



**Universidade Norte do Paraná**

---

CENTRO DE PESQUISA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE LEITE  
E DERIVADOS

REJANE LEMOS CHIQUETTI

**DESENVOLVIMENTO DE SORVETE COM LACTOSE  
HIDROLISADA ADICIONADO DE *Lactobacillus acidophilus***

---

Londrina  
2014

REJANE LEMOS CHIQUETTI

**DESENVOLVIMENTO DE SORVETE COM LACTOSE  
HIDROLISADA ADICIONADO DE *Lactobacillus acidophilus***

Dissertação apresentada à UNOPAR, Unidade Piza, Centro de Pesquisa em Ciências Agrárias, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados.

Orientadora: Profa. Dra. Cíntia Hoch Batista de Souza

Londrina  
2014

REJANE LEMOS CHIQUETTI

**DESENVOLVIMENTO DE SORVETE COM LACTOSE  
HIDROLISADA ADICIONADO DE *Lactobacillus acidophilus***

Dissertação apresentada à UNOPAR – Unidade Piza, Centro de Pesquisa em Ciências Agrárias como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados, conferido pela Banca Examinadora formada pelos professores:

---

Profa. Orientadora Dra. Cíntia Hoch Batista de Souza  
Universidade Norte do Paraná

---

Profa. Dra. Lina Casale Aragon Alegro  
Universidade Norte do Paraná

---

Dr. Leandro Freire dos Santos

Londrina, 27 de março de 2014.

Dedico este trabalho primeiramente a Deus que me iluminou e me deu forças durante toda minha trajetória, á meu esposo Roderick, a meu filho Miguel e á meus avós que mesmo analfabetos me proporcionaram a chance de estudar e conquistar meus objetivos.

## **AGRADECIMENTOS**

A professora Cíntia, minha orientadora e amiga de todas as horas, que acompanhou meu percurso com paciência e dedicação.

Aos professores que contribuíram para a aquisição de novos conhecimentos.

A meu esposo que dirigiu por 2 anos para que eu pudesse estudar e me tornar Mestre.

As minhas companheiras de trabalho Geisa Demele Valério e Luciana de Jesus Bernini, que me auxiliaram nas análises e em especial a Evelyn Marssola Castro, que esteve comigo desde o início no desenvolvimento das minhas formulações e posteriormente em minhas análises.

CHIQUETTI, Rejane Lemos. **Desenvolvimento de sorvete com lactose hidrolisada adicionado de *Lactobacillus acidophilus***. 2014. 45 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados) – Centro de Pesquisa em Ciências Agrárias, Universidade Norte do Paraná, Londrina, 2014.

## RESUMO

O sorvete é considerado pela grande maioria dos brasileiros uma sobremesa saborosa, e agradável. O mercado dos gelados comestíveis vem se especializando, introduzindo em suas formulações, aditivos que melhorem as suas propriedades. A adição da enzima  $\beta$ -galactosidase ou lactase e de probióticos podem contribuir para a melhora da qualidade do sorvete. A lactose, açúcar encontrado no leite, é o carboidrato responsável pela intolerância aos produtos lácteos em algumas pessoas que não conseguem realizar a digestão desse açúcar. Essa intolerância deve-se à deficiência ou ausência da produção da enzima  $\beta$ -galactosidase, responsável pela hidrólise da lactose no organismo humano. Os probióticos contribuem para a saúde da microbiota intestinal humana, que pode sofrer variações devido a vários fatores como uso de antibióticos, estresse e presença de patógenos. No presente trabalho desenvolveu-se um sorvete de creme com lactose hidrolisada e adição do probiótico *Lactobacillus acidophilus* com as seguintes variações: T1- sem adição de cultura probiótica nem enzima  $\beta$ -galactosidase; T2- com cultura probiótica *Lactobacillus acidophilus* sem adição da enzima  $\beta$ -galactosidase e T3- com cultura probiótica *Lactobacillus acidophilus* e enzima  $\beta$ -galactosidase. Todas as produções foram realizadas em triplicata. As análises físico-químicas, (pH e acidez titulável) e microbiológicas (populações de *L. acidophilus* La-5) foram realizadas semanalmente durante 28 dias de armazenamento refrigerado dos sorvetes. As análises de pH demonstraram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na formulação T2 (com adição de La-5 sem hidrólise) no 14º dia quando comparada com T1 (formulação controle, sem La-5 nem hidrólise) e T3 (com adição de La-5 e hidrólise). T3 apresentou diferença significativa no 21º dia quando comparada com T1 e T2 ( $p < 0,05$ ). Com relação a acidez titulável, observou-se diferença significativa para T2 em todos os dias analisados em comparação com T1 e T3 ( $p < 0,05$ ). A contagem de *Lactobacillus acidophilus* La-5 em T3 apresentou diferença significativa somente no 14º dia de análise da formulação, quando comparada a T2 ( $p < 0,05$ ). Para a formulação T3, a porcentagem de hidrólise foi de 66% e influenciou estatisticamente a multiplicação de La-5 somente ao 14º dia. O micro-organismo manteve-se viável durante todo o período de armazenamento em todas as formulações. Os sorvetes desenvolvidos podem ser considerados como alimentos probióticos, visto que as populações de *L. acidophilus* La-5 mantiveram-se acima de  $10^7$  UFC/g durante todo o período de análise, estando portanto de acordo com a legislação brasileira vigente.

