

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE TECNOLOGIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CÂMPUS CAMPO MOURÃO - PARANÁ

RENAN LUIZ ROMANO GON

**APLICAÇÃO E VIABILIDADE DE *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* E
S. thermophilus MICROENCAPSULADOS EM
FROZEN YOGURT DE SOJA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2014

RENAN LUIZ ROMANO GON

**APLICAÇÃO E VIABILIDADE DE *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* E
S. thermophilus MICROENCAPSULADOS EM
FROZEN YOGURT DE SOJA**

Trabalho de conclusão de curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos da Coordenação dos Cursos de Tecnologia e Engenharia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, *campus* Campo Mourão, como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Orientadores: Profa. Dra. Regiane da Silva Gonzalez

Profa. Dra. Maria Josiane Sereia

CAMPO MOURÃO
2014



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Campo Mourão

Coordenação dos Cursos de Tecnologia e Engenharia de Alimentos
Engenharia de Alimentos



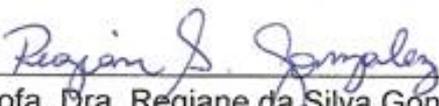
TERMO DE APROVAÇÃO

APLICAÇÃO E VIABILIDADE DE *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* E *S. thermophilus*
MICROENCAPSULADOS EM FROZEN YOGURT DE SOJA

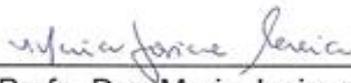
por

RENAN LUIZ ROMANO GON

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 27 de Fevereiro de 2014 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.



Profa. Dra. Regiane da Silva Gonzalez
Orientador



Profa. Dra. Maria Josiane Sereia
Orientador



Profa. Dra. Adriana Aparecida Droval
Membro titular



Profa. Dra. Mirian Soudaleff Laczkowski
Membro titular

À memória de meu pai José Sidney Gon. À minha mãe Maria Cecília Romano Gon e à minha irmã Thais Caroline Romano Gon que são as pessoas mais importantes da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo que tenho conquistado e por ter me dado força durante esses cinco anos de faculdade.

À minha mãe Maria Cecília Romano Gon por todo o carinho, dedicação e sacrifício. Apoiando-me sempre nos momentos difíceis, ensinando-me a persistir meus objetivos e ajudando-me a alcançá-los durante todos esses anos.

À minha irmã Thais Caroline Romano Gon por ter me dado todo o incentivo, pelo companheirismo e pelo exemplo de caráter. Sempre seguirei seus passos.

À minha orientadora Regiane da Silva Gonzalez, por ter me dado a oportunidade de participar do projeto de iniciação científica ao longo desses anos, nos quais obtive grande conhecimento e sou grato por isso.

À minha orientadora Maria Josiane Sereia, que me acolheu nessa etapa final do curso e me ajudou e me ensinou muito durante a realização do trabalho, no qual sou grato pro isso.

À Jéssica Silva e Karla Bornhausen por todos esses anos de parceira de projeto.

A todos que me ajudaram para que a realização desse trabalho seja concluída, em especial a Letícia Misturini Rodrigues que sempre esteve do meu lado dando apoio e me ajudando em que eu precisasse e também a Barbara Martins, Gloria Rossi e Thaise Pascoato por toda a ajuda.

A todos os meus amigos que estiveram sempre do meu lado durante esses anos de faculdade, em especial Daiane Soares, Isabela Freitas, Jéssica Antonio, Jorge Sanchez, Kamila Spacki, Luana Ferracini, Martha Soudaleff, Tauã de Oliveira, Valéria Castro e Valquíria Rojas.

Aos meus amigos de Araçatuba que sempre estiveram torcendo, em especial Amanda Alanis, Bruno Ferro, Ivan Cantieri, Jéssica Cassiano, Jéssica Oshiro, Larissa Cazelato e Marcos Trevisan.

Às minhas veteranas que me acolheram como membro da turma, em especial, Camila Gazola, Maresa Molinari e Thayse Trevisoli.

Aos professores da Coordenação de Engenharia e Tecnologia de Alimentos que se dedicaram não apenas para me ensinar, mas também para aprender que é preciso ter foco, dedicação e caráter para se tornar um Engenheiro de Alimentos.

Agradeço aos professores da banca examinadora, pela atenção e sugestões que contribuíram para que este trabalho fosse concluído.

Muito Obrigado!

“Lembremo-nos de que o homem interior se renova sempre. A luta enriquece-o de experiência, a dor aprimora-lhe as emoções e o sacrifício tempera-lhe o caráter.”

Chico Xavier

RESUMO

GON, R. L. R. **Aplicação e Viabilidade de *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* E *S. thermophilus* Microencapsulados em *Frozen Yogurt* de Soja.** 2014. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

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

Palavras-chave: Alimento funcional, Micelas, Probióticos, Gelado Comestível.

ABSTRACT

GON, R. L. R. **Application and viability of *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* and *S. thermophilus* microencapsulated in soy frozen yogurt.** 2014. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2014.

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

Keywords: Functional Food, Micelles, Probiotics, Edible Frosty.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Etapa de congelamento do <i>frozen yogurt</i>	23
Figura 2. Esquema ilustrativo do teste de derretimento das amostras de <i>frozen</i> : Amostra de <i>Frozen</i> (A); Tela de Malha (B); Funil (C); Proveta (D).....	25
Figura 3. Viscosímetro Brookfield.....	26
Figura 4. Micelas de albumina e colágeno, contendo bactérias probióticas.....	30
Figura 5. Leitura do pH das amostras de <i>frozen</i> com micela e sem micela durante o tempo de armazenamento.....	32
Figura 6. Gráfico do derretimento do <i>frozen</i> a base de “leite” soja em função do tempo.	33
Figura 7. Contagem de bactérias lácteas viáveis durante seis semanas de armazenamento.	37
Figura 8. Resultados da Análise Sensorial.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Regressão linear para determinação do tempo inicial de derretimento.....	33
Tabela 2. Média das contagens dos microrganismos probióticos (10^6) e seus respectivos desvios padrão durante 6 semanas de armazenamento.....	37
Tabela 3. Média das notas e respectivos desvios padrão atribuídas pelos provadores para os atributos sensoriais avaliadas para os <i>frozen yogurt</i> elaborados com e sem adição de micela.	38

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	16
3.2 CÁLCIO	17
3.3 <i>FROZEN YOGURT</i>	18
3.4 PROBIÓTICOS	18
3.5 MICROENCAPSULAÇÃO	19
4 MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO	21
4.2 PREPARO DA CULTURA PROBIÓTICA.....	21
4.3 SÍNTESE E PREPARO DAS MICELAS	21
4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS MICELAS	22
4.4.1 Análise Microscópica.....	22
4.4.2 Intumescimento	22
4.5 ELABORAÇÃO DO <i>FROZEN YOGURT</i> DE SOJA	23
4.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	24
4.6.1 Determinação de pH	24
4.6.2 Derretimento (<i>melting test</i>)	24
4.6.3 <i>Overrun</i>	25
4.6.4 Viscosidade Aparente.....	26
4.6.5 Teor de Cálcio	26
4.7 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	27
4.7.1 Pesquisa de Coliformes a 35°C e a 45°C	27
4.7.2 Enumeração dos Microrganismos Probióticos	28
4.8 ANÁLISE SENSORIAL.....	28
4.8.1 Análises Estatísticas dos Dados	29

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1 SÍNTESE E PREPARO DAS MICELAS	30
5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MICELAS	30
5.2.1 Análise Microscópica.....	30
5.2.2 Intumescimento	31
5.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO <i>FROZEN</i>	31
5.3.1 Determinação de pH	31
5.3.2 Derretimento (<i>melting test</i>)	33
5.3.3 Overrun	34
5.3.4 Viscosidade Aparente.....	35
5.3.5 Teor de Cálcio	35
5.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	36
5.4.1 Pesquisa de Coliformes a 35°C e a 45°C	36
5.4.2 Enumeração dos Microrganismos Probióticos	36
5.5 ANÁLISE SENSORIAL.....	38
6 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS.....	41
ANEXO	49

1 INTRODUÇÃO

Alimentos funcionais são alimentos ou ingredientes que se caracterizam por oferecer vários efeitos benéficos à saúde, além de suas funções nutricionais básicas podem desempenhar um papel potencialmente benéfico na redução do risco de doenças crônicas degenerativas (NUTRIJR, 2007). Existem vários estudos que demonstraram que a redução do risco de inúmeras doenças, como câncer de esôfago, pulmão, próstata, mama, cólon e reto, doenças cardiovasculares, osteoporose, diabetes e sintomas da menopausa, estavam relacionados ao consumo de grãos ou produtos derivados da soja (CDR, 1999; TOLEDO, et al., 2007).

