

MINISTERIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS CAMPO MOURÃO
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

CLEUNICE CASSALHO ROMANO

**INFLUÊNCIA DA INULINA NAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS,
SENSORIAIS E SOBREVIVÊNCIA DO *L. acidophilus* EM FROZEN
YOGURT SIMBIÓTICO COM TEOR REDUZIDO DE LACTOSE**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2012

CLEUNICE CASSALHO ROMANO

**INFLUÊNCIA DA INULINA NAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS,
SENSORIAIS E SOBREVIVÊNCIA DO *L. acidophilus* EM FROZEN
YOGURT SIMBIÓTICO COM TEOR REDUZIDO DE LACTOSE**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Tecnologia de Alimentos – COALM da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Campo Mourão, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. M^a Josiane Sereia

CAMPO MOURÃO

2012



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Campo Mourão
Curso Superior de Tecnologia em Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

INFLUÊNCIA DA INULINA NAS CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS, SENSORIAIS E SOBREVIVÊNCIA DO *L. acidophilus* EM FROZEN YOGURT SIMBIÓTICO COM TEOR REDUZIDO DE LACTOSE

por

CLEUNICE CASSALHO ROMANO

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 12 de novembro de 2012 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo no Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof^a Dr^a Maria Josiane Sereia
Prof.(a) Orientador(a)

Prof^o Dr^o Augusto Tanamati
Membro titular

Prof^a Dr^a Angela Maria Gozzo
Membro titular

AGRADECIMENTOS

A Deus, o que seria de mim sem a fé que eu tenho nele.

Aos meus pais, irmãos, esposo e a toda minha família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

À Prof^a. Dr^a. Maria Josiane Sereia pela paciência na orientação e incentivo que tornaram possível a conclusão deste trabalho.

A todos os professores da UTFPR que de uma forma ou de outra colaboraram para a conclusão deste trabalho.

Aos amigos e colegas, Ângela, Renata, Patrícia, Marcos, Thaise e Thalita pelo incentivo e pelo apoio constantes que com certeza foram muito importantes.

As empresas: PROZYN pela doação da enzima lactase; SACCO pela doação das culturas lácticas probióticas e ORAFIT pela doação da inulina, que prontamente me atenderam e foram muito importantes para a realização deste trabalho, a todos vocês o meu muito obrigado.

Obrigado a todas as pessoas que contribuíram para meu sucesso e para realização deste trabalho. Este é o resultado da confiança e da força de cada um de vocês.

RESUMO

ROMANO, Cleunice C. Influência da inulina nas características químicas, sensoriais e sobrevivência do *L. acidophilus* em *frozen yogurt* simbiótico com teor reduzido de lactose, 2012. Trabalho de Conclusão de Curso – Graduação em Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2012.

Recentemente, a indústria de laticínios tem dado especial atenção ao desenvolvimento de produtos contendo baixo teor de lactose, visando atender as necessidades de consumidores que apresentam intolerância à este tipo de açúcar. Este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da adição de inulina nas características químicas, sensoriais e sobrevivência dos probióticos em *frozen yogurt* simbiótico com reduzido teor de lactose durante o período de armazenamento. O grau de hidrólise alcançado utilizando 0,8g de lactase por litro de leite foi de 97,54%, ficando abaixo do limite de quantificação (0,5%), podendo ser considerado um alimento para fins especiais. Com base nos resultados obtidos, pode se concluir que a enzima lactase reduziu de maneira eficaz o teor de lactose nos *frozen* desenvolvidos, não alterando as características físico-químicas e viabilidade da cultura probiótica. A adição de inulina causou alteração significativa ($p < 0,05$) nos atributos sensoriais avaliados e favoreceu o crescimento do *L. acidophilus*, mostrando que este tipo de gelado comestível constitui uma boa opção para o mercado de laticínios, por atender consumidores intolerantes lactose.

Palavras-chave: *Gelados comestíveis, hidrólise da lactose, inulina, lactase, probióticos.*

ABSTRACT

ROMANO, Cleunice C. Influence of inulin on chemical, sensory and survival of *L. acidophilus* in frozen yogurt with symbiotic reduced-lactose, 2012. Trabalho de Conclusão de Curso – Graduação em Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2012.

Recently, the dairy industry has given special attention to the development of products containing low lactose content, to meet the needs of consumers who are intolerant to this sugar type. This study aimed to evaluate the effects of adding inulin on chemical, sensory and survival of probiotics in symbiotic *frozen yogurt* with reduced lactose content during the storage period. The degree of hydrolysis achieved using 0,8g of lactase per liter milk was 97,54%, being below the limit of quantification (0,5%) and may be considered as a food for special purposes. Based on the results obtained, it can be concluded that the enzyme lactase effectively reduced the lactose content in *frozen* developed, not by changing the physicochemical and viability of probiotic culture. The addition of inulin caused a significant change ($p < 0.05$) in the sensory attributes evaluated and promoted the growth of *L. acidophilus*, showing that this type of edible ice cream is a good option for the dairy market, cater for lactose intolerant consumers.

Keywords: *Edible ices, hydrolysis of lactose, inulin, lactase, probiotics*

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1: Quantidades de inulina e lactase em gramas adicionadas nas formulações.....	15
Tabela 2. Valores médios dos parâmetros gordura (%), proteína (%) e sólidos solúveis (%) das formulações elaboradas.....	21
Tabela 3. Equações para o derretimento, valores da regressão linear (R^2), velocidade média de derretimento (mL/min) e <i>overrun</i> dos tratamentos de <i>frozen yogurt</i> elaborados com lactase e diferentes concentrações de inulina.....	22
Tabela 4. Valores médios dos atributos avaliação global, aroma, sabor, cor e consistência das formulações elaboradas.....	24
Tabela 5. Contagem média do número de células viáveis de <i>L. acidophilus</i> dos <i>frozen</i> elaborados durante o tempo de estocagem (UFC/mL).....	26

