# UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica Área de Tecnologia de Alimentos

Utilização de bactérias do grupo *Lactobacillus casei* no desenvolvimento de sorvete potencialmente probiótico de leite de cabra e polpa de cajá (*Spondias mombin*)

Clara Mítia de Paula

Dissertação para obtenção do grau de MESTRE

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Susana Marta Isay Saad

São Paulo 2012 Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

#### Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Paula, Clara Mítia de

P324u Utilização de bactérias do grupo Lactobacillus casei no desenvolvimento de sorvete potencialmente probiótico de leite de cabra e polpa de cajá (Spondias mombin) / Clara Mítia de Paula. -- São Paulo, 2012.

84p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica.

Orientador: Saad, Susana Marta Isay

Tecnologia de alimentos
 Leite: Ciência dos alimentos
 Microbiologia de alimentos
 Sorvete I. T. II. Saad, Susana Marta Isay, orientador.

664 CDD

#### Clara Mítia de Paula

Utilização de bactérias do grupo *Lactobacillus casei* no desenvolvimento de sorvete potencialmente probiótico de leite de cabra e polpa de cajá (*Spondias mombin*)

Comissão Julgadora da Dissertação para obtenção do grau de Mestre

> Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Susana Marta Isay Saad FCF/USP Orientadora /Presidente

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carmen Sílvia Favaro-Trindade FZEA/USP

Dr. Rafael Chacon Ruiz Martinez

São Paulo, 13 de dezembro de 2013.

Aos meus pais Alberto e Fátima, pela mão segura e conselho sempre certo que me lembram de quem sou e aonde quero chegar.

Com amor,

Dedico.

#### **AGRADECIMENTOS**

Caminhada de saber exige sabor. E neste espaço gostaria de agradecer a todos que saborearam minha vida durante essa enriquecedora experiência do Mestrado.

De início quero agradecer à Profa. Dra. Susana Saad, minha orientadora que desde cedo dedicou confiança em meu trabalho, o que tornou possível essa parceria valiosa. Agradeço também à Dra. Karina Olbrich, pesquisadora da Embrapa Caprinos e Ovinos (e caçadora de talentos nas horas vagas), por ter enxergado em mim o potencial antes desconhecido. E na pessoa dessas duas grandes profissionais agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas-USP e à Embrapa Caprinos e Ovinos pelo suporte técnico, financeiro, pessoal e administrativo nesses dois anos. Aos funcionários, colegas, bolsistas e estagiários dessas instituições estendo meus sinceros agradecimentos por terem tornado essa experiência tão construtiva e saborosa!

Agradeço à Clariant (Beneo Orafti) e à Danisco pela generosa doação de matéria-prima para o desenvolvimento desse trabalho. Agradeço ao CNPq pela Bolsa de Mestrado concedida como premiação através do Programa BITEC edição 2008. Uma grande porta se abriu em minha vida desde então.

Ao meu ninho, minha família... Nesses 27 anos de vida vocês vêm saboreando minha existência com amor, carinho, presença e apoio incondicionais. Mãe, Pai, Selva e Emanuel, olhar para vocês não me deixa esquecer quem sou, qual o meu norte, a minha meta, quais os meus sonhos. Onde estiver quero sempre carregar esses laços de amor que nos unem na carne e no coração.

Sair da minha terra e desbravar a maior cidade do país teria sido uma aventura dolorosa se não fosse pelo carinho e acolhida da Tia Lourdes e dos meus primos Davis, Carlos e Gabi, a família que ganhei em São Paulo. A Terra da Garoa também fez chover muitas alegrias em meu coração me presenteando com amigos, colegas de trabalho e parceiros os quais desejo trazer junto a mim por toda vida.

Aos meus amigos, sal da minha vida, sabor quando tudo parece complicado demais. Vocês saboreiam minha existência quando vencem a distância com

telefonemas despreocupados com o tempo, quando são sorrisos na ausência destes, quando permitimos cruzar a nossa história. Não há necessidade de citar nomes. A gente se reconhece...

E se o amor deixa marcas, fui marcada pela Terra da Luz, meu Ceará do qual falo com muito orgulho. Trago na pele a marca do sol escaldante, no rosto o riso frouxo e o olhar de um povo marcado pela esperança de que a chuva chegará. Agradeço aos sonhos que despontam na aridez da terra como o Projeto Cabra Nossa de Cada Dia. É o pão nosso que falta na mesa de alguém que me faz ser uma profissional atenta ao que um dia disse meu Mestre: "Dai-lhes vós mesmos de comer".

Enfim, agradeço ao meu Deus que me fez águia para sair do ninho e desbravar novos céus, enxergar as belezas das estações, fazendo-me agradecê-Lo por tudo o que passou e pelo que virá.

Gente simples fazendo coisas pequenas, em lugares sem importância, consegue mudanças extraordinárias.

Provérbio africano citado por Dom Moacyr Grechi, bispo de Porto Velho, no XII Intereclesial em Porto Velho, Rondônia, 2009

#### **RESUMO**

PAULA, C.M. Utilização de bactérias do grupo *Lactobacillus casei* no desenvolvimento de sorvete potencialmente probiótico de leite de cabra e polpa de cajá (*Spondias mombim*). 2012. 84p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

O trabalho teve como objetivos desenvolver sorvetes com leite de cabra, polpa de cajá e cepas potencialmente probióticas Lactobacillus rhamnosus HN001 e Lactobacillus paracasei LBC82, verificar a viabilidade dessas cepas e avaliar as características dos produtos ao longo de seu armazenamento a -18°C por até 12 semanas, bem como a resistência das cepas incorporadas nos produtos a condições gástricas e entéricas simuladas in vitro. Primeiramente, foi desenvolvido creme de leite de cabra para aplicação no produto. Em seguida, foram realizados os ensaios de desenvolvimento dos sorvetes, os quais variaram de acordo com a adição de gordura láctea caprina (sorvetes SC) e a sua substituição por inulina (sorvetes SI) e com a adição de 2 cepas de Lactobacillus - L. rhamnosus HN001 (Lr) e L. paracasei LBC82 (Lp), tendo sido assim denominados: SCr - com gordura láctea caprina + Lr, SCp - com gordura láctea caprina + Lp; SIr - com inulina + Lr, SIp - com inulina + Lp. Os sorvetes foram armazenados a -18±3°C por até 12 semanas (84 dias) e analisados quanto às sequintes características: overrun (durante a elaboração), fração de derretimento e dureza instrumental (após 14 dias), composição centesimal (após 21 dias), pH (após 1, 28, 56 e 84 dias), viabilidade dos probióticos (durante o processamento e após 1, 7, 14, 21, 28, 42, 56 e 84 dias) e sua resistência às condições gástrica e entérica simuladas in vitro (após 28 e 84 dias). Os sorvetes foram, ainda, comparados quanto à sua aceitação sensorial (escala hedônica de 9 pontos, com 1 = desgostei muitíssimo e 9 = gostei muitíssimo) na Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE (após 7, 42 e 84 dias) e, para efeito de comparação entre consumidores de dois locais e público distintos, também foram submetidos à análise sensorial, 7 dias após a sua produção, na FCF/USP, SP. Todos os sorvetes, apesar dos valores de pH inferiores a 4,5, apresentaram populações médias de Lactobacllus spp. acima de 8 log UFC/g e estáveis, durante 84 dias de armazenamento. Por outro lado, as cepas testadas mostraram baixa sobrevivência nos testes in vitro realizados, com ligeiro aumento dessa sobrevivência na presenca de inulina aos 28 dias de armazenamento, particularmente para SIp. Os 4 sorvetes estudados apresentaram notas médias que variaram de 6,9 (SIr. aos 42 dias) a 8,0 (SCp, aos 7 dias) na avaliação sensorial, sem diferenças significativas entre os sorvetes, mas com uma diminuição significativa nas notas ao longo do armazenamento para os sorvetes com creme (p<0,05), o que não foi observado para os sorvetes com inulina, que mostraram, ainda, maior firmeza (p<0,05), com teores inferiores de lipídeos. Quando os 2 públicos de regiões distintas foram comparados quanto à aceitação sensorial, não foi verificada diferença significativa para os sorvetes com inulina. enquanto que aqueles com creme de cabra obtiveram notas significativamente inferiores (p<0,05) do público de SP (médias de 7,60 e 7,46, respectivamente, para SCr e SCp), comparado àquele do CE (médias de 7,95 e 8,03, respectivamente, para SCr e SCp). Conclui-se que os sorvetes de leite de cabra com polpa de cajá desenvolvidos apresentaram uma boa sobrevivência das cepas de Lactobacillus estudadas no produto e boas características sensoriais. As formulações contendo inulina seriam a melhor opção, por apresentarem, ainda, características prebióticas, teores inferiores de lipídeos, com maior estabilidade quanto à aceitação sensorial com o armazenamento e quando avaliados pelo público dos 2 diferentes locais testados. Os sorvetes estudados são uma opção viável para empregar alimentos como o leite de cabra e a polpa de cajá no desenvolvimento de produtos que contenham características funcionais, portanto, alto valor agregado.

Palavras-chave: Probióticos, Leite caprino, Sorvete, Cajá, Inulina, Lactobacillus.

#### **ABSTRACT**

PAULA, C.M. Use of bacteria from the *Lactobacillus casei* group in the development of potentially probiotic goat milk-based ice-cream with yellow mombin (*Spondias mombim*) pulp. 2012. 84p. Dissertation (Master of Science) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

This study aimed to develop a goat milk-based ice-cream with yellow mombin pulp and supplemented with the potentially probiotic strains Lactobacillus rhamnosus HN001 and Lactobacillus paracasei LBC82, check the viability of these strains and evaluate the products' features throughout their storage at -18°C for up to 12 weeks, besides the resistance of the strains incorporated into the products through in vitro gastric and enteric simulated conditions. Firstly, a goat milk cream was developed to be used in the product. Next, tests were conducted for the ice-cream formulations developed. These formulations varied according to the addition of goat milk cream (ICMC) or substitution of milk cream by inulin (ICI) and with the addition of two strains of Lactobacillus - L. rhamnosus HN001 (Lr) and L. paracasei LBC82 (Lp), and were designated as follows: ICMCr - with goat milk cream + Lr, ICMCp - with goat milk cream + Lp; ICIr - with inulin + Lr, ICIp - with inulin + Lp. The icecreams were stored at -18±3°C for up to 12 weeks (84 days) and analyzed for the following features: overrun (during production), melting rate and instrumental hardness (after 14 days), chemical composition (after 21 days), pH (after 1, 28, 56, and 84 days), probiotics viability (during production and after 1, 7, 14, 21, 28, 42, 56, and 84 days) and their resistance to in vitro simulated gastric and enteric conditions (after 28 and 84 days). The ice-creams were also compared for their sensory acceptability (9-point hedonic scale, with 1 = dislike extremely and 9 = like extremely) at Embrapa Sheep and Goats, Sobral, CE (after 7, 42, and 84 days). In order to compare sensory acceptability between consumers and local public from two different areas, sensory analysis was also conducted at the Faculty of Pharmaceutical Sciences at USP, SP, seven days after their production. The four kinds of ice-creams, even though with pH values below 4.5, showed Lactobacllus spp. mean populations above 8 log CFU/g and stable up to 84 days of storage. Nevertheless, the strains tested showed low survival through the in vitro tests and a slight increased survival in the presence of inulin at 28 days of storage, particularly for the ICI ice-creams. The four products studied had mean scores ranging from 6.9 (ICIr, at 42 days) up to 8.0 (ICMCp, at 7 days) in the sensory evaluation, with no significant differences between the ice-creams, but with a significant decrease in the scores during storage for the ice-creams with goat milk cream (p <0.05). This was not observed for the ice-creams with inulin, which also showed higher firmness (p <0.05), with lower lipids levels. When the consumers of the two different areas were compared regarding sensory acceptability of ice-creams, no significant difference was found among ice-creams with inulin, whereas those with goat milk cream received significantly lower scores (p <0.05) from SP consumers (mean 7.60 and 7.46, respectively, for ICMCr and for ICMCp), compared to those of CE (mean 7.95 and 8.03, respectively, for ICMCr and ICMCp). In conclusion, the goat milk-based ice-cream with yellow mombin pulp developed showed good survival of the Lactobacillus strains studied in the product and good sensory features. Formulations containing inulin would be the best option, as they also presented prebiotic characteristics, lower lipid levels, showed greater stability regarding sensory acceptability during storage and when evaluated by the public from the two different areas tested. The ice-creams studied are good options for employing foods like goat milk and yellow mombin pulp in the development of products with functional properties and, therefore, with high added values.

Key-words: Probiotics, Goat milk, Ice-cream, Caja, Inulin, Lactobacillus.

# SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1.1 Alimentos funcionais: probióticos, prebióticos, simbióticos e suas definições	. 19
1.1.1 Bactérias do Grupo Lactobacillus casei e suas aplicações	. 21
1.2 Gelados comestíveis como carreadores de bactérias probióticas	. 24
1.3 O leite de cabra e suas peculiaridades	26
1.4 Cajá : caracterização e aplicação em alimentos funcionais	. 27
1.5 A importância do presente estudo	. 28
2. OBJETIVOS	30
3. MATERIAL E MÉTODOS	. 31
3.1 Desenvolvimento das formulações de sorvete	. 31
3.1.1 Ensaios preliminares para a definição das formulações e das etapas processo de produção dos sorvetes	32
3.1.2 Obtenção de ingredientes lácteos caprinos	32
3.1.3 Definição da quantidade e condições de incorporação dos micro-organismos produto	
3.2 Fabricação dos sorvetes	34
3.3 Condições de armazenamento e períodos de amostragem	36
3.4 Avaliação dos parâmetros fisico-químicos	. 36
3.4.1 pH e composição centesimal	36
3.4.2 Determinação de overrun, fração de derretimento e dureza instrumental sorvetes	
3.5 Determinação das populações dos micro-organismos probióticos e confirmada segurança microbiológica dos sorvetes	ção 39
3.5.1 Determinação das populações dos micro-organismos probióticos	. 39
3.5.2 Confirmação da segurança microbiológica dos sorvetes	. 39
3.6 Ensaio de sobrevivência dos micro-organismos incorporados aos sorvetes condições gastrintestinais simuladas in vitro	
3.7 Análise sensorial	41
3.8 Tratamento estatístico dos dados	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1 Avaliação dos parâmetros fisico-químicos	. 43
4.1.1 Composição centesimal e pH	. 43

4.1.2 Determinação de overrun, fração de derretimento e dureza instrumental sorvetes	
4.2 Determinação das populações de micro-organismos probióticos e avaliação parâmetros microbiológicos	
4.3 Parâmetros microbiológicos sanitários	. 50
4.4 Ensaio in vitro de condições gastrintestinais simuladas	. 50
4.5 Análise sensorial	. 54
5. CONCLUSÕES	. 61
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
ANEXOS	. 73

# **LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1 -</b> Fluxograma do processamento das formulações de sorvete SC (sorvete com gordura láctea caprina) e SI (sorvete com inulina)
<b>Figura 2 –</b> Comportamento dos sorvetes durante o derretimento. Imagens coletadas em intervalos de 10 minutos durante 60 minutos. SCr - gordura láctea caprina + <i>L. rhamnosus</i> HN001; SCp - gordura láctea caprina + <i>L. paracasei</i> LBC82; SIr - inulina + <i>L. rhamnosus</i> HN001; SIp - inulina + <i>L. paracasei</i> LBC82
<b>Figura 3 -</b> Imagens dos micro-organismos probióticos incorporados nos sorvetes SC (gordura láctea), obtidas por Microscópio Biológico Binocular Modelo TIM 2005, após coloração Gram. A – <i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001 (SCr). B – <i>Lactobacillus paracasei</i> LBC82 (SCp)
<b>Figura 4 –</b> Sobrevivência dos micro-organismos probióticos nos sorvetes submetidos às condições gástricas e entéricas simuladas <i>in vitro</i> , após 28 dias de armazenamento a -18±3°C. SCr - gordura láctea caprina + <i>L. rhamnosus</i> HN001; SCp - gordura láctea caprina + <i>L. paracasei</i> LBC82); SIr - inulina + <i>L. rhamnosus</i> HN001; SIp - inulina + <i>L. paracasei</i> LBC82
<b>Figura 5 –</b> Sobrevivência dos micro-organismos probióticos nos sorvetes submetidos às condições gástricas e entéricas simuladas <i>in vitro</i> , após 84 dias de armazenamento a -18±3° C. SCr - gordura láctea caprina + <i>L. rhamnosus</i> HN001; SCp - gordura láctea caprina + <i>L. paracasei</i> LBC82); SIr - inulina + <i>L. rhamnosus</i> HN001; SIp - inulina + <i>L. paracasei</i> LBC82
<b>Figura 6 -</b> Frequência das notas atribuídas para os sorvetes durante armazenamento de 84 dias a -18±3°C. SCr - gordura láctea caprina + <i>L. rhamnosus</i> HN001; SCp - gordura láctea caprina + <i>L. paracasei</i> LBC82); SIr - inulina + <i>L. rhamnosus</i> HN001; SIp - inulina + <i>L. paracasei</i> LBC82
<b>Figura 7 -</b> Frequência das notas atribuídas para os sorvetes durante armazenamento de 84 dias a -18±3°C. SCr - gordura láctea caprina + <i>L. rhamnosus</i> HN001; SCp - gordura láctea caprina + <i>L. paracasei</i> LBC82); SIr - inulina + <i>L. rhamnosus</i> HN001; SIp - inulina + <i>L. paracasei</i> LBC82
LISTA DE QUADROS
<b>Quadro 1 -</b> Cronograma dos períodos de amostragem adotados para a realização das análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais dos sorvetes, local de realização de cada análise e número de repetições realizadas
<b>Quadro 2 -</b> Os processos de elaboração de creme de leite de cabra e leite de cabra em pó desenvolvidos no presente trabalho, puderam ser aplicados aos seguintes estudos desenvolvidos em parceria com a Embrapa Caprinos e Ovinos, sob a supervisão da Dra. Karina Maria Olbrich dos Santos

# **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Variáveis envolvidas na elaboração dos sorvetes    31
Tabela 2 - Proporção dos ingredientes utilizados na elaboração dos sorvetes 34
Tabela 3 - Composição centesimal e sólidos totais (média ± desvio padrão) obtidos para os sorvetes       43
<b>Tabela 4 -</b> Valores de pH obtidos (média ± desvio padrão) nos dias 1, 28, 56 e 84 de armazenamento a -18±3°C
<b>Tabela 5 -</b> Resultados obtidos para <i>overrun</i> , fração de derretimento e firmeza dos sorvetes após 14 dias de armazenamento a -18±3°C
<b>Tabela 6 –</b> Populações de micro-organismos probióticos obtidas (média ± desvio padrão) nos sorvetes durante 84 dias de armazenamento a -18±3°C
<b>Tabela 7 –</b> Resultados do teste de aceitação sensorial realizados nos sorvetes durante 84 dias de armazenamento a -18±3°C
<b>Tabela 8 -</b> Distribuição das citações relacionadas aos atributos sabor, textura, aparência e aroma para os sorvetes durante o teste de aceitação realizado aos 7, 42 e 84 dias de armazenamento a -18±3°C
<b>Tabela 9 –</b> Resultados do teste de aceitação sensorial realizados em Sobral (CE) e São Paulo (SP). Sorvetes com 7 dias de armazenamento a -18±3 °C
<b>Tabela 10 -</b> Distribuição das citações relacionadas aos atributos sabor, textura, aparência e aroma para os sorvetes durante o teste de aceitação realizado no Ceará e em São Paulo, aos 7 dias de armazenamento a -18±3 °C 60

# 1. INTRODUÇÃO

# 1.1 Alimentos funcionais: probióticos, prebióticos, simbióticos e suas definições

Cada vez mais, a alimentação tem se caracterizado como um dos elos mais importantes para a manutenção da saúde. O aumento da expectativa de vida da população mundial associado ao padrão de consumo e ao aumento de doenças como diabetes, hipertensão, obesidade e problemas cardiovasculares, está gerando no mercado um aumento da busca por alimentos que tenham relação com a saúde (WILDMAN; KELLEY, 2007). A indústria, a comunidade científica e os setores de Pesquisa e Desenvolvimento nas universidades vêm intensificando esforços no desenvolvimento de produtos que, além dos nutrientes convencionais, possam promover benefícios à saúde - os chamados alimentos funcionais.