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

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

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

Uma alternativa para produtos lácteos enriquecidos com probióticos, de acordo com Alves et al. (2009), é o sorvete do tipo *frozen yogurt*, o qual possui um sabor agradável e uma textura atrativa, além de possuir baixo teor de gordura em

relação ao sorvete convencional. Além disso, alguns estudos demonstraram que é possível produzir *frozen yogurt* com adição de probióticos, porém os microrganismos devem sobreviver à estocagem a frio. Neste caso estes microrganismos podem ser protegidos através do microencapsulação.

A microencapsulação consiste num processo de empacotamento de materiais sólidos, líquidos ou gasosos em cápsulas que podem liberar seu conteúdo de maneira controlada e sob influência de condições específicas (TODD, 1970). Na indústria de alimentos a microencapsulação pode ser empregada em diversas finalidades como, promover liberação controlada de um material ativo encapsulado, controlar reações de oxidação, mascarar sabores, cores e odores de determinados componentes, aumentar a vida útil, e proteger contra a luz, umidade e perda nutricional dos componentes (PINTO, 2012).

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

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

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

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Superativar a cultura de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus thermophilus*;
- Preparar micelas de albumina e colágeno contendo bactérias *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus thermophilus*;
- Caracterizar microscopicamente as micelas;
- Análise de intumescimento das micelas;
- Elaborar *frozen yogurt* a base de “leite” de soja;
- Realizar análises físico-químicas: pH, derretimento, *overrun*, viscosidade aparente e teor de cálcio;
- Realizar análises microbiológicas das formulações de estudo e controle;
- Submeter às formulações a análise sensorial para verificar sua aceitabilidade e intenção de compra.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Alimentos funcionais são definidos como qualquer substância ou componente de um alimento que proporciona benefícios para a saúde, inclusive a prevenção e o tratamento de doenças. As suas funções nutricionais como fonte de energia e de substrato para a formação de células e tecidos, possui, em sua composição, uma ou mais substâncias capazes de agir no sentido de modular os processos metabólicos, melhorando as condições de saúde, promovendo o bem-estar das pessoas e prevenindo o aparecimento precoce de doenças degenerativas, que levam a uma diminuição da longevidade (PACHECO, SGARBIERI, 2000; ANJO, 2004).

Assim, muitas das doenças crônicas, como o diabetes e a hipertensão podem ser prevenidas com o consumo diário de alimentos funcionais, ou ainda, aos que já apresentam a doença, podem reduzir danos consequentes, como a prevenção de doenças cardiovasculares (GAMARANO; FRAIGE FILHO, 2004).

Nos últimos anos os produtos a base de soja, particularmente o “leite” de soja, vem despertando grande interesse pelo seu consumo. Além disso, é uma bebida de baixo custo, de alto valor nutritivo e de fácil obtenção, além de ser uma importante alternativa na alimentação de pessoas impossibilitadas de consumirem produtos de origem animal (EMBRAPA, 2003).

Além de ser uma ótima opção alimentar, com alto valor nutricional os produtos a base de soja, constituindo excelente fonte de energia e proteína, além de razoável fonte de vitaminas e minerais (MIYASAKA, MEDINA, 1981), possuem compostos que o classificam como alimento funcional, como no caso dos flavonóides da soja nos quais têm sido os mais estudados por apresentarem atividade diurética; reversão da perda óssea induzida por deficiência hormonal; redução do LDL-colesterol plasmático; possuem mecanismos envolvendo efeitos antioxidantes, efeitos protetores na formação de trombose e manutenção de reatividade vascular normal (ANGELIS, 2002; SILVA, 2008).

Apesar de todas estas propriedades, existe um grande obstáculo para o consumo do “leite” de soja, que se dá devido ao seu sabor característico e acentuado, o que reduz a aceitação do produto pelo consumidor (EMBRAPA, 2003).

3.2 CÁLCIO

O cálcio é um macromineral encontrado em maior quantidade no organismo, o que corresponde a uma variação de 1,5% a 2% do peso corpóreo. Cerca de 99% de cálcio se encontra presente nos ossos e dentes. Neste sentido vale ressaltar que o consumo adequado de cálcio é necessário para o crescimento e manutenção da integridade do esqueleto durante a vida adulta (GALISA, ESPERANÇA, SÁ, 2008).

O consumo adequado é essencial na constituição do fluido extracelular, sangue e tecido muscular, contribuindo em vários processos como a contração muscular, transmissão de impulsos nervosos, coagulação do sangue, contração muscular, atuando também na respiração celular e no funcionamento do organismo (PASSOS, MORAES, 2012).

A recomendação diária de cálcio varia de 600 até 1200 mg/dia conforme idade e sexo (BRASIL, 2005b). A deficiência pode causar câibras e irritabilidade por tratar-se de um mineral essencial para a transmissão nervosa e regulação dos batimentos cardíacos, na corrente sanguínea (por má alimentação, questões hormonais ou outros motivos) o corpo tende a repor essa deficiência retirando cálcio dos ossos causando a perda de sua massa (AUGUSTINHO, 2007; GARCIA, 2008).

Para indivíduos cujo consumo de alimentos ricos em cálcio encontra-se limitado, os alimentos fortificados e os suplementos de cálcio constituem uma alternativa para alcançar o consumo adequado (BRYANT, CADOGAN, WEAVER, 1999).

3.3 FROZEN YOGURT

Segunda a revista Sorvete & Casquinha (2012), *frozen yogurt* é uma sobremesa congelada, tipo sorvete, mas que utiliza leites fermentados como principal matéria-prima. O *frozen yogurt* possui seu principal apelo mercadológico como um produto saudável, pois contém, dependendo de sua formulação, metade das calorias do sorvete comum e cerca de 70% menos gordura.

A Agência de Vigilância Sanitária classifica o *frozen yogurt* como um gelado comestível e o define como produto obtido basicamente de leite, submetido à fermentação láctea através da ação de bactérias probióticas ou a partir de iogurte com ou sem adição de outras substâncias alimentícias, sendo posteriormente aerado e congelado (BRASIL, 2005a).

De maneira geral, as operações envolvidas na produção de *frozen yogurt* são semelhantes àquelas empregadas na fabricação de sorvetes. Tais operações compreendem as etapas de mistura dos ingredientes, pasteurização, homogeneização, resfriamento, maturação, congelamento, envase e armazenamento. Entretanto, algumas modificações são necessárias uma vez que o *frozen yogurt* é submetido à fermentação láctea ou adicionado de iogurte (GOFF, 1997; ORDÓÑEZ *et al.*, 2005).

3.4 PROBIÓTICOS

Probióticos são culturas puras ou mistas de bactérias lácticas vivas benéficas e outras bactérias como de gênero Bifidobactérias ou leveduras aplicadas como células secas ou em produto fermentado. São suplementos alimentares que contêm bifidobactérias ou bactérias benéficas para a melhora do balanço intestinal através da colonização do intestino por outras espécies, do controle do colesterol, das diarreias e da redução do risco do desenvolvimento do câncer. Têm a função de estimular o sistema imunológico e alterar o mecanismo microbiano (FULLER, 1992; ANJO, 2004).

