acima do estabelecido pela legislação (BRASIL, 2005a), que estabelece o valor mínimo de 20% de massa de ar incorporada para gelados comestíveis.

Em trabalho de Oliveira (2013), os percentuais de *overrun* dos *frozen* a base de leite variaram de 41,5 a 49,4%. De acordo com Rechsteiner (2009), uma das propriedades da gordura é a aeração. Sorvetes com menor teor de gordura apresentam taxas menores de incorporação de ar em relação aos sorvetes com maior teor de gordura. Dervisoglu, Yazici (2006), observaram que a adição de fibras reduz o *overrun* de sorvetes, já que as fibras aumentam a viscosidade do produto.

### **Viscosidade Aparente**

Os resultados da viscosidade aparente das amostras de *frozen* com e sem adição de micela foi de 6586 mPa.s e 4850 mPa.s respectivamente. A análise estatística demonstrou um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) entre as duas amostras.

A viscosidade é um parâmetro de grande importância para os sorvetes, uma vez que proporciona corpo e textura desejável, sendo afetada principalmente pela gordura e pela estrutura das proteínas no produto (OZDEMIR et al. 2008). Devido ao aumento de proteínas com a adição de albumina no *frozen* através das micelas, aumentando a viscosidade do mesmo. Segundo Durso (2012), as proteínas ao absorver parte da água livre, melhora a viscosidade do sorvete.

Em estudo de Pinto (2012), a viscosidade aparente das amostras de *frozen yogurt* e base de leite bovino foram entorno de 80,46 mPa.s e 115,20 mPa.s. De acordo com Soukoulis, Lebesi, Tzia (2009), que estudaram os efeitos de quatro fontes de fibras em misturas para sorvetes, mostrou que a adição de fibra

alimentar afetou significativamente, promovendo o desenvolvimento e o fortalecimento da viscosidade.

### **Teor de Cálcio**

Nos resultados do teor de cálcio, nas amostras de *frozen* com e sem adição de micela foi de  $258,33 \pm 2,26 \text{mg}/100\text{mL}$  e  $266,20 \pm 4,36 \text{mg}/100\text{mL}$  respectivamente. A análise estatística não demonstrou diferenças significativas a nível de 5% entre as duas amostras.

De acordo com CASÉ et al., (2005), o cálcio presente no leite é de  $123 \text{mg}/100\text{mL}$ . Os *frozen* a base de extrato aquoso de soja, apresentaram teores de cálcio acima deste valor, contudo, a recomendação diária de cálcio varia entre 600 até 1200 mg/dia conforme idade e sexo (BRASIL, 2005b).

