

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

GUILHERME DE ALCÂNTARA

**EFEITOS DA APLICAÇÃO DE ULTRASSOM DE ALTA INTENSIDADE NA
PRODUÇÃO DE IOGURTE GREGO POTENCIALMENTE PROBIÓTICO**

MEDIANEIRA

2025

GUILHERME DE ALCÂNTARA

**EFEITOS DA APLICAÇÃO DE ULTRASSOM DE ALTA INTENSIDADE NA
PRODUÇÃO DE IOGURTE GREGO POTENCIALMENTE PROBIÓTICO**

**Effects of high-intensity ultrasound application on the production of potentially
probiotic greek yogurt**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como
requisito para a obtenção do título de Tecnólogo em
Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do
Paraná.

Orientadora: Profa. Dra. Deisy Alessandra Drunkler
Coorientadora: Profa. Dra. Cristiane Canan

MEDIANEIRA

2025



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

GUILHERME DE ALCÂNTARA

**EFEITOS DA APLICAÇÃO DE ULTRASSOM DE ALTA INTENSIDADE NA
PRODUÇÃO DE IOGURTE GREGO POTENCIALMENTE PROBIÓTICO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como
requisito para a obtenção do título de Tecnólogo em
Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do
Paraná.

01 de dezembro de 2025

Deisy Alessandra Drunkler
Doutorado em Tecnologia de Alimentos
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Cristiane Canan
Doutorado em Ciência dos Alimentos
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Eliane Colla
Doutorado em Engenharia de Alimentos
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Valdemar Padilha Feltrin
Doutorado em Ciência dos Alimentos
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

MEDIANEIRA

2025

Para minha mãe Salete e minha irmã Roberta, pelo amor incondicional, apoio e paciência. E aos meus dois gatos, Cosmo e Luna, que foram minha maior companhia na elaboração deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha mãe Salete e minha irmã Roberta, que sempre me encorajaram e motivaram nos meus momentos de maior dúvida. Vocês foram a peça mais importante nessa conquista.

Agradeço a minha orientadora, Profa. Dra. Deisy Drunkler, por todo o apoio, conhecimento e, principalmente, pela imensa paciência com a qual me guiou ao longo desses meses. Estendo estas palavras a minha coorientadora, Profa. Dra. Cristiane Canan, pelo apoio e companhia na elaboração das análises.

Aos amigos da graduação e aos demais que conheci na UTFPR ao longo desses anos, obrigado pela companhia e pelos momentos memoráveis. Uma das minhas maiores conquistas no curso é ter feito nossa amizade perdurar por tanto tempo. Muito obrigado.

Também gostaria de registrar minha gratidão aos técnicos dos laboratórios da UTFPR pelo apoio e conhecimento transmitidos a mim durante o meu período de estágio, em especial, a minha supervisora, Daneysa, que me ensinou tudo o que sei em atividades laboratoriais e segue sendo um exemplo de capricho e dedicação.

Pra finalizar, gostaria de agradecer aos meus dois gatos, Cosmo e Luna, que não sabem ler e pouco me auxiliaram em questões acadêmicas, mas que foram companhia constante nas noites em claro elaborando esse trabalho.

Não é da luz que precisamos, mas do
fogo; não da leve garoa, mas do trovão.
Precisamos da tempestade, do
redemoinho e do terremoto.
(DOUGLASS, Frederick, 1852)

RESUMO

A preocupação constante com a saúde levou os consumidores a buscar alimentos funcionais como o iogurte, um leite fermentado obtido pela ação simultânea de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, com o iogurte grego se diferenciando pela remoção parcial do soro de leite, resultando num iogurte mais firme e cremoso. O iogurte é um dos veículos para a implementação de probióticos na dieta humana, como o *Lactobacillus acidophilus*, e seu consumo está associado a benefícios à saúde, como a regulação de distúrbios intestinais, redução da intolerância à lactose, manutenção do nível de colesterol e redução da atividade carcinogênica, antimutagênica e anti-hipertensiva. Um dos maiores desafios no uso de probióticos é a manutenção da viabilidade das culturas durante a produção, armazenamento e consumo do produto. O ultrassom tem se mostrado uma boa ferramenta na produção de alimentos com probióticos, e sua aplicação na matéria-prima do iogurte pode estar associada a uma maior sobrevivência destas culturas no alimento. O estudo avaliou, por meio de um planejamento fatorial completo, do tipo 2³, com três pontos centrais, o impacto do ultrassom (20 kHz) quanto ao tempo de aplicação pré-inoculação (1, 3 e 5 minutos), tempo de aplicação pós-inoculação (0, 1,5 e 3 minutos) e amplitude de potência (20, 40 e 60%) sobre as propriedades texturais e microbiológicas de iogurte tipo grego. Na produção do iogurte, a acidez ideal foi atingida mais rapidamente em amostras submetidas a maior tempo de exposição ao ultrassom pós-inoculação e no maior valor de amplitude de potência, dentro da faixa estudada, reduzindo o tempo de fermentação. Durante o armazenamento, a viabilidade das culturas iniciadoras e do probiótico atendeu aos requisitos da legislação, e os efeitos das variáveis estudadas não foram significativos. Em relação a sobrevivência do *Lactobacillus acidophilus* ao trato digestório *in vitro*, as superfícies de resposta indicaram que os melhores resultados foram obtidos com tempos de aplicação elevados de pré e pós-inoculação e amplitude intermediária, dentro das faixas estudadas, o que pode ser devido a promoção de resistência fisiológica. Na análise do perfil de textura, apenas para a coesividade aos 15 dias, tempo de aplicação pré-inoculação apresentou e a amplitude de potência efeito negativo significativos; os demais parâmetros (dureza, adesividade, elasticidade e gomosidade) permaneceram estáveis em todos os tempos. A partir dos resultados obtidos, recomenda-se a aplicação de ultrassom após a inoculação, por 3 minutos, a uma amplitude de potência de 60% para a redução do tempo de fermentação, e tempos de aplicação de ultrassom maiores (3 minutos) antes e após a inoculação acompanhados de amplitude de potência intermediária para maior viabilidade do probiótico. Em resumo, o ultrassom permitiu acelerar o tempo de fermentação e aumentar a resistência das células probióticas sem comprometer a viabilidade microbiana nem as características estruturais do iogurte grego ao longo do armazenamento.

Palavras-chave: leite fermentado; *Lactobacillus acidophilus*; probióticos.

ABSTRACT

The constant health concern has led consumers to seek functional foods such as yogurt, a fermented milk product obtained through the simultaneous action of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Greek yogurt differs in that it is made by partially removing whey, resulting in a firmer and creamier product. Yogurt is one of the vehicles for incorporating probiotics into the human diet, such as *Lactobacillus acidophilus*. Its consumption is associated with health benefits, including the regulation of intestinal disorders, reduced lactose intolerance, maintenance of cholesterol levels, and decreased carcinogenic, antimutagenic, and antihypertensive effects. One of the significant challenges in using probiotics is maintaining the viability of the culture during production, storage, and consumption. Ultrasound has proven to be a valuable tool in producing foods containing probiotics, and its application to yogurt raw materials may be associated with improved survival of these cultures in the final product. The study evaluated, through a full factorial design (2^3) with three central points, the impact of ultrasound (20 kHz) considering pre-inoculation application time (1, 3, and 5 minutes), post-inoculation application time (0, 1.5, and 3 minutes), and power amplitude (20, 40, and 60%) on the textural and microbiological properties of Greek-style yogurt. During yogurt production, the ideal acidity was reached more quickly in samples subjected to longer ultrasound exposure times after inoculation and at the highest power amplitude value within the studied range, reducing fermentation time. During storage, the viability of the starter cultures and the probiotic met regulatory requirements, and the effects of the studied variables were not significant. Regarding the survival of *Lactobacillus acidophilus* in the in vitro digestive tract, the response surfaces indicated that the best results were obtained with high pre- and post-inoculation application times and intermediate power amplitude within the studied ranges, which may be due to the promotion of physiological resistance. In the texture profile analysis, only cohesiveness at 15 days showed significant negative effects due to the pre-inoculation application time and power amplitude; the other parameters (hardness, adhesiveness, springiness, and gumminess) remained stable throughout. Based on the results obtained, ultrasound application after inoculation for 3 minutes at 60% power amplitude is recommended for reducing fermentation time. Conversely, longer ultrasound application times (3 minutes) before and after inoculation, combined with intermediate amplitude, improve probiotic viability. In summary, ultrasound accelerated fermentation time and increased the resistance of probiotic cells without compromising microbial viability or the structural characteristics of Greek yogurt during storage.

Keywords: fermented milk; *Lactobacillus acidophilus*; probiotics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma da elaboração das amostras de iogurte grego probiótico	23
Figura 2 - Comportamento dos valores de pH durante o processo fermentativo de iogurte tipo grego probiótico submetido ao ultrassom	27
Figura 3 - Contagem de <i>S. thermophilus</i> ao longo do período de armazenamento de iogurte tipo grego probiótico	30
Figura 4 - Contagem de <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subps. <i>bulgaricus</i> ao longo do período de armazenamento de iogurte tipo grego probiótico	31
Figura 5 - Contagem de <i>L. acidophilus</i> ao longo do período de armazenamento em iogurte tipo grego probiótico	31
Figura 6 - Superfícies de resposta para a sobrevivência ao trato digestório em função das variáveis estudadas	36
Figura 7 - Superfície de resposta para a Coesividade em função do tempo pré inoculação e da amplitude de potência no tempo T15 de armazenamento	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Matriz do planejamento fatorial completo, do tipo 2 ³ , com três pontos centrais, com níveis reais e codificados das variáveis.....	23
Tabela 2 - Efeito dos fatores estudados no PFC 2 ³ para a evolução do pH nos tempos de 1h30 e 3h30 de fermentação das diferentes formulações de iogurte tipo grego probiótico.....	28
Tabela 3 - Anova dos modelos gerados para as respostas de pH nos tempos de 1h30 e 3h30 de fermentação	28
Tabela 4 - Efeito dos fatores estudados no PFC 2 ³ para o crescimento de <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> (Log UFC/g) nos tempos de 15 e 30 dias de armazenamento em iogurte tipo grego probiótico.....	32
Tabela 5 – Efeito dos fatores estudados no PFC 2 ³ para o crescimento de <i>Streptococcus thermophilus</i> (Log UFC/g) nos tempos de 15 e 30 dias de armazenamento.....	33
Tabela 6 - Efeito dos fatores estudados no PFC 2 ³ para o crescimento de <i>Lactobacillus acidophilus</i> (Log UFC/g) nos tempos de 15 e 30 dias de armazenamento.....	33
Tabela 7 – Enumeração e percentual de viabilidade de <i>L. acidophilus</i> , em T15, antes e depois da exposição ao FGIS, em iogurte tipo grego probiótico	34
Tabela 8 - Efeito dos fatores estudados no DCC 2 ³ sobre a resposta do <i>L. acidophilus</i> a sobrevivência ao trato digestório (Log UFC/g).....	34
Tabela 9 - Anova do modelo gerado para a resposta de sobrevivência ao trato digestório.....	36
Tabela 10 - Resultados da análise do perfil de textura para os diferentes ensaios de iogurte tipo grego probióticos	38
Tabela 11 - Efeito dos fatores estudados no PFC 2 ³ sobre a resposta de coesividade no tempo de 15 dias de armazenamento	39
Tabela 14 - Anova do modelo gerados para a resposta de Coesividade no tempo de 15 dias de armazenamento	39

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral.....	14
2.2 Objetivos específicos.....	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3.1 Leites Fermentados.....	15
3.2 Iogurtes	16
3.3 Probióticos	17
3.4 Ultrassom	18
3.4.1 Aplicação do ultrassom na elaboração de iogurte probiótico	19
4 MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1 Matérias-primas, reagentes e microrganismos	22
4.2 Estratégia experimental para avaliar o impacto do ultrassom nas características do iogurte grego probiótico.....	22
4.3 Análises microbiológicas	24
4.4 Avaliação da sobrevivência do <i>L. Acidophilus</i> do iogurte grego nos fluidos gástrico e intestinal simulados (FGIS).....	24
4.5 Análise do perfil de textura (TGA)	25
4.6 Análise estatística	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1 Tempo de fermentação das amostras de iogurte.....	27
5.2 Viabilidade das culturas iniciadoras e do probiótico durante o armazenamento dos iogurtes probióticos	30
5.3 Sobrevivência do <i>L. Acidophilus</i> ao FGIS	34
5.4 Efeitos do ultrassom no perfil de textura.....	37
6 CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

O seu apelo saudável e suas características sensoriais únicas fazem do iogurte um dos derivados do leite mais consumidos no Brasil (Siqueira; Figueiredo, 2021). O iogurte é uma bebida fermentada elaborada a partir da fermentação do leite por culturas de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (FAO, 2011); por sua vez, o iogurte grego é o produto obtido a partir da concentração do iogurte, quer por remoção de parte da água por diferentes métodos, quer por adição de sólidos (Cunha Júnior *et al.*, 2024). Outras culturas microbianas podem ser adicionadas a esse produto para conceder benefícios à saúde do consumidor, tais como as probióticas (Brasil, 2007). Dentre as culturas probióticas, as mais utilizadas pertencem aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, que, ao metabolizarem compostos presentes no trato digestório, como fibras oligossacarídicas e amidos resistentes, resultam em benefícios como redução da hiperglicemia, do colesterol alto e das doenças do trato digestório (Hill *et al.*, 2014).