**Palavras-chave:** Sorvete. Lactose. Intolerância.  $\beta$ -galactosidase. Probiótico.

CHIQUETTI, Rejane Lemos. **Desenvolvimento de sorvete com lactose hidrolisada adicionado de *Lactobacillus acidophilus***. 2014. 45 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados) – Centro de Pesquisa em Ciências Agrárias, Universidade Norte do Paraná, Londrina, 2014.

## ABSTRACT

The ice cream is considered by most Brazilians a tasty, sweet and pleasant. The market has been specializing ices, introducing in their formulations, additives to improve their properties. The addition of the enzyme  $\beta$  - galactosidase or lactase and probiotics can help improve the quality of ice cream. Lactose, the sugar found in milk, is responsible for carbohydrate dairy intolerance in some people who can not perform the digestion of the sugar. This intolerance is due to deficiency or absence of the production of  $\beta$  -galactosidase enzyme responsible for the hydrolysis of lactose in the human body. Probiotics contribute to the health of the human intestinal microbiota, which can be varied due to several factors such as antibiotics, stress and the presence of pathogens. In this work we developed an ice cream with hydrolyzed lactose and addition of probiotic *Lactobacillus acidophilus* with the following variations: T1 - without added probiotic or enzyme  $\beta$  - galactosidase; T2 with probiotic culture *Lactobacillus acidophilus* without the addition of  $\beta$  - galactosidase enzyme and T3 with probiotic *Lactobacillus acidophilus* and enzyme  $\beta$  - galactosidase. All productions were performed in triplicate. The physico - chemical analysis (pH and titratable acidity) and microbiological (populations *L. acidophilus* La - 5) were performed weekly during 28 days of refrigerated storage of ice cream. The pH analyzes showed significant differences ( $p < 0.05$ ) in the formulation T2 (with addition of La - 5 without hydrolysis) on day 14th compared with T1 (control formulation without La - 5 or hydrolysis) and T3 (with added La -5 and hydrolysis). T3 showed a significant difference at day 21th compared with T1 and T2 ( $p < 0.05$ ) . With respect to acidity, there was significant difference for T2 in all analyzed days compared to T1 and T3 ( $p < 0.05$ ). The count of *Lactobacillus acidophilus* La - 5 in T3 showed a significant difference only on day 14th for analysis of the formulation when compared to T2 ( $p < 0.05$ ) . For the formulation T3, the percentage of hydrolysis was 66 % and statistically influenced the multiplication of La - 5 only day 14th. The microorganism remained viable throughout the storage period at all formulations. Ice cream developed can be considered as probiotic foods, since the populations of *L. acidophilus* La - 5 remained above  $10^7$  CFU / g throughout the period of analysis and is therefore in accordance with Brazilian law.

**Keywords:** Ice cream. Lactose intolerance.  $\beta$  – galactosidase. Probiotic.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Ingredientes para formulações realizadas.....	28
<b>Tabela 2</b> – Variáveis empregadas na fabricação dos sorvetes. ....	28
<b>Tabela 3</b> – Populações de <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 (média ± desvio-padrão) obtidas para os sorvetes T2 (adição de <i>L. acidophilus</i> sem hidrólise da lactose) e T3 (adição de <i>L. acidophilus</i> e hidrólise da lactose), após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a -18°C. ....	32
<b>Tabela 4</b> – Parâmetros físico-químicos (média ± desvio-padrão) obtidos para os sorvetes T1 (controle, sem adição de <i>L. acidophilus</i> ), T2 (adição direta de <i>L. acidophilus</i> sem hidrólise) e T3 (adição direta de <i>L. acidophilus</i> com hidrólise), após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a -18°C. ....	35
<b>Tabela 5</b> – Composição centesimal e umidade (média* ± desvio - padrão) obtidos para os sorvetes T1 (controle – sem adição de <i>L. acidophilus</i> ), T2 (adição de <i>L. acidophilus</i> sem hidrólise da lactose) e T3 (adição de <i>L. acidophilus</i> e hidrólise da lactose) no produto final (matéria úmida) - após um dia de armazenamento a -18±1°C. ....	36