A influência benéfica dos probióticos sobre a microbiota intestinal humana inclui fatores como efeitos antagônicos, competição e efeitos imunológicos, resultando em um aumento da resistência contra microrganismos patogênicos. Assim, a utilização de culturas bacterianas probióticas estimula a multiplicação de bactérias benéficas, em detrimento da proliferação de bactérias potencialmente prejudiciais, reforçando os mecanismos naturais de defesa do hospedeiro (COOK et al., 2002).

Segundo Pinto (2012), os probióticos podem fazer parte de alimentos industrializados, como leites fermentados ou encontrados na forma de pó ou cápsulas. Os microrganismos probióticos mais empregados em produtos alimentícios são pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*.

Devido aos seus vários efeitos benéficos, os probióticos têm sido incorporados nos mais diversos alimentos, incluindo iogurtes, queijos, sorvetes, leites fermentados e sobremesas congeladas. No entanto, existem ainda diversos problemas com relação à viabilidade e resistência das culturas probióticas nesses alimentos (MENEZES et al., 2013).

3.5 MICROENCAPSULAÇÃO

A tecnologia de encapsulação probiótica (PET, probiotic encapsulation technology) é um campo da Biofarmácia que surgiu e desenvolveu-se rapidamente na última década. Com base nessa tecnologia, uma grande variedade de microrganismos foram imobilizados dentro de materiais semipermeáveis e biocompatíveis que modulam o fornecimento de células. A encapsulação tende a estabilizar as células, potencialmente aumentando a sua viabilidade e estabilidade durante a produção, armazenamento e manuseamento (GBASSI, VANDAMME, 2012).

O termo encapsulação segundo a revista *Cosméticos & Perfumes* (2005), é derivado do latim *cápsula*, que significa *pequena caixa*. Basicamente, a microencapsulação é uma tecnologia que permite isolar partículas do meio externo

de natureza química ou biológica na forma de líquido sólida ou gasosa, formando cápsulas, as quais podem liberar seu conteúdo em taxas controladas sob condições específicas. Tais microcápsulas podem apresentar tamanho e formas variadas, dependendo dos materiais e métodos utilizados em sua preparação. (MENEZES et al., 2013).

A diferença entre encapsulação, microencapsulação e nanoencapsulação está relacionado ao tamanho da cápsula (COSMÉTICOS & PERFUMES, 2005). A microencapsulação é utilizada em variadas aplicações em produtos como óleos essenciais, herbicidas, inseticidas, paraticidas, armadilhas biológicas, biopesticidas, fármacos, produtos alimentícios, suplementos minerais, aromas, fragrâncias e aditivos naturais, entre outros (ROSA et al., 2006).

A microencapsulação de culturas probióticas tem sido amplamente empregada com o intuito de proteger as células bacterianas contra danos causados pelo ambiente externo, auxiliando na resistência do microrganismo ao processamento do alimento, acidez, condições no trato gastrointestinal, baixas temperaturas de armazenagem, tempo de estocagem e presença de oxigênio (PINTO, 2012).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO

O presente trabalho foi realizado nos laboratórios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) *campus* Campo Mourão.

4.2 PREPARO DA CULTURA PROBIÓTICA

Realizou-se a super ativação da cultura de *Lactobacillus acidophilus* LA-5® (1.10⁶UFC/g), *Bifidobacterium* BB-12® (1.10⁶UFC/g) e *Streptococcus thermophilus* (concentração não especificada pelo fabricante) da marca Bio Rich® dissolvendo-se uma alíquota de 2 gramas da cultura probiótica em 200 mL de leite desnatado UHT, previamente esterilizado e resfriado em frasco asséptico, o qual foi incubado em estufa bacteriológica a 37°C por um período de 12 horas.

4.3 SÍNTESE E PREPARO DAS MICELAS

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

Para o preparo das micelas de albumina e colágeno contendo a cultura mista de *L. acidophilus*, *Bifidobacterium*, e *S. thermophilus*, preparou-se inicialmente 400 mL de uma solução de colágeno a 20% em água aquecida à temperatura de 60°C, e 400 mL de solução de albumina a 10% em água à 20°C. A incorporação de 200 mL das bactérias superativadas ocorreu agitando-se por 3 minutos em agitador mecânico (Fisatom, Mod. 713D) com uma velocidade de 450rpm (rotações por minuto). Após a mistura de albumina, colágeno e as bactérias, adicionou-se à

mistura 6 mL de Tween 80 e agitou-se por 3 minutos, com o objetivo de dar início a formação das micelas.

Em seguida, adicionou-se a esta mistura 800 mL de água gelada a temperatura de 2°C onde agitou-se por mais 3 minutos. Neste momento ocorreu a formação das micelas de albumina e colágeno as quais se reticularam por meio da adição de 320 mL da solução de CaCl₂ a 8%. Logo após, ajustou-se o pH da solução em 4, com a utilização do ácido clorídrico (HCl), fazendo com que as micelas diminuíssem o seu tamanho. Em seguida, centrifugou-se a solução para ocorrer a decantação das micelas. Posterior à centrifugação, as micelas foram armazenadas em frascos assépticos e em geladeira, à temperatura de 5°C.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS MICELAS

4.4.1 Análise Microscópica

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

4.4.2 Intumescimento

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

4.5 ELABORAÇÃO DO *FROZEN YOGURT* DE SOJA

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

O preparo ocorreu em duas etapas, sendo elas o preparo da base e o preparo da calda. Para base utilizou-se 2,0 L de “leite” de soja, o qual foi preparado de acordo com as recomendações do fabricante (Oliveira). Sobre este volume adicionou-se uma mistura sólida de 0,3% de carbonato de cálcio, 1% de goma guar, 1% de amido modificado, 10% de açúcar. A mistura foi homogeneizada em liquidificador industrial por 5 minutos. Após a homogeneização, a mistura sofreu um tratamento térmico, no qual ocorreu em banho-maria sob agitação manual intermitente até atingir a temperatura de 90°C por 10 minutos. Em seguida a base foi resfriada até atingir a temperatura de 36°C e maturada em câmara fria à temperatura de 7°C por 18 horas.

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

A calda foi congelada em sorveteira vertical da marca Fort Frio à temperatura de -20°C (Figura 1). As micelas foram adicionadas no final do processo de congelamento na proporção de 10% sobre o volume congelado. No tratamento controle foi adicionado 10% da cultura láctica sem estar microencapsulada.



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

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

4.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

4.6.1 Determinação de pH

Realizou-se determinação de pH por meio do método potenciométrico seguindo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008). Uma amostra de 10 gramas de *frozen yogurt* foi diluída com auxílio de 100 mL de água destilada e agitou-se até a uniformidade. Determinou-se o pH utilizando um pHmetro (MS tecnopon Equip. Especiais Ltda, modelo mPA-210) previamente calibrado, operando-o de acordo com as instruções do manual do fabricante. A leitura foi realizada a cada sete dias durante 42 dias experimentais.

4.6.2 Derretimento (*melting test*)

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

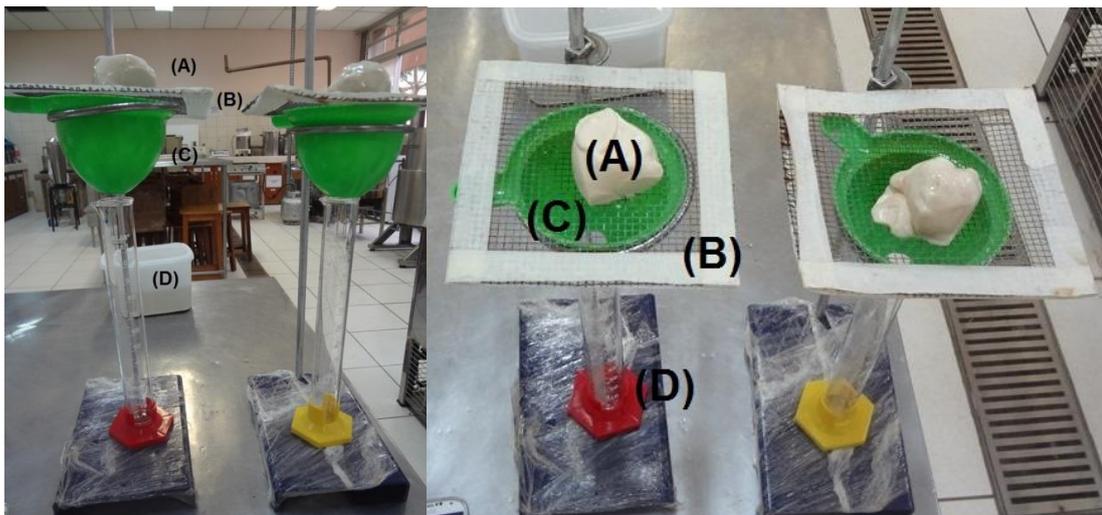


Figura 2. Esquema ilustrativo do teste de derretimento das amostras de *frozen*: Amostra de *Frozen* (A); Tela de Malha (B); Funil (C); Proveta (D).