### **Análises Microbiológicas**

#### **Contagem de Coliformes a 35°C e a 45°C pela Técnica do NMP**

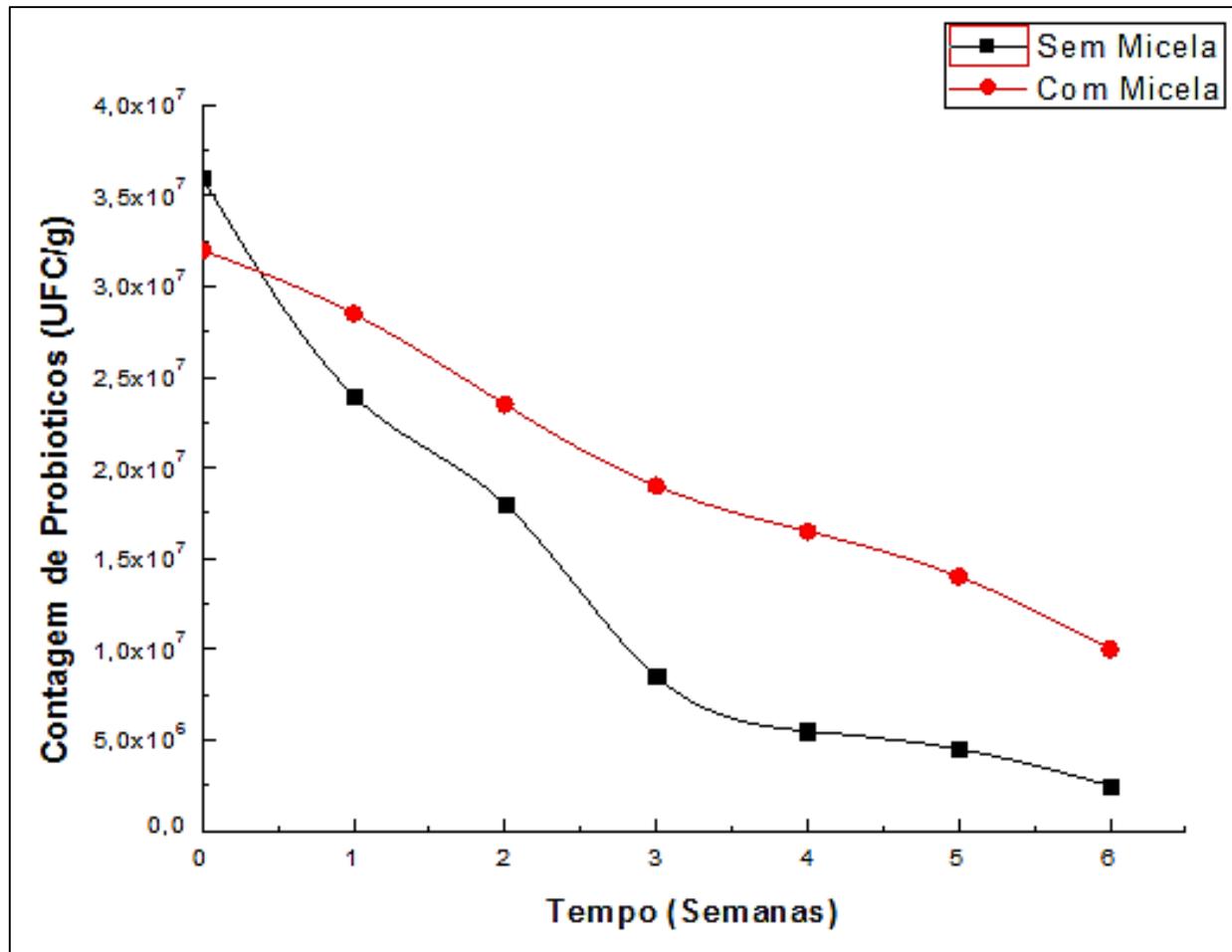
Todas as amostras analisadas apresentaram valores de coliformes à 35°C e a 45°C,  $< 3,0$  NMP/g com intervalo de confiança de 95% (inferior -, NMP/g; superior 9,5 NMP/g), comprovando que as condições higiênico-sanitárias de preparo dos *frozenyogurts* foram satisfatórias. Segundo a Resolução RDC nº12 o máximo permitido é de  $5 \times 10$  NMP/g para coliformes a 45°C (BRASIL, 2001).

#### **Enumeração dos Microrganismos Probióticos**

A Figura 7 apresenta a contagem de bactérias lácticas viáveis durante seis semanas de armazenamento dos *frozen* elaborados com e sem adição de micela microencapsuladas. Para ambas formulações o número mínimo de bactérias viáveis foi  $> 10^6$  UFC/g. A existência de bactérias lácticas viáveis em produtos lácteos fermentados tem efeito benéfico na saúde do hospedeiro e seus efeitos só são possíveis de serem atingidos a partir de um número mínimo por mililitro do produto (GONÇALVES, EBERLE 2008). Segundo este autor para ser

considerado probiótico e ter efeito benéfico, o número mínimo de bactérias viáveis por

mililitro deve ser de  $10^6$  UFC/g durante todo o período de validade.



**Figura 4.** Contagem de bactérias lácteas viáveis durante seis semanas de armazenamento.

Segundo a Figura 7 tanto o *frozen* com micela como o sem micela, foram considerados alimentos probióticos, por possuírem contagens superiores a  $10^6$  UFC/g até a vida útil de prateleira do produto. Pinto (2012), verificou que as amostras de *frozen* adicionada de bactéria livre (Controle), assim como aquelas adicionadas de bactéria microencapsulada foram consideradas alimentos probióticos, uma vez que apresentaram contagens superiores a  $10^6$  UFC/g.

Verificou-se também que o *frozen* com micela possuiu uma contagem de probióticos mais alta que sem micela, mostrando que a micela conseguiu manter a viabilidade da cultura

láctea. Em estudo de Pinto (2012), comprovou que 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.