São considerados alimentos funcionais aqueles que, além de fornecerem a nutrição básica, promovem a saúde através de mecanismos não previstos pela nutrição convencional, restringindo-se à promoção da saúde e não à cura de doenças (KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008).

Alguns alimentos, associados à cultura e ao hábito alimentar de populações e/ou faixas etárias específicas, tornam-se excelentes veículos de ingredientes e outros componentes neste novo conceito alimentar. Dentre estes, destacam-se os probióticos, termo utilizado para alimentos que carreiam, de forma viável, microorganismos benéficos moduladores da microbiota intestinal.

Sabendo-se que a saúde de um indivíduo está intimamente relacionada a um trato gastrintestinal saudável e à sua fisiologia normal, essas condições precisam ser favorecidas por uma alimentação adequada e pela atuação da microbiota benéfica intestinal. Desbalanceamentos causados por tratamentos com antibióticos, quimioterapia, radioterapia, situações de estresse e enfermidades gastrintestinais ocasionam desequilíbrios nessa microbiota, sendo necessário seu fortalecimento ou reposição (MAHAN; SCOTT-STUMP, 2005)

Os probióticos são definidos como micro-organismos vivos que, quando administrados em níveis adequados, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS, WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002). Esses benefícios estão associados a três

possíveis mecanismos. O primeiro deles é a supressão do número de células viáveis de potenciais patógenos através da produção de compostos com atividade antimicrobiana, a competição por nutrientes e sítios de adesão. O segundo, a alteração do metabolismo destes patógenos intestinais, através do aumento ou da diminuição da atividade enzimática. O terceiro é o estímulo da imunidade do hospedeiro, através do aumento dos níveis de anticorpos e do aumento da atividade dos macrófagos (SAAD, 2006).

Uma seleção adequada de cepas deve ser conduzida para o processamento de produtos alimentícios probióticos. Essa seleção visa garantir a sobrevivência desses micro-organismos à passagem pelo trato gastrintestinal, após a manutenção de sua viabilidade no próprio produto-alvo, durante a sua elaboração e o seu armazenamento, bem como conferir propriedades tecnológicas adequadas a esse produto (KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008). A legislação brasileira preconiza que um produto com alegações probióticas deve conter na recomendação diária do produto pronto para o consumo, entre 10<sup>8</sup> a 10<sup>9</sup> unidades formadoras de colônia (UFC) (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2008).

Os alimentos probióticos ainda podem ser adicionados de prebióticos, ingredientes que afetam o hospedeiro através da estimulação seletiva do crescimento das bactérias benéficas já estabelecidas no cólon (LARA-VILLOSLADA et al., 2006; ROBERFROID, 2008). Alguns efeitos atribuídos aos prebióticos são a modulação de funções fisiológicas importantes, como a absorção de cálcio, diminuindo o risco de osteoporose, metabolismo lipídico, modulação da composição da microbiota intestinal e a redução do risco do câncer de cólon (DENIPOTE; TRINDADE; BURINI, 2010).

Pertencente ao grupo dos carboidratos na categoria dos frutanos, a inulina é um dos prebióticos mais utilizados, tendo, ainda, propriedades que o consolidam como substituto de gordura em alimentos (SAAD, 2006). Essas propriedades estão baseadas em sua capacidade de estabilizar a estrutura da fase aquosa, desenvolvendo e melhorando a cremosidade do produto, sem alterar seu sabor (ELNAGAR et al., 2002). Quimicamente, a inulina é um polissacarídeo formado por uma cadeia de moléculas de frutose com uma molécula de glicose terminal. O número de moléculas de frutose varia em função de uma série de fatores, de modo que o grau de polimerização da inulina pode variar de 2 até 60. As principais fontes de inulina empregadas na indústria alimentícia são a chicória (*Chicorium intybus*) e a

alcachofra de Jerusalém (*Helianthus tuberosus*) (MIREMADI; SHAH, 2012). De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2008), a adição de inulina em alimentos permite que estes recebam a denominação de "Alimentos com alegações de propriedade funcional e ou de saúde", desde que a porção diária do produto pronto para consumo forneça, no mínimo, 3 g de inulina se o alimento for sólido ou 1,5 g se o alimento for líquido.

Por definição, simbióticos são a mistura de probióticos e prebióticos, desde que a eficácia de cada componente seja garantida na formulação simbiótica. Essa eficácia pode ser verificada de forma complementar, quando o probiótico é escolhido com base nos efeitos desejáveis ao hospedeiro e o prebiótico, por sua vez, atua independentemente estimulando de maneira seletiva os componentes benéficos da microbiota intestinal. Por outro lado, a eficácia de forma sinérgica é observada quando o prebiótico é selecionado pela afinidade com o probiótico que o acompanha no produto, favorecendo seletivamente seu crescimento e atividade (KOLIDA; GIBSON, 2011).

#### 1.1.1 Bactérias do Grupo Lactobacillus casei e suas aplicações

As espécies Lactobacillus casei, Lactobacillus paracasei, Lactobacillus rhamnosus e Lactobacillus zeae compõem o grupo taxonômico "Lactobacillus casei". Este grupo é composto por bactérias láticas fenotipicamente e geneticamente heterogêneas, as quais são lactobacilos homofermentativos tipicamente do hospedeiro humano. Essas espécies apresentam elevada similaridade quanto ao comportamento fisiológico, às necessidades nutricionais e multiplicam-se em condições ambientais semelhantes (DESAI; SHAH; POWELL, 2006; BURITI; SAAD, 2007).

Bactérias do grupo *Lactobacillus casei* possuem importante valor comercial para a indústria alimentícia devido ao seu emprego na produção de leites fermentados e como culturas iniciadoras de fermentação na fabricação de queijos para a melhoria de sua qualidade. Ultimamente, cepas desse grupo têm sido amplamente estudadas com relação a suas propriedades promotoras à saúde,

sendo frequentemente empregadas como probióticos em alimentos industrializados (BURITI; SAAD, 2007).

Embora as matrizes lácteas sejam as mais empregadas no desenvolvimento de alimentos probióticos, é crescente o interesse de inserí-los em outros alimentos sob condições tecnológicas diversas, a fim de oferecer ao mercado consumidor, uma maior variedade de produtos com essas características.

A inserção de cepas do grupo *Lactobacillus casei* em chocolates com substituição parcial do teor de açúcar foi observada por Nebesny et al. (2007). Neste trabalho, os autores utilizaram preparados liofilizados de *Lactobacillus casei* ŁOCK 0900, *Lactobacillus casei* ŁOCK 0908 e *Lactobacillus paracasei/casei* ŁOCK 0919 nos chocolates estocados a 4°C, 18°C e 30°C durante 12 meses. Embora a viabilidade dos probióticos tenha sido maior sob refrigeração, os autores observaram que os chocolates suplementados com *L. casei* e *L. paracasei* podem ser estocados à temperatura ambiente, exibindo contagens dos micro-organismos superiores a 6 log UFC/g, sem prejuízos às características sensoriais do produto durante o longo período de estocagem.

Betoret et al. (2003) utilizaram o processo de impregnação a vácuo na incorporação de *Saccharomyces cerevisiae* CECT 1347 e *L. casei* spp. *rhamnosus* CECT 245 na matriz estrutural de maçãs frescas. O processo seguido de secagem por jato de ar visou a obtenção de maçãs desidratadas enriquecidas com probióticos, as quais apresentaram populações microbianas entre 6 – 7 log UFC/g ao final do processamento, atendendo portanto, às expectativas para ser considerado alimento probiótico.

Na indústria cárnea, o uso de probióticos mostra-se mais promissor em produtos crus fermentados, visto que são fabricados com carne crua e consumidos sem aquecimento prévio, o que causaria brusca redução dos micro-organismos. Com esse objetivo, Macedo et al. (2008) verificaram a influência de *L. casei* LC 01, *L. paracasei* ssp. *paracasei* (ATCC 10746/ CCT 0566) e *L. casei* ssp. *rhamnosus* (ATCC 7469/CCT 6645) sobre as características fisico-químicas e sensoriais de embutido fermentado tipo salame. Neste trabalho, a adição de *L. rhamnosus* ao embutido ocasinou intensa acidez, o que reduziu a aceitabilidade sensorial comparado ao controle, sem probióticos. No entanto, em todos os embutidos os probióticos adicionados apresentaram viabilidade acima de 6 log UFC/g durante o processo de maturação por 25 dias a 25°C.

Sobremesas geladas são amplamente consumidas e estudos vem sendo conduzidos com o objetivo de torná-las possíveis veículos de micro-organismos probióticos. Como exemplo, Heenan et al. (2004) produziram sobremesa congelada a base de soja, e testaram a inserção de micro-organismos probióticos, dentre eles *L. rhamnosus* 100-C e *L. paracasei* ssp. *paracasei* 01, os quais mantiveram-se viáveis durante 28 semanas de armazenamento a -20°C.

Do ponto de vista tecnológico, a cepa potencialmente probiótica *Lactobacillus paracasei* LBC82 apresenta-se promissora quanto à sua utilização em matrizes lácteas. No estudo desenvolvido por Buriti et al. (2007), inulina e *L. paracasei* LBC82 em co-cultura com *Spreptococcus termophilus* TA 040 foram utilizados na fabricação de queijo fresco cremoso. Nesse estudo os autores observaram que a viabilidade do *L. paracasei* LBC82 permaneceu acima de 7 log UFC/g durante os 21 dias de armazenamento refrigerado. Na produção de queijo Minas Frescal, Buriti et al. (2005) observaram o aumento de aproximadamente 2 log UFC/g na população de *L. paracasei* LBC 82 durante estocagem refrigerada de 5°C por 21 dias. Por sua vez, Aragon-Alegro et al. (2007) desenvolveram musse de chocolate adicionado de *L. paracasei* LBC82 e inulina, apresentando viabilidade acima de 7 log UFC/g durante 28 dias de armazenamento, sem interferir nas características sensoriais do produto.

O efeito benéfico de um probiótico depende da cepa que está sendo utilizada. Ensaios clínicos e em modelo animal vêm demonstrando que a cepa *Lactobacillus rhamnosus* HN001 possui características capazes de modular o sistema imunológico. Essa otimização através de uma suplementação dietética pode ser de grande importância para grupos de indivíduos que necessitem de reforço imunológico, como crianças, idosos e indivíduos imunodeprimidos. Com essa finalidade, Sheih et al. (2001) testaram *L. rhamnosus* HN001 em 52 voluntários adultos e idosos, com idade média de 63,5 anos. Os voluntários consumiram 25g de leite reconstituído (9 log UFG/g de *L. rhamnosus* HN001), duas vezes ao dia, durante 3 semanas em um estudo que durou 9 semanas. Os autores observaram o estímulo da atividade imunológica através do aumento dos níveis de células *natural killer* e de leucócitos polimorfonucleares do sangue periférico em idosos e adultos de meia idade, durante a administração oral de *L. rhamnosus* HN001 em leite com baixo teor de gordura ou com lactose hidrolisada. Por sua vez, Thomas et al. (2011)

observaram a atenuação de alergia pulmonar em suínos alimentados diariamente com 10 log UFC de *L. rhamnosus* HN001 durante 7 semanas.

### 1.2 Gelados comestíveis como carreadores de bactérias probióticas

Alguns alimentos, associados à cultura e ao hábito alimentar de populações e/ou faixas etárias específicas, tornam-se excelentes veículos de ingredientes e outros componentes neste novo conceito alimentar. Neste cenário, o sorvete surge como um importante exemplo de veículo alimentar para culturas probióticas, uma vez que é apreciado por crianças, jovens, adultos e idosos.

Dados da Associação Brasileira das Indústrias de Sorvete (ABIS) informaram que, em 2011, os brasileiros consumiram 1,167 bilhões de litros de sorvete, o que representa um aumento de 4% em relação a 2010. Esses dados ainda colocam o Brasil no 12º lugar do *ranking* mundial, o que se deve ao fato do brasileiro ainda associar o sorvete à guloseima ou alimento de consumo sazonal (ASSOCIAÇÃO DAS INDÚSTRIAS DE SORVETE, 2012). No entanto, os fabricantes de sorvete têm investido no desenvolvimento de produtos mais atrativos, com alto valor agregado a fim de modificar a atual característica de consumo (CARVALHO, 2006; DADOS [...], 2009).

O consumo moderado de sorvete pode representar um hábito saudável, desde que não exista uma restrição dietética específica para açúcares e gorduras (como no caso de diabetes, dislipidemias e obesidade, por exemplo). Nesse caso, a adição de culturas probióticas e/ou prebióticos seria uma estratégia interessante para conferir funcionalidade fisiológica ao produto (CRUZ et al., 2011).

O sorvete, ou gelado comestível, é um produto muito estável devido às baixas temperaturas empregadas em seu processamento e armazenamento, características que o tornam um bom carreador de micro-organismos probióticos. Além disso, pode apresentar alto valor nutricional ao possuir, em sua composição, proteínas do leite, gordura, carboidratos e outros ingredientes, como frutas, por exemplo. Adicionalmente, o sorvete não apresenta o inconveniente da pósacidificação e de uma menor vida de prateleira, além de possuir sabor considerado

mais agradável, quando comparado a leites fermentados, ampliando, assim, a faixa de aceitação dos consumidores (CRUZ et al. 2009).

A adição de polpas ou sucos de fruta em sorvetes é muito comum, tornandoos ainda mais nutritivos e saborosos. No entanto, geralmente as frutas reduzem o pH do produto, o que pode ocasionar perda de viabilidade dos probióticos. Neste caso, é necessário recorrer ao monitoramento do pH (o qual deve manter-se relativamente elevado, entre 5,5 e 6,5), a técnicas de microencapsulação, ou selecionar adequadamente a cepa a ser utilizada, já que *Lactobacillus* sobrevivem melhor em meios mais ácidos que as bifidobactérias (FAVARO-TRINDADE et al. 2007; CRUZ et al. 2009).

Pesquisas foram realizadas com o objetivo de avaliar a sobrevivência de bactérias probióticas em gelados comestíveis. Hekmat e Mc Mahon (1992) produziram sorvetes de morango com Lactobacillus acidophilus e Bifidobacterium bifidum, cujas populações mantiveram-se acima de 6 log UFC/g durante 17 semanas de armazenamento. Andrighetto e Gomes (2003) utilizaram leite fermetado com Lactobacillus acidophilus 145 para a produção de picolés, os quais permaneceram durante 60 dias a -25°C sem alterações em suas características sensoriais e microbiológicas. Favaro-Trindade et al. (2006) produziram sorvete de acerola com Bifidobacterium lactis e Bifidobacterium longum, com pH variando entre 4,5 - 5,0, que apresentou manutenção do potencial probiótico por 15 semanas a -18°C. O sorvete como veículo de probióticos também foi estudado por Başyiğit et al. (2006). Os autores testaram uma mistura de cepas de Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus agilis e Lactobacillus rhamnosus de origem humana e verificaram que a viabilidade dos probióticos não foi alterada durante o armazenamento de sorvete por até 6 meses, independentemente da presença de açúcar ou aspartame como edulcorantes. Schaller-Povolny e Smith (1999) e Akalin e Erişir (2008) concluíram que a adição de inulina pode auxiliar na sobrevivência e estabilidade de microorganismos probióticos adicionados em sorvetes, contribuindo para desenvolvimento de sobremesas lácteas congeladas potencialmente simbióticas.

#### 1.3 O leite de cabra e suas peculiaridades

Em comparação ao leite bovino, o leite de cabra é um alimento que detém propriedades físico-químicas e sensoriais peculiares, dentre elas: maior digestibilidade, maior capacidade tamponante, menor teor de colesterol e elevado teor de cálcio, quando comparado ao leite de vaca, favorecendo sua melhor absorção (MARTÍN-DIANA et al., 2003; HAENLEIN, 2004; PARK, 2009).

Adicionalmente, na gordura do leite de cabra, os ácidos capróico, caprílico e cáprico são encontrados em concentrações duas vezes superiores às do leite de vaca, sendo estes indicados para pacientes em tratamento da síndrome de má absorção de nutrientes e distúrbios intestinais (ALFÉREZ et al., 2001). O leite de cabra também é considerado hipoalergênico, sendo muito incorporado à dieta infantil, especialmente voltado às crianças alérgicas às proteínas do leite de vaca. Essa característica peculiar do leite caprino deve-se ao fato das suas proteínas serem, em sua maioria, compostas por β-caseína, α-s2-caseína e, em menor quantidade, de α-s1-caseína, fração esta muito associada a alergias infantis (PARK, 2009).

O leite de cabra vem sendo estudado como uma boa fonte de oligossacarídeos (25-30 mg/ 100 mL) quando comparado ao leite bovino (2-3 mg/ 100 mL) (MARTÍNEZ-FÉREZ et al., 2005). Um estudo conduzido por Lara-Villoslada et al. (2006) administrou oligossacarídeos isolados de leite de cabra em ratos com colite ulcerativa induzida. Os resultados desse estudo sugerem que oligossacarídeos isolados do leite de cabra podem reduzir a inflamação e contribuir com a recuperação da mucosa danificada em doenças inflamatórias intestinais.

O efeito hipocolesterolêmico do leite de cabra foi avaliado em um modelo animal conduzido por López-Aliaga et al. (2005). Neste estudo, ratos alimentados com leite de cabra apresentaram redução dos níveis plasmáticos de colesterol e triglicerídeos, obtendo valores comparáveis à dieta padrão com óleo de oliva.

Uma maneira interessante de agregar valor ao leite de cabra é utilizá-lo também como matéria-prima na elaboração de alimentos funcionais. Um estudo conduzido por Bozanic et al. (2004) verificou menor pH e alta viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* La-5 em leite caprino fermentado, quando comparado ao leite bovino. Por sua vez, Martín-Diana et al. (2003) desenvolveram leite de cabra

fermentado com uma cultura comercial de *Streptococcus thermophilus* ST-20Y, *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e *Bifidobacterium* BB-12. Paula (2009) utilizou leite de cabra, mel de abelhas e *Lactobacillus acidophilus* NCFM no desenvolvimento de um sorvete, o qual manteve potencial probiótico durante 90 dias de armazenamento a -18°C. Alves et al. (2009) produziram *frozen yogurt* de leite de cabra adicionado de probióticos e prebióticos. Em relação aos potenciais efeitos sobre a saúde, Pavlović et al. (2006) verificaram inibição *in vitro* das bactérias causadoras de infecções *Serratia marcescens* e *Campylobacter jejuni*, através da fermentação de leite de cabra com *Bifidobacterium longum* Bb-46.

### 1.4 Cajá : caracterização e aplicação em alimentos funcionais

O Nordeste brasileiro, além de favorecer a criação de caprinos, apresenta um excelente potencial para a exploração de frutas regionais. O cajá (*Spondias mombim*) é um pequeno fruto de cor amarelada e casca lisa, típico da Região Nordeste. Esse fruto apresenta uma participação crescente no mercado, especialmente pela comercialização para consumo como fruta fresca e processamento de polpa, que apresenta grande aceitação pelo seu sabor exótico, excelente qualidade e valor comercial como matéria-prima no preparo de sucos, picolés, sorvetes, néctares e geléias (BRASIL, 2002).