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química da lactose.....	11
Figura 2: Estrutura química da inulina.....	13
Figura 3: Fluxograma de processamento dos tratamentos de <i>frozen yogurt</i> elaborados com lactase e diferentes concentrações de inulina.....	16
Figura 4: Velocidade de derretimento dos tratamentos de <i>frozen yogurt</i> elaborados com lactase e diferentes concentrações de inulina.....	22
Figura 5: Teste de intenção de compra dos tratamentos de <i>frozen yogurt</i> elaborados com lactase e diferentes concentrações de inulina.....	25

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVO.....	10
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1. INTOLERÂNCIA À LACTOSE	11
3.2. PROBIÓTICOS	12
3.3. INILUNA	13
4. MATERIAL E MÉTODOS	15
4.1. ELABORAÇÃO DAS FORMULAÇÕES.....	16
4.2. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	17
4.2.1. DETERMINAÇÕES DO GRAU DE HIDRÓLISE	17
4.2.2. DETERMINAÇÃO DE <i>OVERRUN</i>	17
4.2.3. TESTE DE DERRETIMENTO	18
4.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	18
4.4. ANÁLISE SENSORIAL.....	18
4.5. ANÁLISES DOS DADOS	19
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	20
5.1. DETERMINAÇÃO DO GRAU DE HIDRÓLISE E ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	20
5.2. TESTE DE DERRETIMENTO	21
5.3. ANÁLISE SENSORIAL E INTENÇÃO DE COMPRA	23
5.4. MICROBIOLOGIA	25
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
7. REFERÊNCIAS.....	28

1. INTRODUÇÃO

Segundo a legislação brasileira o *frozen yogurt* pode ser definido como um produto obtido basicamente com leite pasteurizado, submetido à fermentação láctica através da ação do *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* entre outros, ou a partir de iogurte com ou sem a adição de outras substâncias alimentícias, sendo posteriormente aerado e congelado (BRASIL, 2000).

Dentre as culturas probióticas, as bifidobactérias apresentam um grande interesse do ponto de vista industrial, em função de seu maior envolvimento com os mecanismos metabólicos do organismo. Os prebióticos podem ser definidos como ingredientes alimentares não digeríveis que tem ação benéfica no usuário estimulando seletivamente o crescimento e/ou a atividade de uma ou de um número limitado de bactérias do cólon (ALVES *et al.*, 2009), como exemplo, tem-se a inulina, um carboidrato do grupo de polissacarídeos, composto por uma cadeia principal de unidades de frutose e uma unidade de glicose terminal (ROBERFROID, 1993; ALVES *et al.*, 2009), podendo desta forma ser classificada como um frutooligossacarídeos (MARCHETTI, 1993).

Segundo Van Loo *et al.* (1995), embora não existam evidências de toxicidade ou distúrbios gastrointestinais associados ao consumo de inulina, a dose diária aceitável para este carboidrato é estabelecida em 40 gramas. Após a ingestão, este composto é metabolizado da mesma forma que as fibras, sendo degradado por fermentação de bactérias no cólon (ROBERFROID *et al.*, 1993).

Em função do efeito benéfico nos parâmetros fisiológicos do sistema digestivo, como esvaziamento gástrico, tempo de trânsito, pH e massa fecal de forma similar às fibras dietéticas, a inulina é considerada um "alimento funcional" (ROBERFROID *et al.*, 1993) além de resultar em um significativo incremento dos benefícios das *Bifidobactérias*, estimulando o sistema imunológico, melhorando a absorção de minerais e inibindo o crescimento de bactérias nocivas ao organismo (ROBERFROID *et al.*, 1998).

As crescentes evidências científicas a respeito dos efeitos benéficos promovidos pelos alimentos probióticos e prebióticos, associadas à exigência por parte do mercado consumidor por alimentos ditos mais saudáveis, surgem como fatores positivos para o desenvolvimento de um *frozen yogurt* simbiótico (DRUNKLER, 2009).

Longo (2006) afirma que a intolerância à lactose é a incapacidade de digerir o principal carboidrato do leite, resultado da deficiência ou ausência da enzima intestinal chamada β -galactosidase ou, simplesmente, lactase. Esta enzima possibilita a quebra da molécula do carboidrato em monossacarídeos (galactose e glicose), facilitando a sua absorção pelo intestino. De acordo com Lopes (2008), esta intolerância pode ser classificada como primária, quando há um defeito intrínseco da enzima, ou secundária, quando ocorre um dano na mucosa intestinal com consequente falta da mesma.

A lactose é utilizada pelos mamíferos logo depois da sua hidrólise sob a ação da lactase que corta a ligação β 1-4. É no intestino delgado, ao nível do jejuno, que é segregada a lactase que desdobra a lactose em glicose e galactose, fazendo com que a absorção intestinal seja possível (FERREIRA, 1997).

As pessoas deficientes em lactase não têm essa capacidade e quando consomem leite, a lactose não é desdobrada no intestino delgado, não sendo absorvida. Desta forma, a pressão osmótica do intestino aumenta e uma quantidade considerável de água é retirada dos tecidos vizinhos. Então a lactose passa para o intestino grosso, onde é fermentada por grupos microbianos produtores de gases e água ou é hidrolisada por bactérias em ácidos orgânicos de cadeia curta. Os gases que não são absorvidos causam inchaço e os ácidos produzidos irritam a parede intestinal e aumentam a motilidade, que combinada com a água secretada no intestino resultam em diarreia (FERREIRA, 1997; BARBOSA *et al.*, 2009).

2. OBJETIVO

Visando a atender ao mercado de alimentos para fins especiais, este trabalho teve como objetivo produzir um *frozen* simbiótico e avaliar os efeitos da adição de inulina nas características químicas, sensoriais e sobrevivência dos probióticos com reduzido teor de lactose durante o período de armazenamento.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. INTOLERÂNCIA À LACTOSE

A lactose, popularmente conhecida como “açúcar do leite”, é um dissacarídeo formado por glicose e galactose, como mostra a figura 1, que é hidrolisado pela enzima intestinal lactase, liberando seus componentes monossacarídicos para absorção na corrente sanguínea (BARBOSA; ANDREAZZI, 2009). A utilização da lactose pela microflora intestinal resulta na produção de ácido lático e na diminuição do pH, promovendo o desenvolvimento da microflora intestinal lactofílica desejável (TRONCO, 1993).