Novas tecnologias têm sido testadas com o objetivo de avaliar o impacto destas na qualidade química e sensorial do iogurte. Dentre estas, destaca-se o ultrassom, que pode ser definido como ondas sonoras de frequência maior que a captada pelo ouvido humano (maiores que 20 kHz), cuja aplicação pode ser dividida entre duas categorias distintas: baixa intensidade e alta intensidade. O ultrassom de baixa intensidade tem frequências maiores que 100 kHz e intensidade abaixo de 1 W/cm². Ultrassom de alta intensidade (HIUS) tem frequências entre 20 e 100 kHz mas intensidades entre 10 e 1000 W/cm² (Surono; Hosono, 2011). A formação do ultrassom pode ser realizada por equipamentos laboratoriais como sonicadores e banhos ultrassônicos (Deshwal *et al.*, 2021).

A aplicação de ultrassom em um meio gera ondas sonoras, resultando num movimento alternado de compressão e rarefação das partículas e no surgimento, oscilação e colapso de bolhas no fluido, causando o efeito de cavitação (Arya, 2019). O ultrassom de baixa intensidade não causa cavitação, mas o ultrassom de alta intensidade resulta em alterações químicas e físicas nos produtos, podendo ser utilizado para quebrar partículas, destruir membranas celulares, acelerar transformações químicas e alterar a estrutura de determinados componentes (Bhargava *et al.*, 2022).

Na produção de iogurtes, a aplicação de HIUS melhora sua homogeneização (pela redução do tamanho das partículas de gordura), aumenta sua capacidade de retenção de água e de viscosidade (pela redução da sinérese), sua firmeza (pela desnaturação das proteínas do soro do leite) e reduz o tempo de fermentação (melhorando a hidrólise da lactose). O resultado é um produto com melhores características químicas e físicas em comparação com os produtos tradicionais (Hammershøj *et al.*, 2021).

A eficiência da utilização de HIUS na qualidade do produto e na sobrevivência microbiana depende dos parâmetros utilizados no processo, como intensidade, frequência, tempo de exposição e temperatura (Deshwal *et al.*, 2021).

Alguns estudos tem sido realizados na elaboração de leites fermentados em relação aos efeitos do ultrassom, analisando aspectos como acidez, melhora na firmeza e na formação de gel, viscosidade (Akdeniz; Akalin, 2019) e seus efeitos nas culturas probióticas (Guimarães *et al.*, 2019), mas tendo em vista que poucos trabalhos comparam a intensidade da potência do ultrassom na viabilidade das culturas probióticas e no perfil de textura dos iogurtes do tipo grego, o seguinte trabalho teve como objetivo avaliar, através de um planejamento fatorial completo, o impacto do ultrassom (20 kHz) quanto ao tempo de aplicação pré-inoculação (1, 3 e 5 minutos), tempo de aplicação pós-inoculação (0, 1,5 e 3 minutos) e amplitude de potência (20, 40 e 60%) sobre as propriedades texturais e microbiológicas de iogurte tipo grego probiótico.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar, por meio de um planejamento fatorial completo, do tipo 2^3 , com três pontos centrais, o impacto da aplicação do ultrassom (20 kHz) sobre as propriedades texturais e microbiológicas de iogurte grego probiótico, considerando três variáveis operacionais: tempo de aplicação pré-inoculação (1, 3 e 5 minutos), tempo de aplicação pós-inoculação (0, 1,5 e 3 minutos) e amplitude de potência (20, 40 e 60%).

2.2 Objetivos específicos

- Desenvolver iogurte grego probiótico utilizando um Planejamento Fatorial Completo (PFC) 2^3 , com três pontos centrais, cujas variáveis estudadas foram tempo de aplicação antes da fermentação (1 a 5 minutos), tempo de aplicação após a fermentação (0 a 3 minutos) e amplitude de potência (20 a 60 %);
- Acompanhar a fermentação durante a elaboração do iogurte verificando pH e acidificação e elaborar uma curva de fermentação para cada amostra;
- Avaliar a viabilidade da cultura iniciadora e do microrganismo probiótico (*L. acidophilus*), nos tempos 15 e 30 dias;
- Avaliar a viabilidade do probiótico *L. acidophilus* durante a simulação da digestibilidade *in vitro* no tempo 15 dias;
- Determinar o perfil de textura nos tempos 0, 15 e 30 dias.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Leites fermentados

O Brasil é o sexto maior produtor mundial de leite, com produção anual de cerca de 35,7 bilhões de litros por ano. Entre os seus produtos derivados, os leites fermentados destacam-se como um dos mais consumidos, estando presentes na mesa de 70% dos brasileiros (Brasil, 2025).

Os leites fermentados são uma categoria diversa de produtos lácteos, abrangendo leites cultivados, kefir, leite acidófilo, alguns tipos de iogurte, coalhada e kumys. Tais produtos seguem uma forte tendência de mercado devido ao seu potencial nutricional. A *Allied Market Research* (2020) projeta que, em 2026, o mercado mundial de produtos à base de leites fermentados movimentará cerca de US\$ 396,87 bilhões. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2018, os brasileiros consumiram cerca de 200 milhões de quilos de lácteos fermentados, com destaque nas classes C, D e E, que representam cerca de 65% do mercado brasileiro. Com isso, os leites fermentados representam um grande segmento dentro do mercado lácteo brasileiro (Siqueira; Figueiredo, 2021).

A fermentação é um processo tecnológico que é utilizado há séculos como método de conservação e de melhora das qualidades nutricionais de alimentos. Apesar da industrialização de produtos lácteos ter se iniciado no século XIX, leites fermentados já eram produzidos há cerca de 3.000 a.C. (Bintsis, 2022). O leite fermentado é um produto lácteo obtido pela fermentação do leite por ação de microrganismos adequados, resultando na redução do pH. Certos leites fermentados são caracterizados pelas culturas *starters* específicas utilizadas na sua fermentação. O principal grupo de bactérias utilizadas na fermentação do leite é o das bactérias do ácido láctico (FAO, 2010).

Produzidos em diferentes partes do mundo, em escala industrial ou artesanal, os leites fermentados compreendem cerca de 400 tipos de produtos, classificados conforme seus métodos de produção e processamento, e de acordo com os microrganismos utilizados. Os padrões para a matéria-prima, cultura *starter*, etapas do processamento e requisitos de qualidade variam entre países (Surono; Hosono, 2011).

Dentre os leites fermentados, o iogurte se destaca como um dos mais consumidos no país, estando presente na mesa de 70% das famílias brasileiras, e seu alto consumo pode estar relacionado ao seu apelo saudável e à sua qualidade sensorial (Siqueira; Lana; Oliveira, 2022).

3.2 Iogurtes

Entende-se por iogurte “o produto lácteo fermentado cuja fermentação se realiza com cultivos protosimbióticos de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, aos quais se podem acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-láticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final” (Brasil, 2007).

É importante que a cultura mista de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, utilizada na elaboração do iogurte, seja adicionada na proporção 1:1. Inicialmente, o *S. thermophilus*, sendo um microrganismo aeróbio, acidifica o leite, reduzindo seu pH até 5,2, onde o *L. bulgaricus* continuará a fermentação até o pH atingir 4,4 (Deshwal *et al.*, 2021). Há uma relação simbiótica entre estes microrganismos da cultura *starter*: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* libera aminoácidos e peptídeos a partir das proteínas do leite, o que favorece a multiplicação de *Streptococcus thermophilus* nos primeiros estágios da fermentação. O *Streptococcus thermophilus*, por sua vez, produz ácido fórmico, o qual estimula a multiplicação de *Lactobacillus bulgaricus*, reduzindo o tempo de fermentação e conferindo ao produto características desejáveis (Santos, 2019). Quando o pH atinge 4,6, a fermentação é interrompida através do resfriamento (a cerca de 4 °C). O iogurte grego é um produto obtido através da dessoração do iogurte para a remoção do soro do leite, resultando num produto com consistência mais firme, mas com o mesmo sabor ácido do iogurte tradicional, além de possuir mais conteúdo de sólidos totais, proteínas e menor quantidade de lactose (Gyawali *et al.*, 2020). Alternativamente, o iogurte grego pode ser obtido através da adição de pós proteicos ao leite antes da fermentação do leite, como o concentrado de proteína do leite (MPC) e o concentrado de caseína micelar (MCC), substituindo métodos de dessora/filtração (Körzendörfer *et al.*, 2019). Por ser um produto mais

concentrado, possui também características sensoriais distintas, como coloração mais branca, maior firmeza e sabor ácido mais acentuado (Gyawali *et al.*, 2020).

Durante o armazenamento, transporte e comercialização, o *L. acidophilus* continuará a fermentar a uma velocidade menor, num fenômeno chamado pós-acidificação. As condições ideais do iogurte comercial são o pH entre 4,4 e 4,0 e a concentração de ácido láctico entre 0,6 e 1,5 g de ácido láctico/100 g, valores que evitam que o produto tenha um sabor excessivamente ácido (Deshwal *et al.*, 2021).

O metabolismo de carboidratos e citrato, aminoácidos e ácidos graxos pelas bactérias ácido-láticas resulta na produção de grande quantidade de ácido láctico, na formação de biomoléculas livres, como aminoácidos livres, pequenos peptídeos e ácidos graxos, e na produção de compostos de sabor (Peng *et al.*, 2022). O fenômeno de pós-acidificação é um processo indesejado no produto. Dependendo da atividade metabólica da microbiota do iogurte durante seu armazenamento, esta pode acarretar defeitos como acidez excessiva, sinérese do soro de leite, sabor indesejado, diminuição da contagem de bactérias lácticas e desenvolvimento de contaminantes como leveduras e coliformes, além de prejudicar a estabilidade de outros microrganismos presentes no produto (Settachaimongkon *et al.*, 2016).

Os produtos desenvolvidos pela fermentação do leite, como iogurtes, influenciam positivamente a saúde humana devido à sua variedade de peptídeos, carboidratos hidrolisados e maior disponibilidade de vitaminas e minerais (Deshwal *et al.*, 2021). O aumento no consumo de iogurte está associado com uma dieta de alta qualidade e maior ingestão de nutrientes, já que são muito utilizados como um veículo para a introdução de compostos bioativos de frutas, vegetais e outras fontes na dieta humana, além de um dos principais veículos de probióticos (Hasegawa; Bolling, 2023).