Apesar da polpa de cajá possuir grande demanda em algumas regiões do país, a sua industrialização é totalmente dependente das variações das safras. Essas variações são decorrentes da forma de exploração extrativista do cajá e da grande perda de frutos, devido a problemas de colheita e de transporte. Desse modo, a atual produção industrializada não é suficiente para atender sequer o mercado interno consumidor do Norte e Nordeste. Nas diversas regiões produtoras, os frutos são comercializados em feiras livres e beiras de estradas, juntamente com outras frutas regionais. Entretanto, a maior parte da produção é vendida para as agroindústrias regionais. (FEITOSA, 2007).

Ainda não devidamente caracterizado, particularmente no que se refere ao seu potencial para industrialização, o cajá demanda pesquisas. É um fruto conhecido pelo alto teor de taninos e carotenóides, além de possuir capacidade

antifúngica e antiviral (VIDIGAL et al., 2011). Um estudo realizado por Tiburski et al. (2011) demostrou que o cajá contém o dobro de compostos fenólicos totais comparado ao açaí. Adicionalmente, 100g de polpa de cajá podem exceder em mais de 37% da recomendação diária de vitamina A.

Frutas regionais, dentre elas o cajá, foram utilizadas por Laguna e Egito (2006) ao elaborarem iogurte de leite de cabra. Por sua vez, Favaro-Trindade et al. (2007) utilizaram polpa de cajá na produção de *frozen* iogurte em diversos tratamentos com *Lactobacillus acidophilus* 74-2, *L. acidophilus* LAC 4 e culturas *starter*, obtendo viabilidade probiótica adequada durante 105 dias a -18°C.

### 1.5 A importância do presente estudo

O leite caprino apresenta notável impacto econômico para as regiões produtoras, providenciando diariamente proteínas essenciais e minerais para pessoas em países em desenvolvimento, onde a produção de leite bovino, por vezes, não é viável (PARK, 2009).

No cenário de desenvolvimento econômico no Brasil, a caprinocultura apresenta-se como atividade promissora, estando os maiores rebanhos localizados principalmente em zonas semi-áridas. Nessas áreas, a caprinocultura leiteira de base familiar vem se desenvolvendo muito bem, porém alguns pontos, tais como a qualidade e quantidade do leite produzido ainda precisam ser otimizadas (CORREIA; MOREIRA, ARAÚJO, 2001).

Abrigando 92% do rebanho nacional, a caprinocultura no Nordeste constituise uma importante atividade econômica, tendo em vista sua elevada capacidade de adaptação às condições do semiárido e diversidade de produtos que podem ser explorados comercialmente (reprodutores, carnes, pele, leite e derivados), estabelecendo-se ainda como considerável fator de geração de renda e fonte de proteína na dieta alimentar, principalmente da população rural (NOGUEIRA FILHO et al., 2010).

Considerando a adaptabilidade e rusticidade dos caprinos, é crescente a atenção das instituições de pesquisa, especialmente no tocante aos aspectos técnicos de produção em regiões semiáridas, tendo, na Empresa Brasileira de

Pesquisa Agropecuária (Embrapa), no Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos em Sobral, Ceará, um dos principais centros de geração e difusão de conhecimento e tecnologias para o setor.

Atualmente a Embrapa Caprinos e Ovinos coordena o projeto "Estratégias para o desenvolvimento rural sustentável e solidário utilizando a caprinocultura leiteira em comunidades rurais - SUSTENTARE". Este projeto tem como objetivo promover o desenvolvimento rural sustentável e solidário em comunidades rurais do Território de Sobral por meio de metodologias com enfoque participativo utilizando como estratégia a caprinocultura leiteira.

Um dos principais focos desse projeto é a parceria com o "Projeto Cabra Nossa de Cada Dia", concebido em 1993, com o objetivo de combater a fome e a miséria das comunidades rurais locais. Através da doação de uma cabra prenhe para o fornecimento de leite, o projeto Cabra Nossa atuou na redução da mortalidade infantil, da desnutrição e melhorou a renda e a qualidade de vida das famílias assistidas (TEXEIRA, 2009). No momento, o Cabra Nossa atende 226 famílias em 18 comunidades, tendo atingido seu principal objetivo: garantir alimentação a famílias em condições de insegurança alimentar. Entretanto, apesar dos resultados satisfatórios em relação à segurança alimentar, o combate à pobreza e à miséria não deve se restringir apenas em garantir a segurança alimentar. O SUSTENTARE tem por objetivo alicerçar a inclusão sócio produtiva por meio de geração, adaptação e disponibilização de conhecimentos, visando o fortalecimento da autonomia dos agricultores familiares contribuindo para a segurança alimentar e melhor interação com a sociedade por meio da construção social de mercados.

Incentivar a produção de derivados lácteos caprinos com alto valor agregado pode ser um coadjuvante na criação de nichos de mercados que sejam capazes de atender essa demanda. Nos últimos anos, produtos como queijo com ervas aromáticas (EGITO et al., 2007a), ricota (EGITO et al., 2007b), iogurtes (LAGUNA; EGITO, 2006), queijos probióticos (SANTOS et al., 2010) e sorvetes (CORREIA et al., 2008; PAULA, 2009), vem sendo desenvolvidos.

No caso específico da região Nordeste, o consumo de sorvetes pode ser favorecido em virtude das elevadas médias de temperatura, além de possuir uma vegetação rica em frutos nativos que podem ser utilizados como matéria-prima exótica e saborosa. Essas características devem ser aproveitadas, no sentido de se deselvolver sorvetes com frutos nativos como veículos de culturas probióticas. Uma

pesquisa realizada por Martins et al. (2009) demonstrou que o leite de cabra e seus derivados têm potencial significativo de mercado na cidade de Sobral. A pesquisa ainda revelou que os potenciais consumidores têm conhecimento das peculiaridades do leite caprino, mas que desejam uma maior divulgação, o aumento da oferta e a redução do preço pago por esses produtos.

#### 2. OBJETIVOS

#### Geral

Desenvolver formulações de sorvete potencialmente probiótico de leite de cabra com polpa de cajá.

#### Específicos

- Verificar a viabilidade de cepas do grupo Lactobacillus casei nessas formulações ao longo de seu armazenamento a -18 °C por até 84 dias;
- Avaliar a aceitação sensorial e caracterizar as formulações quanto ao comportamento de determinados parâmetros físicos e químicos, ao longo do seu armazenamento a -18 °C por até 84 dias;
- Avaliar a sobrevivência das cepas incorporadas aos produtos, quando submetidos a testes de condições gastrintestinais simuladas in vitro;
- Observar se as características do produto suplementado com esses microorganismos foram preservadas ao longo de seu armazenamento a -18°C por até 84 dias;
- Comparar a aceitabilidade sensorial do produto diante de consumidores de 2 regiões brasileiras distintas.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Desenvolvimento das formulações de sorvete

Tendo em vista a disponibilidade de leite de cabra, as produções foram realizadas na Unidade de Processamento de Produtos Lácteos do Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Caprinos e Ovinos), em Sobral, Ceará. As variáveis envolvidas na fabricação dos sorvetes estão descritas na Tabela 1.

**Tabela 1-** Variáveis envolvidas na elaboração dos sorvetes.

Sorvetes		Probióticos	Probióticos Gordura láctea	
SC	SCr	L. rhamnosus	+	-
30	SCp	L. paracasei	+	-
SI	SIr	L. rhamnosus	-	+
31	SIp	L. paracasei	-	+

SC - sorvete com gordura láctea caprina (5%)

SI - sorvete com inulina (5%)

SIr - inulina + *L. rhamnosus* HN001

SIp - inulina + L. paracasei LBC82

A diferença entre os sorvetes desenvolvidos limitou-se inicialmente à adição de gordura láctea caprina (sorvete SC) e à substituição da gordura por inulina (sorvete SI). Nesse último caso, a inulina teve, simultaneamente, o papel de ingrediente prebiótico e de substituto de gordura. Os sorvetes receberam as seguintes denominações, de acordo com a adição de creme de leite de cabra ou inulina GR Beneo (Orafti, Oreye, Bélgica) e dos micro-organismos probióticos *Lactobacillus rhamnosus* HN001 ou *Lactobacillus paracasei* LBC82 (Danisco, Dangé, França): SCr (gordura láctea caprina + *Lactobacillus rhamnosus* HN001), SCp (gordura láctea caprina + *Lactobacillus paracasei* LBC82), SIr (inulina + *Lactobacillus rhamnosus* HN001) e SIp (inulina + *Lactobacillus paracasei* LBC82).

SCr - gordura láctea caprina+ *L. rhamnosus* HN001 SCp - gordura láctea caprina + *L. paracasei* LBC82

<sup>+</sup> Presença

<sup>-</sup> Ausência

3.1.1 Ensaios preliminares para a definição das formulações e das etapas do processo de produção dos sorvetes

Testes preliminares foram conduzidos, com o objetivo de avaliar o desempenho dos ingredientes e ajustar suas proporções, definir as etapas do processo de elaboração dos sorvetes e observar as suas características sensoriais.

Foram conduzidos 10 ensaios (Anexo I), durante os quais foram obtidas amostras, de acordo com a apresentação final dos sorvetes. Ao final dessa etapa, além das formulações definitivas, foram definidos o fluxograma das etapas de processo e a quantidade de cada micro-organismo probiótico a ser adicionada.

### 3.1.2 Obtenção de ingredientes lácteos caprinos

O leite utilizado no experimento foi proveniente de um rebanho misto de cabras da raça Saanei e Anglo-Nubiana. Para a elaboração do creme de leite de cabra, utilizou-se leite de cabra *in natura* (3,2-4,8% de gordura e acidez 14-16°D), recém-ordenhado. O leite, inicialmente aquecido a 37°C, foi submetido a processo de desnate parcial em desnatadeira centrífuga aberta com capacidade para 120 L de leite por hora. Após o desnate, o creme (62-64% de gordura) foi padronizado com a adição de leite desnatado até que atingisse 50% de gordura. Em seguida, o creme padronizado foi pasteurizado e armazenado sob refrigeração (5°C) até a sua utilização. O trabalho resultante desse procedimento encontra-se descrito por Paula (2011), em um Comuncado Técnico da Embrapa Caprinos e Ovinos (Anexo II).

O leite de cabra em pó foi obtido através de leite de cabra (máximo de 0,5% de gordura), seguido de desidratação em Mini Spray Dryer B-290 (Büchi, Flawil 1, Suíça). No Anexo III, encontram-se os dados obtidos durante a definição dos parâmetros para a desidratação do leite de cabra. Considerando melhor rendimento (72 g/L) e umidade (2,39%) do leite de cabra em pó, os parâmetros definidos foram: temperatura de entrada – 160°C; fluxo de ar – 45 m³/h; vazão de alimentação – 10 mL/min. O rendimento desse processo foi de 72 g de leite em pó para cada litro de leite com 0,5% de gordura. Após a desidratação, o leite em pó foi coletado e

armazenado ao abrigo de luz e umidade, em embalagens plásticas próprias para a embalagem a vácuo de queijos, até a sua utilização na fabricação dos sorvetes.

3.1.3 Definição da quantidade e condições de incorporação dos probióticos e prebióticos ao produto.

A Legislação Brasileira estipula as diretrizes para que um alimento seja considerado probiótico e/ou prebiótico a partir, respectivamente, da população mínima viável dos micro-organismos e da quantidade de ingrediente prebiótico que devem estar presentes na porção do produto alimentício. A quantidade mínima viável para os probióticos, na porção diária do alimento, deve estar situada na faixa de 10<sup>8</sup> a 10<sup>9</sup> unidades formadoras de colônias – UFC - enquanto que a porção diária de um alimento sólido pronto para consumo deve fornecer, no mínimo, 3 g de inulina (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2008). Considerando que a porção estabelecida para sorvetes de massa (1 bola) ou sorvetes individuais é de 60 g ou 130 ml, os cálculos para a adição dos probióticos seguiram essa recomendação (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003), sendo adicionados na proporção de 0,06% (m/m) à porção do produto.

Os micro-organismos probióticos utilizados foram culturas comerciais liofilizadas para inoculação direta (DVS – *direct vat set*) de *Lactobacillus rhamnosus* HN001 e *Lactobacillus paracasei* LBC82 (Danisco, Dangé, França), as quais estavam acondicionadas em embalagens com 40 e 10 DCU (1 DCU equivale a 100 bilhões de células, ou seja, 11 log UFC), respectivamente. A pré-ativação dos micro-organismos foi efetuada em leite de cabra desnatado, seguido de tratamento térmico a 90°C durante 3,5 min. Posteriormente, o leite foi resfriado a 37°C e adicionado dos micro-organismos, seguindo-se com incubação a 37°C durante 150 minutos (2,5 h) em estufa tipo BOD TE-391 Tecnal (Piracicaba, Brasil).

#### 3.2 Fabricação dos sorvetes

Foram produzidos 2 lotes (repetições verdadeiras) de 7 kg para cada sorvete. As proporções dos ingredientes utilizados estão descritas na Tabela 2. A Figura 1 apresenta as principais etapas envolvidas na produção dos sorvetes.

Tabela 2 – Proporção (m/m) dos ingredientes utilizados na elaboração dos sorvetes.

Ingradiantes (0/)		Sorv	etes/	
Ingredientes (%)	SCr	SCp	SIr	Slp
Fixos				
Polpa de cajá <sup>1</sup>	33,26	33,26	33,26	33,26
Sacarose <sup>2</sup>	12,00	12,00	12,00	12,00
Leite de cabra em pó*	6,65	6,65	6,65	6,65
Glicose em pó <sup>3</sup>	4,65	4,65	4,65	4,65
Emulsificante <sup>4</sup>	0,66	0,66	0,66	0,66
Ácido cítrico <sup>5**</sup>	0,29	0,29	0,29	0,29
Estabilizante <sup>6</sup>	0,19	0,19	0,19	0,19
Variáveis				
Leite de cabra (0,5% de gordura)	32,24	32,24	37,24	37,24
Creme de leite de cabra (50% de gordura)	10,00	10,00	-	-
Inulina <sup>7</sup>	-	-	5,00	5,00
L. rhamnosus <sup>8</sup>	0,06	-	0,06	-
L. paracaser <sup>9</sup>	-	0,06	-	0,06
Total	100,00	100,00	100,00	100,00

SCr - gordura láctea caprina + *L. rhamnosus* HN001 SCp - gordura láctea caprina + *L. paracasei* LBC82

Inicialmente, os ingredientes (com exceção da polpa e do ácido cítrico) foram pesados transferidos para a produtora contínua PP12 Plus Finamac (Santo André, Brasil) e pasteurizados a 70°C durante 10 minutos. A calda-base foi retirada da produtora e resfriada a 37°C em banho de gelo, para a adição dos microorganismos probióticos previamente ativados. Após a mistura, procedeu-se a maturação da calda em freezer horizontal Consul CHB53C (Joinville, Brasil) à temperatura de 4°C por 4 horas. A calda maturada foi novamente conduzida ao compartimento misturador da produtora PP12, aonde foi misturada, juntamente com a polpa de cajá e a solução de ácido cítrico, durante 5 minutos. Seguidamente,

SIr - inulina + L. rhamnosus HN001

SIp - inulina + *L. paracasei* LBC82

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Frute (Fortaleza, Brasil); <sup>2</sup> Açúcar Estrela (Maracanaú, Brasil); <sup>3</sup> Marvi (Ourinhos, Brasil); <sup>4</sup> Selecta Duas Rodas (Jaguará do Sul, Brasil); <sup>5</sup> Kerry (Campinas Brasil); <sup>6</sup> Liga Neutra G3 Kerry (Campinas, Brasil); <sup>7</sup> Orafti-GR Beneo (Oreye, Bélgica); <sup>8</sup> Danisco (Redhill, Reino Unido); <sup>9</sup> Danisco (Dangé, França).

<sup>\*</sup> Produzidos na Embrapa Caprinos e Ovinos, conforme descrito no item 3.1.2.

<sup>\*\*</sup> Volume de ácido cítrico diluído em água na proporção de 1:1.

procedeu-se com a aeração e congelamento parcial da calda, até que se atingisse a temperatura de -6°C. O tempo desse processo foi de 7 minutos. Os sorvetes foram embalados em potes de polietileno e imediatamente armazenados em freezer horizontal Consul CHB53C (Joinville, Brasil) à temperatura de -20±3°C, onde permaneceram durante 24 h, para a finalização do congelamento. Após essa etapa, os sorvetes foram transferidos para um freezer vertical Metalfrio VF50R (São Paulo, Brasil) e armazenados a -18±3°C durante 84 dias.

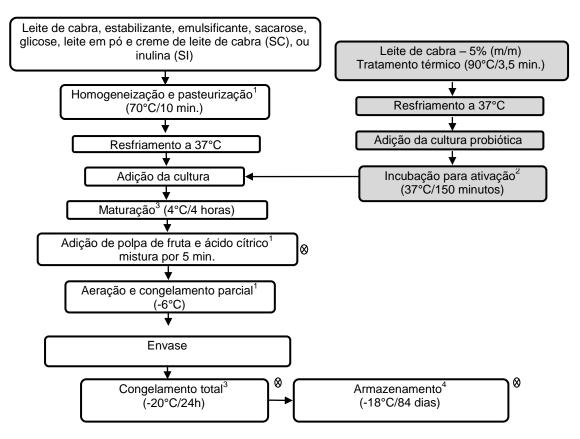


Figura 1 - Fluxograma do processamento das formulações de sorvete SC (sorvete com gordura láctea caprina) e SI (sorvete com inulina).

Produtora PP12 Plus Finamac (Santo André, Brasil)
 Câmara incubadora tipo BOD TE-391 Tecnal (Piracicaba, Brasil)

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Freezer horizontal CHB53C Consul (Joinville, Brasil)

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Freezer vertical VF50R Metalfrio (São Paulo, Brasil)

<sup>⊗</sup>Coleta de amostras para análise da viabilidade dos probióticos.

#### 3.3 Condições de armazenamento e períodos de amostragem

O período e temperatura de armazenamento foram de 84 dias a -18±3°C, respectivamente. Todas as análises foram realizadas na Embrapa Caprinos e Ovinos, com exceção de lipídeos totais, resistência *in vitro* dos probióticos (84 dias) e um teste de aceitação sensorial. No Quadro 1 estão expressos o cronograma dos períodos de amostragem, bem como o local de realização de cada análise e o número de repetições realizadas.

**Quadro 1 -** Cronograma dos períodos de amostragem adotados para a realização das análises físicoquímicas, microbiológicas e sensoriais dos sorvetes, incluindo o local de realização de cada análise e número de repetições realizadas.

	Dias	0	1	2	7	14	21	28	42	56	84
	Semanas	-	-	-	1	2	3	4	6	8	12
	Overrun <sup>1a</sup>	Х									
	Fração de derretimento <sup>1b</sup>					Х					
	Dureza instrumental <sup>1c</sup>					Х					
	Composição centesimal <sup>1,2d</sup>						Х				
ses	pH <sup>1e</sup>		Х					Х		Χ	Χ
Análises	Viabilidade dos probióticos <sup>1e</sup>	Х	Х		Х	Х	Х	Х	Х	Χ	Х
¥	Resistência in vitro dos probióticos <sup>1,2f</sup>							Х			Χ
	Aceitação sensorial (Sobral, CE) <sup>1g</sup>				Х				Χ		Χ
	Aceitação sensorial (USP, SP) <sup>2h</sup>				Х						
	Análises microbiológicas de contaminantes <sup>1i</sup>			Χ							

<sup>1.</sup> Análises realizadas na Embrapa Caprinos e Ovinos em Sobral.

#### 3.4 Avaliação dos parâmetros fisico-químicos

## 3.4.1 pH e composição centesimal

A determinação do pH das amostras foi realizada, utilizando o medidor de pH Tecnal TEC-3P-MP (Piracicaba, Brasil), com eletrodo de penetração para amostras de alimentos sólidos ou semi-sólidos Hanna HI 1131B (São Paulo, Brasil).