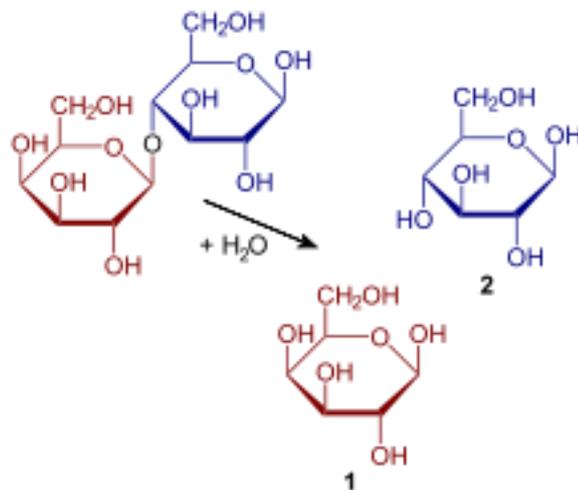


Figura 1 - Estrutura química da lactose.

O grande problema em relação à lactose é a deficiência em lactase que torna os indivíduos intolerantes à lactose, encontrando-se esta deficiência em elevada percentagem da população mundial (VALSECHI, 2001).

A lactase é uma enzima situada nas microvilosidades do enterócito, ela é responsável pela hidrólise da lactose (MORAIS, 2007), quando há deficiência desta enzima a lactose, que é uma boa fonte de energia para os microorganismos do cólon, é fermentada a ácido lático, metano (CH₄) e gás hidrogênio (H₂). O gás produzido cria um desconforto por distensão intestinal e pelo incômodo problema de flatulência. O ácido lático produzido pelos microorganismos é osmoticamente ativo e puxa água para o intestino, assim como a lactose não digerida, resultando em diarreia (VINHAL, 2001).

As pessoas deficientes em lactase não têm essa capacidade e quando consomem leite, a lactose não é desdobrada no intestino delgado, não sendo absorvida. Desta forma, a pressão osmótica do intestino aumenta e uma quantidade considerável de água é retirada dos tecidos vizinhos. Então a lactose passa para o intestino grosso, onde é fermentada por grupos microbianos produtores de gases e água ou é hidrolisada por bactérias em ácidos orgânicos de cadeia curta. Os gases que não são absorvidos causam inchaço e os ácidos produzidos irritam a parede intestinal e aumentam a motilidade, que combinada com a água secretada no intestino resultam em diarréia. Estes sintomas e outros, como dores abdominais e vômitos, variam em intensidade de indivíduo para indivíduo. Por causa destes sintomas desagradáveis, as pessoas deficientes em lactase se privam do consumo de leite e com isto de seus benefícios nutritivos (GOURSAUD, 1985; KOCIÁN, 1988; FERREIRA, 1997 apud LONGO 2006).

3.2. PROBIÓTICOS

O termo probiótico foi redefinido por Fuller(1989) apud Silva(2007) como um “suplemento alimentar composto de células microbianas vivas, as quais têm efeitos benéficos para o hospedeiro, por melhorar ou manter o equilíbrio microbiano no intestino”.

Segundo o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais e/ou de Saúde, Resolução RDC nº 2, de janeiro de 2002, entende-se por probióticos os microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2002).

Esses microrganismos, notadamente algumas variedades de lactobacilos e bifidobactérias, fermentam a lactose, produzindo ácido láctico. Eles têm a capacidade de manterem-se vivos no produto fermentado e sobreviverem à passagem pelo trato gastrointestinal, fixando-se no intestino e trazendo melhorias no balanço da flora microbiana de indivíduos que consumam periodicamente esses produtos (BEHRENS, ROIG & SILVA, 2000 apud SILVA 2007).

A indústria de laticínios é a que apresenta maior possibilidade de crescimento no fornecimento de produtos funcionais, em especial no segmento de leites

fermentados, através da utilização de culturas probióticas (como é o caso dos microrganismos probióticos dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*) e de substâncias prebióticas, como a inulina. (GONÇALVES *et al*, 2008).

3.3. INILUNA

A inulina é um carboidrato do grupo de polissacarídeos chamados frutanas. É composto por uma cadeia principal de unidades de frutose com uma unidade de glicose terminal, conforme mostra a Figura 2. A fórmula pode ser descrita como **GF_n**, onde **G** representa a molécula de glicose, **F** a molécula de frutose e **n** o número de unidades de frutose (ROBERFROID, 1993).

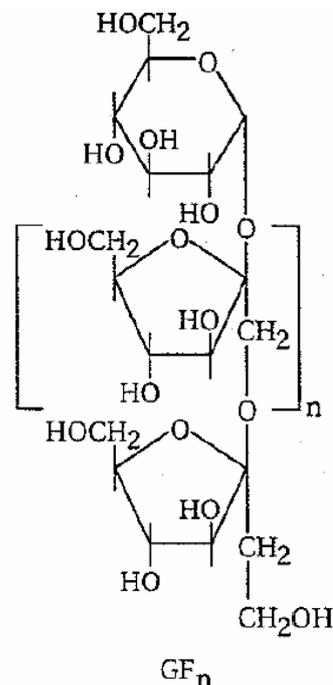


Figura 2 - Estrutura química da inulina.

Os frutooligossacarídeos são definidos como polímeros de D-frutose, terminando com uma molécula de glicose, e desta forma a inulina pode ser classificada como um frutooligossacarídeo (FOS) (MARCHETTI, 1993).

A dose diária aceitável para inulina é estabelecida em 40 gramas. Não existem evidências de toxicidade ou distúrbios gastrointestinais associados ao consumo de inulina (VAN LOO *et al*, 1995).

Após a ingestão, a inulina não é quebrada no sistema digestivo humano, não resultando, portanto em contribuição calórica neste processo. Apenas a nível de

cólon ocorre a degradação de inulina por fermentação de bactérias, e conseqüentemente ocorre uma baixa contribuição calórica indireta em níveis de 1,0 a 1,5 kcal/g inulina (ROBERFROID, GIBSON & DELZENNE, 1993).