3.3 Probióticos

Probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (Hill *et al.* 2014). As cepas de probióticos principais normalmente usadas em produtos lácteos fermentados pertencem aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Entre os *Lactobacillus*, os comumente utilizados como probióticos são das espécies

acidophilus, *casei*, *plantarum* e *gasseri* (Ibrahim *et al.*, 2014). No gênero *Bifidobacterium*, as principais espécies utilizadas como probióticos são *adolescentis*, *bifidum*, *breve*, *infantis*, *lactis* e *longum*. Vale também mencionar que algumas cepas dos gêneros *Enterococcus*, *Propionibacterium*, *Saccharomyces*, *Bacillus* e *Escherichia* também apresentam potencial status probiótico (Meybodi *et al.*, 2020).

O consumo frequente de probióticos, em concentrações adequadas (10^6 a 10^7 UFC/g de produto), pode trazer efeitos benéficos que os tornam extremamente desejáveis na aplicação e desenvolvimento de produtos funcionais. Entre alguns de seus efeitos, destacam-se a sua eficácia em tratamentos de distúrbios intestinais e sistêmicos, redução da intolerância à lactose, manutenção do nível de colesterol sérico e redução da atividade carcinogênica, antimutagênica e anti-hipertensiva. Alguns microrganismos probióticos também colaboram na inibição de patógenos (Ibrahim *et al.*, 2023).

Fatores como pH, acidez, concentração de oxigênio dissolvido, temperatura de armazenamento, o metabolismo dos microrganismos na fermentação e interação com outros microrganismos podem comprometer a viabilidade das culturas probióticas durante o processamento e armazenamento dos produtos. Por isso, pesquisam-se alternativas para aumentar a viabilidade probiótica em leites fermentados, como a adição de prebióticos, encapsulamento, imobilização celular e o uso de tecnologias emergentes, como o uso do ultrassom de alta intensidade (Brito, 2022).

3.4 Ultrassom

O som é a oscilação de partículas em um meio elástico. As vibrações causadas pela fonte do som formam ondas que movem essas partículas de sua posição inicial ao longo de sua propagação. O ultrassom difere por conta de sua frequência: enquanto o som se propaga em frequências detectadas pela audição humana (entre 16 e 20 kHz), o ultrassom se propaga em frequências superiores a 20 kHz, podendo chegar a 10 MHz. Quando o ultrassom se propaga, causa uma alternância entre os ciclos de compressão e refração do meio, causando variações de pressão e transferência de energia nas partículas em movimento.

Consequentemente, as partículas colapsam, num fenômeno chamado cavitação (Akdeniz e Akalin, 2019)

A cavitação é um fenômeno físico que leva à formação e à atividade de bolhas (ou cavidades) no interior de um líquido quando este é submetido à ação de ondas de alta velocidade geradas por ondas de ultrassom em um campo ultrassônico intenso. Durante a cavitação, várias bolhas, de tamanho de poucos micrômetros, são formadas no líquido. Após alguns microssegundos, a pressão exercida nelas causa sua implosão. Existem dois tipos distintos de cavitação: no primeiro, chamado de cavitação estável, as bolhas mantêm seu formato estável por vários ciclos de compressão e descompressão; no segundo, chamado de cavitação instável ou transitória, em um único ciclo as bolhas dobram de tamanho e colapsam (Gallo, Ferrara, Naviglio, 2018).

Dependendo da frequência utilizada, o ultrassom pode ser aplicado para gerar efeitos químicos ou mecânicos. Em baixa frequência (entre 20 e 100 kHz), predomina o efeito de cavitação instável, com as bolhas colapsando de maneira mais forte conforme a frequência se aproxima de 20 kHz. Os efeitos químicos são mais prevalentes em frequências médias (200 a 500 kHz), com um número maior de bolhas se formando e com implosões menos violentas. Os efeitos químicos e mecânicos da cavitação são mínimos a partir de altas frequências (superiores a 1 MHz), sendo essas utilizadas para a limpeza de objetos delicados que poderiam ser danificados pelo efeito da cavitação (Gallo; Ferrara; Naviglio, 2018).

3.4.1 Aplicação do ultrassom na elaboração de iogurte probiótico

O ultrassom de baixa frequência, aplicado em potências entre 20 a 40 kHz, tem a capacidade de melhorar a digestibilidade das proteínas do leite, promovendo a separação das micelas de caseína em subunidades menores, que se reorganizam fortemente com as proteínas do soro de leite parcialmente desnaturadas, formando redes mais fortes. Esse processo aumenta a área superficial das proteínas, facilitando a ação das enzimas proteases, o que resulta em uma maior digestibilidade das proteínas (Higuera-Barraza *et al.*, 2016). O ultrassom também se mostrou eficaz na modificação do perfil lipídico, com redução dos níveis de ácidos graxos saturados. Isso ocorre devido à alteração na estrutura das gotículas de

gordura no leite, processo que é facilitado pela cavitação acústica gerada pelo ultrassom (Akdeniz e Akalin, 2023).

Em relação aos aspectos microbiológicos, o ultrassom de baixa frequência melhora a viabilidade das bactérias probióticas, que são essenciais para as propriedades funcionais do iogurte. A aplicação de ultrassom aumenta a permeabilidade das membranas das bactérias probióticas, o que facilita a liberação de enzimas intracelulares, como a β -galactosidase. Isso não só acelera o processo de hidrólise da lactose, mas também permite que as bactérias acessem mais nutrientes, estimulando seu crescimento e desenvolvimento. Esse efeito é benéfico para manter as bactérias probióticas viáveis durante a vida útil do produto, o que é essencial para garantir seus benefícios à saúde do consumidor (Manyatsi; Khaneghah; Gavahian, 2024).

Dos estudos que avaliaram a sobrevivência de probióticos em diferentes substratos, foi possível observar que o impacto do ultrassom depende da composição química do meio e dos parâmetros utilizados no processo de ultrassom. A eficiência da utilização de HIUS na qualidade do produto e na sobrevivência microbiana depende dos parâmetros utilizados no processo, como potência, frequência, tempo de exposição e temperatura (Guimarães *et al.*, 2019).

Delgado *et al.* (2020) avaliaram o efeito do uso do ultrassom nos parâmetros de qualidade em iogurtes probióticos à base de leite de cabra durante o armazenamento sob refrigeração. Para tal, testaram os valores de 20 kHz por 3, 6 e 9 minutos, após o término da fermentação, com o uso de banho ultrassônico. *Lactobacillus bulgaricus* e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 foram sensíveis ao tratamento por ultrassom, apresentando redução na enumeração nos iogurtes armazenados. Essa redução na viabilidade resultou na redução da pós-acidificação devido à menor metabolização da lactose nas amostras de iogurte submetidas ao ultrassom. Entre os tratamentos testados, a aplicação de 6 min melhorou a viscosidade aparente e o índice de consistência dos iogurtes a base de leite de cabra. A pesquisa sugere que a sonicação por 6 min a 20 kHz é uma maneira promissora de melhorar as propriedades reológicas e reduzir a acidez no iogurte a base de leite de cabra.

Niamah (2019) estudou o efeito do ultrassom no crescimento de bactérias probióticas no leite fermentado, aplicando a frequência de 40 kHz, com banho ultrassônico, por 0, 5, 10, 15 e 20 minutos, em cinco diferentes cepas de bactérias

probióticas (*Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Lactobacillus casei* LC, *Lactobacillus reuteri* LR-MM53, *Bifidobacterium bifidum* BB-12 e *Bifidobacterium longum* BB-536). Todas as cepas analisadas foram afetadas pelo ultrassom, apresentando um aumento na liberação extracelular da enzima β -galactosidase, responsável pela hidrólise da lactose. O tempo de fermentação das cepas LA-5, LC e LR-MM53 foi reduzido quando comparado com a amostra padrão. O tempo ideal do tratamento de ultrassom (40 kHz, 116 W) foi de 10 minutos, podendo este ser aplicado para aumentar o número de células viáveis de probióticos e para a liberação de β -galactosidase.

Akdeniz e Akalin (2023) avaliaram o efeito da aplicação do ultrassom em iogurtes probióticos enriquecidos com farinha de cenoura, em diferentes estágios da fermentação, em quatro tratamentos: padrão (A), antes da inoculação de probióticos (B), antes e após a inoculação (C), e após a inoculação (D). O tratamento B foi sonicado a 400 W por 15 minutos. O tratamento C foi sonicado a 400 W por 15 minutos, antes da inoculação, e a 100 W por 5 minutos após a inoculação. O tratamento D foi sonicado a 100 W por 5 minutos. O tratamento por ultrassom utilizou 20 kHz de frequência. Resultados mostraram que a aplicação do ultrassom após a inoculação reduziu significativamente o tempo de fermentação dos tratamentos C e D quando comparados com os demais, com o menor tempo de fermentação sendo encontrado no grupo D.

O aumento da viscosidade do iogurte foi relatado por Riener *et al.* (2009), ao aplicar, utilizando sonda, ultrassom no leite desnatado, a 22 kHz, 50 W por 30 min, devido à alta desnaturação térmica das proteínas do soro. Também foi aplicada a termossonicação do leite antes da fermentação (25 kHz, 400 W, 45 ou 75 °C por 10 min), resultando na formação de iogurte com maior viscosidade e maior capacidade de retenção de água em comparação com o leite tratado convencionalmente.

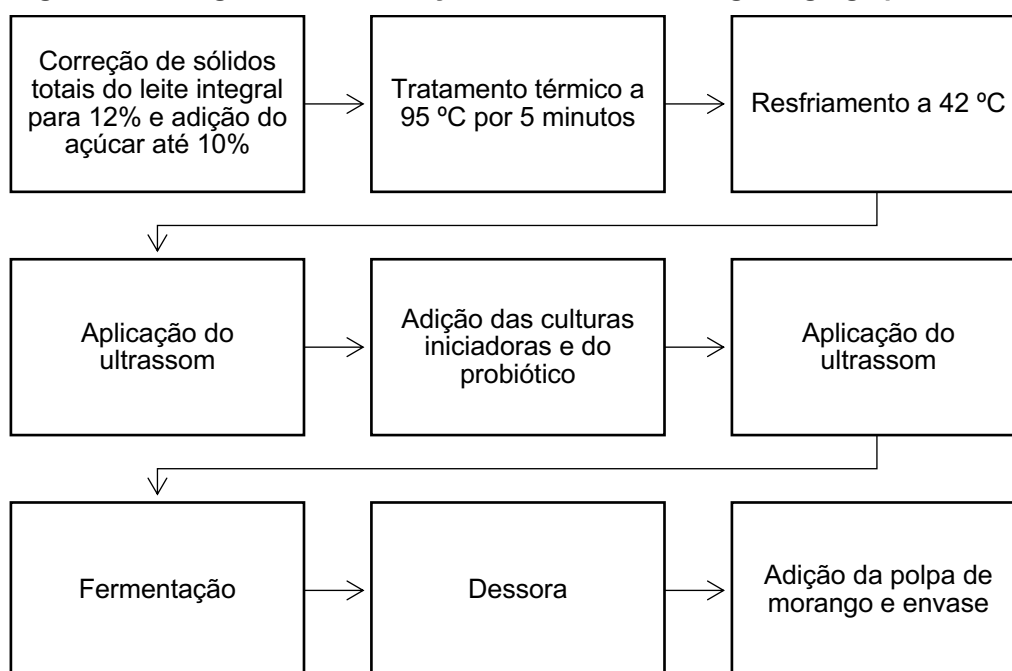
4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Matérias-primas, reagentes e microrganismos

O leite pasteurizado integral (Rei do Oeste®, Cooperativa do Extremo Oeste Catarinense, São Miguel do Oeste, SC) utilizado nas formulações do iogurte grego, o leite em pó desnatado (Molico, Nestlé, Carazinho, Rio Grande do Sul) utilizado para a correção de sólidos totais e o açúcar cristal (Alto Alegre®, Presidente Prudente, Brasil) foram adquiridos no comércio local. A polpa de morango foi gentilmente cedida pela empresa Doremus Alimentos. As culturas iniciadoras do iogurte (*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) e o probiótico (*Lactobacillus acidophilus* La5) foram adquiridos da Christian Hansen. O extrato de bile suíno, a pepsina da mucosa estomacal de suínos (≥ 400 U/mg proteína) e a pancreatina de pâncreas de suínos foram adquiridos da Sigma-Aldrich Brasil Ltda. Os reagentes foram de grau analítico e os meios de cultura apresentaram padrão microbiológico adequado.