<sup>2.</sup> Análises realizadas na Universidade de São Paulo.

a 1 amostra/ lote; **b** 7 amostras do lote 1; **c** 6 amostras do lote 1 (10 testes realizados); **d** triplicata de 3 amostras compostas de cada lote; **e** 2 potes de cada lote, analisados em duplicata; **f** 3 potes do lote 2, com análises em duplicata; **g** 40 provadores em cada período; **h** 35 provadores em cada período; **i** 2 potes de cada lote.

As amostras destinadas à determinação da composição centesimal foram preparadas após 14 dias de armazenamento, adaptando-se as recomendações do Instituto Adolfo Lutz (2005). Aleatoriamente, três potes (100 mL) de cada formulação foram escolhidos e transferidos para sacos homogeneizadores de amostra. Os sorvetes foram mantidos à temperatura ambiente até liquefação total, na qual a amostra deveria apresentar-se completamente homogênea e sem separação de fases. Após esse procedimento, as amostras foram transferidas para o homogeneizador i-Mix 027230 (Interlab, França), onde foram homogeneizadas durante 150 segundos. Ao final, as amostras desaeradas foram distribuídas em tubos Falcon com capacidade para 50 mL e armazenadas a  $-20\pm2^{\circ}$ C até sua a utilização.

Para a determinação da composição centesimal, as análises realizadas seguiram as recomendações do Instituto Adolfo Lutz (2005).

- Umidade e sólidos totais (resíduo seco): secagem de 5 g de amostra a 70°C, em estufa a vácuo, até peso constante;
- Minerais (cinzas): incineração de 5 g de amostra a 550 °C;
- Gordura: método Bligh-Dyer adaptado;
- Proteínas: através da análise de conteúdo de nitrogênio total pelo método de micro-Kjeldahl;
- Carboidratos: diferença para se obter 100% da composição total.

# 3.4.2 Determinação de *overrun*, fração de derretimento e dureza instrumental dos sorvetes

A proporção de ar incorporado à calda durante o batimento e congelamento simultâneos é denominada *overrun*. Essa mediação é realizada durante a elaboração do sorvete com a pesagem inicial da calda e depois do produto pronto, a fim de avaliar o rendimento do sorvete. O *overrun* foi obtido a partir de uma amostra de cada lote produzido, de acordo com Muse e Hartel (2004), através do seguinte cálculo, conforme descrito por Harami (2008):

Overrun (%)= pcalda – psorvete x 100
psorvete

onde  $\rho$  = peso em 250ml

A fração de derretimento foi avaliada adaptando-se o método descrito por Muse e Hartel (2004), utilizando-se 7 amostras de 100±10 mL de cada sorvete. Para esse fim, provetas volumétricas graduadas foram acopladas a um funil de vidro e mantidas em temperatura ambiente de 26±1°C. Os sorvetes armazenados a -18±3°C foram imediatamente dispostos sobre malha metálica de 5 mm de abertura e, em seguida, acomodados sobre o funil. O início do derretimento e tempo de coleta dos primeiros 10,0 mL do produto drenado foi registrado e, a partir de então, medições do volume coletado foram realizadas a cada 3 minutos, até que se obtivesse 10 pontos de coleta registrados. Durante o teste, imagens foram registradas a cada 10 minutos com uma câmera digital e, por fim, registrou-se o tempo total que as amostras levaram para derreter completamente. O coeficiente de derretimento foi calculado, considerando-se os volumes drenados e o período de coleta, os quais foram plotados em gráficos bidimensionais, obtendo-se, assim, a fração de derretimento em mililitros por minutos (mL/min) a partir do coeficiente de inclinação da equação da reta obtida (CAVENDER; KERR, 2013).

Para a determinação da dureza instrumental, adaptou-se a metodologia utilizada por El-Nagar et al. (2002). Os sorvetes acondicionados em potes de 250 mL foram retirados do freezer a -20±3°C e mantidos em temperatura ambiente de 26±1°C durante 10 minutos. Em seguida, realizou-se o teste de corte utilizando texturômetro TA-XT2 (Stable Micro Systems, Haslemere, Inglaterra). Os procedimentos para a realização do corte foram adaptados seguindo as recomendações para gelados comestíveis, utilizando o manual do equipamento. As medições de dureza foram realizadas com o *probe* (acessório) Knife Edge - HDP/BS, e os parâmetros utilizados foram: velocidades de pré-teste, teste e pós-teste 2,0, 3,0 e 10 mm/s, respectivamente, para determinar a força (Kg<sub>f</sub>) necessária para romper a estrutura do produto.

# 3.5 Determinação das populações dos micro-organismos probióticos e confirmação da segurança microbiológica dos sorvetes

#### 3.5.1 Determinação das populações dos micro-organismos probióticos

Para a enumeração da população das bactérias probióticas, porções de 25 g de sorvete (retiradas em condições de assepsia) foram homogeneizadas com 225 ml de água peptonada 0,1%. Em seguida, diluições subsequentes foram preparadas, utilizando-se o mesmo diluente.

Para a contagem das bactérias probióticas, alíquotas de 1 ml de cada diluição das amostras foram transferidas para placas de Petri estéreis, seguidas da adição de ágar MRS (Oxoid, Basingstoje, Reino Unido) acidificado a pH 5,4 com ácido acético glacial, fundido e resfriado a cerca de 45°C. Após homogeneização e endurecimento do ágar, procedeu-se com a incubação das placas em anaerobiose (Sistema de Anaerobiose Anaerogen, Oxoid) a 37°C por 72 horas (BURITI et al., 2005).

#### 3.5.2 Confirmação da segurança microbiológica dos sorvetes

A confirmação da segurança microbiológica dos produtos foi realizada através das análises dos micro-organismos indicadores de contaminação, conforme a legislação vigente para gelados comestíveis e produtos para gelados comestíveis. (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2001). A legislação estabelece que gelados comestíveis de base láctea ou não láctea (a base de água ou polpa de frutas) devem ser analisados quanto à presença de coliformes a 45°C/g, estafilococos coagulase positivos/g e *Salmonella* spp./25g.

Para a contagem de coliformes, utilizaram-se placas de placas de Petrifilm<sup>TM</sup> (3M Microbiology, St. Paul, EUA), as quais foram incubadas a 45°C durante 24 h. A determinação de estafilococos coagulase-positivos foi realizada utilizando-se placas Petrifilm<sup>TM</sup> Staph, incubadas a 37°C por 24 h. Para *Salmonella* spp. utilizouse a metodologia proposta por Andrews et al. (2001).

# 3.6 Ensaio de sobrevivência dos micro-organismos incorporados aos sorvetes às condições gastrintestinais simuladas *in vitro*

As análises foram conduzidas empregando-se o modelo *in vitro*, utilizando-se sucos gástricos e entéricos simulados e enzimas do TGI, adaptado de Liserre, Re e Franco (2007) por Buriti, Castro e Saad (2010), com modificação para adaptação do protocolo ao produto aqui desenvolvido.

Nesse procedimento, 25 g de sorvete foram diluídas em 225mL de solução NaCl 0,5%. Frascos Schott contendo 10 mL dessa diluição foram adicionadas de pepsina (Pepsin from porcine stomach mucosa, Sigma-Aldrich CO. St. Louis, MO, EUA) e lipase (Amano lipase from *Penicillium camemberti*, Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, EUA) até atingirem a concentração de 3g/L e 0,9mg/L, respectivamente. O pH foi ajustado para 3,0 com HCl 1N e as amostras incubadas em banho metabólico TE-053 Dubnoff Tecnal (Piracicaba, Brasil) sob agitação de aproximadamente 150 rpm, a 37°C por 2h simulando a fase gástrica.

Para a simulação da fase entérica 1 (intestino delgado), decorridas 2h da análise, o pH das amostras foi ajustado entre 4,5 e 5,0, utilizando-se solução de fosfato de sódio pH 12 (150 mL de 1 N NaOH; 14 g de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2H<sub>2</sub>O; H<sub>2</sub>O destilada q.s.p. 1L), contendo bile (Bile bovine, Sigma-Aldrich) e pancreatina (Pancreatin from porcine pancreas, Sigma-Aldrich), até atingir a concentração de 10 g/L e 1 g/L, respectivamente. As amostras foram reincubadas sob agitação a 37°C por 2h.

Após 4h do início do ensaio, simulando as condições do intestino grosso (fase entérica 2), o pH foi reajustado entre 6,5 e 7,5, utilizando-se a mesma solução alcalina e ajustando-se as concentrações de bile e pancreatina para 10 g/L e 1 g/L, respectivamente. As amostras foram incubadas por mais 2h a 37°C, totalizando 6 horas de ensaio. A retirada das alíquotas da diluição de sorvete contendo os sucos gástricos e entéricos simulados ocorreu após 2h, 4h e 6h do início do ensaio *in vitro*. Os valores de pH das amostras em cada etapa do ensaio foram monitorados e os resultados expressos no Anexo IV.

Para determinar a população de micro-organismos sobreviventes ao ensaio in vitro, alíquotas de 1 mL de cada fase foram semeadas na superfície de 3 placas contendo ágar MRS pH 5,4, e após secagem, incubadas em anaerobiose conforme

descrito no item 3.5.1. A semeadura em superfície ocorreu a fim de facilitar a posterior contagem das colônias, evitando que fragmentos de sorvete, sempre presentes nessa diluição, pudessem ser confundidos com as colônias de microorganismos, o que ocorreu quando a mesma diluição foi semeada em profundidade, conforme descrito por Buriti, Castro e Saad (2010), no caso de musses simbióticos de goiaba. A semeadura de 1 mL aliquotado na superfície de 3 placas (ao invés de 0,1 mL em 1 placa) teve o objetivo de diminuir o limite de detecção dos microorganismos. Diluições subsequentes foram realizadas, semeadas e incubadas conforme descrito no item 3.5.1.

#### 3.7 Análise sensorial

A avaliação sensorial dos sorvetes desenvolvidos foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, conforme consta no Ofício CEP n°126/2010 (Protocolo CEP/FCF/560). Nos Anexos V e VI estão inclusos, respectivamente, o ofício de aprovação pelo Comitê de Ética e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido utilizado.

A análise sensorial foi realizada em duas etapas. A primeira foi conduzida em Sobral, Ceará. O objetivo dessa primeira etapa foi a comparação dos sorvetes durante a vida de prateleira previamente estipulada em 84 dias. Os sorvetes foram analisados nos tempos 7, 42 e 84 dias armazenamento, após confirmação de sua segurança através das análises para micro-organismos indicadores de contaminação, conforme descrito no item 3.5.2.

Participaram dessa etapa 89 consumidores adultos (provadores não treinados), entre funcionários, bolsistas, estagiários e visitantes da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, CE. Para a triagem dos provadores, aplicou-se o critério de inclusão, a saber: indivíduos de ambos os sexos com idade entre 18 e 60 anos. Quanto aos critérios de exclusão, considerou-se: possuir histórico de manifestação de alergia, intolerância a alimentos ou doença crônica (como diabetes, hipotiroidismo, hipertiroidismo, hipertensão ou outras); estar fazendo tratamento

médico; estar gripado, resfriado ou indisposto; ter entrado em contato, há menos de 1 hora, com materiais, alimentos ou cosméticos de cheiro forte.

Cada sessão de análise sensorial contou com a presença de 40 provadores não treinados. Cada provador analisou duas amostras por sessão, sendo que a maioria dos provadores esteve presente em três ou mais sessões. Ao total, foram realizadas 6 sessões, sendo 2 para cada tempo de armazenamento. Amostras de aproximadamente 20 g dos sorvetes (SCr, SCp, SIr, SIp), codificadas com 3 algarismos aleatórios, foram oferecidas aos provadores monadicamente.

A avaliação sensorial foi conduzida por teste de aceitabilidade, utilizando-se escala hedônica de 9 pontos (Anexo VII), com variação de "gostei muitíssimo" (9 pontos) a "desgostei muitíssimo" (1 ponto). Cada sorvete foi apresentado a 40 provadores não treinados em cada período (DUTCOSKI, 1996).

Paralelamente, uma segunda etapa foi conduzida no Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo (FCF/USP). Durante essa etapa, sorvetes do mesmo lote e com 7 dias de armazenamento foram encaminhados a São Paulo (SP), através de transporte aéreo, em caixa térmica e gelo seco. Participaram 70 consumidores adultos, incluindo alunos de graduação e de pós-graduação, docentes, funcionários e visitantes da Universidade de São Paulo. A metodologia de aplicação do teste seguiu os mesmos parâmetros descritos anteriormente, sendo, neste caso, 35 provadores para cada período de análise dos quatro sorvetes estudados. Totalizando, 159 voluntários participaram da análise sensorial nos dois centros, sendo 89 na Embrapa 70 na FCF/USP.

#### 3.8 Tratamento estatístico dos dados

As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa estatístico Statistica v.11 (Statsoft Inc., Tulsa, USA). Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão. Inicialmente os dados foram analisados quanto à homogeneidade pelo teste de Hartley. As diferenças entre os tratamentos e os

períodos de análise foram avaliados utilizando-se Análise de Variância (ANOVA oneway), seguida pelo teste de Tukey (p<0,05).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1 Avaliação dos parâmetros fisico-químicos

### 4.1.1 Composição centesimal e pH

A Tabela 3 expressa os resultados da composição centesimal e percentual de sólidos totais obtidos para as formulações de sorvete desenvolvidas. Os percentuais de umidade, proteínas e minerais não apresentaram diferença significativa entre si (p>0,05).

**Tabela 3 -** Composição centesimal e sólidos totais (média ± desvio padrão) obtidos para os sorvetes.

	Composição Centesimal							
-	Sorvetes							
Análises	SCr	SCp	SIr	Slp				
Umidade	63,20±0,05 <sup>A</sup>	63,39±0,03 <sup>A</sup>	64,66±0,09 <sup>A</sup>	64,31±0,34 <sup>A</sup>				
Carboidratos*	26,78±0,09 <sup>B</sup>	26,64±0,23 <sup>B</sup>	30,60±0,17 <sup>A</sup>	30,62±0,33 <sup>A</sup>				
Lipídeos	5,95±0,01 <sup>A</sup>	5,94±0,25 <sup>A</sup>	0,84±0,01 <sup>B</sup>	$0,93\pm0,06^{B}$				
Proteínas	2,99±0,03 <sup>A</sup>	2,99±0,08 <sup>A</sup>	2,90±0,09 <sup>A</sup>	3,12±0,11 <sup>A</sup>				
Minerais	1,08±0,01 <sup>A</sup>	1,04±0,04 <sup>A</sup>	1,00±0,01 <sup>A</sup>	1,02±0,01 <sup>A</sup>				
Total	100,00	100,00	100,00	100,00				
Sólidos Totais**	36,80±0,05 <sup>A</sup>	36,61±0,03 <sup>A</sup>	35,34±0,09 <sup>A</sup>	35,69±0,34 <sup>A</sup>				

SCr - gordura láctea caprina+ L. rhamnosus HN001

Segundo a Portaria nº 27 de 13 de janeiro de 1998 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), produtos sólidos, prontos para o consumo, contendo o máximo de 3 g de gordura/ 100 g de produto, podem ser considerados alimentos com baixo teor de gordura (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 1998). Sendo assim, os sorvetes com inulina SIr e SIp enquadram-se nessa

SIr - inulina + L. rhamnosus HN001

SCp - gordura láctea caprina + *L. paracasei* LBC82 SIp - inulina + *L. paracasei* LBC82 Slp - inulina + *L. paracasei* LBC82 (p>0,05) entre os diferentes sorvetes estudados.

<sup>\*</sup> Dentre esses, 5% é inulina para os sorvetes SIr e SIp.

<sup>\*\*</sup> Resíduo seco após a secagem da amostra na análise de umidade.

definição por apresentarem entre 0,84 e 0,93% de lipídios, repectivamente, conforme descrito na Tabela 3.

Em suma, os sólidos totais são todos os ingredientes retirando-se a água e em geral, quanto maior for o percentual de sólidos totais, melhor será a qualidade do sorvete (CLARKE, 2004). Cada país possui uma legislação específica em relação a esse parâmetro. No entanto, para sorvetes, as recomendações são entre 28 e 40% de sólidos totais.

Apesar dos sorvetes terem sido fabricados com elevado percentual de polpa de cajá (33,26%), tornou-se necessária a adição de ácido cítrico, a fim de realçar o sabor da fruta, o que foi obtido, ajustando-se o pH para 4,20±0,20. Embora tenha sido detectada diferença estatística nos valores de pH (Tabela 4) ao longo do armazenamento para o sorvete SIr, as diferenças observadas não influenciaram as características estudadas do produto.

Tabela 4 - Valores de pH obtidos (média ± desvio padrão) nos dias 1, 28, 56 e 84 de armazenamento a -18±3°C.

		рН		
		Sorv	etes	
Tempo (dias)	SCr	SCp	SIr	SIp
1	4,18±0,10 <sup>ABa</sup>	4,08±0,07 <sup>Ba</sup>	4,28±0,01 <sup>Ac</sup>	4,26±0,03 <sup>Ab</sup>
28	4,36±0,14 <sup>Aa</sup>	4,35±0,09 <sup>Aa</sup>	4,39±0,03 <sup>Ab</sup>	4,38±0,06 <sup>Aab</sup>
56	4,23±0,14 <sup>Aa</sup>	4,23±0,14 <sup>Aa</sup>	4,26±0,05 <sup>Ac</sup>	4,29±0,07 <sup>Aab</sup>
84	4,25±0,23 <sup>Aa</sup>	4,27±0,24 <sup>Aa</sup>	4,49±0,05 <sup>Aa</sup>	4,43±0,10 <sup>Aa</sup>

SCr - gordura láctea caprina+ L. rhamnosus HN001

SIr - inulina + L. rhamnosus HN001

Em sorvetes de fruta, a acidez do produto está diretamente relacionada à valorização do sabor da fruta no produto (DUAS RODAS, 2005). Embora a recomendação seja que alimentos com probióticos devam manter pH relativamente elevado, entre 5,5 e 6,5 (CRUZ et al, 2009), a viabilidade de probióticos tem sido observada em pH mais baixos, especialmente para a inserção desses microorganismos em sucos de fruta (SHEEHAN; ROSS; FITZGERALD, 2007). Esse fato foi observado por Suomalainen et al. (2006), em bebida de laranja à base de soro de

SCp - gordura láctea caprina + *L. paracasei* LBC82 Slp - inulina + *L. paracasei* LBC82

AB Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam que houve diferença significativa (p<0,05) entre os diferentes sorvetes estudados no mesmo período de armazenamento.

Letras minúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam que houve diferença significativa (p<0,05) entre diferentes períodos estudados para um mesmo sorvete.

leite em pH 3,8±0,2. Segundo os autores, a viabilidade de L. rhamnosus VTT E-97800 (E800) e de L. rhamnosus Lc705 (em combinação com Propionibacterium freudenreichii ssp. shermanii JS) mostrou-se superior a 8 log UFC/g e as características sensoriais do produto permaneceram constantes durante 3 semanas a 4°C.

## 4.1.2 Determinação de overrun, fração de derretimento e dureza instrumental dos sorvetes

As características tecnológicas do sorvete (overrun, fração de derretimento e dureza) são influenciadas pela formulação das misturas e pelas interações dos ingredientes entre si (ALAMPRESE et al., 2002).

A incorporação de ar ou overrun no sorvete depende do processo de fabricação e da composição do produto, promovendo uma textura mais suave e influenciando nas propriedades físicas de dureza e derretimento (SOFJAN; HARTEL, 2004; MUSE, HARTEL, 2004.). Segundo Clarke (2004), é difícil obter percentuais iguais ou superiores a 60% em sorvetes onde proteínas e gordura não estejam presentes ou estejam em baixa quantidade. É possível que esse fato tenha resultado em um overrun inferior dos sorvetes SIr e SIp, quando comparados a SCr e SCp (Tabela 5).