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	9
1.1	História do Sorvete .....	9
1.2	Comércio e Consumo de Sorvete .....	11
1.3	Processos de Fabricação .....	12
<b>2</b>	<b>LACTOSE</b> .....	16
2.1	Hidrólise da Lactose .....	19
<b>3</b>	<b>ALIMENTOS FUNCIONAIS E PROBIÓTICOS</b> .....	21
3.1	<i>Lactobacillus</i> e <i>Bifidobacterium</i> .....	24
3.2	<i>Lactobacillus Acidophilus</i> .....	25
<b>4</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	27
4.1	Objetivo Geral .....	27
4.2	Objetivo Específico .....	27
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
5.1	Ingredientes e Fabricação do Sorvete .....	28
5.2	Período de Armazenamento e Amostragem .....	30
5.3	Análise Microbiológica .....	30
5.3.1	Avaliação das populações de <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 .....	30
5.4	Avaliação dos Parâmetros Físico-Químicos .....	30
5.5	Determinação da Composição Centesimal .....	30
5.6	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE GLICOSE .....	31
5.7	Análise Estatística .....	31
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	32
6.1	Populações de <i>Lactobacillus Acidophilus</i> .....	32
6.2	Análises Físico-Químicas .....	35
6.3	Composição Centesimal .....	36
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	37
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	38

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 HISTÓRIA DO SORVETE

O sorvete cremoso veio aparecer primeiramente na Inglaterra, no século XVI, onde Carlos I, rei inglês, ganhou de presente de seu cozinheiro um sorvete cremoso a base de leite. O rei teria apreciado tanto o alimento que chegou a presentear seu cozinheiro com uma pensão vitalícia, porém, a receita não deveria nunca ser divulgada permanecendo somente como uma prerrogativa real (MALANDRIN; PAISANO; COSTA, 2001).

Em 1700, chegou aos Estados Unidos, a primeira máquina para a fabricação de sorvetes que foi desenvolvida em Nova Jersey, por Nancy Johnson, que inventou um congelador manual, revestido de gelo, adicionado de sal, onde se misturava e agitava os ingredientes até o seu congelamento (GOFF, 2001).

Os aprimoramentos foram acontecendo ao longo dos tempos até chegar as atuais tecnologias de fabricações do sorvete. Dependendo da região onde era fabricado, o sorvete recebia nomes diferentes. Na Arábia onde eram feitas caldas geladas, o sorvete recebia a denominação de *sharbet* e na França de *sorbets*. Tais produtos eram semelhantes aos sorvetes produzidos atualmente (COSTA; LUSTOZA, 1998).

A figura 1 apresenta o modelo da primeira máquina de fabricação de sorvete (IDFA, 2002)

**Figura 1** – Modelo da primeira máquina de fabricação de sorvete.



Fonte: IDFA (2002).

O surgimento do gelado comestível no Brasil teve início em 1834 com a chegada de um navio ao Rio de Janeiro com 217 toneladas de gelo compradas por dois comerciantes que fizeram modificações no gelo adicionando suco de frutas e colocando esta mistura à venda. Em 1941 surgiu a primeira indústria de sorvetes do país denominada Kibon (COSTA; LUSTOZA, 1998).

Após a fase inicial de fabricação dos sorvetes, na qual os ingredientes utilizados eram somente gelo e suco de frutas, esses produtos começaram a se tornar mais elaborados e passaram a conter em suas formulações leite, creme de leite, açúcar e estabilizantes. Aspectos como textura, cremosidade, aroma, sabor e cor, são constantemente melhorados e são alvos frequentes de estudos para aperfeiçoamento de formulações, levando em consideração sempre a qualidade da matéria-prima e as etapas exigidas para a fabricação do sorvete (COSTA; LUSTOZA, 1998).

Alguns fatores contribuíram para o desenvolvimento das indústrias de sorvete mundialmente como: aplicação de refrigeração mecânica, aplicação de homogeneizador, congeladores, batedeiras, gelo seco, máquinas para envasar os produtos, ingredientes de melhor qualidade, aprimoramento das tecnologias para obtenção do sorvete, diminuição do custo operacional devido aos maquinários implantados, valor nutritivo elevado, melhoria das condições financeiras dos consumidores, introdução dos congeladores domésticos e por fim a propaganda (MOSQUIM, 1999).