4.2 Estratégia experimental para avaliar o impacto do ultrassom nas características do iogurte grego probiótico

Para a produção do iogurte grego (Figura 1), o leite teve o teor de sólidos totais corrigido para 12% (m/v) através da adição do leite em pó desnatado. A seguir, foram adicionados 10% (m/v) de açúcar cristal e a base foi submetida a tratamento térmico de 95 °C por 5 minutos e resfriada até 42 °C para demais etapas. Os ensaios diferiram entre si de acordo com o momento de aplicação do ultrassom (antes e após a adição das culturas) e a amplitude da potência, conforme o planejamento fatorial completo, do tipo 2³ (Tabela 1). Foi utilizada uma sonda ultrassônica (Vibra Cell™ VC 505, SONICS®, Newtown, CT, Estados Unidos), com potência de 500 W, frequência de 20 KHz e diâmetro do probe de 25,4 mm, cuja inserção foi padronizada em cerca de 50% de profundidade na parte central do frasco. As concentrações utilizadas das culturas seguiram as orientações dos fabricantes.

Figura 1 - Fluxograma da elaboração das amostras de iogurte grego probiótico.

Fonte: Autoria própria (2025).

Tabela 1 - Matriz do planejamento fatorial completo, do tipo 2³, com três pontos centrais, com níveis reais e codificados das variáveis.

Ensaio	Tempo pré inoculação (min)	Tempo após inoculação (min)	Amplitude da potência (%)
1	-1 (1)	-1 (0)	-1 (20)
2	+1 (5)	-1 (0)	-1 (20)
3	-1 (1)	+1 (3)	-1 (20)
4	+1 (5)	+1 (3)	-1 (20)
5	-1 (1)	-1 (0)	+1 (60)
6	+1 (5)	-1 (0)	+1 (60)
7	-1 (1)	+1 (3)	+1 (60)
8	+1 (5)	+1 (3)	+1 (60)
9	0 (3)	0 (1,5)	0 (40)
10	0 (3)	0 (1,5)	0 (40)
11	0 (3)	0 (1,5)	0 (40)

Fonte: Autoria própria (2025).

Os ensaios foram incubados à temperatura de 42 ± 1 °C. Durante o processo de fermentação, foi realizada a verificação do pH, utilizando pHmetro (Hanna Instruments, PH21, USA) e a acidez titulável, expressa em ácido láctico (IAL, 2008), até que estes atingiram os valores de 4,6 e 0,6 g de ácido láctico.100 g⁻¹, respectivamente. As diferentes formulações foram dessoradas à temperatura de

refrigeração de 6 ± 1 °C, em câmara fria, por um período de 12 h, seguidas de quebra do coágulo, adicionadas de polpa de morango (3 % m.m⁻¹) e então transferidas para frascos de vidro devidamente higienizados e armazenadas a 5 °C $\pm$ 1 °C durante o período das análises.

4.3 Análises microbiológicas

O acompanhamento da viabilidade da cultura probiótica de *L. acidophilus* e das bactérias da cultura iniciadora do iogurte foi realizado nos tempos 0, 15 e 30 dias e seguiu a metodologia descrita por Lucatto *et al.* (2019). Para tal, 25 g de cada ensaio foram transferidos para frascos com 225 mL de água peptonada 0,1% (diluição 10⁻¹) e diluídos em tubos de ensaio com 9 mL de água peptonada 0,1%, até a diluição 10⁻⁶. 1 mL de cada amostra foi adicionado a uma placa de Petri para inoculação pela técnica *pour plate*. Foram utilizados o Ágar M17 para a enumeração de *Streptococcus thermophilus*, o Ágar MRS com pH 4,58 para o *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e Ágar MRS adicionado de 10% de sorbitol para o *Lactobacillus acidophilus*. O Ágar M17 foi incubado a 37 °C por 48 horas e os demais ágaros foram incubados por 72 horas em condições anaeróbias e temperatura de 45 °C (MRS acidificado) e 37 °C (MRS sorbitol). As análises para os três microrganismos foram realizadas em triplicata. O resultado foi expresso como log UFC/ g.

4.4 Avaliação da sobrevivência do *L. acidophilus* do iogurte grego nos fluidos gástrico e intestinal simulados (FGIS)

Seguindo a metodologia descrita por Minekus *et al.* (2014), nos tempos 0 e 15 dias, as amostras foram submetidas às etapas simuladas da digestão. Inicialmente, 10 g de cada ensaio foram transferidos a tubos Falcon e adicionados com 10 mL de fluido salivar simulado (SSF), tiveram seu pH ajustado para 7,0 com adição de NaOH 1,0 mol.L⁻¹ e agitados em incubadora *Shaker* em rotação de 85 rpm a 37 °C por dois minutos. Em seguida, uma alíquota de 10 mL foi adicionada a 10 mL de Fluido Gástrico Simulado (SGF) e pepsina suína (3,8 mg.m⁻¹), e seu pH foi corrigido para 3,0 utilizando HCl 1,0 mol.L⁻¹. A amostra foi deixada sob incubação

por 2 horas, a 37 °C em incubadora *Shaker* a 85 rpm. Após a incubação, 10 mL dessa amostra foram transferidos para um novo tubo e adicionados 10 mL do Fluido Intestinal Simulado (SIF), do extrato de bile suína (37,8 mg/mL) e da pancreatina suína (16,25 mg/mL), seguindo para outra incubação de 2 horas a 37 °C. Ao fim da análise, 1 mL da amostra foi transferido para tubos com 9 mL de água peptonada 0,1% e realizadas diluições seriadas até 10⁻⁶, para então ser plaqueada pela técnica *pour plate* em Agar MRS com adição de Sorbitol para a enumeração do *L. acidophilus*. A quantidade de bactérias sobreviventes foi então calculada seguindo a metodologia de Jantzen, Göpel e Beermann (2013), utilizando a equação 1:

$$\% \text{ sobrevivência} = \frac{N}{N_0} \times 100$$

Eq. 1

Onde: N: número de células viáveis após a digestão (log UFC.g⁻¹).
N₀: número de células viáveis na suspensão inicial (log UFC.g⁻¹).

4.5 Análise do perfil de textura (TGA)

Para a análise de textura, cerca de 100 mL de cada ensaio foram transferidos para béqueres de 150 mL e deixados sob refrigeração por pelo menos duas horas antes da análise, para recuperação de sua estrutura e equilíbrio de temperatura. No texturômetro (TAXT2 Stable Micro System Ltd., Godalming, Surrey, UK), foi utilizado um probe de 35 mm, que foi aplicado sobre as amostras até uma profundidade de 30 mm por cerca de 5 s, a uma velocidade de 5 mm.s⁻¹. Foram avaliados os parâmetros dureza, adesividade, elasticidade, coesividade e gomosidade. As análises de água e textura foram realizadas nos tempos 01, 15 e 30 dias.

4.6 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à Análise de Variância e, quando detectada diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, ao Teste de Tukey utilizando o programa *Statistica*, versão 7.0. Para a análise dos efeitos das variáveis,

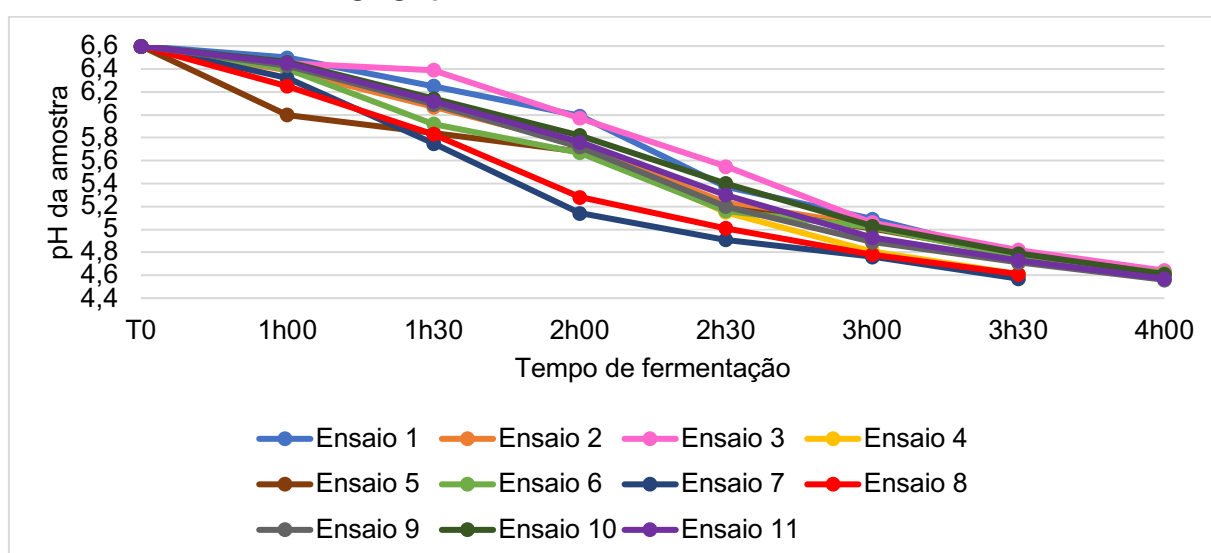
foi utilizado o software *Protimiza Experimental Design*, adotando-se intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Tempo de fermentação das amostras de iogurte

Na Figura 2, observam-se as curvas de redução do pH das diferentes formulações de iogurte tipo grego probiótico ao longo do período de fermentação. Os tratamentos 4, 7 e 8 atingiram o pH em torno de 4,6 em 3h:30min, enquanto os demais levaram 4 h.

Figura 2 - Comportamento dos valores de pH durante o processo fermentativo de iogurte tipo grego probiótico submetido ao ultrassom



Fonte: autoria própria (2025)

Ao analisar os efeitos das variáveis estudadas no PFC sobre a resposta de pH (Tabela 2), é possível verificar que, em 1h30min, a amplitude da potência exerceu efeito negativo e a interação entre o tempo de processo pré-inoculação (min) e a amplitude de potência apresentou efeito positivo ($p < 0,05$). Por sua vez, no tempo de 3h30min, o tempo de ultrassom após a inoculação apresentou efeito significativo ($p > 0,05$).

Tabela 2 - Efeito dos fatores estudados no PFC 2³ para a evolução do pH nos tempos de 1h30 e 3h30 de fermentação das diferentes formulações de iogurte tipo grego probiótico

Fatores	1h30min				3h30min			
	Efeito	Erro padrão	t calculado	p-valor	Efeito	Erro padrão	t calculado	p-valor
Média	6,048	0,022	274,161	<0,0000*	4,72	0,02	248,48	<0,0000*
x ₁ ^a	-0,070	0,052	-1,353	0,2475	-0,04	0,04	-0,95	0,3943
x ₂ ^b	0,005	0,052	0,097	0,9277	-0,12	0,04	-2,75	0,0514*
x ₃ ^c	-0,375	0,052	-7,248	0,0019*	-0,07	0,04	-1,51	0,2044
x ₁ x ₂	-0,020	0,052	-0,387	0,7188	-0,04	0,04	-0,95	0,3943
x ₁ x ₃	0,150	0,052	2,899	0,0441*	0,05	0,04	1,18	0,3041
x ₂ x ₃	-0,095	0,052	-1,836	0,1402	-0,06	0,04	-1,29	0,2665

Fonte: Autoria própria (2025).

Nota: Os efeitos são adimensionais, apresentados em termos de pH; * p≤0,05; ^a x₁: tempo de processo pré-inoculação (min); ^b x₂: tempo de processo pós-inoculação (min); ^c x₃: amplitude de potência (%).