4.6.3 Overrun

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

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

Onde:

V_i = Volume inicial da calda, em mL

V_f = Volume final do *frozen*, em mL

4.6.4 Viscosidade Aparente

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

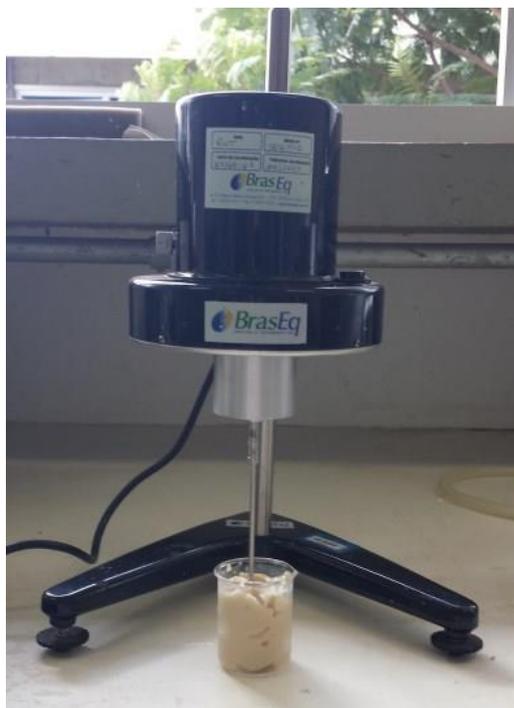


Figura 3. Viscosímetro Brookfield.

4.6.5 Teor de Cálcio

A dosagem do teor de cálcio das amostras foi determinada por titulação complexométrica, com EDTA seguindo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008). Para tal, pipetou-se 5 mL da amostra de *frozen* e adicionou-se 10 mL de

solução padrão de EDTA a $0,04 \text{ mol dm}^{-3}$ e agitou-se vigorosamente. Em seguida, ajustou-se o pH em 13 adicionando-se 15 mL de NaOH a $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$. Após, adicionou-se uma mistura sólida do indicador calcon até a solução adquirir coloração azul. Titulou-se com solução padrão de cálcio a $0,025 \text{ mol dm}^{-3}$ até a mudança de cor do indicador para rosa. Terminado a titulação realizou-se os cálculos de acordo com a Equação 2. A análise do teor de Cálcio foi realizada em triplicata.

Quantidade de Cálcio, em g/100 mL de *frozen*:

$$C_{Ca^{2+}} = 0,020 \cdot (10,00 \cdot C_{EDTA} - V_{Ca} \cdot C_{Ca}) \cdot 40,078 \quad (2)$$

Onde:

C_{EDTA} = Concentração da solução padrão de EDTA (mol dm^{-3})

V_{Ca} = Volume na titulação da solução padrão de cálcio (mL)

C_{Ca} = Concentração da solução padrão de cálcio (mol dm^{-3})

4.7 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

4.7.1 Pesquisa de Coliformes a 35°C e a 45°C

Para a pesquisa de coliformes a 35°C e a 45°C procedeu-se segundo a Instrução Normativa de 62 (BRASIL, 2003). A prova presuntiva foi realizada por meio da inoculação da amostra em caldo lauril sulfato de sódio. A presença de coliformes foi evidenciada pela formação de gás nos tubos de Durhan, produzido pela fermentação da lactose contida no meio.

A prova confirmativa para coliformes a 35°C ocorreu por meio da inoculação dos tubos positivos, da prova presuntiva, para tubos contendo em caldo verde brilhante bile lactose 2% e posterior incubação a $36 \pm 1^\circ\text{C}$.

A prova confirmativa para coliformes a 45°C foi realizada pela inoculação dos tubos positivos da prova presuntiva para tubos contendo caldo EC e posterior incubação em temperatura seletiva de $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$. A presença de gás nos tubos de Durham evidenciou a fermentação da lactose presente no meio.

4.7.2 Enumeração dos Microrganismos Probióticos

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

4.8 ANÁLISE SENSORIAL

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

Para a avaliação sensorial utilizou-se o teste afetivo de aceitação por escala hedônica de 9 pontos descrita por Dutcosky (2011), tendo como extremos (1 – Desgostei muitíssimo e 9 – Gostei muitíssimo) (Anexo B). O teste foi realizado com 100 provadores não treinados, receberam individualmente 20 g de cada amostra em copos plásticos descartáveis codificados com números aleatórios de três dígitos, acompanhados de uma colher descartável, um copo com água potável e as fichas de respostas.

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

4.8.1 Análises Estatísticas dos Dados

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

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SÍNTESE E PREPARO DAS MICELAS

Após o preparo obteve-se um hidrogel de consistência viscosa composta por micropartículas de albumina e colágeno, no qual as bactérias foram microencapsuladas com a reticulação do cálcio.

5.2 CARACTERIZAÇÃO DAS MICELAS

5.2.1 Análise Microscópica

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

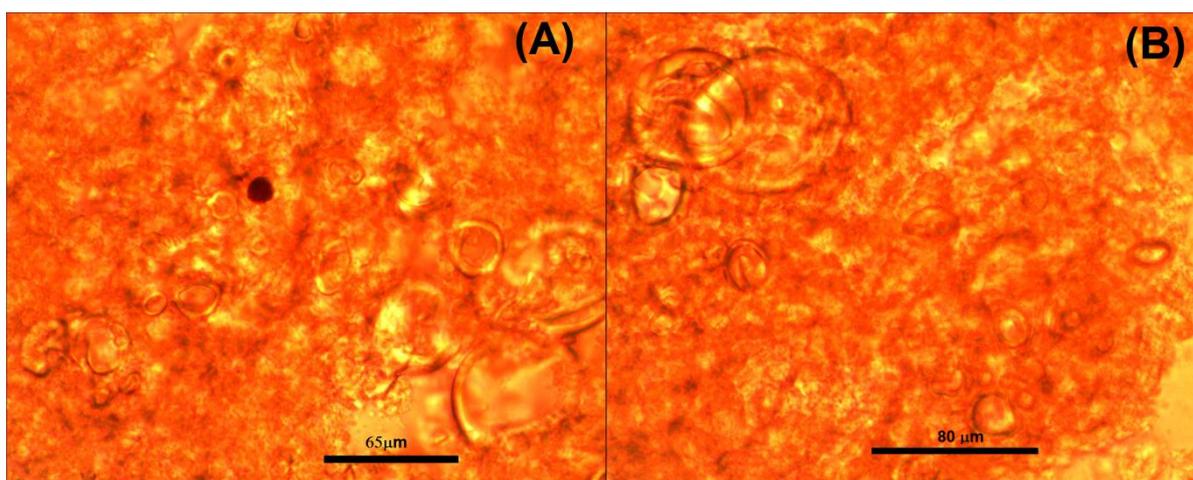


Figura 4. Micelas de albumina e colágeno, contendo bactérias probióticas, com objetiva de 40x (A - 65μm, B - 80μm).