A ingestão de inulina resulta em um significativo incremento dos benefícios das bifidobactérias. A flora *bifidus* estimula o sistema imunológico, a absorção de minerais, e inibe o crescimento de bactérias nocivas ao organismo (ROBERFROID, VAN LOO & GIBSON, 1998).

A inulina é metabolizada da mesma maneira que as fibras e mostra os efeitos das mesmas quando ingerida. Por alguns de seus efeitos, a inulina pode ser comparada a outras fibras solúveis, como as pectinas (DRUNKLER, 2009).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Industrialização de Leites e Derivados da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão, no período de março de 2011 a maio de 2012.

As formulações foram elaboradas em triplicatas, utilizando como ingredientes: leite desnatado UHT, açúcar cristal, espessante, amido modificado, leite em pó desnatado, glicose, emulsificante (Selecta), saborizante (Selecta), lactase (PROZYN), culturas lácticas probióticas (SACCO) e inulina (ORAFIT).

Foram elaboradas uma formulação controle (FC) e três formulações de estudo (F1, F2 e F3), que diferiram entre si quanto à quantidade de inulina adicionada e mantendo-se constante a quantidade de lactase (Tabela 1).

Tabela 1: Quantidades de inulina e lactase em gramas adicionadas nas formulações.

	Formulações			
	FC (g)	F1 (g)	F2 (g)	F3 (g)
Inulina	-	0,4	0,6	0,8
Lactase	-	0,8	0,8	0,8

4.1. ELABORAÇÃO DAS FORMULAÇÕES

O fluxograma de processamento dos *frozen* é apresentado conforme Figura 3.

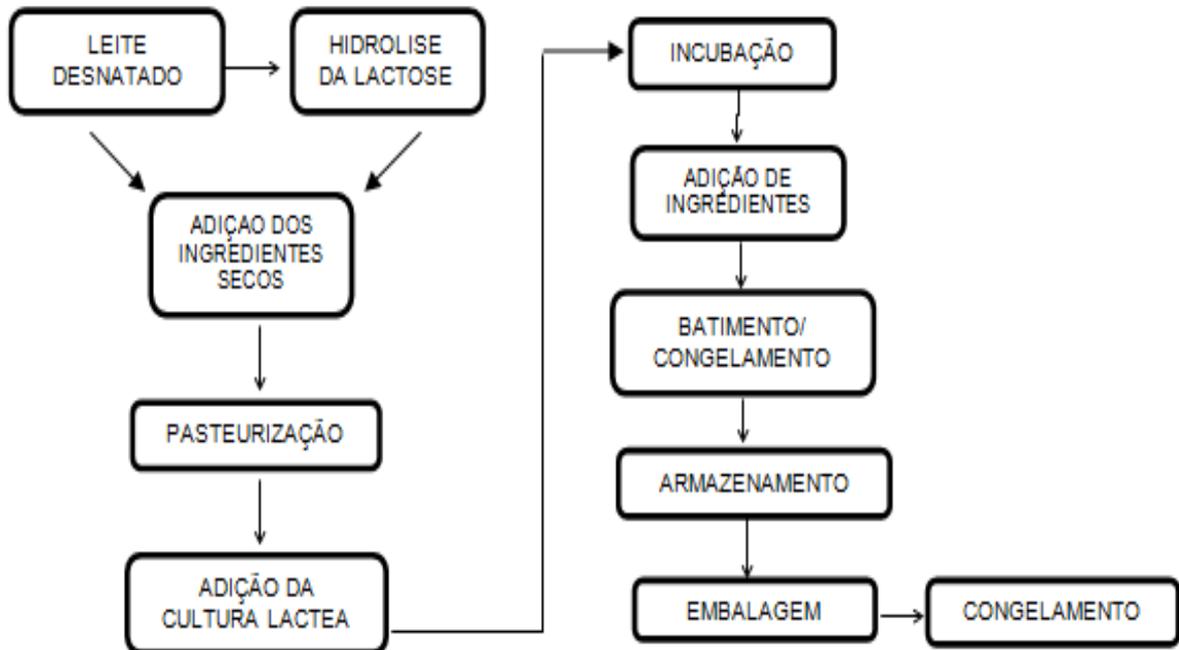


Figura 3. Fluxograma de processamento dos tratamentos de *frozen yogurt* elaborados com lactase e diferentes concentrações de inulina.

A hidrólise da lactose foi conduzida aquecendo o leite a uma temperatura de 37°C, adicionando 0,8g/L de lactase e incubando a 37°C por 2 horas. Para as formulações F1, F2 e F3 foram adicionados ao leite uma mistura de ingredientes sólidos constituída de: 10% de açúcar, 1% de amido, 1% de goma guar, 5% de leite em pó desnatado, 1% de soro em pó e inulina em quantidades variável (Tabela 1), sendo homogeneizado por 10 minutos em liquidificador industrial. Em seguida, a mistura sofreu um tratamento térmico em fogão industrial, com agitação intermitente até atingir 95°C, permanecendo em repouso por 10 minutos. A base foi resfriada a 45°C para adição da cultura láctea (*Lactobacillus acidophilus*) e incubada 37°C por 12 horas. Após a fermentação, a base foi maturada por 10 horas sob refrigeração.

O preparo da calda ocorreu em liquidificador contínuo pela mistura da base com os ingredientes sólidos: 2,75% de sabor de leite condensado, 2% de emulsificante, 5% de glicose e 10% de açúcar. A homogeneização ocorreu por 10 minutos e, após foi congelada em sorveteira vertical à temperatura de -20°C até o

completo congelamento dos *frozen*. As amostras foram acondicionadas em potes plásticos estéreis de 100g com tampa, identificados e armazenadas em freezer vertical à temperatura de -20°C.

4.2. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Segundo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (1985), foram realizadas em triplicatas análises de sólidos solúveis (%), gordura (%), proteínas (%).