Foram gerados os modelos para o pH em função das variáveis significativas (Eq. 2 e 3), os quais foram validados pela ANOVA (Tabela 3).

$$Y_2 = 6,05 - 0,19 x_3 + 0,07 x_1 x_3$$

Equação 2

$$Y_3 = 4,72 - 0,06 x_2$$

Equação 3

Tabela 3 - Anova dos modelos gerados para as respostas de pH nos tempos de 1h30 e 3h30 de fermentação

Fonte de variação	1h30					3h30				
	SQ ^a	GL ^b	QM ^c	F _{calculado}	p-valor	SQ ^a	GL ^b	QM ^c	F _{calculado}	p-valor
Regressão	0,33	2	0,16	26,04	0,0003	0,03	1	0,03	6,09	0,0357
Resíduos	0,05	8	0,01			0,04	9	0		
Total	0,38	10				0,07	10			
R²			86,7					40,36		

Fonte: autoria própria (2025)

Ao avaliar o impacto do ultrassom no iogurte grego probiótico, é possível verificar que no tempo 1h30min a amplitude de potência foi o fator mais relevante e apresentou um efeito negativo significativo sobre o pH (p<0,05) (Tabela 2), ou seja, níveis mais altos de amplitude de potência x tempo de aplicação pré-inoculação e

maior amplitude potência, dentro da faixa estudada, resultaram em uma redução mais acelerada do pH, atingindo o valor de pH ideal em menor tempo quando comparadas com os demais ensaios (Figura 2). Por sua vez, no tempo 3h:30min o tempo de aplicação do ultrassom pós-inoculação resultou em menor tempo de fermentação.

Brito (2022) avaliou o efeito do ultrassom por sonda (500 W, 20 kHz) aplicado ao leite antes da fermentação com culturas tradicionais do iogurte e *Lactobacillus acidophilus* La-5. O tratamento foi aplicado com densidades energéticas de 200, 640 e 1600 J·mL⁻¹. A aplicação de 640 J·mL⁻¹ a 25 °C reduziu o tempo de fermentação do iogurte tradicional em cerca de 31 min, enquanto 200 J·mL⁻¹ reduziu o tempo em aproximadamente 16 min para o fermentado contendo apenas *L. acidophilus* La-5. Contudo, na fermentação conjunta das duas culturas, o ultrassom aumentou o tempo de fermentação, indicando que o efeito depende da composição microbiana e da energia aplicada. Resultados similares foram relatados por Abesinghe *et al.* (2022), ao investigarem o efeito do ultrassom de alta intensidade (20 kHz) aplicado com sonda, por 6 e 10 minutos, imediatamente após a inoculação de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* em 50 mL de leite de búfala. O tratamento promoveu aumento significativo no número de células viáveis e na atividade metabólica das culturas iniciadoras, refletido em maior produção de ácido láctico e redução do tempo de fermentação em relação ao controle.

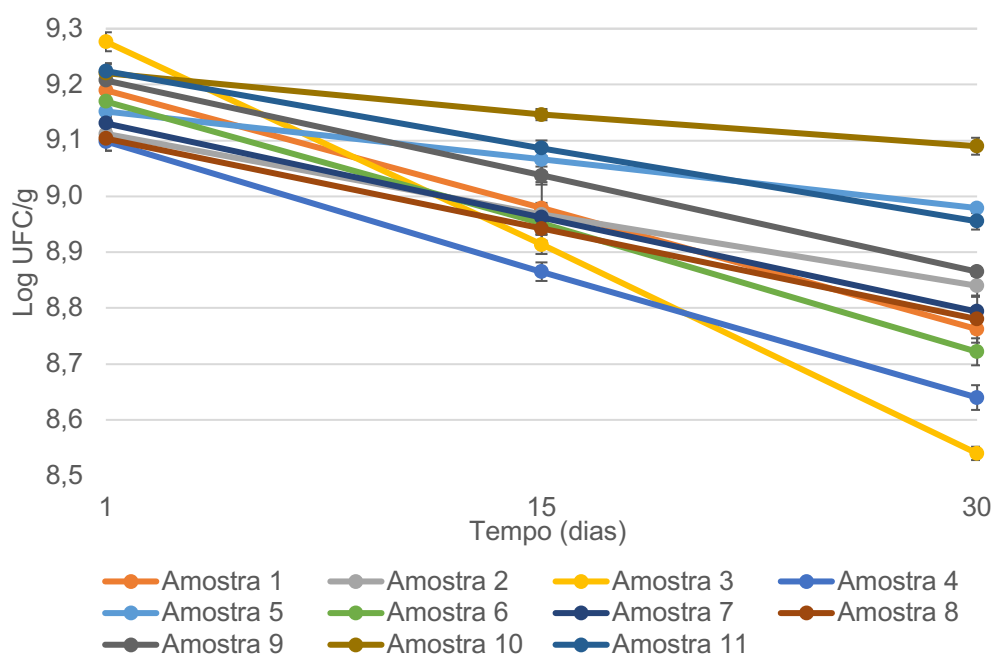
O ultrassom, em amplitudes mais altas, favorece a dispersão dos nutrientes e o rompimento parcial das estruturas celulares, facilitando a liberação de compostos intracelulares e aumentando a disponibilidade de substratos para as bactérias lácticas (Akdeniz *et al.*, 2024). Ele também aumenta a permeabilidade das membranas celulares, facilitando a entrada de nutrientes e a remoção de subprodutos do metabolismo. Esse processo reduz o tempo necessário para a acidificação do leite e acelera as reações enzimáticas essenciais durante a fermentação, intensificando a atividade metabólica e levando a uma produção mais rápida de ácido láctico e à consequente redução do pH (Guimarães *et al.*, 2021; Körzendörfer *et al.*, 2019). Um menor tempo de fermentação resulta em uma maior capacidade de produção por unidade de tempo, o que reduz custos de estocagem, incubação, energia e espaço. Uma redução de 0,5 hora no tempo de fermentação pode aumentar a capacidade de produção diária e diminuir o consumo de energia,

melhorando assim a eficiência do processamento (An *et al.*, 2025). Logo, dentro da faixa estudada, a aplicação de um maior tempo de ultrassom pós inoculação com maior amplitude de potência resultou em menor tempo de fermentação.

5.2 Viabilidade das culturas iniciadoras e do probiótico durante o armazenamento dos iogurtes probióticos

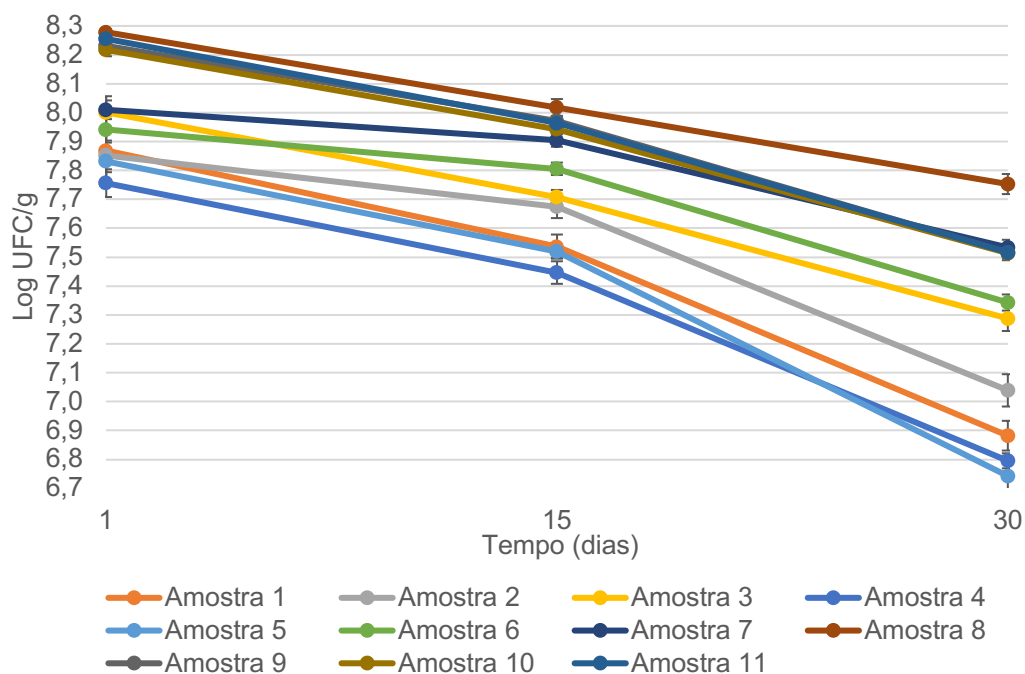
Ao longo do período de armazenamento das amostras, foi realizado o acompanhamento da população microbiana através da contagem de *Streptococcus thermophilus* (Figura 3), *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Figura 4) e *Lactobacillus acidophilus* (Figura 5). O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento define requisitos para leites fermentados, incluindo o iogurte, em regulamentos técnicos. Para os iogurtes, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados exige que os microrganismos dos cultivos utilizados sejam viáveis e ativos e que a contagem mínima de bactérias lácticas viáveis fique dentro do requisito durante todo o prazo de validade, que é, no mínimo, de 10^7 UFC/g para iogurte (MAPA, 2007). Os tratamentos mantiveram-se, ao longo do armazenamento, de acordo com a legislação.

Figura 3 - Contagem de *S. thermophilus* ao longo do período de armazenamento de iogurte tipo grego probiótico



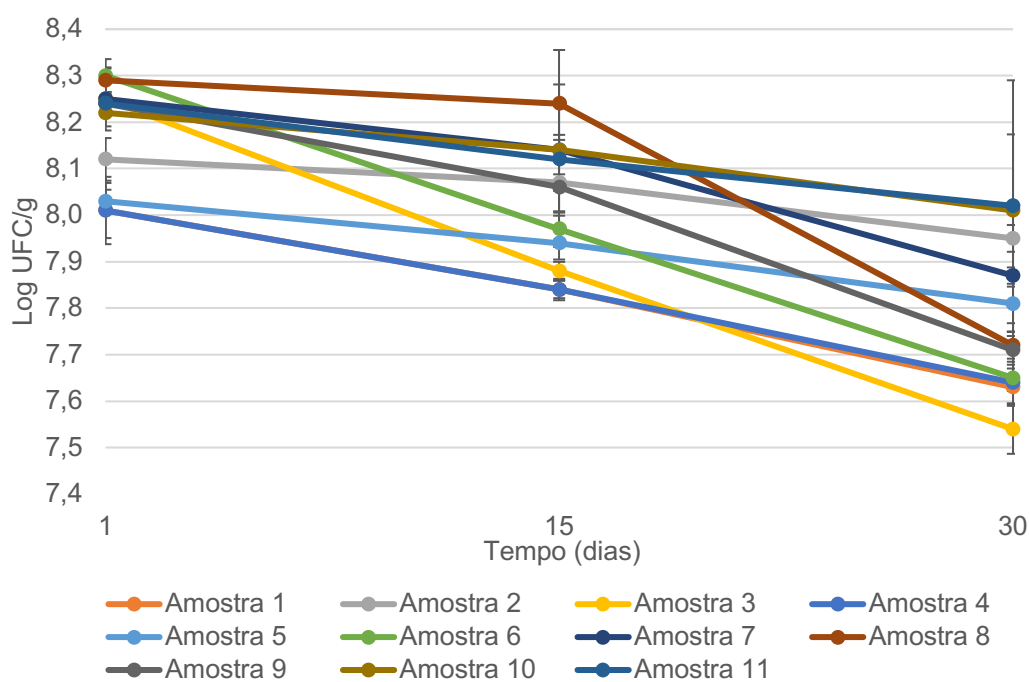
Fonte: autoria própria (2025)

Figura 4 - Contagem de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ao longo do período de armazenamento de iogurte tipo grego probiótico



Fonte: autoria própria (2025)

Figura 5 - Contagem de *L. acidophilus* ao longo do período de armazenamento em iogurte tipo grego probiótico



Fonte: autoria própria (2025)

De acordo com a RDC nº 241/2018 da ANVISA, os alimentos que declaram conter microrganismos probióticos, como *Lactobacillus acidophilus*, devem comprovar a identidade da cepa utilizada, sua segurança para consumo e a manutenção de sua viabilidade até o final da vida útil do produto (Brasil, 2018). Embora a norma não estabeleça um valor único de contagem mínima para todos os alimentos, documentos complementares da própria indicam que o conteúdo de microrganismos viáveis deve situar-se entre 10^6 e 10^8 UFC/g do produto pronto para consumo. Esses parâmetros seguem recomendações internacionais, como as da *International Probiotics Association* (IPA) e da FAO/OMS, que consideram eficazes concentrações iguais ou superiores a 10^6 UFC/g ou mL no momento do consumo. Dessa forma, produtos que utilizam *L. acidophilus* como probiótico devem garantir contagens viáveis dentro dessa faixa e demonstrar, por evidências científicas, o benefício funcional declarado, assegurando estabilidade e viabilidade celular até o prazo de validade, e todos os tratamentos estiveram de acordo com o estipulado, tanto na legislação quanto na literatura, durante a vida útil.