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

5.2.2 Intumescimento

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

5.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DO *FROZEN*

5.3.1 Determinação de pH

Os valores de pH para o tratamento controle variou de 6,54 a 6,56 durante as seis semanas de armazenamento. Para os tratamentos com bactérias microencapsuladas o pH variou de 6,52 a 6,58 (Figura 5). Não foi observado diferenças significativas a nível de 5%.

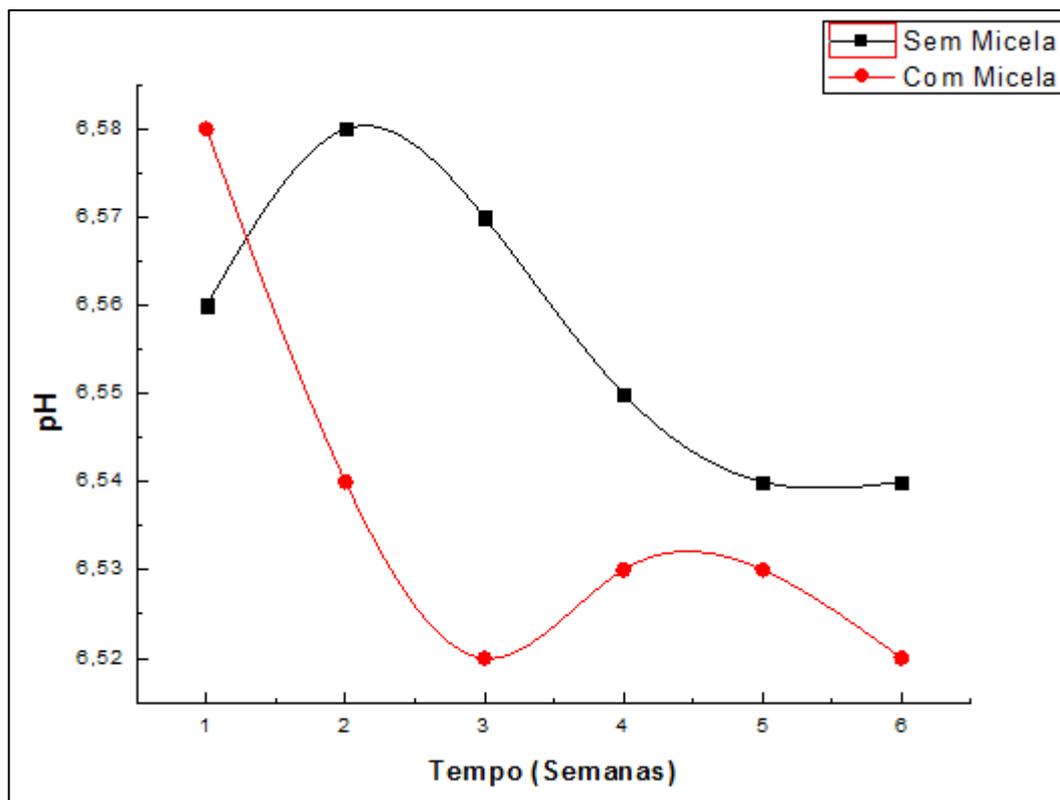


Figura 5. Leitura do pH das amostras de *frozen* com micela e sem micela durante o tempo de armazenamento.

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

Estudo realizado por Viana, Bueno, Góes-Favoni (2011), para avaliar a qualidade de bebida fermentada de soja tipo iogurte, utilizando a mesma cultura mista empregada neste trabalho observaram a formação de odores característicos de ácido acético. Miguel (2009), desenvolvendo sorvete de “iogurte” simbiótico à base de extrato aquoso de soja e de yacon observou que as bifidobactérias utilizam os açúcares presentes na soja como fonte de carbono, liberando mono e dissacarídeos e produzindo ácido lático e acético.

5.3.2 Derretimento (*melting test*)

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

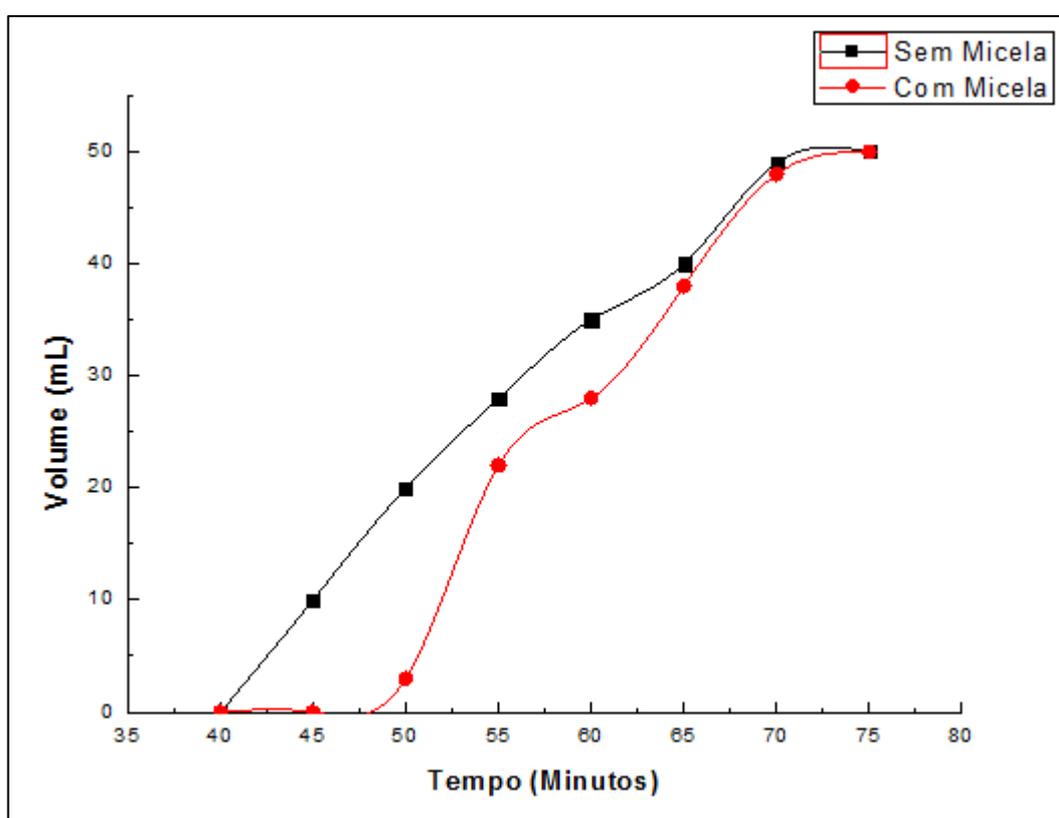


Figura 6. Gráfico do derretimento do *frozen* a base de “leite” soja em função do tempo.

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

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

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

A regressão linear mostrou que a incorporação das micelas de albumina e colágeno proporcionou aumento significativo ($p < 0,05$) para o tempo inicial de derretimento do *frozen* tratado em relação ao controle. Conforme Muse, Hartel (2004), a mudança de um aspecto da formulação ou nas condições de processamento do produto pode provocar modificações em vários aspectos estruturais do sorvete.

Como as micelas de foram sintetizadas com albumina, a formulação do *frozen* aumentou em quantidades de proteínas. A capacidade de retenção de água das proteínas podem contribuir para o aumento do tempo de derretimento do sorvete e para redução de formação de gelo (SILVA, 2004).

5.3.3 *Overrun*

A quantidade de ar incorporada nos *frozen yogurt* a base de “leite” de soja com e sem adição de micela foi de $34,23 \pm 3,26\%$ e $33,47 \pm 1,64\%$ respectivamente. As amostras apresentaram uma porcentagem de *overrun* acima do estabelecido pela legislação (BRASIL, 2005a), que estabelece o valor mínimo de 20% de massa de ar incorporada para galados comestíveis. Por ser um produto a base de soja os *frozens* apresentaram com um teor de fibras alto.