4.2.1. DETERMINAÇÕES DO GRAU DE HIDRÓLISE

O índice crioscópico do leite foi determinado antes e depois da ação da lactase, utilizando-se para tal um crioscópio eletrônico segundo metodologia fornecida pelo fabricante e de acordo com a Instrução Normativa nº 22/03 (BRASIL, 2003). O grau de hidrólise do leite foi calculado por meio da Equação 1 (LONGO, 2006).

$$\text{Grau de Hidrólise} = 350,877 \times (\text{Crioscopia final}) - \frac{(\text{Crioscopia inicial})}{0,00285} \quad (1)$$

Este método tem sido empregado pelas indústrias de laticínios para estimar o grau de hidrólise e a atividade da β -galactosidase em leite destinado a elaboração de produtos lácteos com teor reduzido de lactose. Trata-se de um método rápido (leitura inferior a 5 minutos) e eficiente e fundamenta-se nas mudanças das propriedades físicas do leite quanto ao abaixamento do ponto de congelamento (índice crioscópico), à pressão osmótica e à rotação ótica pela ação da enzima β -galactosidase sobre a lactose com produção de monossacarídeos (MAHONEY, 1985).

4.2.2. DETERMINAÇÃO DE *OVERRUN*

Durante o processo de congelamento, há incorporação de ar à calda do *frozen*, que resulta em um aumento do volume da calda inicial. O *overrun* foi calculado segundo Mosquim (1999), pela Equação 2:

$$\% \text{ overrun} = \frac{[\text{volume final (frozen)} - \text{volume inicial (calda)}]}{[\text{volume inicial (calda)}]} \times 100 \quad (2)$$

4.2.3. TESTE DE DERRETIMENTO

O teste foi realizado de acordo com o procedimento descrito por Braguini (2011). A partir dos dados obtidos, em triplicatas, foram construídos gráficos do tempo em função do volume derretido. Foi utilizada regressão linear para determinar as velocidades máximas de derretimento nos pontos de inflexão de cada uma das curvas.

4.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Com o objetivo de verificar se as diferentes proporções de prebiótico influenciaram na sobrevivência dos probióticos, atingindo a concentração mínima de 10^6 UFC/g (Unidades Formadoras de Colônias) de produto, bem como a viabilidade do *frozen* como carreador deste microrganismo, os tratamentos foram submetidos à análise microbiológica de contagem de lactobacilos acidófilos nos períodos 1 (Tempo 0), 7 (Tempo 01), 15 (Tempo 02), 21 (Tempo 03), 28 (tempo 04), 35 (Tempo 05), 42 (Tempo 06) dias.

A análise foi obtida por meio das diluições 10^{-1} até 10^{-6} em duplicatas, pelo método de inoculação em profundidade, incubadas sob anaerobiose com utilização do Sachet de anaerobiose (PROBAC, São Paulo, Brasil) e jarra de anaerobiose a 37°C , por 72 horas, em BOD (Alpax®, São Paulo, Brasil), de acordo com Vinderola *et al.* (2000).

4.4. ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Campo Mourão, com 50 provadores não treinados. Foram aplicados os testes de intenção de compra e afetivo para verificar a preferência dos consumidores sobre os atributos cor, sabor, aroma, consistência e qualidade global dos *frozen yogurt*, utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos, tendo como extremos “1 – Desgostei muitíssimo” e “9 – Gostei muitíssimo” (DUTCOSKI, 2007).

Os provadores receberam aproximadamente 20 gramas de amostra das quatro formulações estudadas, variando entre -10 e -8°C , em copos de plástico

descartáveis com capacidade para 50 mL, codificados com números aleatórios de três dígitos.

4.5. ANÁLISES DOS DADOS

Os dados obtidos foram submetidos a análises de variância e comparadas pelo teste de Tuckey ao nível de 5% de probabilidade, de acordo com GOMES *et al.* (1999).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. DETERMINAÇÃO DO GRAU DE HIDRÓLISE E ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

O índice crioscópico do leite antes da hidrólise enzimática foi de $-0,542$ Horvert ($^{\circ}\text{H}$) e, após hidrólise foi de $-0,820^{\circ}\text{H}$ resultando em um grau de hidrólise de 97,54% (Equação 1), encontrando-se de acordo com a Portaria n. 29/1998, para alimentos destinados a fins especiais, que preconiza que os alimentos elaborados especialmente para atender às necessidades de portadores de intolerância à ingestão de dissacarídeos e/ou portadores de erros inatos do metabolismo desses carboidratos devem atender ao máximo de 0,5g do nutriente em restrito, por 100g ou 100mL do produto a ser consumido (BRASIL, 1998).

Valores próximos a este foram observados por Moreira *et al.* (2009) em leite destinado a fabricação de doce de leite onde o grau de hidrólise da lactose foi de 100%, quando utilizada na concentração de 0,8g de β -galactosidase por litro de leite no tempo de 6 horas. Segundo Longo (2006) estudando a influência da adição de várias concentrações da enzima lactase no processamento de iogurtes, observou que 0,8g/L de lactase adicionada ao leite pasteurizado a 40°C por 4 horas promoveu 88,07% de hidrólise. Mattanna *et al.* (2010) estudando requeijão cremoso elaborado com leite adicionado de 0,8% de enzima lactase, por um período de 12 horas a $8 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, obteve redução de lactose de 85%.

Manan *et al.* (1999) relataram que os sintomas de intolerância à lactose podem ser eliminados quando a lactose é reduzida em 70%. Desta forma, a enzima lactase adicionada ao leite antes da fabricação do *frozen* no presente estudo, mostrou-se eficaz quanto à redução do teor de lactose, podendo ser considerados baixos, sendo uma alternativa viável às pessoas com intolerância à lactose.

A Tabela 2 apresenta os valores médios dos parâmetros gordura, proteína e sólidos solúveis dos *frozen* elaborados.

Tabela 2. Valores médios dos parâmetros gordura (%), proteína (%) e sólidos solúveis (%) das formulações elaboradas.

Formulações	*Gordura %	*Proteína%	*Sólidos Solúveis%
FC	0,16±0,17 ^a	6,13±1,05 ^a	67,31±0,78 ^a
F1	0,19±0,11 ^a	6,65±1,03 ^a	65,12±0,47 ^{ab}
F2	0,14±0,01 ^a	5,15±0,25 ^a	65,92±1,94 ^{ab}
F3	0,15±0,07 ^a	6,19±1,14 ^a	63,52±0,40 ^b
** Padrão Mínimo	2,50	2,50	26,00

*Valores relativos à média \pm desvio padrão das formulações. ** Padrão mínimo definido pela RDC nº 266 da Anvisa (BRASIL, 2005). Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não apresentam diferença estatística pelo Teste de Tuckey ($p < 0,05$).