Foram calculados os efeitos das variáveis estudadas sobre a contagem dos microrganismos nos tempos de 15 e 30 dias de armazenamento refrigerado e não foram observados efeitos significativos sobre as contagens dos microrganismos (Tabelas 4, 5 e 6) estudados em ambos os tempos ($p > 0,05$).

Tabela 4 - Efeito dos fatores estudados no PFC 2³ para o crescimento de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Log UFC/g) nos tempos de 15 e 30 dias de armazenamento em iogurte tipo grego probiótico

Fatores	Tempo 15				Tempo 30			
	Efeito	Erro padrão	t calculado	p-valor	Efeito	Erro padrão	t calculado	p-valor
Média	7,77	0,06	134,25	<0,0000*	7,265	0,078	92,835	<0,0000*
x₁a	0,07	0,07	0,52	0,6333	0,12	0,09	0,67	0,5410
x₂b	0,14	0,07	0,99	0,3763	0,34	0,09	1,87	0,1354
x₃c	0,22	0,07	1,62	0,1805	0,34	0,09	1,84	0,1398
x₁x₂	-0,14	0,07	-1,03	0,3607	-0,26	0,09	-1,4	0,2333
x₁x₃	0,14	0,07	0,99	0,3763	0,29	0,09	1,57	0,1923
x₂x₃	0,16	0,07	1,18	0,3039	0,26	0,09	1,4	0,2333

Fonte: autoria própria (2025)

Nota: Os efeitos são apresentados em Log UFC/g; * $p \leq 0,05$; ^a x₁: tempo de processo pré-inoculação (min); ^b x₂: tempo de processo pós-inoculação (min); ^c x₃: amplitude de potência (%).

Tabela 5 – Efeito dos fatores estudados no PFC 2³ para o crescimento de *Streptococcus thermophilus* (Log UFC/g) nos tempos de 15 e 30 dias de armazenamento.

Fatores	T15				T30			
	Efeito	Erro padrão	t calculado	p-valor	Efeito	Erro padrão	t calculado	p-valor
Média	8,994	0,033	269,011	<0,0000*	8,82	0,06	159,8	<0,0000*
x_{1a}	-0,05	0,04	-0,61	0,5773	-0,02	0,06	-0,17	0,8704
x_{2b}	-0,07	0,04	-0,92	0,4075	-0,14	0,06	-1,06	0,3478
x_{3c}	0,05	0,04	0,61	0,5773	0,12	0,06	0,95	0,3973
x_{1x2}	0,02	0,04	0,22	0,8343	0,07	0,06	0,52	0,6294
x_{1x3}	-0,02	0,04	-0,29	0,7884	-0,11	0,06	-0,87	0,4336
x_{2x3}	0,01	0,04	0,16	0,8811	0,07	0,06	0,56	0,6051

Fonte: autoria própria (2025)

Nota: Os efeitos são apresentados em Log UFC/g; * p≤0,05; ^a x₁: tempo de processo pré-inoculação (min); ^b x₂: tempo de processo pós-inoculação (min); ^c x₃: amplitude de potência (%).

Tabela 6 - Efeito dos fatores estudados no PFC 2³ para o crescimento de *Lactobacillus acidophilus* (Log UFC/g) nos tempos de 15 e 30 dias de armazenamento

Fatores	T15				T30			
	Efeito	Erro padrão	t calculado	p-valor	Efeito	Erro padrão	t calculado	p-valor
Média	7,9	0,11	71,03	<0,0000*	7,78	0,06	135,46	<0,0000*
x_{1a}	0,42	0,13	1,61	0,1826	0,03	0,07	0,2	0,8481
x_{2b}	-0,27	0,13	-1,04	0,3590	-0,07	0,07	-0,5	0,6425
x_{3c}	-0,17	0,13	-0,67	0,5389	0,07	0,07	0,54	0,6188
x_{1x2}	0,29	0,13	1,11	0,3284	-0,05	0,07	-0,39	0,7165
x_{1x3}	0,32	0,13	1,25	0,2807	-0,18	0,07	-1,36	0,2468
x_{2x3}	-0,17	0,13	-0,67	0,5389	0,13	0,07	0,98	0,3808

Fonte: autoria própria (2025)

Nota: Os efeitos são apresentados em Log UFC/g; * p≤0,05; ^a x₁: tempo de processo pré-inoculação (min); ^b x₂: tempo de processo pós-inoculação (min); ^c x₃: amplitude de potência (%).

Resultados similares foram observados por Brito (2022) ao aplicar ultrassom por sonda em diferentes densidades energéticas (200, 640 e 1600 J/mL), gerando potências entre ~1100–1400 W, antes e após a inoculação. O estudo não apresentou nenhuma diferença significativa na viabilidade microbiana durante 28 dias de armazenamento, comparada ao controle. A combinação do tempo de aplicação e da densidade energética não causou danos estruturais expressivos aos microrganismos, e parte da energia foi dispersada na matriz do leite, reduzindo o impacto direto. Assim, em conjunto, os estudos indicam que o ultrassom, quando aplicado em condições moderadas e controladas, não compromete a estabilidade microbiana dos iogurtes ao longo da estocagem.

Do ponto de vista tecnológico e industrial, a influência insignificante das variáveis estudadas neste trabalho sobre as culturas iniciadoras e probiótica é uma

vantagem, tendo em vista que permite empregar ultrassom para melhorar atributos como tempo de fermentação sem comprometer a viabilidade das culturas utilizadas.

5.3 Sobrevivência do *L. acidophilus* ao FGIS

Aos 15 dias de armazenamento (T15), foi realizada análise de sobrevivência do probiótico no trato digestório simulado *in vitro*, obtendo-se a porcentagem de colônias viáveis ao fim da digestibilidade simulada (Tabela 7) e o efeito das variáveis estudadas no PFC 2³ encontra-se na Tabela 8.

Tabela 7 – Enumeração e percentual de viabilidade de *L. acidophilus*, em T15, antes e depois da exposição ao FGIS, em iogurte tipo grego probiótico

Ensaio	Contagem de <i>L. acidophilus</i> em T15 (log UFC.g-1):	Contagem <i>L. acidophilus</i> após digestibilidade (log UFC.g-1):	Viabilidade das colônias, após a exposição ao FGIS em T15 (%)
1	7,83 ± 0,61	6,29 ± 0,08	80,3
2	8,07 ± 0,61	6,84 ± 0,03	84,8
3	7,87 ± 0,62	6,76 ± 0,06	85,9
4	8,01 ± 0,62	7,10 ± 0,04	88,6
5	8,06 ± 0,12	5,49 ± 0,20	68,2
6	8,28 ± 0,61	7,04 ± 0,05	85,0
7	8,13 ± 0,07	6,52 ± 0,07	80,2
8	8,19 ± 0,61	6,92 ± 0,03	84,5
9	8,12 ± 0,61	6,62 ± 0,09	81,5
10	8,26 ± 0,60	6,55 ± 0,05	79,3
11	8,22 ± 0,60	6,60 ± 0,03	80,3

Fonte: autoria própria (2025)

Tabela 8 - Efeito dos fatores estudados no DCC 2³ sobre a resposta do *L. acidophilus* a sobrevivência ao trato digestório (Log UFC/g)

Fatores	Efeito	Erro padrão	t calculado	p-valor
Média	81,69	0,74	110,68	0,0000*
X ₁ ^a	7,08	1,74	4,068966	0,0150*
X ₂ ^b	5,22	1,74	3	0,0392*
X ₃ ^c	-5,42	1,74	-3,114943	0,0351*
X ₁ X ₂	-3,58	1,74	-2,057471	0,1078
X ₁ X ₃	3,48	1,74	2	0,1151
X ₂ X ₃	0,52	1,74	0,298851	0,7768

Fonte: Autoria própria (2025)

Nota: Os efeitos são apresentados em % de sobrevivência; * $p \leq 0,05$; ^a x_1 : tempo de processo pré-inoculação (min); ^b x_2 : tempo de processo pós-inoculação (min); ^c x_3 : amplitude de potência (%)

Para a resposta da sobrevivência ao trato digestório, o tempo de ultrassom aplicado antes da inoculação (x_1) e o tempo de ultrassom aplicado após a inoculação (x_2) exerceram efeito significativo e positivo sobre a sobrevivência do *Lactobacillus acidophilus*. O aumento individual de cada tempo promoveu aumento na resposta, sugerindo que exposições mais prolongadas ao ultrassom nessas etapas favorecem mecanismos celulares que resultam em maior resistência ao processo de digestibilidade. Já a amplitude de potência (x_3) apresentou efeito significativo e negativo, demonstrando que amplitudes mais elevadas prejudicam a viabilidade probiótica. Esse comportamento indica que, dentro das condições avaliadas, o prolongamento dos tempos de aplicação beneficia a sobrevivência celular, mas esse ganho pode ser comprometido quando a potência é aumentada, possivelmente devido ao estresse mecânico mais intenso.

As interações entre os fatores não foram significativas, embora a interação x_1x_2 tenha apresentado tendência negativa. Esse comportamento sugere que a combinação conjunta de tempos mais longos em ambas as etapas pode iniciar um efeito cumulativo de estresse, reduzindo parcialmente o benefício observado quando cada tempo atua de forma isolada. Apesar de não atingir significância estatística, essa tendência indica que exposições excessivas e combinadas poderiam ultrapassar o limite de tolerância celular. Abesinghe (2019) observou comportamento semelhante, relatando que a aplicação do ultrassom em duas etapas (antes e depois da inoculação) pode levar à desestabilização das membranas celulares e diminuição da viabilidade das bactérias, especialmente quando os tempos de exposição são longos ou sucessivos.