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

5.3.4 Viscosidade Aparente

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

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

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

5.3.5 Teor de Cálcio

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

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

5.4 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

5.4.1 Pesquisa de Coliformes a 35°C e a 45°C

Todas as amostras analisadas apresentaram valores de coliformes à 35°C e a 45°C, <3,0 NMP/g com intervalo de confiança de 95% (inferior -, NMP/g; superior 9,5 NMP/g), comprovando que as condições higiênico-sanitárias de preparo dos *frozen yogurts* foram satisfatórias. Segundo a Resolução RDC nº12 o máximo permitido é de 5x10 NMP/g para coliformes a 45°C (BRASIL, 2001).

5.4.2 Enumeração dos Microrganismos Probióticos

A Tabela 2 e a Figura 7 apresentam a contagem de bactérias lácticas viáveis durante seis semanas de armazenamento dos *frozens* elaboradas com e sem adição de micela microencapsuladas para ambas formulações o número mínimo de bactérias viáveis foi $>10^6$ UFC/g. A existência de bactérias lácticas viáveis em produtos lácteos fermentados tem efeito benéfico na saúde do hospedeiro e seus efeitos só são possíveis de serem atingidos a partir de um número mínimo por mililitro do produto (GONÇALVES, EBERLE 2008). Segundo este autor para ser considerado probiótico e ter efeito benéfico, o número mínimo de bactérias viáveis por mililitro deve ser de 10^6 UFC/g durante todo o período de validade.

Tabela 2. Média das contagens dos microrganismos probióticos (UFC/g) e seus respectivos desvios padrão durante seis semanas de armazenamento.

Amostras	<i>Frozen Yogurt com Micela</i>	<i>Frozen Yogurt sem Micela</i>
0	$3,21 \cdot 10^{7a} \pm 3,06$	$3,59 \cdot 10^{7a} \pm 2,52$
1	$2,86 \cdot 10^{7a} \pm 1,53$	$2,47 \cdot 10^{7a} \pm 2,08$
2	$2,36 \cdot 10^{7a} \pm 2,65$	$1,81 \cdot 10^{7a} \pm 1,73$
3	$1,93 \cdot 10^{7a} \pm 2,08$	$8,52 \cdot 10^{6b} \pm 1,51$
4	$1,66 \cdot 10^{7a} \pm 2,38$	$5,54 \cdot 10^{6b} \pm 1,03$
5	$1,42 \cdot 10^{7a} \pm 1,53$	$4,53 \cdot 10^{6b} \pm 2,65$
6	$1,08 \cdot 10^{7a} \pm 0,58$	$2,57 \cdot 10^{6b} \pm 2,18$

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

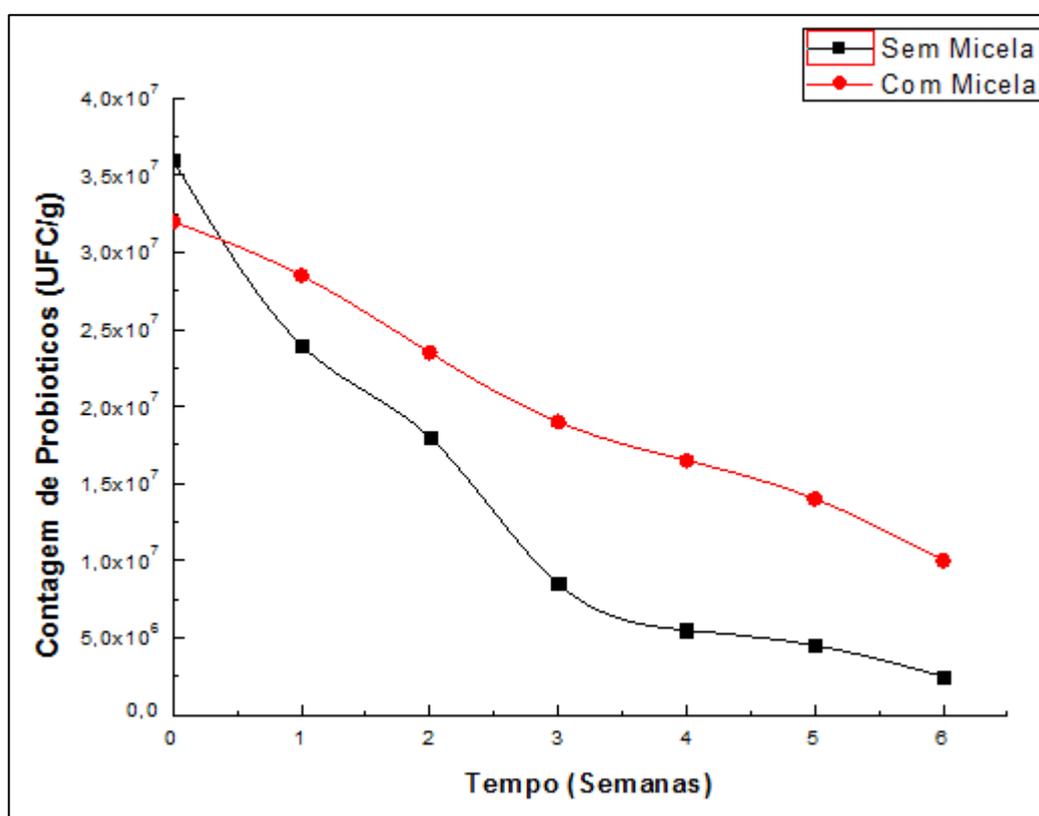


Figura 7. Contagem de bactérias lácteas viáveis durante seis semanas de armazenamento.

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

adicionadas de bactéria microencapsulada foram consideradas alimentos probióticos, uma vez que apresentaram contagens superiores a 10^6 UFC/g.

Verificou-se também que o *frozen* com micela possuiu uma contagem de probióticos mais alta que sem micela, mostrando que a micela conseguiu manter viva a cultura láctea. Em estudo de Pinto (2012), comprovou que a microencapsulação utilizando leite desnatado reconstituído e inulina como agentes encapsulantes melhorou a estabilidade de *Bifidobacterium* BB-12 durante o armazenamento do *frozen* iogurte por 90 dias a -18 °C.

5.5 ANÁLISE SENSORIAL

A Tabela 3 apresenta os dados médios obtidos no teste sensorial realizado com 100 provadores e a Figura 8 apresenta o gráfico com resultados da análise para ter uma melhor visualização. Foi observado que 9% dos provadores eram intolerantes a lactose.

Embora somente 9% dos provadores fossem intolerantes a lactose, a intenção de compra dos *frozen* com micela e sem micela foi de 43% e 41% respectivamente. Este valor pode ser considerado bom, por se tratar de um produto à base de soja submetido a pessoas que não possuem o hábito de consumir soja. Para os 9% restantes, acostumados a consumir produtos a base de soja, julgaram o produto como sendo uma ótima opção de compra.

Tabela 3. Média das notas e respectivos desvios padrão atribuídas pelos provadores para os atributos sensoriais avaliadas para os *frozen yogurt* elaborados com e sem adição de micela.