Observando-se o ponto de vista microbiológico do sorvete, ele é estável visto que sua matéria prima é pasteurizada em um binômio tempo/temperatura que garantem a eliminação de organismos patogênicos (VARNAM; SUTHERLAND, 1994)

De acordo com Mosquim (1999), os gelados comestíveis são obtidos através do congelamento, contendo uma mistura básica (leite e/ou derivados, gorduras, emulsificantes, estabilizantes, açúcares), sob agitação contínua, pasteurizada, compostos de ingredientes lácteos ou não, com ou sem adição de outros ingredientes que garantam as condições de conservação do produto.

No entanto, para ser comercializado como sorvete no Brasil, o produto deve estar dentro das normas e padrões da ANVISA, portaria nº 379 de 1999 que define:

gelados comestíveis são produtos alimentícios obtidos a partir de uma emulsão de

gorduras e proteínas, com ou sem adição de outros ingredientes e substâncias, ou de uma mistura de água, açúcares e outros ingredientes e substâncias que tenham sido submetidas ao congelamento, em condições tais que garantam a conservação do produto no estado congelado ou parcialmente congelado, durante a armazenagem, o transporte e a entrega ao consumo (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 1999).

## 1.2 COMÉRCIO E CONSUMO DE SORVETE

O sorvete é um alimento consumido em todas as partes do mundo tendo um destaque para os países de clima quente por possuir características refrescantes (MADRID, 1995). No Brasil, o consumo anual de sorvete ainda é pequeno em comparação com países nórdicos, principalmente no inverno onde o consumo chega a cair cerca 30% (MALANDRIN; PAISANO; COSTA, 2001).

A tendência é aumentar o mercado, visto que o consumo per capita é de 5,20 litros de sorvete ao ano por pessoa e em 2002 era de 4,04 litros (ABIS, 2010).

Este mercado de gelados comestíveis vem se diversificando e inovando cada vez mais não só com sabores diferentes, mas com acréscimo de ingredientes funcionais ou outras substâncias que permitam o consumo de sorvetes por pessoas que antes não poderiam consumir (ABIS, 2010).

Modificações na composição que não descaracterizem as propriedades do sorvete, também tem sido realizadas com sucesso, como no caso de sorvetes light onde o teor de gordura e ou açúcar são reduzidos, visando um público com restrições na dieta alimentar. Além disso, subprodutos como soro de leite e seus derivados podem ser utilizados a fim de diminuir os custos e agregar algum valor nutricional (COSTA; LUSTOZA 1998).

Características como alta digestibilidade, devido a uma boa homogeneização quebrando assim as moléculas de gordura, textura leve, sabor agradável e doce aumenta o aceite do sorvete por pessoas de todas as idades (GOMES, 2006). Pesquisas ainda demonstram que pessoas com úlceras e gastrites crônicas se beneficiam do consumo do alimento, pois a baixa temperatura do alimento leva ao descongestionamento da mucosa gástrica inflamada (GOMES, 2006).

De acordo com a empresa Alkosa, distribuidora de equipamentos e

produtos para sorveterias no Brasil, o mercado alimentício abrangerá algumas tendências nos próximos anos: conveniência e saudabilidade, pois o consumidor contemporâneo está cada vez mais à procura de produtos rápidos, práticos, saborosos e que façam bem a saúde, havendo assim a necessidade de adequação da indústria de sorvetes para atender esse público (ALKOSA, 2011).

O leite, ingrediente fundamental e obrigatório para a produção do sorvete, além de ser rico em nutrientes, permite a inoculação de micro-organismos benéficos e funcionais a saúde, tornando o alimento mais atrativo para atender as necessidades do consumidor (MIGUEL; ROSSI, 2003).

Segundo Silvestrini (2011), entre os anos de 2005 e 2010, o consumo de sorvete aumentou cerca de 54% no Brasil. O aumento do consumo fez com que a variedade nos sabores também aumentasse para atender um número maior de pessoas.

Um gelado comestível que no Brasil tem feito sucesso dentro do mercado são os sorvetes de iogurtes que abrangem o sabor refrescante do sorvete com os benefícios de um iogurte (MIGUEL; ROSSI, 2003).

A Associação Brasileira das Indústrias e do Setor de Sorvete (ABIS) realizou um trabalho de conscientização com o público brasileiro visando esclarecer as propriedades nutricionais do sorvete, afirmando que não trata-se de uma sobremesa e sim um alimento completo por conter proteínas, açúcares, gordura animal e ou vegetal, vitaminas A, B1, B2, B6, C, D, K, cálcio, fósforo e outros minerais (ABIS, 2010).