Tabela 5 - Resultados obtidos para overrun, fração de derretimento e firmeza dos sorvetes após 14 dias de armazenamento a -18±3°C.

	Sorvetes						
Parâmetros	SCr	SCp	SIr	SIp			
Overrun (%)	29	28	17	16			
Fração de derretimento (mL/min)	2,14±0,09 <sup>B</sup>	2,22±0,13 <sup>AB</sup>	$2,25\pm0,06^{AB}$	2,35±0,35 <sup>A</sup>			
Dureza (Kg <sub>f</sub> )	5,05±0,44 <sup>B</sup>	$5,67\pm0,76^{B}$	12,81±1,10 <sup>A</sup>	12,84±0,68 <sup>A</sup>			

SCr - gordura láctea caprina+ L. rhamnosus HN001

SIr - inulina + L. rhamnosus HN001

SCp - gordura láctea caprina + *L. paracasei* LBC82 SIp - inulina + *L. paracasei* LBC82 SIp - inulina + *L. paracasei* LBC82

AB Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam que houve diferença significativa (p<0,05) entre os diferentes sorvetes estudados no mesmo período de armazenamento.

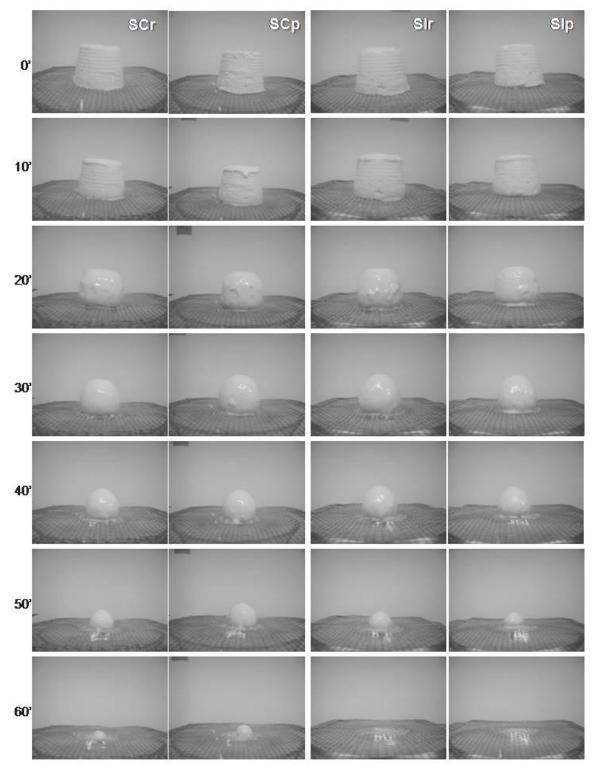
A incorporação de ar também está relacionada, quando possível, ao ajuste das condições da temperatura de retirada do sorvete da produtora. No presente trabalho, os sorvetes foram retirados da produtora à temperatura controlada de -6°C. Como a incorporação de ar ocorre durante a etapa de aeração e congelamento simultâneos, um maior percentual de *overrun* poderia ter sido obtido caso temperaturas mais baixas tivessem sido empregadas na produção dos sorvetes, uma vez que temperaturas mais baixas demandariam um tempo maior de aeração e congelamento na produtora. No entanto, a retirada dos sorvetes a -6°C mostrou-se adequada ao produto, uma vez que Ferraz et al. (2012), sugerem que menores níveis de *overrun* devem ser utilizados na fabricação de sorvetes incorporados de probióticos, a fim de manter a sua viabilidade durante a vida de prateleira. Nesse trabalho, os autores observaram a redução de até 2 log UFC/g de *L. acidophilus* DOWARU TM adicionados em sorvetes de baunilha elaborados com 60 e 90% de *overrun*, durante 60 dias de armazenamento a -18°C.

A fração de derretimento do sorvete é afetada por vários fatores, incluindo a quantidade de ar incorporada, a natureza dos cristais de gelo e a rede de glóbulos de gordura formados durante o congelamento (MUSE & HARTEL, 2004). É um método empírico muito utilizado para observar a influência de alterações no processamento e nas formulações sobre as propriedades dos sorvetes (CLARKE, 2004).

No presente trabalho, a semelhança da fração de derretimento entre os sorvetes (p>0,05) denota que a substituição de gordura por inulina em SIr e SIp não afetou o perfil de derretimento dos sorvetes. O registro visual na Figura 2 fornece subsídios para acompanhar o comportamento semelhante dos sorvetes no derretimento. É importante ressaltar que as condições experimentais foram mantidas idênticas para todos os sorvetes, a fim de minimizar a influência da temperatura e de correntes de ar.

Em comparação ao leite bovino, aproximadamente 80% dos glóbulos de gordura do leite cabra são menores que 5µm. Essa diferença é a causa dos derivados lácteos caprinos apresentarem textura mais macia, quando comparado ao leite bovino (SILANIKOVE et al., 2010). O aumento significativo (p<0,05) da dureza nos sorvetes com inulina pode estar relacionado à menor incorporação de ar (*overrun*), conforme observado na Tabela 5. Semelhantemente, El-Nagar et al.

(2002) observaram um aumento da dureza dos sorvetes de iogurte adicionados de inulina, em comparação com sorvetes adicionados de gordura.



**Figura 2 –** Comportamento dos sorvetes durante o teste para determinação da fração de derretimento. Imagens coletadas em intervalos de 10 minutos durante 60 minutos. SCr - gordura láctea caprina + *L. rhamnosus* HN001; SCp - gordura láctea caprina + *L. paracasei* LBC82; SIr - inulina + *L. rhamnosus* HN001; SIp - inulina + *L. paracasei* LBC82.

## 4.2 Determinação das populações de micro-organismos probióticos e avaliação dos parâmetros microbiológicos

A Tabela 6 apresenta a viabilidade dos micro-organismos probióticos nos sorvetes SC (gordura láctea caprina) e SI (inulina), durante armazenamento a -18±3°C durante 84 dias de armazenamento, respectivamente.

Tabela 6 - Populações de micro-organismos probióticos obtidas (média ± desvio padrão) nos sorvetes durante 84 dias de armazenamento a -18±3°C.

	Vi	abilidade (log UFC/g	g)					
•	Sorvetes							
Tempo (dias)	SCr	SCp	SIr	Slp				
0*	8,56±0,20 <sup>Aa</sup>	8,58±0,17 <sup>Aa</sup>	8,56±0,31 <sup>Aa</sup>	8,56±0,04 <sup>Aa</sup>				
1	8,50±0,36 <sup>Aa</sup>	8,53±0,06 <sup>Aa</sup>	8,42±0,39 <sup>Aa</sup>	8,53±0,14 <sup>Aa</sup>				
7	8,30±0,31 <sup>Aa</sup>	8,33±0,06 <sup>Abc</sup>	8,26±0,41 <sup>Aa</sup>	8,35±0,15 <sup>Aa</sup>				
14	8,40±0,36 <sup>Aa</sup>	8,35±0,08 <sup>Abc</sup>	8,15±0,24 <sup>Aa</sup>	8,37±0,05 <sup>Aa</sup>				
21	8,38±0,32 <sup>Aa</sup>	8,46±0,12 <sup>Aac</sup>	8,19±0,38 <sup>Aa</sup>	8,28±0,12 <sup>Aa</sup>				
28	8,37±0,25 <sup>Aa</sup>	8,43±0,08 <sup>Aac</sup>	8,31±0,41 <sup>Aa</sup>	8,43±0,23 <sup>Aa</sup>				
42	8,35±0,43 <sup>Aa</sup>	8,22±0,10 <sup>Ab</sup>	8,37±0,54 <sup>Aa</sup>	8,49±0,37 <sup>Aa</sup>				
56	8,29±0,32 <sup>Aa</sup>	8,37±0,15 <sup>Abc</sup>	8,14±0,36 <sup>Aa</sup>	8,34±0,20 <sup>Aa</sup>				
84	8,27±0,30 <sup>Aa</sup>	8,31±0,05 <sup>Abc</sup>	8,02±0,31 <sup>Aa</sup>	8,34±0,18 <sup>Aa</sup>				

SCr - gordura láctea caprina+ L. rhamnosus HN001

Durante a aeração e o congelamento, a população de probióticos pode sofrer redução de até 1 log UFC/g, em virtude das injúrias ocasionadas aos microorganismos nesse processo (CRUZ et al., 2011). Essa redução não foi observada, conforme mostram os dados apresentados na Tabela 6, comparando-se a calda (Tempo 0) e o sorvete após congelamento (Tempo 1). Sugere-se que a baixa incorporação de ar dos sorvetes juntamente com o curto período de aeração e congelamento (5-7 min) tenha favorecido esse comportamento.

SIr - inulina + L. rhamnosus HN001

SCp - gordura láctea caprina + *L. paracasei* LBC82 SIp - inulina + *L. paracasei* LBC82

AB Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam que houve diferença significativa (p<0,05) entre os diferentes sorvetes estudados no mesmo período de armazenamento.

a,b Letras minúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam que houve diferença significativa (p<0,05) entre

diferentes períodos estudados para um mesmo sorvete.

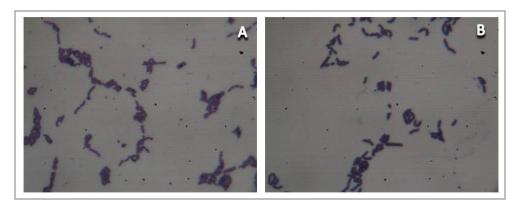
Análise realizada na calda do sorvete antes do congelamento.

As contagens dos micro-organismos probióticos foram superiores a 8 log UFC/g, não apresentando diferença significativa (p>0,05) entre os sorvetes. Uma vez que os produtos apresentaram valores de pH sempre abaixo de 4,5 (Tabela 4), os sorvetes desenvolvidos favoreceram a manutenção da viabilidade dos micro-organismos durante todo o período de armazenamento. Valores acima de 7 log UFC/g atendem ao recomendado pela legislação brasileira, a qual preconiza que um produto com alegações probióticas deve conter na recomendação diária do produto pronto para o consumo, uma faixa entre 8 e 9 log UFC (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2008). Levando-se em conta o consumo diário de pelo menos 60 g de sorvete, a ingestão de 8 log UFC/g supera a porção diária mínima de probióticos recomendada.

Com base na Tabela 3 e considerando-se a porção do produto, o percentual adicionado de inulina encontra-se dentro do recomendado para que o alimento seja também considerado prebiótico (3g de inulina/ 60g de sorvete). Sendo assim, podese considerar que os sorvetes SIr e SIp apresentam potencial simbiótico, ou seja, através do efeito combinado de pre e probióticos presentes em um mesmo produto (KOLIDA; GIBSON, 2011).

Outros autores também relataram resultados favoráveis de sobrevivência de cepas probióticas em sorvetes e outras sobremesas lácteas congeladas durante o armazenamento dos produtos. Assim, Favaro-Trindade et al. (2007) desenvolveram sorvete fermentado de cajá, utilizando Lactobacillus acidophilus 74-2, L. acidophilus LAC 4 e culturas starter. Os autores observaram que os probióticos apresentaram viabilidade acima de 6 log/UFC durante 105 dias de armazenamento a -18 °C. Sobremesas geladas à base de soja, contendo bactérias do grupo L. casei foram desenvolvidos por Heenan et al. (2004). Nesse trabalho, as populações de Lactobacillus rhamnosus 100-C e Lactobacillus paracasei ssp. paracasei 01 permaneceram acima de 6 log/UFC durante 28 semanas de armazenamento a -20°C. Sorvetes de acerola com Bifidobacterium lactis e Bifidobacterium longum foram desenvolvidos por Favaro-Trindade et al. (2006), apresentando manutenção do potencial probiótico por 15 semanas a -18 °C. Aragon-Alegro et al. (2007) desenvolveram musse de chocolate adicionado de Lactobacillus paracasei subsp. paracasei LBC 82 e inulina, o qual apresentou características sensoriais satisfatórias e viabilidade do probiótico durante 28 dias de estocagem refrigerada.

Para ilustrar, a Figura 3 apresenta imagens dos micro-organismos probióticos nos sorvetes SC, obtidas por Microscópio Biológico Binocular Modelo TIM 2005, após coloração pelo método de Gram.



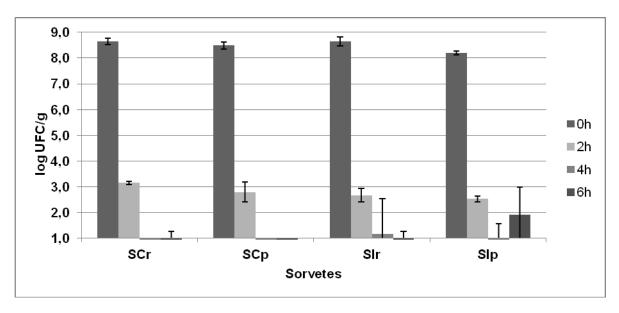
**Figura 3 -** Imagens dos micro-organismos probióticos incorporados nos sorvetes SC (gordura láctea), obtidas por Microscópio Biológico Binocular Modelo TIM 2005, após coloração pelo método de Gram. A – *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (SCr). B – *Lactobacillus paracasei* LBC82 (SCp).

### 4.3 Parâmetros microbiológicos sanitários

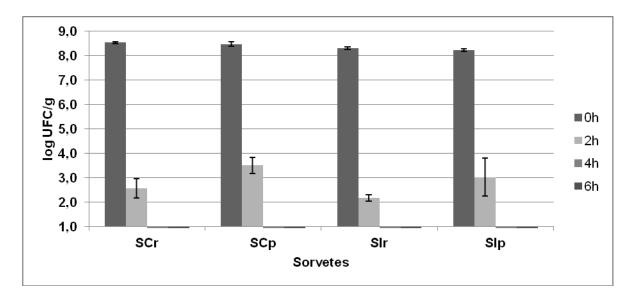
Não foi detectada a presença de coliformes a 45°C, estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras analisadas. Sendo assim, os quatro sorvetes desenvolvidos apresentaram-se de acordo com os padrões legais vigentes aprovados pelo Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos, estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2001).

### 4.4. Ensaio in vitro de condições gastrintestinais simuladas

A sobrevivência de *L. rhamnosus* HN001 (SCr e SIr) e *L. paracasei* LBC82 (SCp e SIp) nos sorvetes submetidos às condições gástricas e entéricas simuladas *in vitro* ao longo do armazenamento está apresentada nas Figuras 4 e 5.



**Figura 4 –** Sobrevivência dos micro-organismos probióticos nos sorvetes submetidos às condições gástricas e entéricas simuladas *in vitro*, após 28 dias de armazenamento a -18±3°C. SCr - gordura láctea caprina + *L. rhamnosus* HN001; SCp - gordura láctea caprina + *L. paracasei* LBC82); SIr - inulina + *L. rhamnosus* HN001; SIp - inulina + *L. paracasei* LBC82.



**Figura 5 –** Sobrevivência dos micro-organismos probióticos nos sorvetes submetidos às condições gástricas e entéricas simuladas *in vitro*, após 84 dias de armazenamento a -18±3° C. SCr - gordura láctea caprina + *L. rhamnosus* HN001; SCp - gordura láctea caprina + *L. paracasei* LBC82); SIr - inulina + *L. rhamnosus* HN001; SIp - inulina + *L. paracasei* LBC82.

Aos 28 dias, observa-se, para todos os sorvetes, que a sobrevivência dos micro-organismos diminuiu em aproximadamente 5 log nas duas primeiras horas de ensaio (fase gástrica). Os sorvetes com creme de leite de cabra - SCr e SCp apresentaram o pior desempenho ao final das 6h de ensaio. O sorvete SIr, contendo inulina e *L. paracasei* LBC 82 em sua composição, apresentou a maior sobrevivêcia ao final do teste. De um modo geral, a substituição da gordura láctea por inulina favoreceu a sobrevivência dos probióticos ao final do ensaio das condições gastrintestinais simuladas *in vitro*.

Após 84 dias de fabricação, não foi possível detectar a sobrevivência dos micro-organismos após 4h e 6h de ensaio. De fato, Schillinger, Guigas e Holzapfel (2005) observaram que *L. paracasei* e *L. rhamnosus* são menos tolerantes ao suco gástrico simulado contendo pepsina, quando comparados a cepas de *L. acidophilus* e *L. johnsonii*. Provavelmente, injúrias ocasionadas pelo pH do produto ou características da fruta utilizada, associadas às limitações do ensaio conduzido, possam ter ocasionado esses resultados. A utilização de Propídio Monoazida (PMA), um intercalante do DNA, em análises de PCR pode contornar a desvantagem de métodos convencionais de identificação de micro-organismos, promovendo a diferenciação entre células vivas e células com danos irreversíveis à membrana celular (NOCKER; CHEUNG; CAMPER, 2006;).

Silva et al. (2012) detectaram atividade antibacteriana do cajá. No referido estudo, extratos da espécie *Spondias mombin* foram capazes de inibir *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii* e *Serratia liquefaciens*. Durante o presente trabalho, um teste de difusão em ágar foi realizado, a fim de observar uma possível inibição de *L. rhamnosus* HN001 e *L. paracasei* LBC 82 pela polpa de cajá. Não foi possível observar halo de inibição, sendo descartada essa possibilidade.

Ensaios *in vitro* podem ser úteis a fim de estimar se a bactéria sobreviveria à passagem pelo TGI. No entanto, a comprovação *in vivo* seria necessária. A extrema complexidade dos sistemas vivos associada à variabilidade de cada indivíduo não conferem aos experimentos *in vitro* a evidência definitiva na validação dos fenômenos probióticos. Somente investigações *in vivo* em humanos são capazes de verificar a eficácia dos probióticos, o que confere mais confiabilidade ao estudo (O'MAY; MACFARLANE et al., 2005).

Com esse objetivo, Suomalainen et al. (2006) administraram, em voluntários adultos, bebida de laranja à base de soro de leite, contendo *L. rhamnosus* VTT E-97800 (E800) e *L. rhamnosus* Lc705 (em combinação com *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* JS). A viabilidade dos micro-organismos permaneceu acima de 8 log UFC/g, nos sucos com pH de 3,8±0,2, durante 3 semanas a 4°C. Através de análise das fezes dos voluntários, os autores observaram que tanto *L. rhamnosus* VTT E-97800 (E800) como *L. rhamnosus* Lc705 apresentaram boa sobrevivência à passagem pelo trato gastrintestinal, estando entre 5,0 e 7,5 log UFC/g em todos os indivíduos, durante o consumo da bebida suplementada com E800.

Na impossibilidade de testar *in vivo*, existem equipamentos validados, controlados por computador, que podem ser úteis na detecção da viabilidade de micro-organismos durante a passagem pelo trato gastrintestinal. Os modelos *in vitro* do trato gastrintestinal TIM-1, TIM-2 e SHIME (*Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem*) são bastante versáteis e controlados por computador, permitindo a determinação do destino de diferentes produtos ingeridos (incluindo bactérias vivas) em um ambiente semelhante àquele encontrado no estômago, intestino delgado e intestino grosso (MINEKUS et al., 1995; MOLLY et al., 1994).

Segundo ADAMS (2010), apesar dos probióticos serem definidos como produtos que contenham micro-organismos benéficos em quantidades capazes de beneficiar o hospedeiro, muitos dos efeitos obtidos com essas células viáveis também podem ser obtidos com as mesmas células mortas. Desse modo, células viáveis de probióticos são capazes tanto de influenciar a microbiota intestinal quanto a resposta imune. Por outro lado, os componentes das células mortas desses micro-organismos podem exercer uma resposta anti-inflamatória no trato gastrintestinal. Sendo assim, segundo o autor, o uso de células mortas de probióticos pode ser atraente, na medida que o produto que as contenham pode ter uma vida de prateleira mais extensa, quando comparado a produtos adicionados de micro-organismos vivos (ADAMS, 2010).