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

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

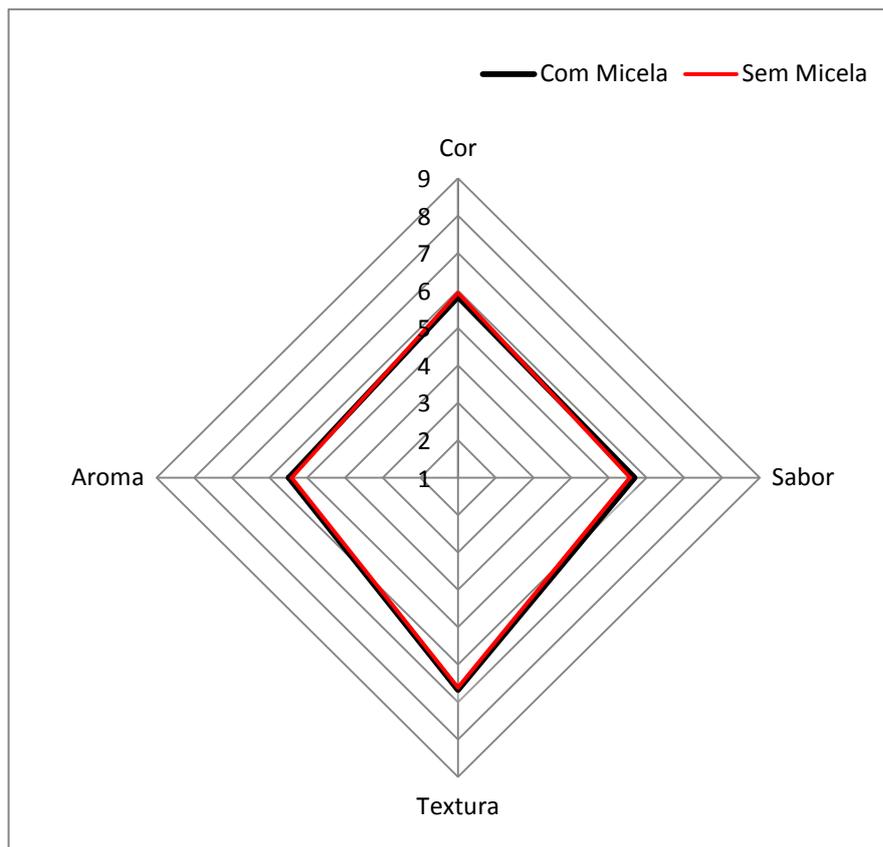


Figura 8. Resultados da Análise Sensorial.

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

6 CONCLUSÃO

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

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

REFERÊNCIAS

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

ALVES, F. C. G. B. S. **Propriedades funcionais do amido de mandioca esterificado com ácido esteárico**. *In*: Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão: UTFPR, 2013.

ANGELIS, R. C. de Alimentos de origem vegetal são saudáveis: verdades e alguns questionamentos. **Nutrição em Pauta**, n. 57, p. 30-34, 2002.

ANJO, D. L. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. Porto Alegre: **Jornal Vascular Brasileiro**. v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004.

AUGUSTINHO, E. A. S. **A Importância do Leite**. *In*: Relatório de Estágio Supervisionado (Graduação), Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Curso de Farmácia. Curitiba: PUCPR, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (Dispoa). **Resolução Nº 5, 13 de novembro de 2000**. Departamento de inspeção de produtos de origem animal. Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados,

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº 12, de dois de janeiro de 2001**, que aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/451_97.htm>. Acesso em: 23 jan. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (Dispoa). **Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003**, que aprova os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº 266 de 22 de setembro de 2005a**. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de gelados comestíveis e, preparados para gelados comestíveis. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 269 de setembro de 2005b**. Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais. 2005b. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/legis/index_ato.htm>. Acesso em: 10 jan. 2014.

BRYANT, R. J.; CADOGAN, J.; WEAVER, C. M. The new dietary reference intakes for calcium: implications for osteoporosis. **Journal of the American College of Nutrition**, v.18, p. 406-412, 1999.

CASÉ, F.; DELIZA, R.; ROSENTHAL, A.; MANTOVANI, D.; FELBERG, I. Produção de leite de soja enriquecido com cálcio. Campinas: **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 86-91, 2005.

CDR. Coordenadoria de Recebimento e Distribuição. **Alimentos e Saúde: Alimentos Funcionais**. 1999. Disponível em: <<http://www.crd.defesacivil.rj.gov.br/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=270>>. Acesso em: 07 set. 2013.

COOK, M.T. et al. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. **Journal of Controlled Release**, v.162, p.56-67, 2012.

DERVISOGLU, M; YAZICI, F. Effect of citrus fibre on the physical, chemical and sensory of ice cream. **Food Science and Technology International**. v. 12, p.159-164, 2006.

DURSO, F. M. **Fatores que afetam a vida de prateleira de sprvetes de massas artesanais.** *In:* Monografia apresentada ao curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia. São Caetano do Sul: IMT, 2012.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos.** 3 ed., Curitiba: Champagnat, 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** 4 ed., São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, 1 ed. digital.

COSMÉTICOS & PERFUMES. **Encapsulação de Fragrâncias.** São Paulo: Insumos, v. 6, n. 38, p. 46-53, 2005.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Estabelecimento de Condições adequadas para obtenção de “leite” de soja integral.** Rio de Janeiro: EMBRAPA, 2003.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. WHO. World Health Organization. **Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria.** Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Córdoba, 2001.

FULLER, R. Probiotics: The Scientific Basis. London: **Chapman and Hall**, p. 209-224, 1992.

GAMARANO, L.; FRAIGE FILHO, F. Alimentos Funcionais no tratamento do Diabetes Mellitus. *Qualidade em Alimentação: Nutrição.* São Paulo: **Ponto Crítico**, n. 19, p. 20-21, 2004.

GARCIA, M. M. T. **Avaliação da estabilidade do extrato hidrossolúvel de soja enriquecido de cálcio e vitaminas C e D através do processamento digital de imagens.** *In:* Dissertação (Mestrado em Ciência) - Universidade Federal do Rio de

Janeiro - UFRJ, Escola De Química, Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2008.

GALISA, M. S.; ESPERANÇA, L. M. B.; SÁ, N. G. **Nutrição conceitos e aplicações**. São Paulo: M. Books, 2008.

GBASSI, G. K.; VANDAMME, T. Probiotic Encapsulation Technology: from Microencapsulation to Release into the Gut. Basel: **Pharmaceutics**, n.1, v. 4, p. 149-163, 2012.

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

GONÇALVES, A. A.; EBERLE, I. R. *Frozen yogurt com bactérias probióticas*. Araraquara: **Alimentos e Nutrição.**, v. 19, n. 3, p. 291-297, 2008.

GRANATO, D.; RIBEIRO, J. C. B.; CASTRO, I. A.; MASSON, M. L. Sensory evaluation and physicochemical optimisation of soy-based desserts using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 121, p. 899-906, 2010.

MENEZES, C. R. de; BARIN, J. S.; CHICOSKI, A. J.; ZEPKA, L. Q.; LOPES, E. J.; FRIES, L. L. M.; TERRA, N. N. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. Santa Maria: **Ciencia Rural**, v.43, n.7, p. 1309-1316, 2013.

MIGUEL, D. P. **Desenvolvimento de sorvete de “iogurte” simbiótico à base de extrato aquoso de soja e de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014**. In: Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Araraquara: UNESP, 2009.

MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. **A soja no Brasil**. Campinas: ITAL, 1981.

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

NUTRIJR. Empresa Júnior de Consultoria em Nutrição. **Alimentos Funcionais**. Florianópolis: UFSC, 2008. Disponível em: <http://www.nutrijr.ufsc.br/jornal/jornal_eletronico_06-08.pdf>. Acesso em: 03 set. 2013.

OLIVEIRA, R. R. de; SEREIA, M. J.; OLIVEIRA, T. P. **Aspectos físico-químicos e sensoriais de *frozen yogurt* elaborados com culturas probióticas, baixo teor de gordura e diferentes proporções de mel**. In: XVII SICITE – Seminário de Iniciação Científica e tecnológica da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba: SICITE, 2012.

OLIVEIRA, R. R. de. **Desenvolvimento de *frozen yogurt* funcionais linha “clean label” adicionados de corantes naturais de betalaína e bixina**. In: Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão: UTFPR, 2013.

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

OZDEMIR, C.; DAGDEMIR, E.; OZDEMIR, S.; SAGDIC, O. The effects of using alternative sweeteners to sucrose on ice cream quality. **Journal of Food Quality**, v. 31, n. 4, p. 415-428, 2008.

PACHECO, M. T. B.; SGARBIERI, V. C. **Alimentos Funcionais: Conceituação e Importância na saúde humana**. In: I Simpósio Brasileiro sobre os Benefícios da Soja para a Saúde Humana, 2001, Londrina: Embrapa, v. 1, p. 37-40, 2000.