O consumo de sorvete no Brasil em 2011, chegou a 1,1 milhões de litros, alcançando um crescimento de 70,36% em oito anos, mesmo o consumo per capita ainda sendo baixo (ABIS, 2012).

Segundo a ABIS (2007), se o setor de sorvete conseguir atrativos que façam a população consumir o produto em épocas de baixa venda, como no inverno, o crescimento terá maior sucesso com índices mais expressivos de produção e consumo.

### 1.3 PROCESSOS DE FABRICAÇÃO

Para a produção do sorvete são utilizados vários ingredientes com diferentes funções: produtos de origem láctea, açúcar, estabilizante, emulsificante,

aromatizante e corante, podendo ser acrescido ou não de frutas para diferenciação de sabor e enriquecimento do produto (SOUZA, 2011a).

Os sólidos não gordurosos do leite exercem a função de formação de bolhas e conferem o sabor lácteo, interferem no corpo do sorvete e mastigabilidade. Eles vão favorecer a formação de cristais de gelo pequenos por obstrução mecânica e devido às propriedades hidrofílicas das proteínas, isso irá diminuir a sensação de arenosidade encontrada em sorvetes devido a formação de grandes cristais de gelo (KATO, 2002).

Os açúcares proporcionam o sabor doce que agrada ao paladar, além de serem essenciais para o ponto de congelamento e textura (KATO, 2002; MOSQUIM, 1999).

Ao formarem solução com a água presente no sorvete, vão contribuir para a redução do ponto de congelamento, além do que, os açúcares presentes nos gelados comestíveis vão aumentar a viscosidade, ajudar na suavidade da textura e aumentar a taxa de derretimento (GOFF, 2001).

Os açúcares que podem ser utilizados em sobremesas geladas são: sacarose, lactose, maltose, frutose e xarope de milho (KILARA, 1997).

Os estabilizantes garantem a uniformidade e maciez ao corpo do sorvete prevenindo o crescimento de cristais de gelo, além de aumentar a viscosidade da calda, melhorar o batimento, evitar a separação do soro, facilitar a incorporação de ar na massa e melhorar a estabilidade do produto durante o período de armazenamento. Com o congelamento e descongelamento do produto, a tendência é formarem-se cristais de gelo que vão proporcionar ao produto aspecto sensorial desagradável. O estabilizante vem atuar na estabilização do tamanho desses cristais (KATO, 2002).

Os emulsificantes desempenham o papel de melhorar a uniformidade durante o processo de batimento, reduzir o tempo de batimento da calda, controlar o agrupamento da gordura durante o congelamento, facilitar a distribuição das bolhas de ar que conferem maior cremosidade ao produto. Entretanto, seu uso em concentrações muito altas pode resultar em lentidão na taxa de derretimento do produto, alterando as características desejáveis do produto final. Os emulsificantes: redução à tensão interfacial, assim o ar pode distribuir-se uniformemente no sorvete. Sua principal característica em sorvetes é desestabilizar a membrana dos glóbulos de gordura, conferindo assim uma maior cremosidade ao

produto (GOFF, 2001).

Os corantes e aromatizantes, por sua vez, são acrescentados para intensificação da cor e sabor do sorvete, respectivamente (MOSQUIM, 1999).

A composição que proporciona o melhor sabor, ou que agrada mais, não é algo tido como regra, visto que, as preferências variam de acordo com a região. Para que um produto de qualidade seja fabricado e agrade ao paladar do público, são necessários, a escolha de ótimos ingredientes e manipulação adequada para a produção de qualquer alimento (KATO, 2002).

Com relação a estrutura do sorvete, pode-se dizer que é um colóide complexo com bolhas de ar, glóbulos de gordura, cristais de gelo, fase aquosa não congelada; a maioria dos ingredientes estão dissolvidos em uma fase contínua, já o ar e a gordura em uma fase descontínua (GOFF,2001).