Todas as formulações estudadas apresentaram resultados físico-químicos em conformidade com os padrões exigidos pela Resolução RDC nº. 266, de 22 de setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de gelados comestíveis, preparados, pós para o preparo e bases para gelados comestíveis, para efeitos de comparação (BRASIL, 2005), caracterizando assim os produtos como de boa qualidade.

Somente a formulação três (F3) diferiu ($p < 0,05$) das demais, em relação ao teor de sólidos solúveis. Esta diferença pode ter sido provocada pela presença de uma maior concentração de inulina adicionada (Tabela 1).

Braguini *et al.* (2011) estudando *frozen* probiótico adicionado de inulina, observaram valores de sólidos totais variando de no mínimo 32,69% (Controle), até no máximo 37,47% na formulação elaborada com 0,8% de inulina.

5.2. TESTE DE DERRETIMENTO

A Tabela 3 apresenta os valores de regressão linear (R^2), velocidade de derretimento (mL/min) e *overrun* das formulações elaboradas.

Tabela 3. Equações para o derretimento, valores da regressão linear (R^2), velocidade média de derretimento (mL/min) e *overrun* dos tratamentos de *frozen yogurt* elaborados com lactase e diferentes concentrações de inulina.

Formulação	Teste de derretimento e <i>Overrun</i>			
	Equação	R^2	Velocidade média de derretimento (mL/ min)	<i>Overrun</i> *
FC	$y = 0,5319x - 3,7778$	0,9924	0,6688 ^a	29±3,51 ^a
F1	$y = 0,5106x - 1,2593$	0,9991	0,6889 ^a	20,12±4,81 ^{ab}
F2	$y = 0,6808x - 1,679$	0,9991	1,0911 ^b	20,93±6,20 ^{ac}
F3	$y = 0,5744x - 2,2387$	0,9977	1,0644 ^b	37,76±6,50 ^{ad}
**Padrão Mínimo			-	20,00%

*Valores relativos à média \pm desvio padrão das formulações. ** Padrão mínimo definido pela RDC nº 266 da Anvisa (BRASIL, 2005). Médias na mesma coluna seguida por letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% de significância.

O comportamento e a velocidade de derretimento (mL/min) das diferentes formulações foi analisada através do gráfico volume de *frozen* drenado (mL) versus tempo (min), representado pela Figura 4.

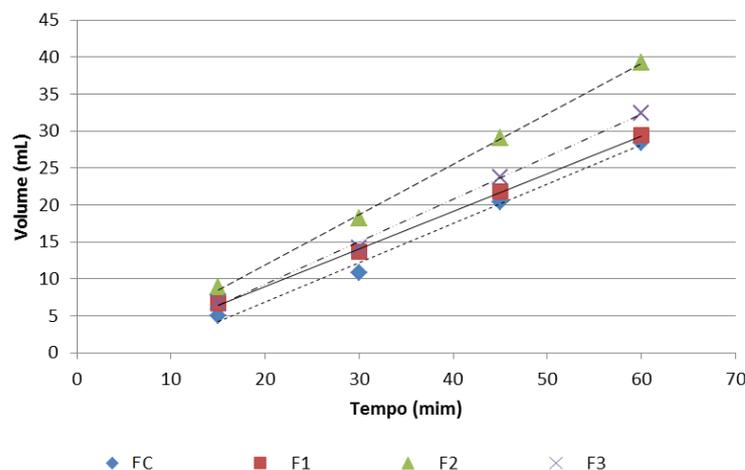


Figura 4 - Velocidade de derretimento dos tratamentos de *frozen yogurt* elaborados com lactase e diferentes concentrações de inulina.

As formulações F2 e F3 diferiram da F1 e FC ($p \leq 0,05$) apresentando velocidades de derretimento maiores e texturas mais leves e suaves (Tabela 3). A velocidade de derretimento da Formulação 1 foi menor que as demais. Estes resultados corroboram com os resultados observados por Braguini *et al.* (2011) que atribuíram a inulina as diferenças observadas. Durante o derretimento do sorvete

ocorre o derretimento do gelo e o colapso da estrutura espumosa lipídica estabilizada. A velocidade deste fenômeno indica a extensão de desestabilização e coalescência parcial ocorrida durante a fabricação do sorvete (CORREIA; CRUZ, 2006).

Segundo Souza *et al.* (2010), as propriedades de derretimento do sorvete constituem um parâmetro de comportamento crítico para o produto. Um sorvete de alta qualidade deve mostrar resistência limitada ao derretimento quando exposto a temperatura ambiente por tempo determinado. Quando o derretimento esperado não ocorre, esse defeito está relacionado com uso excessivo de estabilizantes/emulsificantes, *overrun* muito alto ou ainda processamentos severos e interações entre os componentes que promovem formação de gel altamente estável. Uma correlação adequada entre a instabilidade da emulsão e “secura” do produto fornece um sorvete com boa resistência para uma sensação palatal cremosa.

Com relação ao *overrun*, foi observado que o aumento da adição de inulina provocou uma maior incorporação de ar para formulação F3 quando comparada com a FC, F1 e F2. Segundo Koxholt *et al.* (2001), o sorvete é um sistema multifásico complexo, no qual bolhas de ar, glóbulos de gordura parcialmente coalescidos e cristais de gelo formam uma rede tridimensional responsável pela estrutura do sorvete.

5.3. ANÁLISE SENSORIAL E INTENÇÃO DE COMPRA

A Tabela 4 apresenta os valores médios referentes aos atributos: sabor, consistência, cor, aroma, e avaliação global dos *frozen yogurt* elaborados.

Tabela 4. Valores médios dos atributos avaliação global, aroma, sabor, cor e consistência das formulações elaboradas.