### Análise Sensorial

A Tabela 2 apresenta os dados médios obtidos no teste sensorial realizado com 100 provadores e a Figura 8 apresenta o gráfico com resultados da análise para ter uma melhor visualização. Foi observado que 9% dos provadores eram intolerantes a lactose.

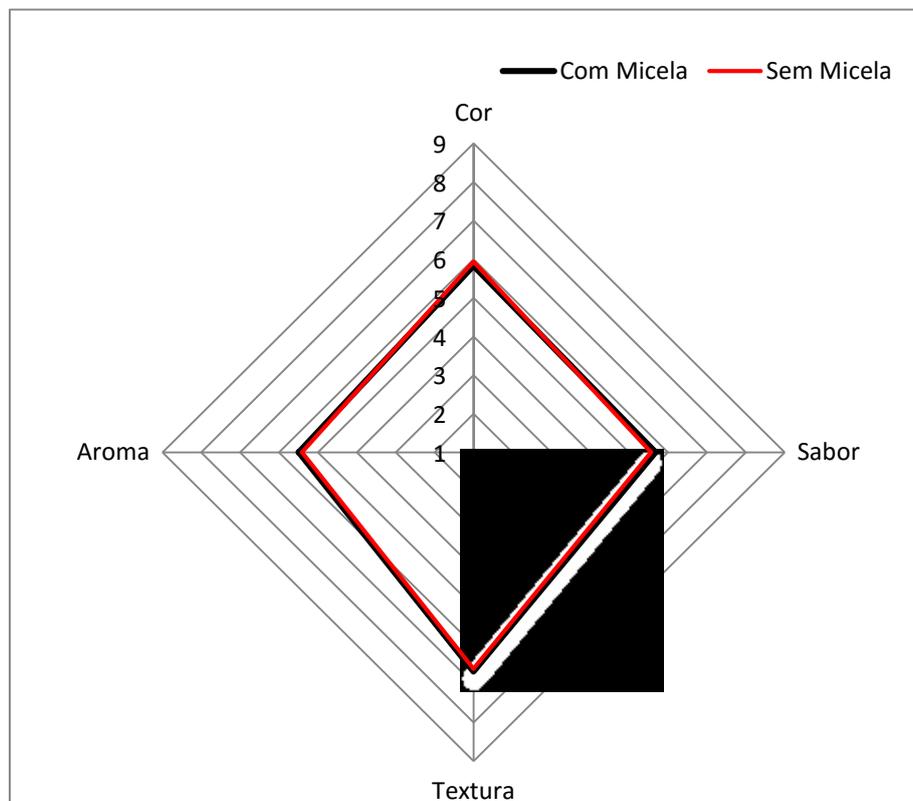
Embora somente 9% dos provadores fossem intolerantes à lactose, a intenção de compra dos *frozen* com micela e sem micela foi de 43% e 41% respectivamente. Este valor pode ser considerado bom, por se tratar de um produto à

base de soja submetido a pessoas que não possuem o hábito de consumir soja. Para os 9% restantes, acostumados a consumir produtos a base de soja, julgaram o produto como sendo uma ótima opção de compra.

**Tabela 2.** Média das notas e respectivos desvios padrão atribuídas pelos provadores para os atributos sensoriais avaliadas para os *frozen yogurt* elaborados com e sem adição de micela.

	<i>FrozenYogurt</i> com Micela	<i>FrozenYogurt</i> sem Micela
<b>Cor</b>	5,83 <sup>a</sup> ± 1,50	5,94 <sup>a</sup> ± 1,53
<b>Sabor</b>	5,68 <sup>a</sup> ± 1,81	5,56 <sup>a</sup> ± 2,07
<b>Textura</b>	6,68 <sup>a</sup> ± 1,56	6,61 <sup>a</sup> ± 1,61
<b>Aroma</b>	5,49 <sup>a</sup> ± 1,78	5,41 <sup>a</sup> ± 1,65

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa a nível de 5%.