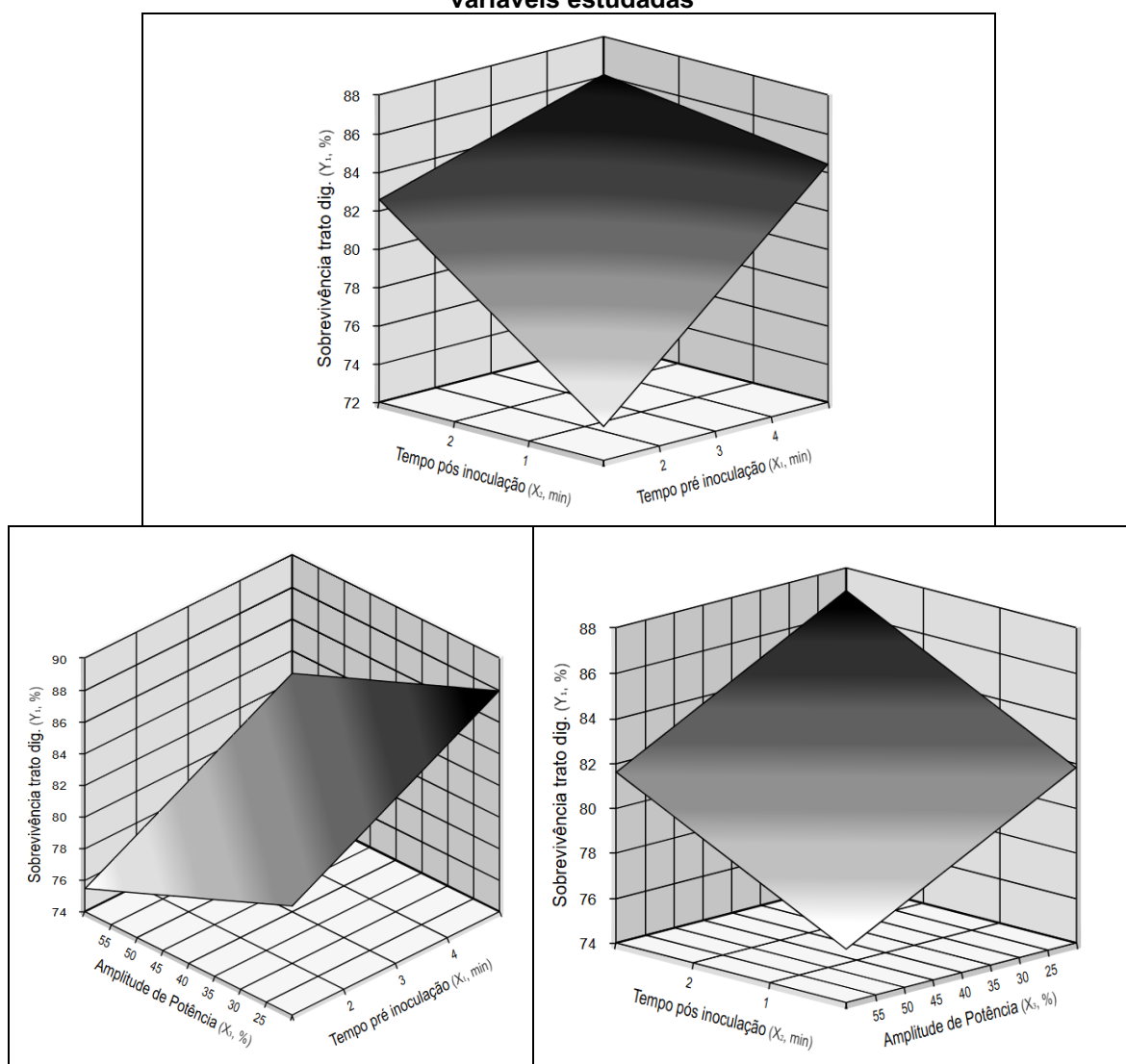
Considerando os parâmetros significativos ($p < 0,05$), foi obtido o modelo de regressão para a resposta de sobrevivência ao trato digestório em função das variáveis estudadas. Os resultados da análise de variância (ANOVA) estão demonstrados na Tabela 9, de modo que o modelo foi considerado válido ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$, R^2 99,5%) para a obtenção das superfícies de resposta apresentadas na Figura 6:

Tabela 9 - Anova do modelo gerado para a resposta de sobrevivência ao trato digestório

Fonte de Variação	SQ ^a	GL ^b	QM ^c	F _{calculado}	p-valor
Regressão	239,10	4	59,8	7,4	<0,0169
Resíduos	48,70	6	8,1		
Total	287,80	10			

Fonte: Autoria própria (2025)

Nota: ^a soma de quadrados; ^b graus de liberdade; ^c quadrados médios

Figura 6 - Superfícies de resposta para a sobrevivência ao trato digestório em função das variáveis estudadas

Fonte: autoria própria (2025)

As superfícies de resposta (Figura 6) demonstram visualmente os efeitos identificados. O gráfico que relaciona os tempos de aplicação do ultrassom (x_1 e x_2) apresenta maior área de superfície quando ambos os tempos aumentam, demonstrando que as regiões com maiores tempos nas duas etapas concentram

maiores valores de sobrevivência. Já a superfície relacionando o tempo de ultrassom pré-inoculação e a amplitude de potência (x_1 e x_3) revela o antagonismo entre os fatores: enquanto o aumento de x_1 eleva a sobrevivência, o aumento de x_3 reduz a resposta, gerando uma inclinação que destaca a sensibilidade da viabilidade probiótica à potência aplicada. Observa-se um comportamento semelhante na superfície que apresenta a relação entre o tempo de ultrassom pós-inoculação e a amplitude de potência ($x_2 \times x_3$): o tempo pós-inoculação tem efeito positivo moderado, porém novamente prejudicado pelo efeito negativo da amplitude, reforçando que a potência é o fator limitante para a integridade celular. Segundo Delgado *et al.* (2020), amplitudes elevadas de ultrassom geram colapsos de microbolhas que promovem cisalhamento e formação de radicais livres, comprometendo a integridade da membrana celular. Da mesma forma, Akdeniz (2023) destacou que a aplicação de ultrassom sobre células já metabolicamente ativas, como as culturas inoculadas, tende a reduzir a viabilidade quando o tempo e a intensidade são muito elevados.

5.4 Efeitos do ultrassom no perfil de textura

Na análise do Perfil de Textura (TPA), é avaliado como o alimento responde às forças de compressão e deformação, considerando os parâmetros de dureza, adesividade, elasticidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade e resiliência. Para iogurtes tipo grego, alguns parâmetros de textura são mais relevantes devido as características desse tipo de produto. A dureza é o principal atributo, associada à firmeza e à consistência elevadas, valorizadas pelos consumidores. A adesividade contribui para a sensação de pegajosidade e da interação do produto com utensílios, influenciando a percepção de cremosidade e corpo. A elasticidade indica a capacidade do gel de recuperar sua forma após compressão, ajudando a descrever a estrutura coesa e estável típica de iogurtes com maior teor proteico. A coesividade reflete a força interna das ligações na matriz do gel, caracterizando a integridade estrutural de iogurtes densos, como o grego (Prajapati *et al.*, 2016). A gomosidade indica o esforço necessário para desintegrar a amostra, contribuindo com a sensação de consistência e da densidade percebida na boca (Zaneti, 2021). Considerando os parâmetros de TPA mais relevantes para os iogurtes, a Tabela 10

apresenta os valores de Dureza, Adesividade, Elasticidade, Coesividade e Gomosidade obtidos na análise do perfil de textura deão longo do armazenamento:

Tabela 10 - Resultados da análise do perfil de textura para os diferentes ensaios de iogurte tipo grego probióticos

Ensaio	Dureza (N)	Adesividade (N.s ⁻¹)	Elasticidade	Coesividade	Gomosidade (N)
Tempo 1 dia					
1	134,89	491,27	0,85	0,56	74,91
2	99,30	410,69	0,84	0,57	57,08
3	137,04	513,85	0,86	0,58	79,65
4	128,96	484,79	0,83	0,57	73,13
5	104,78	428,71	0,85	0,61	64,26
6	97,83	410,52	0,86	0,62	60,82
7	97,54	408,61	0,85	0,62	60,17
8	171,23	623,93	0,86	0,62	106,81
9	202,60	712,44	0,91	0,63	128,46
10	217,20	742,45	0,89	0,63	135,82
11	213,65	760,88	0,92	0,65	139,34
Tempo 15 dias					
1	145,06	485,94	0,85	0,59	85,68
2	271,16	519,94	0,87	0,62	167,86
3	143,48	498,62	0,84	0,60	86,55
4	138,94	527,46	0,88	0,64	88,44
5	105,17	388,09	0,84	0,52	54,92
6	93,05	343,75	0,84	0,54	50,36
7	94,67	346,20	0,84	0,54	50,96
8	278,81	902,36	0,92	0,57	160,26
9	302,87	1018,23	0,95	0,60	181,23
10	318,86	1091,00	0,94	0,59	188,01
11	341,01	1140,78	0,95	0,60	203,76
Tempo 30 dias					
1	88,43	242,93	0,89	0,64	56,58
2	114,35	296,24	0,91	0,56	63,57
3	120,01	328,23	0,91	0,56	67,06
4	126,49	265,54	0,91	0,54	68,10
5	133,90	315,50	0,94	0,55	74,03
6	118,33	282,82	0,90	0,54	63,87
7	122,66	295,66	0,92	0,55	66,94
8	232,55	680,08	0,93	0,68	158,78
9	267,72	907,43	0,95	0,68	181,76
10	313,81	1071,82	0,95	0,72	225,28
11	274,98	917,51	0,94	0,71	194,14

Fonte: autoria própria (2025)

Foi realizado o cálculo dos efeitos das variáveis sobre as respostas de dureza (N), adesividade (N.s⁻¹), elasticidade, coesividade e gomosidade (N) nos tempos 1, 15 e 30 dias de armazenamento. Somente no tempo de 15 dias e para a medida de coesividade, as variáveis x_1 (tempo de pré inoculação) e x_3 (amplitude de potência) apresentaram efeitos significativos positivo e negativo, respectivamente (Tabela 13). Para as demais medidas e tempos, as variáveis do processo não apresentaram efeitos significativos (resultados não demonstrados).

Tabela 11 - Efeito dos fatores estudados no PFC 2³ sobre a resposta de coesividade no tempo de 15 dias de armazenamento

Fatores	Efeito	Erro padrão	t calculado	p-valor
Média	0,58	0,00	131,19	<0,0000*
x_1^a	0,03	0,01	2,88	0,0450*
x_2^b	0,02	0,01	1,92	0,1273
x_3^c	-0,07	0,01	-6,72	0,0026*
x_1x_2	0,00	0,01	0,48	0,6563
x_1x_3	-0,01	0,01	-0,48	0,6563
x_2x_3	0,00	0,01	0,48	0,6563

Fonte: autoria própria (2025)

Nota: Os efeitos são apresentados em valor adimensional; * $p \leq 0,05$; ^a x_1 :tempo de processo pré-inoculação (min); ^b x_2 :tempo de processo pós-inoculação (min); ^c x_3 :amplitude de potência (%).

Foi gerado o modelo para a coesividade no tempo de 15 dias em função das variáveis significativas (Eq. 4), o qual foi validado pela ANOVA (Tabela 14) ($F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$, R^2 86,5%). Na superfície de resposta (Figura 8) pode-se confirmar o efeito das variáveis, apresentando maior coesividade no maior tempo de pré-inoculação e na menor amplitude de potência.

$$Y = 0,58 + 0,02 x_1 - 0,04 x_3 \quad \text{Eq. 4}$$

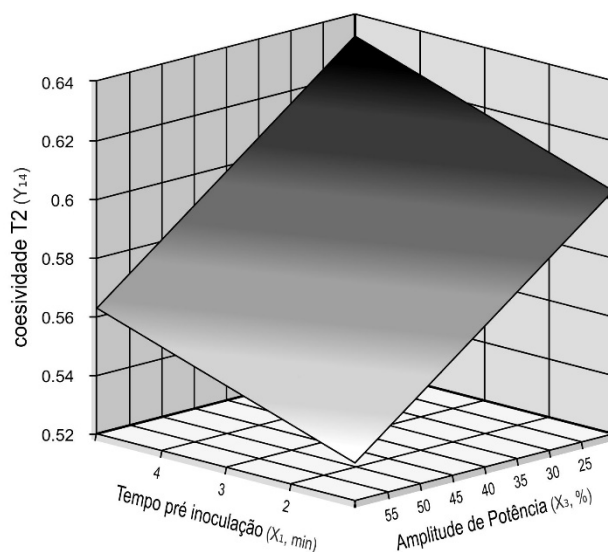
Tabela 12 - Anova do modelo gerados para a resposta de Coesividade no tempo de 15 dias de armazenamento

Fonte de Variação	SQ ^a	GL ^b	QM ^c	$F_{\text{calculado}}$	p-valor
Regressão	0,01	2,00	0,01	25,52	0,0003
Resíduos	0,00	8,00	0,00		
Total	0,01	10,00			

^a soma de quadrados; ^b graus de liberdade; ^c quadrado médio

Fonte: autoria própria (2025)

Figura 7 - Superfície de resposta para a Coesividade em função do tempo pré inoculação e da amplitude de potência no tempo T15 de armazenamento



Fonte: autoria própria (2025)

A ocorrência de significância estatística apenas para a coesividade no dia 15 pode estar associada a variáveis inerentes ao processo analítico e ao tratamento estatístico dos dados. Falhas operacionais na análise TPA são possíveis (como inconsistências na centralização da amostra, pequenas diferenças de temperatura no momento do ensaio ou variações na textura decorrentes de repouso inadequado antes da mensuração). Também é possível que o resultado seja consequência de variabilidade natural entre repetições ou de sensibilidade limitada do teste estatístico aplicado, já que pequenas flutuações entre réplicas podem gerar significância pontual em apenas um tempo de avaliação, especialmente quando os efeitos reais do tratamento são sutis ou quando há dispersão elevada dentro do grupo. Assim, a significância isolada para coesividade pode refletir a combinação entre variabilidade experimental, comportamento intrínseco do produto e limitações estatísticas do conjunto de dados analisado.