Os processos de fabricação do sorvete seguem resumidamente as seguintes etapas: preparo da calda (etapa na qual os ingredientes são misturados e homogeneizados, visando a melhor dispersão/solubilização possível dos ingredientes, bem como a redução do tamanho dos glóbulos de gordura); pasteurização (aquecimento da calda a 62°C por 30 minutos para evitar a multiplicação de contaminantes - essa etapa deve ser realizada sob agitação constante, evitando, dessa maneira, que a calda seja aquecida de forma desigual; maturação (etapa na qual ocorre a hidratação das proteínas e estabilizantes) ocorrerá à uma temperatura entre 30°C e 37°C por um período de 4 horas; batimento e congelamento (etapa na qual ocorre a incorporação de ar ao produto. Nesta etapa ocorre o congelamento parcial do sorvete, envase (etapa que deve ser realizada de forma rápida para que não ocorra o aumento da temperatura provocando o derretimento do sorvete) (OLIVEIRA, 2008). O armazenamento deve ocorrer à temperatura de pelo menos -18°C. Durante o armazenamento, deve-se evitar o aumento da temperatura, que resultará no derretimento do sorvete. Tal processo (descongelamento seguido do congelamento) faz com que sejam formados grandes cristais de gelo, o que irá conferir ao sorvete a sensação de arenosidade. Defeitos como sabor rançoso ou coloração desigual, falta de sabor e ausência de maciez, também podem ocorrer, caso o armazenamento ocorra de forma inadequada (KATO, 2002).

Com relação a sua estrutura, o sorvete possui forma coloidal complexa, composta por bolha de ar, cristais de gelo, glóbulos de gordura e uma

fase aquosa não congelada. Possui ainda duas fases: contínua e descontínua (GOFF, 2001).

A fase contínua é composta por água onde encontram-se dissolvidos a maioria dos ingredientes, açúcares, polissacarídeos de alto peso molecular em uma solução concentrada e congelada. A fase descontínua é formada por ar e gordura, onde as bolhas de ar estão revestidas por glóbulos de gordura e os glóbulos por sua vez, encontram-se cobertos por proteínas e emulsificantes (GOFF, 2001).

Cerca de metade do volume do sorvete quando congelado, deve-se a incorporação de ar (GOFF, 2001).

Um ingrediente fundamental na composição do sorvete é a gordura. Ela irá atingir o balanceamento da formulação, influenciar na textura quanto à suavidade, dar sabor, melhorar a textura, auxiliar na estabilidade do creme e aumentar a viscosidade do produto, além de influenciar na estrutura do ponto final (MOSQUIM, 1999).

Deve-se observar a relação entre quantidade de gordura e custo final do produto, para que não ocorra um encarecimento do produto final (GOFF, 2001).



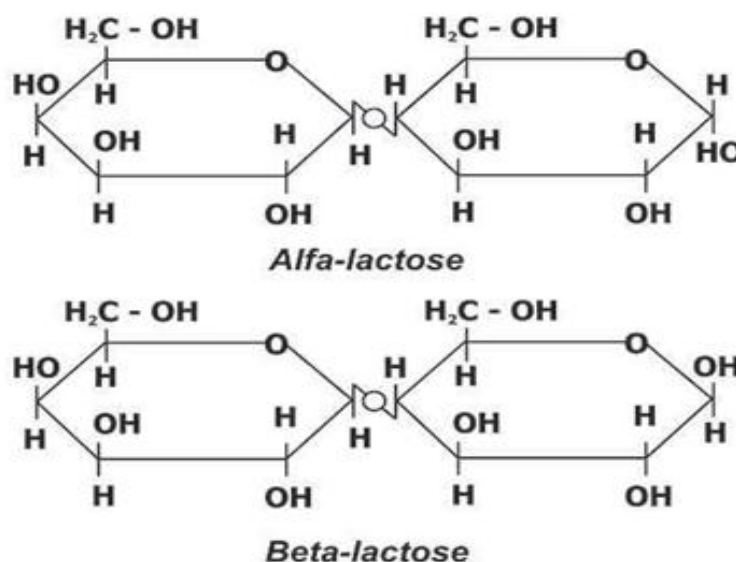
## 2 LACTOSE

O leite é um dos alimentos mais completos por possuir em sua composição proteínas, gorduras, vitaminas, minerais e açúcares, elementos esses que são indispensáveis a uma boa saúde (PEREIRA et al., 2012).

A lactose é um dissacarídeo encontrado no leite. Quando ingerido, esse carboidrato é hidrolisado em glicose e galactose, sendo assim absorvido pelo organismo (VOET, 2008). Ela é absorvida pelo organismo logo após sua hidrólise realizada por uma enzima denominada  $\beta$  galactosidase ou simplesmente lactase que atua no intestino delgado, mais especificamente no jejuno, quebrando a molécula de lactose em glicose e galactose, sendo assim possível a absorção pelo intestino do indivíduo (FERREIRA, 1997).

O açúcar possui duas formas e propriedades distintas:  $\alpha$  hidratada e  $\beta$  anidra, onde em solução, uma forma se transforma na outra visando buscar o equilíbrio, como está representado na figura 2 (PEREIRA, et al., 2012)

**Figura 2** – Estrutura química dos isômeros da lactose.



Fonte: Pereira, et al. (2012).