**Figura 5.** Resultados da Análise Sensorial.

Pode-se observar na Figura 8 que o atributo de textura, foi o que teve a melhor nota, quanto ao atributo aroma, foi o que teve a menor nota. A análise estatística demonstrou que não houve diferença significativa a nível de 5% entre as médias das amostras para todos os atributos analisados, enfatizando que o *frozen* com micela não interfere no atributos quando comparado com o *frozen* sem as micelas. De acordo com Rosa et al. (2009), processos aos quais a soja ou seus produtos são submetidos a fermentação promovem benefícios, tanto do ponto de vista tecnológico e sensorial.

## CONCLUSÃO

As micelas de albumina e colágeno foram capazes de manter os *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus thermophilus* microencapsulados viáveis no *frozen* de soja durante as seis semanas de armazenamento.

As micelas de albumina e colágeno promoveram a obtenção de um produto probiótico com características físicas e químicas adequadas a de um “gelado comestível”, de boa aceitação sensorial, mostrando que o *frozen yogurt* de soja pode ser considerado uma boa opção de produto para o mercado.

## REFERÊNCIAS

ALVES, L. de L.; RICHARDS, N. S. P. dos S.; BECKER, L. V.; ANDRADE, D. F. de; MILANI, L. I. G.; REZER, A. P. de S.; SCIPIONI, G. C. Aceitação sensorial e caracterização de *frozenyogurt* de leite de cabra com adição de cultura probiótica e prebiótico. Santa Maria: **Ciência Rural**, v. 39, n. 9, p. 2595-2600, 2009.

ALVES, F. C. G. B. S. **Propriedades funcionais do amido de mandioca esterificado com ácido esteárico**. In: Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica

Federal do Paraná. Campo Mourão: UTFPR, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (Dispoa). **Resolução N° 5, 13 de novembro de 2000**. Departamento de inspeção de produtos de origem animal. Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados. 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. **Resolução RDC n° 12, de dois de janeiro de 2001**, que aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/451\\_97.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/451_97.htm)>. Acesso em: 23 jan. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (Dispoa). **Instrução Normativa n° 62, de 26 de agosto de 2003**, que aprova os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. **Resolução RDC n° 266 de 22 de setembro de 2005a**. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de gelados comestíveis e, preparados para gelados comestíveis. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, 2005a.

BRASIL. Biblioteca Virtual em Saúde. Ministério da Saúde. **Alimentos funcionais**. 2009. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/dicas/220\\_alimentos\\_funcionais.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/dicas/220_alimentos_funcionais.html)>. Acesso em: 10 fev. 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n° 269 de setembro de 2005b**. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. 2005b. Disponível em: <[www.anvisa.gov.br/legis/index\\_ato.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/index_ato.htm)>. Acesso em: 10 jan. 2014.

- CASÉ, F.; DELIZA, R.; ROSENTHAL, A.; MANTOVANI, D.; FELBERG, I. Produção de leite de soja enriquecido com cálcio. *Campinas: Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n. 1, p. 86-91, 2005.
- CDR. Coordenadoria de Recebimento e Distribuição. *Alimentos e Saúde: Alimentos Funcionais*. 1999. Disponível em: <<http://www.crd.defesacivil.rj.gov.br/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=270>>. Acesso em: 07 set. 2013.
- DERVISOGLU, M.; YAZICI, F. Effect of citrus fibre on the physical, chemical and sensory of ice cream. *Food Science and Technology International*. v. 12, p.159-164, 2006.
- DURSO, F. M. **Fatores que afetam a vida de prateleira de sorvetes de massas artesanais**. In: Monografia apresentada ao curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia. São Caetano do Sul: IMT, 2012.
- DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 3 ed., Curitiba: Champagnat, 2011.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. WHO. World Health Organization. **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.
- FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de Ingredientes Alimentícios. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 11, n. 2, p. 103-112, 2008.
- FULLER, R. Probiotics: The Scientific Basis. London: **Chapman and Hall**, p. 209-224, 1992.
- GONÇALVES, A. A.; EBERLE, I. R. *Frozen yogurt com bactérias probióticas*. Araraquara: **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 3, p. 291-297, 2008.
- GRANATO, D.; RIBEIRO, J. C. B.; CASTRO, I. A.; MASSON, M. L. Sensory evaluation and physicochemical optimisation of soy-based desserts using response surface methodology. *Food Chemistry*, v. 121, p. 899-906, 2010.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed., São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, 1 ed. digital.
- MIGUEL, D. P. **Desenvolvimento de sorvete de “iogurte” simbiótico à base de extrato aquoso de soja e de yacon (Smallanthus sonchifolius) fermentado com Lactobacillus acidophilus CRL 1014**. In: Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Araraquara: UNESP, 2009.
- MUSE, M. R.; HARTEL, R. W. Ice cream structural elements that affect melting rate and hardness. *Journal of Dairy Science*, v. 87, p. 1-10, 2004.
- OLIVEIRA, R. R. de; SEREIA, M. J.; OLIVEIRA, T. P. **Aspectos físico-químicos e sensoriais de frozen yogurt elaborados com culturas probióticas, baixo teor de gordura e diferentes proporções de mel**. In: XVII SICITE – Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba: SICITE, 2012.
- OLIVEIRA, R. R. de. **Desenvolvimento de frozen yogurt funcionais linha “clean label” adicionados de corantes naturais de betalaína e bixina**. In: Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão: UTFPR, 2013.
- OZDEMIR, C.; DAGDEMIR, E.; OZDEMIR, S.; SAGDIC, O. The effects of using alternative sweeteners to sucrose on ice cream quality. *Journal of Food Quality*, v. 31, n. 4, p. 415-428, 2008.