Diversos trabalhos relatam ausência de efeitos significativos do ultrassom sobre os parâmetros de textura tradicionalmente avaliados em iogurtes e leites fermentados, mesmo quando aplicado em diferentes amplitudes, tempos e momentos do processamento. Zheng e Zhang (2022), por exemplo, trataram o leite com ultrassom a 20 kHz, amplitude moderada e tempos de até 10 minutos antes da fermentação. Os autores avaliaram dureza, elasticidade, coesividade e gomosidade, não encontrando diferenças entre o produto tratado e o controle. Atribuíram esses

resultados ao fato de que, nas condições experimentais utilizadas, a intensidade da cavitação não provocou perturbações suficientes na estrutura das proteínas, resultando em uma rede de gel similar à do iogurte convencional.

Resultados semelhantes foram obtidos por Chávez-Martínez *et al.* (2020), que aplicaram ultrassom em leite destinado à fermentação, também utilizando 20 kHz e intensidades baixas a moderadas. As análises de dureza, adesividade e coesividade mostraram que o ultrassom não alterou significativamente o comportamento mecânico do gel formado. Os autores sugeriram que amplitudes reduzidas limitam a propagação das ondas de cavitação e, conseqüentemente, reduzem a capacidade do ultrassom de modificar a estrutura micelar da caseína de modo detectável pelas metodologias de TPA.

Carrillo-Lopez *et al.* (2019) investigaram o efeito do ultrassom pré-fermentação em iogurtes gregos, utilizando 20 kHz e amplitudes entre 40–60%. Os parâmetros avaliados incluíram dureza, adesividade, elasticidade e coesividade, e nenhum deles apresentou diferença significativa após o tratamento. Segundo os autores, a maior concentração de sólidos e a estrutura mais densa típica do iogurte grego atuam como barreiras físicas à transferência de energia acústica, atenuando a formação de microcavitações e limitando qualquer potencial de modificação da matriz proteica.

No conjunto, esses trabalhos demonstram que a ausência de mudanças no perfil de textura é relativamente comum em sistemas lácteos tratados por ultrassom, especialmente quando os parâmetros de amplitude, tempo e energia aplicada não são suficientemente elevados para modificar a estrutura proteica ou quando a matriz apresenta características intrínsecas (como alta concentração de sólidos) que reduzem a eficiência da cavitação.

6 CONCLUSÃO

O estudo comprovou que o ultrassom pode ser utilizado como ferramenta tecnológica eficaz no processamento de iogurte grego probiótico, conforme os objetivos propostos. A aplicação pós-inoculação reduziu o tempo de fermentação para cerca de 3h30min, indicando ganho produtivo. A viabilidade dos microrganismos durante o armazenamento manteve-se dentro dos padrões, e a textura não foi negativamente afetada, com alteração significativa apenas na coesividade aos 15 dias. Na digestibilidade in vitro, a aplicação isolada de ultrassom antes e após a inoculação melhorou a sobrevivência de *Lactobacillus acidophilus*, especialmente nos tempos de aplicação mais longos utilizados e na amplitude de potência inferior, dentro da faixa estudada. Conclui-se que o ultrassom pode ser incorporado ao processamento do iogurte grego probiótico para otimizar a fermentação e favorecer a resistência do probiótico, desde que os parâmetros sejam ajustados conforme o objetivo desejado.

REFERÊNCIAS

ABEINSINGHE, A. M. N. L. *et al.* Effects of ultrasonication on the physicochemical properties of milk fat globules of *Bubalus bubalis* under processing conditions: a comparison with shear-homogenization. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 59, p. 102237, 2020.

AKDENIZ, V.; AKALIN, A. S. New approach for yoghurt and ice cream production: high-intensity ultrasound. **Trends in Food Science & Technology**, v. 86, p. 392–398, 2019.

AKDENIZ, V.; AKALIN, A. S. Power ultrasound affects physicochemical, rheological and sensory characteristics of probiotic yoghurts. **International Dairy Journal**, v. 137, p. 105530, 2023.

AN, M. *et al.* Metabolic modulation of yogurt fermentation kinetics and storage stability by *Lactobacillus*-starter culture interactions. **Foods**, v. 14, n. 17, p. 2935, 2025.

ARYA, S. S. *et al.* Novel, nonthermal, energy efficient, industrially scalable hydrodynamic cavitation: applications in food processing. **Food Reviews International**, v. 36, n. 7, p. 668–691, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1669163>.

BHARGAVA, N.; MOR, R. S.; KUMAR, K.; SHARANAGAT, V. S. Advances in application of ultrasound in food processing: a review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 70, p. 105293, 2021.

BINTSIS, T.; PAPADEMAS, P. The evolution of fermented milks, from artisanal to industrial products: a critical review. **Fermentation**, v. 8, p. 679, 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **Diário Oficial da União**, seção 1, Brasília, DF, p. 4, 24 out. 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Legislação em inspeção de produtos de origem animal. Brasília, 14 jul. 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/legislacao>. Acesso em: 25 nov. 2025.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 241, de 26 de julho de 2018. Dispõe sobre requisitos para comprovação da segurança e benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2018/rdc0241_26_07_2018.pdf. Acesso em: 25 nov. 2025.

BRITO, L. M. **Efeito do uso de ultrassom na viabilidade das culturas tradicionais do iogurte e culturas probióticas**. 2022. 124 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) — Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

CARRILLO LÓPEZ, L. *et al.* Recent advances in the application of ultrasound in dairy products: effect on functional, physical, chemical, microbiological and sensory properties. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 73, p. 105467, 2021.

CHÁVEZ MARTÍNEZ, A. *et al.* Low and high intensity ultrasound in dairy products: applications and effects on physicochemical and microbiological quality. **Foods**, v. 9, n. 11, p. 1688, 2020.

CUNHA JÚNIOR, P. C. da. **Desenvolvimento de ingrediente alimentício natural multifuncional oriundo de batata-doce de polpa roxa: caracterização e aplicação**. 2023. 144 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) — Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

DELGADO, K. *et al.* Different ultrasound exposure times influence the physicochemical and microbial quality properties in probiotic goat milk yogurt. **Molecules**, v. 25, n. 20, p. 4638, 2020.

DESHWAL, G. K. *et al.* Review on factors affecting and control of post-acidification in yoghurt and related products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 109, p. 499–512, 2021.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Milk and dairy products in human nutrition**. Rome: FAO, 2013. 404 p. Disponível em: <https://www.fao.org/4/i3396e/i3396e.pdf>. Acesso em: 25 nov. 2025.

GALLO, M.; FERRARA, L.; NAVIGLIO, D. Application of ultrasound in food science and technology: a perspective. **Foods**, v. 7, n. 10, p. 164, 2018.

GIORDANO, I.; PASOLLI, E.; MAURIELLO, G. Transcriptomic analysis reveals differential gene expression patterns of *Lactocaseibacillus casei* ATCC 393 in response to ultrasound stress. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 107, p. 106939, 2024.

GUIMARÃES, J. T.; BALTHAZAR, C. F. *et al.* High-intensity ultrasound: a novel technology for the development of probiotic and prebiotic dairy products. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 57, p. 12–21, 2019.

GYAWALI, R. **Ingredient supplementation effects on acid whey production and quality of Greek style yogurt**. 2017. Tese (Doutorado) — North Carolina Agricultural and Technical State University, Greensboro, NC, EUA.

HASEGAWA, Y.; BOLLING, B. W. Yogurt consumption for improving immune health. **Current Opinion in Food Science**, v. 51, p. 101017, 2023.

HIGUERA-BARRAZA, O. A. *et al.* Effects of high-energy ultrasound on the functional properties of proteins. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 31, p. 558–562, 2016.

HILL, C. *et al.* Expert consensus document: the ISAPP consensus statement on the appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 11, n. 8, p. 506–514, 2014.

IBRAHIM, S. A. *et al.* A review and comparative perspective on health benefits of probiotic and fermented foods. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 58, n. 10, p. 4948–4964, 2023.

KÖRZENDÖRFER, A. *et al.* Power ultrasound as a tool to improve the processability of protein-enriched fermented milk gels for Greek yogurt manufacture. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 9, p. 7826–7837, 2019.

LUCATTO, J. N. *et al.* Performance of different microbial cultures in potentially probiotic and prebiotic yoghurts from cow and goat milks. **International Journal of Dairy Technology**, v. 73, n. 1, p. 144–156, 2019.

MANYATSI, T. S.; MOUSAVI KHANEGHAH, A.; GAVAHIAN, M. The effects of ultrasound on probiotic functionality: an updated review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 64, n. 31, p. 11643–11660, 2024.
doi:10.1080/10408398.2023.2242490.

MEYBODI, N. M. *et al.* Probiotic viability in yoghurt: a review of influential factors. **International Journal of Dairy Technology**, v. 73, n. 1, p. 3-14, 2020.

MINEKUS, M. *et al.* A standardised static in vitro digestion method suitable for food – an international consensus. **Food & Function**, v. 5, n. 6, p. 1113–1124, 2014.

NIAMAH, A. K. Ultrasound treatment (low frequency) effects on probiotic bacteria growth in fermented milk. **Future of Food: Journal on Food, Agriculture & Society**, v. 7, n. 2, p. 53–64, 2019.

PENG, K. *et al.* Recent insights in the impact of emerging technologies on lactic acid bacteria: a review. **Food Research International**, v. 137, p. 109544, 2020.

PRAJAPATI, D. M. *et al.* Textural and rheological properties of yoghurt: a review. **Advances in Life Sciences**, v. 5, n. 13, p. 5238–5254, 2016.

RIENER, J. *et al.* The effect of thermosonication of milk on physicochemical and microstructural properties of yoghurt gels during fermentation. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 905–911, 2009.

SETTACHAIMONGKON, S. *et al.* Influence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1 on post-acidification, metabolite formation and survival of starter bacteria in set-yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 39, p. 104–110, 2014.

SIQUEIRA, K. B.; FIGUEIREDO, M. N. A popularização dos leites fermentados no Brasil. In: SIQUEIRA, K. B. (ed.). **Na era do consumidor: uma visão do mercado lácteo brasileiro**. Juiz de Fora: Ed. do Autor, 2021. p. 76-82.

SIQUEIRA, K. B.; LANA, M. S.; OLIVEIRA, T. S. C. Um panorama recente do consumo de lácteos no Brasil. **MilkPoint Mercado**, 10 maio 2022. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/colunas/kennya-siqueira/um-panorama-recente-do-consumo-de-lacteos-no-brasil-230294/> . Acesso em: 25 nov. 2025.

SURONO, I. S. Fermented milks: types and standards of identity. In: **Encyclopedia of Dairy Sciences**. 2. ed. 2011. p. 470–476.

ZANETI, M. B. R. da. **Efeito da adição de farinhas de biorresíduos de uva orgânica (*Vitis labrusca* L.) sobre as propriedades de iogurte**. 2021. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) — Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

ZHANG, S. *et al.* The promotion effects of flat-form ultrasound on fermentation efficiency, kinetic, and quality characteristic of room-temperature-storage yogurt. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 119, p. 107390, 2025.