#### 4.5 Análise sensorial

A avaliação sensorial para verificação da aceitação pelos consumidores é crítica para o desenvolvimento de novos produtos. Mundialmente, o sorvete é um produto bem aceito por todos os públicos. No entanto, em se tratando de sorvete à base de leite de cabra, o sabor característico desse produto pode afetar a aceitação dos consumidores.

A Tabela 7 apresenta os resultados obtidos durante o teste de aceitação dos sorvetes realizado em Sobral (CE). Não foi possível observar diferença significativa (p>0,05) entre as amostras em cada período de armazenamento, não sendo prejudicadas as características sensoriais dos sorvetes adicionados de inulina. No entanto, para os sorvetes desenvolvidos com creme de leite de cabra (SCr e SCp), foi possível observar redução significativa (p<0,05) da aceitabilidade a partir dos 42 dias de armazenamento. Como o leite de cabra é rico em ácidos graxos insaturados, essa redução pode estar relacionada à oxidação desses compostos (PARK, 2009). As médias acima de 6,98 observadas em todos os sorvetes sugerem que os sorvetes aqui desenvolvidos atingiram alto índice de aceitação entre consumidores potenciais e, portanto, elevado potencial de mercado.

Tabela 7 - Resultados do teste de aceitação sensorial realizados nos sorvetes durante 84 dias de armazenamento a -18±3°C.

Análise Sensorial							
Sorvetes							
Tempo (dias)	SCr	SCp	Sir	SI p			
7	7,95±0,64 <sup>Aa</sup>	8,03±0,73 <sup>Aa</sup>	7,55±0,93 <sup>Aa</sup>	7,68±1,38 <sup>Aa</sup>			
42	7,10±1,43 <sup>Ab</sup>	$7,45\pm0,96^{Ab}$	6,98±1,46 <sup>Aa</sup>	7,58±1,13 <sup>Aa</sup>			
84	7,60±1,01 <sup>Aab</sup>	7,40±1,26 <sup>Ab</sup>	7,13±1,28 <sup>Aa</sup>	7,10±1,55 <sup>Aa</sup>			

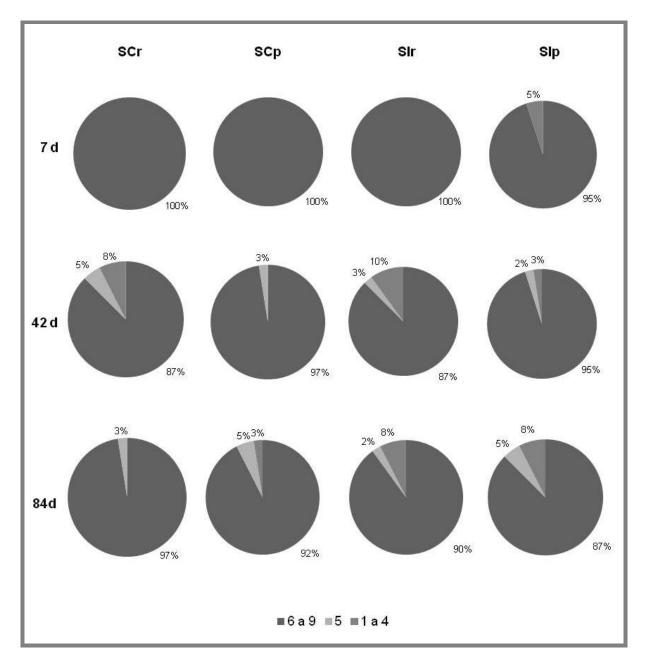
SCr - gordura láctea caprina+ L. rhamnosus HN001

SIr - inulina + L. rhamnosus HN001

SCp - gordura láctea caprina + *L. paracasei* LBC82 SIp - inulina + *L. paracasei* LBC82 Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam que houve diferença significativa (p<0,05) entre os diferentes sorvetes estudados no mesmo período de armazenamento.

Letras minúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam que houve diferença significativa (p<0,05) entre diferentes períodos estudados para um mesmo sorvete.

Apesar do desvio padrão dos dados ter contribuído para a redução das notas médias, o percentual de notas entre 6 e 9 foi acima de 87%, chegando a 100% em algumas formulações com 7 dias de armazenamento, como SCr, SCp e SIr. (Figura 6). Essas notas correspondem, na escala hedônica, às opiniões variando entre "gostei ligeiramente" e "gostei muitíssimo", portanto bastante satisfatórios.



**Figura 6 -** Frequência das notas atribuídas para os sorvetes durante armazenamento de 84 dias a - 18±3°C. SCr - gordura láctea caprina + *L. rhamnosus* HN001; SCp - gordura láctea caprina + *L. paracasei* LBC82); SIr - inulina + *L. rhamnosus* HN001; SIp - inulina + *L. paracasei* LBC82.

Sabor e textura foram os atributos mais apreciados (Tabela 8). A alta qualidade dos derivados lácteos utilizados como ingredientes pode ser responsável pela redução da percepção do sabor "caprino". O sabor característico do leite de cabra é oriundo, principalmente da concentração de ácidos graxos de cadeia curta (capróico, caprílico e cáprico) no leite e, consequentemente, em seus derivados (MORGAN e GABORIT, 2001). O sabor "caprino" ou "hircino" é um dos principais entraves para determinar a qualidade do leite e seus derivados.

No entanto, é relatado que as boas práticas de manejo associadas ao processamento do leite de cabra reduzem esse sabor desagradável a algumas pessoas (ALVES et al., 2009). Em relação ao manejo, é importante que o reprodutor seja mantido distante da área de ordenha a fim de evitar que o leite absorva odores indesejados. Por outro lado, o tempo decorrido entre a ordenha, o resfriamento e pasteurização podem favorecer a lipólise enzimática do leite, liberando assim os ácidos graxos de cadeia curta e acentuando o sabor/odor "caprino" (HOFF; BRUCH; PEDROZO, 2010).

Além da elevada qualidade do leite e creme de leite de cabra utilizados na preparação do sorvete, em função das boas práticas de manejo adotadas na EMBRAPA e do curto tempo decorrido entre a ordenha e o processamento, a presença da polpa de cajá pode ter contribuído para uma menor percepção do sabor caprino, em função do sabor acentuado característico desta fruta.

**Tabela 8 -** Distribuição das citações relacionadas aos atributos sabor, textura, aparência e aroma para os sorvetes durante o teste de aceitação realizado aos 7, 42 e 84 dias de armazenamento a -18±3°C, utilizando-se 40 provadores para cada período de teste.

	MAIS	APRE	CIADO			MENO	S APRE	CIADO	)	
SABOR	Tempo (dias) 7 42 84 Total	SCr 30 20 22 72	SCp 32 20 19 71	Sir 26 24 17 67	<b>Slp</b> 26 25 17 68	Tempo (dias) 7 42 84 Total	SCr 12 25 20 57	SCp 14 21 16 51	Sir 17 21 24 62	<b>Slp</b> 22 17 22 61
TEXTURA	Tempo (dias) 7 42 84 Total	SCr 24 21 24 69	<b>SCp</b> 19 25 19 63	Sir 18 24 21 63	<b>Sip</b> 30 20 22 72	Tempo (dias) 7 42 84 Total	<b>SCr</b> 4 8 4 16	<b>SCp</b> 4 9 5 18	Sir 15 4 7 26	<b>Slp</b> 9 11 8 28
APARÊNCIA	Tempo (dias) 7 42 84 Total	<b>SCr</b> 7 9 6 22	<b>SCp</b> 8 8 10 26	SIr 8 8 7 23	<b>SIp</b> 4 8 8 20	Tempo (dias) 7 42 84 Total	SCr 0 1 1 2	<b>SCp</b> 2 1 1 4	<b>Sir</b> 1 3 7	<b>Slp</b> 0 0 2 2
AROMA	Tempo (dias) 7 42 84 Total	<b>SCr</b> 3 1 3 7	<b>SCp</b> 2 4 1 7	<b>Sir</b> 2 0 1 3	<b>Slp</b> 2 2 3 7	Tempo (dias) 7 42 84 Total	<b>SCr</b> 1 3 3 7	<b>SCp</b> 2 3 1 6	Sir 1 5 4 10	<b>SIp</b> 0 4 6 10
INDIFERENTE	Tempo (dias) 7 42 84 Total	<b>SCr</b> 2 3 3 8	<b>SCp</b> 3 2 6 11	<b>Sir</b> 7 4 7 18	<b>Slp</b> 2 6 3 11	Tempo (dias) 7 42 84 Total	SCr 23 11 11 45	SCp 22 11 20 53	Sir 15 13 14 42	<b>Slp</b> 20 13 11 44

SCr - gordura láctea caprina+ *L. rhamnosus* HN001 SCp - gordura láctea caprina + *L. paracasei* LBC82

SIr - inulina + *L. rhamnosus* HN001

SIp - inulina + L. paracasei LBC82

No Brasil, o consumo de leite de cabra e derivados ainda é baixo, quando comparado a outros países. De modo geral, o consumidor brasileiro não tem hábito de consumir alimentos totalmente a base de leite de cabra, embora existam nichos de mercado para derivados lácteos caprinos, como os queijos. Apesar desse fato, esses produtos estão em expansão e tem grande potencial mercadológico, em razão de suas características sensoriais diferenciadas, mas esbarram nas exigências de qualidade do mercado (NOGUEIRA FILHO et al., 2010).

Com o objetivo de comparar a aceitação dos mesmos sorvetes consumidos em regiões diferentes, conduziu-se uma análise sensorial em paralelo, na Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP.

A Tabela 9 apresenta os resultados obtidos durante o teste de aceitação dos sorvetes realizado em São Paulo (SP), em comparação a Sobral (CE). Não foi possível observar diferença significativa (p>0,05) entre as notas atribuídas às amostras em cada local específico. No entanto, os sorvetes elaborados com creme de leite de cabra apresentaram notas significativamente menores (p<0,05) quando avaliados pelos consumidores da USP, São Paulo, em comparação às notas atribuídas aos sorvetes com creme de leite de cabra pelos consumidores da EMBRAPA, em Sobral-CE (Tabela 9).

Apesar dessa diferença, o percentual de notas entre 6 e 9, em ambas as cidades, foi acima de 88%, chegando a 100% para os sorvetes SCr, SCp e SIr analisados em Sobral-CE (Figura7). Essas notas correspondem, na escala hedônica, às opiniões variando entre "gostei ligeiramente" e "gostei muitíssimo".

Tabela 9 - Resultados do teste de aceitação sensorial realizados em Sobral (CE) e São Paulo (SP). Sorvetes com 7 dias de armazenamento a -18±3 °C.

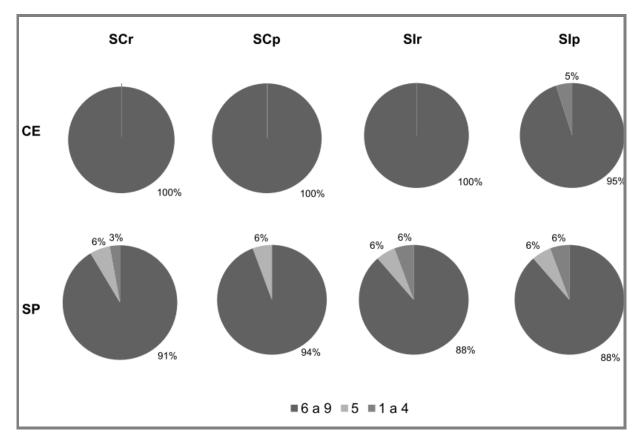
Análise Sensorial CE/SP								
Catada	Sorvetes							
Estado	SCr	SCp	SIr	Slp				
CE	7,95±0,64 <sup>Aa</sup>	8,03±0,73 <sup>Aa</sup>	7,55±0,93 <sup>Aa</sup>	7,68±1,38 <sup>Aa</sup>				
SP	7,60±1,26 <sup>Ab</sup>	7,46±1,20 <sup>Ab</sup>	7,46±1,40 <sup>Aa</sup>	7,46±1,31 <sup>Aa</sup>				

SCr - gordura láctea caprina+ L. rhamnosus HN001

SIr - inulina + L. rhamnosus HN001

SCp - gordura láctea caprina + *L. paracasei* LBC82 SIp - inulina + *L. paracasei* LBC82 AB Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam que houve diferença significativa (p<0,05) entre os diferentes sorvetes estudados no mesmo período de armazenamento.

Letras minúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam que houve diferença significativa (p<0,05) entre diferentes períodos estudados para um mesmo sorvete.



**Figura 7 -** Frequência das notas atribuídas para os sorvetes durante armazenamento de 84 dias a - 18±3°C. SCr - gordura láctea caprina + *L. rhamnosus* HN001; SCp - gordura láctea caprina + *L. paracasei* LBC82); SIr - inulina + *L. rhamnosus* HN001; SIp - inulina + *L. paracasei* LBC82.

**Tabela 10 -** Distribuição das citações relacionadas aos atributos sabor, textura, aparência e aroma para os sorvetes aos 7 dias de armazenamento a -18±3 °C, durante o teste de aceitação em regiões brasileiras distintas. Para cada período utilizou-se 40 **provadores** no Ceará e 35 em São Paulo.

	N	IAIS AI	PRECIA	DO		M	ENOS	APREC	IADO	
SABOR	Estado CE SP	<b>SCr</b> 30 28	<b>SCp</b> 32 21	<b>Sir</b> 26 25	<b>SIp</b> 26 31	Estado CE SP	<b>SCr</b> 12 14	<b>SCp</b> 14 25	<b>SIr</b> 17 26	<b>Slp</b> 22 20
TEXTURA	Estado CE SP	<b>SCr</b> 24 19	<b>SCp</b> 19 20	<b>SIr</b> 18 25	<b>Slp</b> 30 26	Estado CE SP	<b>SCr</b> 4 4	<b>SCp</b> 4 10	<b>SIr</b> 15 4	<b>Slp</b> 9 11
APARÊNCIA	Estado CE SP	<b>SCr</b> 7 5	<b>SCp</b> 8 5	<b>SIr</b> 8 8	<b>SIp</b> 4 10	Estado CE SP	<b>SCr</b> 0 2	<b>SCp</b> 2 1	<b>SIr</b> 1 0	<b>SIp</b> 0 1
AROMA	Estado CE SP	<b>SCr</b> 3 0	<b>SCp</b> 2 0	<b>SIr</b> 2 1	<b>Slp</b> 2 2	Estado CE SP	<b>SCr</b> 1 0	<b>SCp</b> 2 2	<b>SIr</b> 1 2	<b>Sip</b> 0 0
INDIFERENTE	Estado CE SP	<b>SCr</b> 2 3	<b>SCp</b> 3 6	<b>SIr</b> 7 2	<b>Slp</b> 2 2	Estado CE SP	<b>SCr</b> 23 15	<b>SCp</b> 22 8	<b>Sir</b> 15 9	<b>Slp</b> 20 13

SCr - gordura láctea caprina+ *L. rhamnosus* HN001 SCp - gordura láctea caprina + *L. paracasei* LBC82

SIr - inulina + *L. rhamnosus* HN001 SIp - inulina + *L. paracasei* LBC82

## 5. CONCLUSÕES

- Todos os sorvetes, apresentaram populações médias e estáveis de microorganismos acima de 8 log UFC/g, durante 84 dias de armazenamento a -18°C,
  condições satisfatórias para que um alimento seja considerado potencialmente
  probiótico. Por outro lado, as cepas testadas mostraram baixa sobrevivência nos
  testes in vitro realizados, com ligeiro aumento dessa sobrevivência na presença
  de inulina aos 28 dias de armazenamento, particularmente para o sorvete com
  Lactobacillus paracasei LBC82 (SIp);
- Os 4 sorvetes estudados receberam notas médias que variaram de 6,9 (SIr, aos 42 dias) a 8,0 (SCp, aos 7 dias) na avaliação sensorial, sem diferenças significativas entre sorvetes distintos, mas com uma diminuição significativa nas notas ao longo do armazenamento para os sorvetes com creme (p<0,05), o que não foi observado no caso dos sorvetes com inulina, os quais mostraram, ainda, uma maior firmeza (p<0,05), com teores inferiores de lipídeos.</p>
- Quando os 2 públicos de regiões distintas foram comparados quanto à aceitação sensorial dos sorvetes aos 7 dias de produção, não foi verificada diferença significativa para os sorvetes com inulina, enquanto que aqueles com creme de cabra obtiveram notas significativamente inferiores (p<0,05) do público de SP (médias de 7,60 e 7,46, respectivamente, para SCr e SCp), comparado àquele do CE (médias de 7,95 e 8,03, respectivamente, para SCr e SCp).</li>
- Os sorvetes de leite de cabra com polpa de cajá desenvolvidos apresentaram, simultaneamente. um excelente potencial funcional como produtos potencialmente probióticos, para ambas as cepas de Lactobacillus estudadas -Lactobacillus rhamnosus HN001 e Lactobacillus paracasei LBC 82 -, e boas características sensoriais. As formulações contendo inulina seriam a melhor opção, por apresentarem, ainda, características prebióticas, teores inferiores de maior estabilidade quanto à aceitação sensorial lipídeos, com armazenamento e quando avaliados pelo público dos 2 diferentes locais testados.

 Os sorvetes estudados são uma opção viável para empregar alimentos como o leite de cabra e a polpa de cajá no desenvolvimento de produtos que contenham características funcionais, portanto, alto valor agregado.

**Quadro 2 -** Os processos de elaboração de creme de leite de cabra e leite de cabra em pó desenvolvidos no presente trabalho, puderam ser aplicados aos seguintes estudos desenvolvidos em parceria com a Embrapa Caprinos e Ovinos, sob a supervisão da Dra. Karina Maria Olbrich dos Santos:

Discriminação	Título	Aluno	Orientador	Curso/Programa	Situação
Leite de cabra em pó	Caracterização química e efeito da adição de prebiótico sobre a qualidade e sensorial de iogurte de leite de cabra com geléia de goiaba	Maria Tamires Marques Silva	Profa. MSc. Patrícia Lopes Andrade	Graduação em Tecnologia em Alimentos - IFCE	Concluído <sup>1</sup>
Leite de cabra em pó	Efeito da adição de queijo tipo <i>Boursin</i> como agente de corpo e textura em sorvete de leite de cabra sabor goiaba	Jacqueline da Silva Oliveira	Profa. MSc. Patrícia Lopes Andrade	Graduação em Tecnologia em Alimentos - IFCE	Concluído <sup>2</sup>
Creme de leite de cabra					
Creme de leite de cabra	Desenvolvimento de queijo caprino tipo <i>petit-suisse</i> com polpa de açaí	Antônio Diogo Vieira	Profa. Dra. Susana Marta Isay Saad	Mestrado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica FBT/FCF/USP	Em andamento
Leite de cabra em pó  Creme de leite de cabra	Elaboração de sorvete funcional diet, de leite de cabra, potencialmente probiótico adicionado de oligossacarídeos obtidos a partir de sucos de frutos tropicais	Masu Capistrano Portela	Profa. Dra. Sueli Rodrigues	Doutorado em Biotecnologia Renorbio/UFC	Em andamento

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS1

ADAMS, C.A. The probiotic paradox: live and dead cells are bialogical response modifiers. **Nutrition Research Reviews**, v. 23, p. 37-46, 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. Brasília, 2008. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\_lista\_alega.htm. Acesso em: 24 mar. 2012.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Legislação. VisaLegis. **Resolução RDC nº. 359, de 23 de dezembro de 2003**. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional. Disponível em: http://elegis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=9058#'. Acesso em: 25 set. 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Portaria n º 27, de 13 de janeiro de 1998**. Aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/27\_98.htm. Acesso em: 20 out. 2012.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC n.12, de 02 de janeiro de 2001. A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\_01rdc.htm. Acesso em: 30 ago. 2011.