Atributos	Formulações			
	FC	F1	F2	F3
Avaliação global	5,34 ^a	6,78 ^b	6,86 ^b	7,10 ^b
Aroma	5,70 ^a	6,86 ^b	6,94 ^b	6,92 ^b
Sabor	4,28 ^a	6,28 ^b	6,70 ^b	6,96 ^b
Cor	6,62 ^a	7,12 ^a	7,28 ^a	7,40 ^a
Consistência	5,42 ^a	6,76 ^b	6,66 ^{ab}	6,66 ^{ab}

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si ao nível de 5% de significância. Escala hedônica estruturada mista de nove pontos (1 = desgostei muitíssimo, 2 = desgostei muito, 3 = desgostei moderadamente, 4 = desgostei ligeiramente, 5 = nem gostei/nem desgostei, 6 = gostei ligeiramente, 7 = gostei moderadamente, 8 = gostei muito e 9 = gostei muitíssimo).

Os resultados da análise sensorial obtidos por ANOVA revelaram que os provadores detectaram diferença significativa ($p < 0,05$), entre as amostras da formulação controle sobre as demais, em relação à avaliação global, aroma e sabor. No entanto, o atributo cor não apresentou diferença ($p < 0,05$), comprovando que a adição de inulina alterou, significativamente, a avaliação global, o aroma, o sabor e a consistência das amostras avaliadas.

De acordo com Vinhal (2001), a diminuição dos teores de lactose também produz variação nos parâmetros de avaliação global e consistência, uma vez que a hidrólise da lactose pode causar modificações físicas como acentuação da viscosidade, do corpo e da textura.

Tecnologicamente, uma atenção especial deve ser dada ao controle do grau de hidrólise da lactose pela enzima β -galactosidase, uma vez que algumas modificações são evidenciadas em decorrência dessa hidrólise, como o aumento ligeiro da viscosidade e do sabor adocicado do produto (PERRONE, 2007), contudo, segundo Reasoner *et al.* (1981), que aplicaram o teste sensorial de comparação múltipla e não encontraram diferença significativa, em nível de 5%, entre o leite com teor reduzido de lactose e leite desnatado comercial, indicando que enzima não interferiu em suas características comuns ao sorvete.

A Figura 5 apresenta os percentuais de respostas dos provadores em relação a intenção de compra do produto.

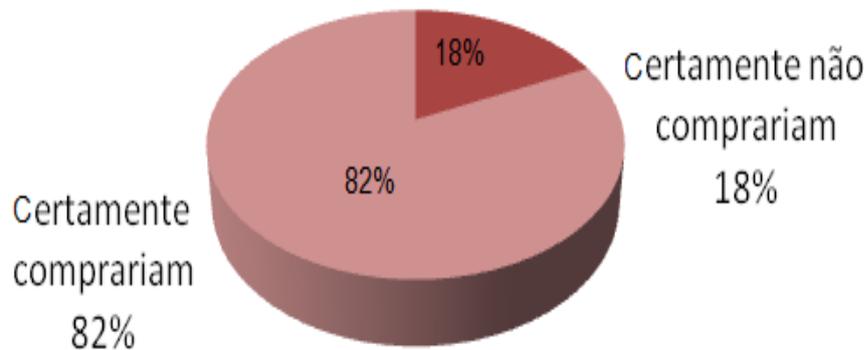


Figura 5. Teste de intenção de compra dos tratamentos de *frozen yogurt* elaborados com lactase e diferentes concentrações de inulina.

Ao indagar os provadores a respeito da intenção de compra do *frozen yogurt*, 82% dos avaliadores declararam que comprariam o produto contra 18% que não o adquiririam, provavelmente em razão do sabor ácido pronunciado característico do produto ao qual não estão habituados.

5.4. MICROBIOLOGIA

A Tabela 5 apresenta a contagem média dos *L. acidophilus*, nas formulações elaboradas, durante os 45 dias de armazenamento.

Tabela 5. Contagem média do número de células viáveis de *L. acidophilus* dos *frozen* elaborados durante o tempo de estocagem (UFC/mL).

Dias	Formulações			
	FC	F1	F2	F3
1	$4,5 \times 10^6$	$8,0 \times 10^6$	$5,4 \times 10^7$	$4,3 \times 10^7$
7	$6,0 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	$4,0 \times 10^6$	$6,5 \times 10^6$
15	$9,0 \times 10^6$	$1,2 \times 10^7$	$4,5 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$
21	$6,0 \times 10^6$	$6,0 \times 10^6$	$1,1 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$
28	$1,4 \times 10^7$	$2,3 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$
36	$5,5 \times 10^6$	$1,6 \times 10^7$	$2,3 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$
45	$1,1 \times 10^7$	$3,5 \times 10^6$	$1,5 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$

Para que um alimento probiótico exerça seus efeitos benéficos é necessário que ele apresente uma concentração mínima da bactéria probiótica dentro do prazo de validade do produto. Vários trabalhos propõem que a dose mínima diária da cultura probiótica considerada terapêutica é de 10^8 a 10^9 UFC/g, o que corresponde ao consumo de 100g de produto fermentado contendo 10^6 a 10^7 UFC/g (MIGUEL, 2009).

Foi verificado que a inulina influenciou positivamente nas contagens de *L. acidophilus* durante a fermentação ficando acima de 10^6 UFC/g (Tabela 5). Resultados semelhantes foram observados por Becker (2009), utilizando *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* em iogurtes adicionados de enzima lactase nas concentrações de 0,2, 0,5 e 0,8%, confirmando a sobrevivência destes probióticos em meios com baixos teores de lactose.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A adição de 0,8g lactase por litro de leite resultou após 2 horas a 37°C em um grau de hidrólise de 97,54%.
- As formulações de *frozen yogurt* elaboradas com leite delactosado resultaram em produtos com níveis de lactose inferior ao limite de quantificação (0,5%), podendo ser considerados alimentos para fins especiais.
- A adição de inulina influenciou positivamente na taxa de incorporação de ar ou no *overrun* das formulações estudadas, causou alteração significativa ($p < 0,05$) nos atributos sensoriais avaliados e promoveu maior sobrevivência dos *L. acidophilus* em meio com reduzido teor de lactose.
- O *frozen yogurt* simbiótico obteve uma aceitação de 82%, sendo, portanto uma boa opção para alimentos para fins especiais.
- Tecnicamente, o *frozen yogurt* simbiótico desnatado com teor reduzido de lactose e adicionado de inulina é uma ótima opção para o mercado consumidor tanto de produtos funcionais quanto para produtos lácteos sem lactose, uma vez que foram observados ótimos resultados nas análises realizadas.

7. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, **Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional ou de Saúde**, Resolução RDC nº 2, 7 de janeiro de 2002.

ALVES, L. L., SANTOS N.S.P. BECKER, L. V. Aceitação sensorial e caracterização de *frozen yogurt* de leite de cabra com adição de cultura probiótica e prebiótico. **Ciência Rural**, v. 1, n. 1, p. 2-3, 2009.

BECKER, L. V. **logurte probiótico com teor reduzido de lactose adicionado de óleo de linhaça**. 2009. 110p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos), Universidade Federal de Santa Maria, 2009.

BARBOSA, C. R., ANDREAZZI, M. A. Intolerância á lactose e suas consequências no metabolismo do cálcio. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 4, n. 1, p. 81-86, 2009.

BRAGUINI, A. **Efeito da adição de inulina nas características físico-químicas, sensoriais e sobrevivência da cultura probiótica em frozen de iogurte simbiótico**. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2011.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº. 22. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2003.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL. **Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados**, Resolução nº 5, 13 de novembro de 2000.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de gelados comestíveis e, preparados para gelados comestíveis, pós para o preparo e bases para gelados comestíveis. Resolução RDC n. 266 de 22 de setembro de 2005. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF. 2005.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Regulamento Técnico Referente a Alimentos para Fins Especiais**. Portaria nº 29 de 13 de janeiro de 1998. Brasília, 1998.

CORREIA, R. T. P.; CRUZ, V. M. F. **Leite de cabra e derivados**, 1. ed. São Paulo: ACOSC, 2006.

DRUNKLER, D. A. **Produção de requeijão cremoso simbiótico**, 2009. Dissertação (Doutorado Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria, 2009.

DUTCOSKI, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 2. ed. p. 239. Curitiba: Champagnat, 2007.

FERREIRA, C. L. L. F. Valor Nutritivo e Bioterapêutico de Leites Fermentados. IN: LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G. **Leites fermentados e bebidas lácteas: tecnologia e mercado**. Campinas: ITAL, 1997, cap. 1, p. 1-7.

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

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. São Paulo, 1985.

KOXHOLT, M.; EISEMANN, B.; HINRICHS, J. Effect of the fat globule size on the meltdown of ice cream. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p.31-37, 2001.

LONGO, G. **Influencia da adição de lactase na produção de iogurtes**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, 2006.

LOPES, R. R. S. Prevalência de intolerância à lactose em pré-escolares e escolares no município de Duque de Caxias. **Diário Ciências da Saúde**, v. 1, n. 1, p. 1, 2008.

MAHONEY, R. R. Modification of lactose and lactose-containing dairy products with B-galactosidase. In: FOX, P. F. **Developments in dairy chemistry**. London: Elsevier, 1985. p. 69-107.

MANAN, D. M. A.; KARIM, A.A.; KIT, W.K. Lactose content of modified enzyme-treated "dadih". **Food Chemistry**, n.65, p.430-443, 1999.

MARCHETTI, G. Inulina e fruttani. **Industrie Alimentari**, v. 32, n. 319, p. 945-949, 1993.

MATTANNA, P.; RICHARDS, N. S. P. S.; BACK, D. Perfil lipídico, caracterização físico-química e sensorial de requeijão com baixo teor de lactose e requeijões comerciais. **Revista Indústria de Laticínios**, v.87, p. 62-67, 2010.

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**. Dissertação (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, 2009.

MORAIS, M.B. **Intolerância à Lactose: Fatos e Mitos**, 2007.

MOREIRA, K. M. M.; COELHO, L. H.; PERINI, C. C.; RAPACCI, M.; KARAM, L. B. Produção de doce de leite com teor reduzido de lactose por β -galactosidase. **Revista Acadêmica e Ciências Agrárias Ambientais**, v. 7, n. 4, p. 375-382, 2009

MOSQUIM, M. C. A. **Fabricando sorvetes com qualidade**. São Paulo: Fonte Comunicações, 1999. 120p.

PERRONE, I. T. Tecnologia de fabricação de doce de leite. **Informe Agropecuário**, v. 28, n. 238, p. 67-74, 2007.

REASONER, J.; MACULAN, T. P.; RAND, A. G. Clinical studies with low-lactose milk. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 34, p. 54-60, 1981.

ROBERFROID, M.; GIBSON, G. R.; DELZENNE, N. The biochemistry of oligofructose, a nondigestible fiber: an approach to calculate its caloric value. **Nutrition Reviews**, v. 51, n. 5, p.137-146, 1993.

ROBERFROID, M. B.; VAN LOO, J. A. E.; GIBSON, G. R. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 1, p. 11-19, 1998.

SILVA S. V. **Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Maria, Rs, 2007

SOUZA, J. C. B.; COSTA, M. R.; DE RENSIS, C. M. V. B.; SIVIERI, K. Ice cream: composition, processing and addition of probiotic. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, n. 1, p. 155-165, 2010.

TRONCO, V. M., **Manual para Inspeção da Qualidade do Leite**, Santa Maria: Ed. UFSM, 2003.

VALSECHI, O. A., **Tecnologia de Produtos Agrícolas de origem Animal**. O Leite e seus Derivados, Universidade Federal de São Carlos centro de Ciências Agrárias departamento de Tecnologia Agroindustrial e Socioeconômica Rural. Araras, São Paulo, 2001.

VAN LOO, J. A. E.; COUSSEMENT, P.; LEENHEER, L.; HOEBREGS, H.; SMITS, G. The presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 35, n. 6, p. 525-552, 1995.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. **Internatinal Dairy Journal**, v.10, n. 1, p.271-275, 2000.

VINHAL, E. F. **Hidrólise da lactose no leite por β -galactosidase de *Kluyveromyces fragilis***. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Uberlândia, 2001.