A lactose possui baixa solubilidade e doce. Porém, quando hidrolisada, sua solubilidade e doçura aumentam. Aproveitando o aumento da doçura devido à sua hidrólise, pode-se acrescentar uma quantidade menor de sacarose para adoçar alguns alimentos, o que contribui positivamente para a

qualidade do produto final (VOET, 2008).

Algumas pessoas apresentam dificuldades para digerir a lactose, presente no leite e seus derivados. A pressão osmótica do intestino aumenta retirando uma boa quantidade de água dos tecidos vizinhos e enviando a lactose para o intestino grosso, onde posteriormente ela é fermentada por grupos microbianos que produzem gases e água ou ainda é hidrolisada por bactérias de ácidos orgânicos de cadeia curta. Esse processo vem ocasionar gases, inchaço na barriga, desconforto abdominal, diarreia para a pessoa intolerante ao açúcar (FERREIRA, 1997; BARBOSA; ANDREAZZI, 2009). A intensidade desses sintomas pode variar de pessoa para pessoa de acordo com os níveis da deficiência do organismo em produzir a enzima lactase (FERREIRA, 1997).

Assim, a deficiência na produção da enzima ou até mesmo sua ausência em casos extremos, faz com que tais pessoas não possam consumir alimentos que possuam lactose em sua composição (VOET, 2008). Estima-se que cerca de 75% da população adulta mundial possui algum tipo de intolerância à lactose, sendo ela classificada em níveis diferentes: congênita, primária ou genética, secundária ou adquirida e ontogenética (GASPARIN et al., 2010).

A classificação mais comum de intolerância à lactose é a deficiência primária conhecida como hipolactasia adulta. Esse tipo de intolerância possui origem hereditária, ocorrendo desde a infância, devido a baixas concentrações ou ausência definitiva da enzima. A deficiência secundária vem se tornando cada vez mais comum nos últimos anos, sendo provocada por alterações nas células intestinais produtoras de lactase, seja por processos cirúrgicos ou por alguns tipos de doenças, como a gastroenterite (GONZÁLEZ, 2007).

O terceiro tipo de intolerância existente é raro, sendo conhecida como intolerância congênita. Tal tipo pode ser observado em bebês recém-nascidos, já na primeira ou segunda vez que eles ingerem leite (GASPARIN et al., 2010). Quando ocorre esse tipo de intolerância, deve haver um maior cuidado devido à desidratação ocorrida pelo quadro de diarreia (BERNE, 2004). O quarto tipo de intolerância é a ontogenética, caracterizada pelo indivíduo apresentar-se como um mau absorvedor da lactose. Ocorre normalmente em torno do 2º ao 5º ano de idade e em alguns casos na vida adulta. Destaca-se nessa intolerância, o fato de algumas crianças alegarem não gostar de leite. Dessa forma, seus sintomas só aparecem sutilmente, sendo necessária uma investigação detalhada para confirmação do

problema (GASPARIN et al., 2010).

De acordo com estudo realizado no Brasil, utilizando uma sobrecarga de lactose, cerca de 50 gramas por dia, com vários indivíduos, 70% deles apresentaram algum grau de intolerância a lactose com sintomas clínicos como diarreia, dores abdominais e flatulência (MONDINI; MONTEIRO, 1994).

Na população negra, a intolerância ocorre com mais frequência (VOGEL, 2000). Entre a sociedade asiática, a intolerância entre adultos é quase que total, ao contrário do norte da Europa onde a maioria dos adultos são tolerantes (BERNE, 2004).

Segundo Vogel (2000), a lactose da dieta, aumenta a absorção do cálcio, quando este é ingerido através do leite e seus derivados, sendo necessária a ingestão da enzima lactase juntamente com o leite e seus derivados em indivíduos intolerantes, para que ocorra a hidrólise do carboidrato e posterior absorção do cálcio. Vale destacar que a absorção do cálcio se dá devido a fermentação da lactose, com conseqüente diminuição do pH, essencial para a absorção deste mineral tão importante para a formação e manutenção dos ossos evitando algumas doenças que estão ligadas a falta do mineral. Existem outras maneiras de ingestão de cálcio como, por exemplo, com o consumo de verduras com folhas verde escuras como brócolis e couve, porém a quantidade e biodisponibilidade do cálcio nesses alimentos é menor quando comparadas ao leite e seus derivados (WEAVER; HEANEY, 2006).

A lactose possui destaque na indústria alimentícia, na produção de queijos e iogurtes, bem como na produção de outros alimentos não lácteos e também na indústria farmacêutica na produção de cápsulas e comprimidos como excipientes (ORDOÑEZ, 2005).