AKALIN, A.S.; ERIŞIR, 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. 73, n. 4, p. 184-188, 2008.

ALAMPRESE, C.; FOSCHINO, R.; ROSSI, M.; POMPEI, C.; SAVANI, L. Surviral 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.

ALFÉREZ, M.J.M.; BARRIONUEVO, M.; LOPEZ ALIAGA, I.; SANZ-SAMPELAYO, M.R.; LISBONA, F.; ROBLES, J.C.; CAMPOS, M.S. Digestive utilization of goat and cow milk fat in malabsorption syndrome. **Journal of Dairy Research**, v.68, p.451-461, 2001.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>As referências bibliográficas estão de acordo com a norma NBR6023/2002 preconizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

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

ANDREWS, W.H.; FLOWERS, R.S.; SILLIKER, J.; BAILEY, J.S. *Salmonella*. In: DOWNES, F.P.; ITO, K., eds. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: APHA, 2001. p.357-380.

ANDRIGHETTO, C.; GOMES, M.I.F.V. Produção de picolés utilizando leite acidófilo. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.6, n.2, p. 267-271, 2003.

ARAGON-ALEGRO, L.C.; ALEGRO, J.H.C.; CARDARELLI, H.R.; CHIU, M.C.; SAAD, S.M.I. Potentially probiotic and synbiotic chocolate mousse. **LWT – Food Science and Technology**, v.40, p.669-675, 2007.

ASSOCIAÇÃO DAS INDÚSTRIAS DE SORVETE. **Estatística**. Disponível em: http://www.abis.com.br/estatistica\_producaoeconsumodesorvetesnobrasil.html. Acesso: 02 set. 2012.

BAŞYIĞIT, G.; KULEAŞAN, H.; KARAHAN, A. Viability of human-derived probiotic lactobacilli in ice cream produced with sucrose and aspartame. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v.33, n.9, p.796-800, 2006.

BETORET, N.; PUENTE, L.; DÍAZ, M. J.; PAGÁN, M. J.; GRAS, J.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; FITO, P. Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 273–277, 2003.

BOZANIC, R.; TRATNIK, L. J.; HERCEG, Z.; MARIC, O. The influence of milk powder, whey protein concentrate and inulin on the quality of cow and goat acidophilus milk. **Acta Alimentaria**, v. 33, n. 4, p. 337.346, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Alimentos regionais brasileiros**. Brasília: Ministério da Saúde, 2002. p.52. (Série F. Comunicação e educação em saúde, n.21).

BURITI, F.C.A.; CARDARELLI, H.R.; FILISETTI, T.M.C.C.; SAAD, S.M.I. Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1605-1610, 2007.

- BURITI, F.C.A.; CASTRO, I.A.; SAAD, S.M.I. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic guava mousses and its survival under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v.137, n.2/3, p.121-129, 2010.
- BURITI, F. C.A.; KOMATSU, T.R.; SAAD, S.M.I. Activity of passion fruit (*Passiflora edulis*) and guava (*Psidium guajava*) pulps on *Lactobacillus acidophilus* in refrigerated mousses. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 38, n. 2, 2007.
- BURITI, F.C.A.; ROCHA, J.S.; ASSIS, E.G.; SAAD, S.M.I. Probiotic potential of Minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. **LWT Food Science and Technology**, v. 38, p. 173-180, 2005.
- BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. Bactérias do grupo *Lactobacillus casei*: caracterização, viabilidade como probióticos em alimentos e sua importância para a saúde humana. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 57, n. 4, p. 373-380, 2007.
- CARVALHO, G. A. Enriquecimento de sorvetes com microrganismos probióticos. Seropédica, 2006. 50 p. Dissertação de Mestrado Ciência e Tecnologia de Alimentos Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- CAVENDER, G. A.; KERR, W. L. Microfluidization of full-fat ice cream mixes: effects of gum stabilizer choice on physical and sensory changes. **Journal of Food Process Engineering**, v. 36, n. 1, p. 29-35, 2013.
- CLARKE, C. **The science of ice cream**. Cambrige: Royal Society of Chemistry, 2004. p.177-179. (RSC Paperbacks).
- CORREIA, R.T.P.; MAGALHÃES, M.M.A.; PEDRINI, M.R.S.; CRUZ, A.V.F.C.; CLEMENTINO, I. Sorvetes elaborados com leite caprino e bovino: composição química e propriedades de derretimento. **Revista de Ciências Agronômicas**, v.39, n.2, p.251-256, 2008.
- CORREIA, R. C.; MOREIRA, J.N.; ARAÚJO, J.L.P. Cadeia produtiva de caprinosovinos do vale do rio Gavião: elementos para tomada de decisão. Petrolina-PE: Embrapa Semi-Árido; Salvador: CAR, 2001. 39p.
- CRUZ, A.G.; ANTUNES, A.E.C.; HARAMI, J.B.; SOUSA, A.L.O.P.; FARIA, J.A.F.; SAAD, S.M.I. Sorvetes probióticos e prebióticos. In: SAAD, S.M.I.; CRUZ,A.G.; FARIA, J.A.F. **Probióticos e prebióticos em alimentos**: fundamentos e aplicações tecnológicas. 1. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2011, p. 359-388.

CRUZ, A.G.; ANTUNES, A.E.C.; SOUSA, A.L.O.P.; FARIA, J.A.F.; SAAD, S.M.I. Icecream as a probiotic food carrier. **Food Research International**, v.42, n.9, p.1233-1239, 2009.

DADOS estatísticos do setor. Disponível em: http://www.sicongel.org.br/arquivos/Dados\_ estatisticosdosetor2008.pdf. Acesso em: 14 jun. 2009.

DENIPOTE, F.G.; TRINDADE, E.B.S.M.; BURINI, R.C.A. Probióticos e prebióticos na atenção primária ao câncer de cólon. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 47, n. 1, p. 93-98, 2010.

DESAI, A. R.; SHAH, N. P.; POWELL, I. B. Discrimination of dairy industry isolates of the *Lactobacillus casei* group. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n.9; p. 3345-3351, 2006.

DUAS RODAS. Manual do amigo sorveteiro. [S.l.: s.n.](2005). 20p.

DUTCOSKY, S.D. **Análise Sensorial de Alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996. 123p.

EGITO, A.S.; SANTOS, K.M.O.; LAGUNA, L.E.; BENEVIDES, S.D. **Processamento de queijo de cabra com ervas aromáticas**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2007a. 6p. (Embrapa Caprinos e Ovinos - Comunicado Técnico n° 81).

EGITO, A.S.; SANTOS, K.M.O.; LAGUNA, L.E.; BENEVIDES, S.D. **Processamento de ricota a partir do soro de queijos de cabra**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2007b. 4p. (Embrapa Caprinos e Ovinos - Comunicado Técnico nº 82).

EL-NAGAR; 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, n. 2, p. 89-93, 2002.

FAVARO-TRINDADE, C.S.; BALIEIRO, J.C.C.; DIAS, P.F.; SANINO, F.A.; BOSCHINI, C. Effects of culture, pH and fat concentration on melting rate and sensory characteristics of probiotic fermented yellow mombin (*Spondias mombin* L) ice creams. **Food Science and Technology International**, v. 13, p. 285-291, 2007.

FAVARO-TRINDADE, C.S.; BERNARDI, S.; BODINI, R.B.; BALIEIRO, J.C.C.; ALMEIDA, E. Sensory acceptability and stability of probiotic microorganisms and

vitamin C in fermented acerola (*Malpighia emarginata* DC.) ice cream. **Journal of Food Science**, v.71, n.6, p.S492-S495, 2006.

FEITOSA, S. S. Nutrição mineral e adubação da cajazeira (*Spondias mombin* L.) na Zona da Mata Paraibana. Areia, 2007. 50p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Agronomia – Universidade Federal da Paraíba.

FERRAZ, J.L.; CRUZ, A.G.; CADENA, R.S.; FREITAS, M.Q.; PINTO, U.M.; CARVALHO, C.C.; FARIA, J.A.F.; BOLINI, H.M.A. Sensory acceptance and survival of probiotic bacteria in ice cream produced with different overrun levels. **Journal of Food Science**, v. 71, n.1, p. S24-S28, 2012.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. Report of a Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotic in Food, Ontario, Canada, 2002. Disponível em: ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf. Acesso em 17 jan. 2010.

HAENLEIN, G.F.W. Goat milk in human nutrition. **Small Ruminants Research**. v.51, p. 155-163, 2004.

HARAMI, J.B. Desenvolvimento de cereal em barra com gelado comestível simbiótico. São Paulo, 2008. 113p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

HEENAN, C.N.; ADAMS, M.C.; HOSKEN, R.W.; FLEET, G.H. Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. **LWT – Food Science and Technology**, v. 37, p. 461–466, 2004.

HEKMAT, S.; McMAHON, D.J. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. **Journal of Dairy Science**, n. 75, p. 1415-1422, 1992.

HOFF, D.N.; BRUCH, K.L.; PEDROZO, E.A. Desenvolvimento de nichos de mercado para pequenos negócios: leite e laticínios de cabras e ovelhas em Bento Gonçalves – RS. **Teoria e Evidências Econômicas**, Passo Fundo, v. 14, n.28, p. 128-154, 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ . **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4 ed. Brasília – DF: 2005. v.1.

KOLIDA, S.; GIBSON, G.R. Synbiotics in health and disease. **Annual Reviews Food Science Technology**, v. 2, p. 373 – 393, 2011.

KOMATSU, T.R.; BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n.3, p.329-347, 2008.

LAGUNA, L.E.; EGITO, A.S. logurte batido de leite de cabra adicionado de polpa de frutas tropicais. S.I.: Embrapa Caprinos, 2006. 10p. (Circular Técnica *on line* 32).

LARA-VILLOSLADA, F.; DEBRAS, E.; NIETO, A.; CONCHA, A.; GÁLVEZ, J.; LÓPEZ-HUERTAS, E.; BOZA,J.; OBLED, C.; XAUS, J. Oligosaccharides isolated from goat milk reduce intestinal inflammation in a rat model of destran sodium sulfate-induced colitis. **Clinical Nutrition**. v. 25, p. 477 - 488, 2006.

LISERRE, A.M.; RÉ, M.I.; FRANCO, B.D.G.M. Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* in modified alginate-chitosan beads and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions. **Food Biotechnology**, v.21, p.1-16, 2007.

LÓPEZ-ALIAGA, I.; ALFÉREZ, M.J.M.; NESTARES; M.T.; ROS, M.B.; BARRIONUEVO, M.; CAMPOS, M.S. Goat milk feeding causes na increase in biliary secretion of choresterol and a decrease in plasma choresterol levels in rats. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p; 1024 –1030, 2005.

MACEDO, R.E.F.; PFLANZER JÚNIOR, S.B.; TERRA, N.N.; FREITAS, R.J.S. Desenvolvimento de embutido fermentado por *Lactobacillus* probióticos: características de qualidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 509-519, 2008.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause alimentos, nutrição & dietoterapia**. 11.ed. São Paulo: Roca, 2005. 1242p.

MARTÍN-DIANA, A.B.; JANER, C.; PELÁEZ, C.; REQUENA, T. Development of a fermented goat's milk containing probiotic bactéria. **International Dairy Journal**, v. 13, p. 827–833, 2003.

MARTÍNEZ-FÉREZ, A.; RUDOLFF, S.; GUADIX, A. et al. Goat1s milk as a natural source of lactose-derived oligosaccharides: isolationby membrande technology. **International Dairy Journal,** v. 16, n. 2, p. 173-181, 2005.

MARTINS, E.C.; WANDER, A.E.; CHAPAVAL, L.; BOMFIM, M.A.D. **O** mercado e as potencialidades do leite de cabra na cidade de Sobral: a visão do consumidor. Disponível em: <www.cnpat.embrapa.br/sbsp/anais/Trab\_Format\_PDF/95.pdf>. Acesso em: 14 maio 2009.

MINEKUS, M.; MARTEAU, P.; HAVENAAR, R.; HUIS IN'T VELD, J.H.J. A multicompartmental dynamic computer-controlled model simulating the stomach and small intestine. **Alternatives to laboratory animals**, v.23, n. 2, p. 197–209, 1995.

MIREMADI, F.; SHAH, N.P. Applications of inulin and probiotics in health and nutrition. **International Food Research Journal**, v. 19, n. 4, p. 1337-1350, 2012.

MOLLY, K.; VANDEWOESTYNE, M.; DESMET, I.; VERSTRAETE, W. Validation of the simulator of the human intestinal microbial ecosystem (SHIME) reactor using microorganism associated activities. **Microbial Ecology Health and Diseases**, v. 7, n. 4, p. 191–200, 1994.

MORGAN, F.; GABORIT, P. The typical flavour of goat milk products: technological aspects. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, Inglaterra, v. 54, n. 1, p. 38 – 40, 2001.

MUSE, M.R.; HARTEL, R.W. Ice cream structural elements that affect melting rate and hardness. **Journal of Dairy Science**, v.87, n.4, p.1-10, 2004.

NEBESNY, E.; ZYZELEWICZ, D.; MOTYL, I.; LIBUDZISZ, Z. Dark chocolates supplemented with *Lactobacillus* strains. **European Food Research and Technology**, v. 225, p. 33–42, 2007.

NOCKER, A.; CHEUNG, C.; CAMPER, A.K. Comparison of propidium monoazide with ethidium monoazide for differentiation of live vs. dead bacteria by selective removal of DNA from dead cells. **Journal of Microbiological Methods**, p. 310-320, 2006.

NOGUEIRA FILHO, A.; FIGUEIREDO Jr., C.A.; YAMAMOTO, A. **Mercado de carne, leite e pele de caprinos e ovinos no Nordeste**. Fortaleza: Banco do Nordeste, 2010. (Série Documentos do Etene, v.27).

O'MAY, G. A.; MACFARLANE, G. T. Health claims associated with probiotics. In: TAMIME, A. Y. **Probiotic Dairy Products**. Oxford, Blackwell Publishing: 2005. p. 138 – 150.

PARK, Y. W. Bioactive components in goat milk. In. PARK, Y. W.(ed). **Bioactive components in milk and dairy products.** Singapore: Wiley-Blackwell, 2009, p. 43-70.

PAULA, C.M.; SANTOS, K.M.O.; SILVA, M.T.M.; OLIVEIRA, J.S.; PEREIRA, S.C. **Processamento de creme de leite de cabra padronizado pasteurizado**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2011. 4p. (Embrapa Caprinos e Ovinos - Comunicado Técnico, n.124).

PAULA, C.M. Desenvolvimento de sorvete potencialmente probiótico de leite de cabra, sabor morango, adoçado com açúcar e mel de abelhas africanizadas, no município de Sobral – CE. Sobral: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE, 2009. 49 p. [Trabalho de Conclusão de Curso].

PAVLOVIĆ, H.; HARDI,J.; SLACANAC, V.; HALT, M.; KOCEVSKI, D. Inhibitory effect of goat and cow milk fermented by *Bifidobacterium longum* on *Serratia marcescens* and *Campylobacter jejuni*. **Czech Journal of Food Science**, v. 24, n. 4, p. 164–171, 2006.

ROBERFROID, M.B. Prebiotics: concept, definition, criteria, methodologies, and products. In. GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M. **Handbook of prebiotic**. Boca Raton: CRC Press, 2008. p.40-42.

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.

SANTOS, K.M.O.; EGITO, A.S.; VIEIRA, A.D.S.; BURITI, F.C.A.; BENEVIDES, S.D.; LAGUNA, L.E. **Processamento de queijo caprino cremoso probiótico adicionado de** *Bifidobacterium animalis* **e** *Lactobacillus acidophilus***. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2010. 3p. (Embrapa Caprinos e Ovinos – Comunicado Técnico, n. 118).** 

SCHALLER-POVOLNY, L.A.; SMITH, D.E. Sensory attributes and storage life ofreduced fat ice cream as related to inulin content. **Journal of Food Science**, v.64, n.3, p.555-559, 1999.

SCHILLINGER, U.; GUIGAS, C.; HOLZAPFEL, W.H. *In vitro* adherence and other properties of lactobacilli used in probiotic yoghurt-like products. **International Dairy Journal**, v. 15, n. 12, p. 1289–1297, 2005.

SHEEHAN, V.M.; ROSS, P.; FITZGERALD, G.F. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 8, p. 279–284, 2007.

SHEIH, Y.; CHIANG, B.; WANG, L.; LIAO, C.; GILL, H.S. Systemic immunity-enhancing effects in healthy subjects following dietary consumption of the lactic acid bacterium *Lactobacillus rhamnosus* HN001. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 20, n. 2, p. 149–156, 2001.

SILANIKOVE, N.; LEITNER, G.; MERIN, U.; PROSSER, C.G. Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects. **Small Ruminant Research**, v.89, p.110–124, 2010.

SILVA, A.R.A.; MORAIS, S.M.; MARQUES, M.M.M.; OLIVEIRA, D.F.; BARROS, C.C.; ALMEIDA, R.R.; VIEIRA, I.G.P.; GUEDES, M.I.F. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of two *Spondias* species from Northeastern Brazil. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 6, p. 740 – 746, 2012.

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.

SUOMALAINEN, T.; LAGSTÖM, H.; MÄTTÖ, J.; SAARELA, M.; ARVILOMMI, H.; LAITINEN, I.; OUWEHAND, A.C.; SALMINEN, S. Influence of whey-based fruit juice containing *Lactobacillus rhamnosus* on intestinal well-being and humoral immune response in healthy adults. **LWT - Food Science and Technology,** v.39, p. 788–795, 2006.

TEIXEIRA, R.V. Cabra nossa de cada dia: um sonho em realização. Salvador: Solisluna Design, 2009. 158p.

THOMAS, D.J.; HUSMANN, R.J.; VILLAMAR, M.; WINSHIP, T.R.; BUCK, R.H.; ZUCKERMANN, F.A. *Lactobacillus rhamnosus* HN001 attenuates allergy development in a pig model. **Plos One**, v. 6, n. 2, p. 1-11, 2011.

TIBURSKI, J.H.; ROSENTHAL, A.; DELIZA, R.; GODOY, R.L.O.; PACHECO, S. Nutritional properties of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) pulp. **Food Research International**. v. 44, p. 2326 – 2331, 2011.

VIDIGAL, M.C.T.R.; MINIM, V.P.R.; CARVALHO, N.B.; MILAGRES, M.P.; GONÇALVES, A.C.A. Effect os a health claim on consumer acceptance of exotic Brazilian fruit juices: Açaí (*Euterpe oleracea Mart.*), Camu-camu (*Myrciaria dúbia*), Cajá (*Spondias lutea* L.) and Umbu (*Spondias tuberosa Arruda*). **Food Reserach International**, v. 44, n. 7, p. 1988 – 1996, 2011.

WILDMAN, R.E.C.; KELLEY, M. Nutraceutical and functional foods. In: WILDMAN, R.E.C., ed. **Handbook of nutraceutical and functional foods**. 2.ed. Boca Raton: CRC, 2007. p. 1-20.

**Anexo I –** Ensaios realizados para ajustar as formulações dos sorvetes. Ajustes na formulação SC (sorvete com gordura láctea caprina): 1, 3, 6, 7 e 9. Ajustes na formulação SI (sorvete com inulina): 2, 4, 5, 8 e 10.