- PEPPAS, N. A.; BURES, P.; LEOBANDUNG, W.; ICHIKAWA, H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 27-46, 2000.
- PINTO, S. S. **Efeito da adição de bifidobacterium BB-12 microencapsulada sobre propriedades de frozeniogurte.** In: Dissertação (mestrado), Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Florianópolis: UFSC, 2012.
- RECHSTEINER, M. S. **Desenvolvimento de amidos fosfatados de batata-doce e mandioca e aplicação como substitutos de gordura em sorvetes.** In: Tese (doutorado), Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas. Botucatu: UNESP, 2009.
- RODRIGUES, L. M.; MORAES, T.; SILVA, R. da **Liberação de anti-inflamatórios e Vitamina C a partir de microesferas de hidrogéis de albumina e colágeno.** In: IV SIMTEA - Simpósio de Tecnologia e Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão: SIMTEA, 2012.
- ROSA, A.M.; CLAVISO, J.; PASSOS, L. M. L.; AGUIAR, C.L. – Alimentos fermentados à base de soja (Glycinemax (Merrill) L.): importância econômica, impacto na saúde e efeitos associados às isoflavonas e seus açúcares. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7. n. 4. p. 454-462. 2009.
- SANDERS, M. E. Probiotics: considerations for human health. New York: **Nutrition Reviews**, v. 61, n. 3, p. 91-99, 2003.
- SOUKOULIS, C.; LEBESI, D.; TZIA, C. Enrichment of ice cream with dietary fibre: effects on rheological properties, ice crystallization and glass transition phenomena. **Food Chemistry**, v. 115, p. 665-671, 2009.
- TOLEDO, T. C. F. de; BRAZACA, S. G. C.; ARTHUR, V.; PIEDADE, S. M. de S. Composição, digestibilidade protéica e desaminação em cultivares brasileiras de soja submetidas à radiação gama. Campinas: **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, 2007.
- WGO. World Gastroenterology Organisation. Diretrizes Mundiais da Organização Mundial de Gastroenterologia. **Probióticos e Prebióticos**, 2011. Disponível em: <[http://www.worldgastroenterology.org/assets/export/userfiles/Probiotics\\_FINAL\\_pt\\_2012.pdf](http://www.worldgastroenterology.org/assets/export/userfiles/Probiotics_FINAL_pt_2012.pdf)>. Acesso em: 03 set. 2013.
- VIANA, A.; BUENO, F. R.; GÓES-FAVONI, S. P. Bebida Fermentada de soja tipo iogurte: formulação e aceitabilidade. Marília: **Alimentus**, v. 1, p. 7, 2011.
- VINDEROLA, C. G.; GUEIMONDE, M.; DELGADO, T.; REINHEIMER, J. A.; REYESGAVILÁN, C. G. Characteristics of carbonated fermented milk and survival of probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 10, 2000.
- ZHENG, C.-H.; GAO, J.-Q.; ZHANG, Y.-P.; LIANG, W.-Q. A protein delivery system: biodegradable alginate–chitosan–poly (lactic-co-glycolic acid) composite microspheres. New York: **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 323, p. 1321-1327, 2004.