PASSOS, C. N. de S.; MORAES, T. D. C. de. **Determinação do Cálcio no leite Manacá®**. Teresina: UESPI, 2012.

PEPPAS, N. A.; BURES, P.; LEOBANDUNG, W.; ICHIKAWA, H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 27-46, 2000.

PINTO, S. S. **Efeito da adição de bifidobacterium BB-12 microencapsulada sobre propriedades de *frozen* iogurte.** *In:* Dissertação (mestrado), Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Florianópolis: UFSC, 2012.

RECHSTEINER, M. S. **Desenvolvimento de amidos fosfatados de batata-doce e mandioca e aplicação como substitutos de gordura em sorvetes.** *In:* Tese (doutorado), Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônomicas. Botucatu: UNESP, 2009.

RODRIGUES, L. M.; MORAES, T.; SILVA, R. da **Liberção de anti-inflamatórios e Vitamina C a partir de microesferas de hidrogéis de albumina e colágeno.** *In:* IV SIMTEA - Simpósio de Tecnologia e Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão: SIMTEA, 2012.

ROSA, E. D; TSUKADA, M.; FREITAS, L. A. P. **Secagem por atomização na indústria alimentícia: fundamentos e aplicações.** *In:* Jornada Científica das Faculdades Associadas de Uberaba. Uberaba: FAZU, 2006.

ROSA, A.M.; CLAVISO, J.; PASSOS, L. M. L.; AGUIAR, C.L. – Alimentos fermentados à base de soja (*Glycine max* (Merrill) L.): importância econômica, impacto na saúde e efeitos associados às isoflavonas e seus açúcares. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7. n. 4. p. 454-462. 2009.

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

SILVA, K. **Sorvetes com diferentes produtos de soro de leite bovino: avaliações sensoriais, físico-químicas e ultra-estruturais.** *In:* Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas: UNICAMP, 2004.

SILVA, D. T. da. **Extrato de Soja**: características, métodos de obtenção e compostos benéficos a saúde humana. In: Trabalho acadêmico apresentado ao Curso de Bacharelado em Química de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas. Pelotas: UFP, 2008.

SORVETE & CASQUINHA. **Frozen yogurt**: uma novidade que agradou. São Paulo: Insumos, ed. Inverno, p. 34-39, 2012.

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

TODD, R. D. Microencapsulation and the flavors industry. London: **The Flavor Industry**, v. 1, n. 11, p. 768-771, 1970.

TOLEDO, T. C. F. de; BRAZACA, S. G. C.; ARTHUR, V.; PIEDADE, S. M. de S. Composição, digestibilidade protéica e desaminação em cultivares brasileiras de soja submetidas à radiação gama. Campinas: **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, 2007.

WGO. World Gastroenterology Organisation. Diretrizes Mundiais da Organização Mundial de Gastroenterologia. **Probióticos e Prebióticos**, 2011. Disponível em: <http://www.worldgastroenterology.org/assets/export/userfiles/Probiotics_FINAL_pt_2012.pdf>. Acesso em: 03 set. 2013.

VIANA, A.; BUENO, F. R.; GÓES-FAVONI, S. P. Bebida Fermentada de soja tipo iogurte: formulação e aceitabilidade. Marília: **Alimentus**, v. 1, p. 7, 2011.

VINDEROLA, C. G.; GUEIMONDE, M.; DELGADO, T.; REINHEIMER, J. A.; REYESGAVILÁN, C. G. Characteristics of carbonated fermented milk and survival of probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 10, 2000.

ZHENG, C.-H.; GAO, J.-Q.; ZHANG, Y.-P.; LIANG, W.-Q. A protein delivery system: biodegradable alginate–chitosan–poly (lactic-co-glycolic acid) composite microspheres. New York: **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 323, p. 1321-1327, 2004.

ANEXO

ANEXO A – Tabela de interpretação dado pelo fabricante para o resultado do viscosímetro Brook Field, modelo RVT.

Fator de Correção

RV													
1		2		3		4		5		6		7	
0.5	200	0.5	800	0.5	2M	0.5	4M	0.5	8M	0.5	20M	0.5	80M
1	100	1	400	1	1M	1	2M	1	4M	1	10M	1	40M
2	50	2	200	2	500	2	1M	2	2M	2	5M	2	20M
2.5	40	2.5	160	2.5	400	2.5	800	2.5	1.6M	2.5	4M	2.5	16M
4	25	4	100	4	350	4	500	4	1M	4	2.5M	4	10M
5	20	5	80	5	200	5	400	5	800	5	2M	5	8M
10	10	10	40	10	100	10	200	10	400	10	1M	10	4M
20	5	20	20	20	50	20	100	20	200	20	500	20	2M
50	2	50	8	50	20	50	40	50	80	50	200	50	800
100	1	100	4	100	10	100	20	100	40	100	100	100	400

ANEXO B – Ficha de avaliação utilizada no teste afetivo de aceitação por escala hedônica.

Nome: _____ Data: _____

Estamos avaliando as características sensoriais de *frozen yogurt* a base de soja com adição de bactérias probióticas. Avalie as características: Cor, sabor, textura e aroma, de acordo com a escala hedônica abaixo:

- | |
|------------------------------|
| 1 – Desgostei muitíssimo |
| 2 – Desgostei muito |
| 3 – Desgostei moderadamente |
| 4 – Desgostei ligeiramente |
| 5 – Não gostei nem desgostei |
| 6 – Gostei ligeiramente |
| 7 – Gostei moderadamente |
| 8 – Gostei muito |
| 9 – Gostei muitíssimo |

Você possui intolerância a lactose?

 sim não

Amostra _____

Cor ()

Sabor ()

Textura ()

Aroma ()

Você compraria esse produto?

 sim não

Comentário: _____

ANEXO C – Termo de consentimento livre e esclarecido na forma de convite para os provadores no teste de aceitação.

“Estudo sensorial de *frozen yogurt* a base de soja”

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo a participar da pesquisa “ESTUDO SENSORIAL DE *FROZEN YOGURT A BASE DE SOJA*”, do meu trabalho de conclusão de curso de graduação junto com a Coordenação dos Cursos de Tecnologia e Engenharia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, campus Campo Mourão. O objetivo da pesquisa é realizar uma avaliação sensorial de *frozen yogurt* a base de soja com bactérias microencapsuladas. A sua participação é muito importante e você participará como integrante de uma equipe que irá degustar amostras de *frozen yogurt* a base de soja e será solicitado a dar sua opinião sobre o quanto gosta dos produtos. Os *frozen yogurt* a base de soja foram preparados de forma similar aos a base de leite, com no final de bactérias microencapsuladas. A análise sensorial levará em torno de 15 minutos, e você poderá fazê-la no horário que tiver maior disponibilidade. A ingestão de tal produto não trará nenhum risco à sua saúde por se tratar de um alimento seguro. Gostaríamos de esclarecer que sua participação é voluntária, podendo recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo pessoal. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. Os benefícios esperados são informação para a continuação de um estudo do *frozen* a base de soja que vem sendo realizada por um grupo de pesquisa da UTFPR, e isso irá ajudar a esclarecer dúvidas relevantes aos problemas de produtos a base de soja. Informamos que você não pagará nem será remunerado por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação na pesquisa. Caso dúvidas ou necessite de esclarecimentos pode nos contatar (Prof^a. Dr^a Regiane da Silva Gonzalez, COLIQ/UTFPR, mshimo@uel.br, (44) 9841527; Prof^a. Dr^a. Maria Josiane Sereia,

COEAL/UTFPR, josiane@utfpr.edu.br, (44) 3518-1400), ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Centro Integrado de Ensino Superior da Faculdade Integrado de Campo Mourão - CIES, ou no telefone (44)3518-2500. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada entregue a você.

Campo Mourão, ____ de _____ de 2014.

Pesquisador Responsável: Renan Luiz Romano Gon

RG: 47.786.779-0

_____ (**nome por extenso do sujeito de pesquisa**), tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

Data: _____