I	Ensaios									
Ingredientes (%)	1	2	3	4	5	6	<b>7</b> *	<b>8</b> *	9**	10**
Leite de cabra integral	53,94	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Leite de cabra (0,5% de gordura)	-	53,94	35,00	39,96	38,44	33,58	32,62	39,90	32,24	37,24
Leite de cabra em pó integral 1	-	-	6,39	-	3,83	6,65	6,65	-	-	-
Leite de cabra em pó <sup>2</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	6,65	6,65
Sacarose	12,15	12,15	11,51	11,97	11,51	11,97	11,97	11,97	12,00	12,00
Creme de leite de cabra (50% de gordura)	8,10	-	9,83	-	-	9,65	9,65	-	10,00	-
Inulina	-	8,10	-	9,31	8,95	-	-	9,31	-	5,00
Glicose em pó	4,72	4,72	4,47	4,65	4,47	4,65	4,65	4,65	4,65	4,65
Estabilizante	0,16	0,16	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
Emulsificante	0,67	0,67	0,63	0,66	0,63	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66
Solução de água e ácido cítrico (1:1)	-	-	-	-	-	0,29	0,29	-	0,29	0,29
Polpa de cajá	20,26	20,26	31,98	33,26	31,98	33,26	33,26	33,26	33,26	33,26
Probiótico	-	-	-	-	-	-	0,06	0,06	0,06	0,06
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

<sup>Leite de cabra em pó integral Caprilat

Leite de cabra em pó obtido na Embrapa Caprinos e Ovinos, após secagem em spray dryer.

\* Sorvetes fabricados em produtora descontínua com capacidade de 45 L/h.

\*\* Sorvetes fabricados em produtora contínua PP12 Plus Finamac, com capacidade de 80L/h. Formulações escolhidas para dar continuidade ao experimento.</sup> 

Anexo II - Comunicado Técnico resultande dos ensaios realizados para obtenção de creme de leite de cabra padronizado.

Processamento de creme de leite

# <u>Comunicado</u>

ISSN 1676-7675 Sobral, Ce Novembro, 2011

Prática e Processo Agropecuário On line



# Processamento de Creme de Leite de Cabra Padronizado Pasteurizado

Clara Mitia de Paula Karina Maria Olbrich dos Santos<sup>2</sup> Maria Tamires Marques Silva3 Jacqueline da Silva Oliveira4 Suelene Carlos Pereira5

# Introdução

O leite de cabra é um alimento que se diferencia do leite de vaca em diversos aspectos. No leite de cabra são encontrados menores níveis de colesterol e da proteína a-s1-caseína, a qual está associada a alergias alimentares em crianças, bem como um percentual mais elevado de cálcio. Adicionalmente, na gordura do leite de cabra, os ácidos graxos denominados caproico, caprílico e cáprico são encontrados em concentrações duas vezes superiores às do leite de vaca, sendo esses indicados para pacientes em tratamento da síndrome de má absorção de nutrientes e distúrbios intestinais (ALFÉREZ et al., 2001). Por essas características, o leite e os derivados lácteos caprinos são de grande importância tanto para produtores quanto para consumidores que podem desfrutar de um produto diferenciado e de excelente qualidade.

Creme de leite é um produto lácteo relativamente rico em gordura retirada do leite através do desnate, ou

desnatamento, um procedimento tecnologicamente adequado para a separação da gordura. De acordo com a legislação brasileira, denomina-se creme de leite pasteurizado o creme que foi submetido à pasteurização mediante um tratamento térmico adequado (BRASIL, 1996). Quanto à denominação de venda, o produto é designado "creme de leite" ou simplesmente "creme", podendo indicar-se "de baixo teor de gordura" ou "leve" ou "semicreme", ou de "alto teor gorduroso", de acordo com a classificação correspondente (Tabela 1).

De acordo com seu conteúdo em matéria gorda, o creme de leite classifica-se em: creme de baixo teor de gordura ou leve, creme, e creme de alto teor de gordura (BRASIL, 1996). O creme cujo teor de matéria gorda seja superior a 40% m/m pode ser classificado como "duplo creme". O creme cujo conteúdo de matéria seja superior a 35% m/m poderá, opcionalmente, ser designado "creme para bater".

<sup>5</sup> Tecnól. de Alimentos, Esp. em Nutrição e Controle de Qualidade dos Alimentos



¹ Tecnól, de Alimentos, Mestranda do Programa de Pós-graduação em Tecnologia Bioguímico-Farmaucêutica FTB/FCF/USP.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Eng. de Alimentos. D. Sc. Pesquisadora da Embrapa Caprinos e Ovinos. email: karina@cnpc.embrapa.br

Bolsista FUNCAP. Estudante do Curso de Tecnologia de Alimentos do IFCE-Sobral
Estagiária da Embrapa Caprinos e Ovinos. Estudante do Curso de Tecnologia de Alimentos do IFCE-Sobral

Anexo III - Resultado do experimento conduzido para secagem de leite de cabra com 0,5% (m/v) de gordura.

	Parâmeti	ros do Equipam	ento*		Leite e	em pó
Temperatura de Entrada (°C)	Temperatura de Saída (°C)	Bomba de Alimentação	Fluxo de ar (m³/h)	Vazão de alimentação (mL/min)	Rendimento por litro (g)	Umidade (%)
130	73	30	45	10,0	63	3,74±0,04
130	57	40	45	12,5	58	4,57±0,98
130	70	30	50	10,0	66	3,76±0,99
130	59	40	50	12,5	50	3,72±0,52
160	84	30	45	10,0	72	2,39±0,06
160	77	40	45	12,5	64	3,05±0,17
160	88	30	50	10,0	56	2,63±0,49
160	75	40	50	12,5	56	2,40±0,65
190	103	30	45	10,0	62	2,51±1,01
190	92	40	45	12,5	58	1,97±0,34
190	102	30	50	10,0	44	2,61±0,84
190	93	40	50	12,5	54	1,76±0,35

Parâmetros escolhidos com base nos resultados obtidos para rendimento e umidade do produto. \*Equipamento utilizado: Mini Spray Dryer B-290 (Büchi, Flawil 1, Switzerland).

Anexo IV - Controle do pH (média ± desvio padrão) durante os testes de sobrevivência às condições gástricas e entéricas simuladas in vitro, após 28 e 84 dias de armazenamento

			pl	Н			
Dias de	Tombo de teste	Sorvetes					
armazenamento	Tempo do teste -	SCr	SCp	SIr	Slp		
	0-2h	3,18±0,03	3,18±0,02	3,24±0,02	3,24±0,02		
28	2-4h	4,87±0,03	4,87±0,01	5,09±0,04	5,12±0,04		
	4-6h	6,57±0,07	6,57±0,06	6,92±0,09	6,94±0,08		
	0-2h	3,04±0,08	3,01±0,06	2,98±0,06	3,06±0,04		
84	2-4h	4,92±0,01	4,81±0,04	5,13±0,01	5,11±0,03		
	4-6h	6,82±0,04	6,71±0,06	7,45±0,05	7,42±0,09		

SCr ( gordura láctea caprina + *L. rhamnosus* HN001) SCp (gordura láctea caprina + *L. paracasei* LBC82) SIr (inulina + *L. rhamnosus* HN001) SIp (inulina + *L. paracasei* LBC82)

**Anexo V –** Ofício de aprovação do Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP.





# UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

### PARECER CONSUBSTANCIADO

Parecer CEP/FCF/126/2010 Protocolo CEP//FCF/560 CAAE: 5015.1.000.018.10

#### - Identificação:

Projeto de Pesquisa:	Utilização de bactérias do grupo Lactobacillus casei no desenvolvimento de sorvete potencialmente probiótico de leite de cabra e polpa de cajá
Pesquisador Responsável:	Profa. Dra. Susana Marta Isay Saad
Instituição:	Faculdade de Ciências Farmacêuticas USP
Área Temática Especial:	Não
Patrocinadores:	FAPESP

#### II - Sumário Geral do Protocolo:

O objetivo deste projeto é desenvolver sorvetes utilizando leite de cabra, polpa de cajá e cepas potencialmente probióticas do grupo Lactobacillus casei observando se as características do produto serão preservadas ao longo de seu armazenamento a -18°C por até 12 semanas. Na primeira etapa do experimento serão realizados ensaios para o desenvolvimento de formulações com características tecnológicas adequadas. Na segunda, as formulações serão avaliadas quanto à estabilidade físico-química, à sobrevivência dos microrganismos benéficos e à aceitação sensorial. Essas etapas serão conduzidas na Embrapa Caprinos e Ovinos em Sobral (CE). Com o objetivo de comparar a aceitação das formulações entre consumidores de regiões distintas, será realizada outra análise sensorial no Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Universidade de São Paulo (FCF-USP), São Paulo. Ao fim, a formulação com as melhores características tecnológicas e sensoriais será submetida a teste de sobrevivência a condições gastrintestinais simuladas.

**Objetivos Geral:** Desenvolver formulações de sorvete probiótico de leite de cabra, sabor cajá.

# **Objetivos Específicos:**

- Verificar a viabilidade de cepas do grupo Lactobacillus casei nessas formulações ao longo de seu armazenamento a -18°C por até 12 semanas;
- Observar se as características do produto suplementado com esses microrganismos serão preservadas ao longo de seu armazenamento a -18°C por até 12 semanas;



#### UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

- Comparar a aceitabilidade do produto diante de consumidores de regiões distintas:
- Definir a formulação com as melhores características sensoriais e tecnológicas e submetê-la a teste de condições gastrintestinais simuladas.

Tipo de estudo: experimental

Descrição da Casuística: A análise sensorial será conduzida em duas etapas. A primeira será conduzida em Sobral com a participação de 40 até, no máximo, 480 voluntários adultos (provadores não treinados), de ambos os sexos. Esses voluntários saudáveis podem ser estagiários e funcionários da Embrapa Caprinos e Ovinos ou outros voluntários saudáveis que queiram participar do estudo. Serão adotados cuidados especiais para evitar que indivíduos subordinados ou diretamente ligados ao pesquisador sintam-se obrigados a participarem do estudo.

O número de provadores — de 40 a 480 — poderá variar em função da possibilidade de um mesmo provador participar de diferentes seções de análise sensorial. Como para cada amostra em um mesmo período de análise são necessários, no mínimo, 40 provadores diferentes para justificar um n suficiente para permitir uma análise estatística adequada, esse é o número mínimo de provadores necessário para cada seção de análise sensorial. Já o número máximo de 480 provadores só será atingido caso não haja repetição por parte de nenhum provador, o que raramente ocorre. Amostras de aproximadamente 20g das diferentes formulações (T1A, T1B, T2A e T2B), codificadas com 3 algarismos, aleatoriamente, serão oferecidas aos provadores monadicamente.

As análises têm em vista a comparação nos diferentes períodos de armazenamento da amostra (de acordo com o período necessário para a estabilização dos componentes da formulação, o período de uma possível comercialização de produtos similares disponíveis no comércio e a segurança dos provadores).

A avaliação sensorial será conduzida por teste de aceitabilidade, utilizandose escala hedônica de 9 pontos, com variação de gostei muitíssimo (9 pontos) a desgostei muitíssimo (1 ponto). Cada formulação será apresentada a 40 provadores não treinados em cada período (DUTCOSKI, 1996).

Finalizada essa etapa, será produzido outro lote das formulações, o qual será encaminhado ao Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica Universidade de São Paulo (FCF-USP). Para efeito de comparação, será conduzida uma análise sensorial complementar à primeira, com o objetivo de verificar a aceitabilidade das formulações desenvolvidas frente a consumidores de regiões diferentes. Nessa etapa participarão de 40 até, no máximo, 480 voluntários adultos, os quais podem ser alunos de graduação e de pós-graduação, docentes e funcionários da Universidade de São Paulo ou outros voluntários saudáveis que desejem participar do estudo. A metodologia de aplicação do teste seguirá os



# UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas Comité de Ética em Pesquisa - CEP

mesmos parâmetros descritos anteriormente. Totalizando, o número máximo de provadores que participarão da análise sensorial nos dois centros será de 960 (sendo 480 na Embrapa e 480 na FCF/USP).

Serão critérios de inclusão: possuir entre 18 e 60 anos, de ambos os sexos

Serão critérios de exclusão: possuir histórico de manifestação de alergia, intolerância a alimentos ou doença crônica (como diabetes, hipotiroidismo, hipertiroidismo, hipertensão, ou outras); estar fazendo tratamento médico; estar gripado, resfriado ou indisposto; ter entrado em contato, há menos de 1 hora, com materiais, alimentos ou cosméticos de cheiro forte

III - Situação do Projeto: APROVADO em reunião de 25/10/2010.

O pesquisador deverá:

- Comunicar ao CEP:
  - Eventuais modificações no projeto aguardando a apreciação e aprovação do CEP;
  - o A interrupção do projeto;
- Apresentar relatório parcial em <u>dezembro/2011</u> e relatório final em dezembro/2012.

São Paulo, 25 de outubro de 2010.

Profa. Dra. Mariza Landgraf Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

CEP/FCF/USP

#### Anexo VI - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Universidade de São Paulo Faculdade de Ciências Farmacêuticas

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

#### 1. INFORMAÇÕES DO SUJEITO DA PESQUISA

Nome:				
Documento de Identidade r	nº:		Sexo: ()	) M ( )F
Data de Nascimento: /	/			
Endereço:		N°	Complemento:	
Bairro:	Cidade:		Estado:	
CEP:	Telefones:			

#### 2. DADOS SOBRE A PESQUISA

Título do Projeto de Pesquisa: Utilização	de bactérias do grupo Lactobacillus casei no desenvolvimento de				
sorvete potencialmente probiótico de lei	ite de cabra e polpa de cajá				
Duração da Pesquisa: 2 anos; Análise sens	sorial – 1 ano				
Nome do pesquisador responsável: Profª. Drª. Susana Marta Isay Saad					
Cargo/ Função: Professora Associada	Nº do Registro do Conselho Regional: CRF-8: 9.541				
Instituição: Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP					

#### 3. REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PROVADOR SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

#### Justificativa, objetivos e procedimentos

Você foi convidado a participar da análise sensorial de um sorvete de leite de cabra e polpa de cajá. A base desse produto é o leite de cabra, um alimento rico em nutrientes, o qual apresenta baixo teor de colesterol, elevado índice de cálcio e proteínas quando comparado ao leite bovino. É uma alternativa para substituir o leite bovino em inúmeras preparações. Para conferir sabor ao sorvete, utilizou-se o cajá, um fruto tropical muito apreciado pelo sabor exótico. O desenvolvimento deste sorvete é realizado pela mestranda e co-responsável pelo projeto Clara Mítia de Paula (Tecnóloga em Alimentos), sob a orientação da Profª. Drª. Susana Marta Isay Saad. O produto foi elaborado e acondicionado de acordo com as Boas Práticas de Fabricação de Alimentos, na Unidade de Processamento de Produtos Lácteos e Laboratório de Ciência de Alimentos da Embrapa Caprinos e Ovinos, em Sobral (CE). Caso você tenha interesse em participar, acomode-se junto a uma das cabines do Laboratório de Análise Sensorial.

O produto a ser avaliado nessa análise possui em sua formulação: leite de cabra, polpa de cajá, espessantes e estabilizantes, saborizantes, açúcar e glicose. As formulações podem estar adicionadas de creme de leite de cabra ou inulina (fibra alimentar solúvel que traz benefícios à função intestinal). Todos os ingredientes da formulação são utilizados em produtos disponíveis para consumo humano, ou seja, são de grau alimentício. Além disso, os produtos foram adicionados de microrganismos que contribuem com a função intestinal (*Lactobacillus rhamnosus HN001 e Lactobacillus paracasei*), os chamados probióticos.

Para participar desta análise, você: deve ter entre 18 e 60 anos; gostar de produtos lácteos (iogurtes, queijos, sobremesas), não possuir histórico de manifestação de alergia, intolerância ou qualquer outro tipo de restrição aos ingredientes (como doença crônica ou tratamento médico com uso de medicamentos que podem interagir); não deve estar gripado, resfriado ou indisposto ou ter entrado em contato há menos de 1 hora com materiais, alimentos ou cosméticos de cheiro forte. Atendendo a essas condições, você poderá participar da análise sensorial do sorvete probiótico de leite de cabra e polpa de cajá.

Você receberá uma amostra e uma ficha de avaliação. A amostra contém aproximadamente 20g de sorvete. Prove a amostra e registre na ficha sua opinião com relação ao produto de uma maneira geral circulando o número na escala de 1 a 9, onde 1 = desgostei muitíssimo e 9 = gostei muitíssimo. Em seguida, escreva o que você mais gostou e o que menos gostou na amostra.

#### Desconfortos e riscos

Os riscos desse estudo são mínimos. Pelo fato do sorvete possuir em sua composição microrganismos que auxiliam na função intestinal, bem como a fibra alimentar utilizada, sendo reconhecidos como seguros, os possíveis desconfortos são mínimos. Adicionalmente, não foram encontradas evidências de risco ou desconforto relacionado à análise sensorial em estudos desse tipo.



#### Universidade de São Paulo Faculdade de Ciências Farmacêuticas

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

#### Benefícios esperados

Não há nenhum benefício direto. Porém, você contribuirá para o desenvolvimento de alimentos com características sensoriais adequadas às expectativas de potenciais futuros consumidores.

#### 4. ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA

Caso você não queira continuar participando da pesquisa, a qualquer momento você pode desistir, sem que haja qualquer prejuízo. Havendo qualquer dúvida com relação aos procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, você deve comunicar ao grupo de pesquisa, a qualquer momento. É assegurado que todas as informações pessoais serão confidenciais, o sigilo e privacidade também são garantidos, mesmo que os resultados sejam publicados em periódicos científicos.

Não haverá remuneração financeira aos participantes das análises sensoriais.

# 5. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Susana Marta Isay Saad e Clara Mítia de Paula
Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica. Av. Prof. Lineu Prestes, 580
CEP05508-000 São Paulo-SP
Telefone: (11) 3091-2379

Karina Maria Olbrich dos Santos e Flávia Carolina Alonso Buriti Embrapa Caprinos e Ovinos. Estrada Sobral-Groaíras Km 04. CEP 62030-970 Sobral-CE Telefone: (88) 3112-7444

	ARES	
7. CONSENTIMENTO PÓS-ESCLA		
anos, não tenho nenhuma doença o tratamento médico (tomando algum	crônica (como diabetes, hipotiroidismo, h medicamento) e aceito participar dessa a e esclarecido pelo pesquisador e ter ente	ncia aos ingredientes, tenho entre 18 e 60 ipertensão ou outras), não estou fazendo nálise." ndido o que me foi explicado, consinto em
, de	de	
Assinatura do sujeito de pesquisa	Assinatura do pesquisador responsável Profa. Dra. <b>Susana Marta Isay Saad</b>	Assinatura do pesquisador co-responsável Clara Mitia de Paula

Para qualquer questão, dúvida, esclarecimento ou reclamação sobre aspectos éticos dessa pesquisa, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo – Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - Bloco 13A – Butantã – São Paulo – CEP 05508-900. Fone: 3091-3622, fone-fax: 3091-3677 – e-mail: cepfcf@usp.br

Nome:
Nome:
Produto: "Sorvete de leite de cabra, sabor cajá." Nº da amostra:
Por favor, prove a amostra que você acabou de receber, e em seguida, circule o número na escala abaixo que indique a sua opinião geral sobre o produto.
9 = gostei muitíssimo
8 = gostei muito
7 = gostei moderadamente
6 = gostei ligeiramente
5 = nem gostei nem desgostei
4 = desgostei ligeiramente
3 = desgostei moderadamente
2 = desgostei muito
1 = desgostei muitíssimo
Cite a característica que você mais gostou na amostra : Comente:
Cite a característica que você menos gostou na amostra 🕃 : Comente:

**Anexo VII –** Modelo da ficha de avaliação sensorial utilizada no presente trabalho.

**Anexo VII –** Curriculum lattes.

http://lattes.cnpq.br/9499417447715344