São encontrados nos mercados produtos com teor reduzido de lactose ou totalmente isentos do carboidrato para o consumo de pessoas intolerantes, porém o público que consome os produtos com lactose hidrolisada não restringe-se apenas aos portadores de alguma intolerância ao carboidrato, de forma geral agrada ao paladar de todos por serem mais adocicados sendo assim, consumidos pela população que não possuem a deficiência da enzima. Dentre esses produtos destacam-se os lácteos fermentados, queijos duros, doces de leite com lactase e alguns tipos de leite com teor reduzido de lactose (PEREIRA et al., 2012).

Esses produtos acabam adquirindo características que podem ser favoráveis, por exemplo, o iogurte, quando utilizada a lactase em seu processo de fabricação, adquire um sabor menos ácido, mais doce e suave. O doce de leite, quando acrescido da lactase no processo de fabricação, evita a cristalização da lactose evitando a arenosidade indesejada ao doce, favorece o escurecimento devido a reação de Maillard, tornando suas características mais apreciáveis ao consumidor (LONGO, 2006).

Além dos produtos com a lactose hidrolisada, já existem a lactase em cápsula e na forma líquida para minimizar os efeitos da intolerância (PRAY, 2000).

## 2.1 HIDRÓLISE DA LACTOSE

A  $\beta$ -galactosidase, ou simplesmente lactase, está presente em plantas, leveduras, bactérias e na maioria dos mamíferos (SANTIAGO et al., 2004). O interesse comercial desta enzima tornou-se mais elevado durante os anos sessenta, devido ao crescimento do comércio de produtos lácteos (MAHONEY, 1997). Importante na indústria alimentícia, a lactase tem papel de destaque na fabricação de alimentos derivados de leite, uma vez que essa enzima hidrolisa a lactose em dois monossacarídeos (SANTIAGO et al., 2004). A hidrólise da lactose pode ser realizada de 2 formas distintas: hidrólise ácida e hidrólise enzimática. Os dois tipos envolvem características próprias. A hidrólise ácida necessita de alta temperatura (150°C) e pH ácido (1,2) durante 3 minutos. Nessas condições, obtém-se 80% de hidrólise (DEBOER, 1981). Já a hidrólise enzimática apresenta exigências mais simples, sendo necessária, contudo, a introdução de mais uma etapa para a separação dos produtos formados. Fatores como pH, temperatura, pressão, concentração e reagentes e produtos podem influenciar na hidrólise da lactose (VOET, 2008).

Por envolver ácidos fortes na hidrólise ácida, seu uso na indústria de alimentos acaba ficando restrito visto que, o uso de catalisadores ácidos deixam os sabores e cores alterados, acarretando escurecimentos, produção de subprodutos indesejáveis e desnaturação de proteínas (SANTIAGO et al., 2004).

O método enzimático envolve a enzima  $\beta$ -galactosidase, a qual vem promover a desdobra da lactose em glicose e galactose. Por possuir meios mais

brandos de temperatura e pH, os riscos de alterações no produto final são bem menores (SANTIAGO et al., 2004).

Com o aumento do número de pessoas intolerantes à lactose, a demanda pela produção de alimentos com baixo teor de lactose ou com lactose hidrolisada apresenta crescimento ao longo dos anos. Alimentos como doce de leite, iogurtes e sobremesas lácteas já estão sendo fabricados com o auxílio da enzima  $\beta$ -galactosidase. Após a realização da hidrólise da lactose, a solubilidade e digestibilidade do leite e derivados tornam-se próprios para o consumo entre pessoas intolerantes ou sensíveis ao carboidrato. Por hidrolisar a lactose, a  $\beta$ -galactosidase previne a cristalização desse açúcar, que forma cristais, em produtos lácteos como doce de leite, sorvetes e leite condensado. Em sorvetes, além de evitar a formação de cristais de lactose, contribui para aumentar a cremosidade do produto (SANTIAGO et al., 2004). No doce de leite, a enzima diminui a sensação de arenosidade decorrente da cristalização da lactose (KLEIN, 2010).

A melhoria sensorial deve-se a redução da concentração da lactose em níveis aceitáveis e o aumento da concentração da glicose e galactose, açúcares esses que possuem propriedades mais solúveis portanto menos propensos a cristalização (ZADOW, 1993). Outra vantagem na utilização da enzima lactase ocorre após sua adição em iogurtes: a hidrólise resultante de sua ação pode fornecer substratos para a multiplicação das culturas de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, utilizadas na fabricação desses produtos (GIST-BROCADES, 2004). A fermentação ocorre de forma mais rápida, pois os monossacarídeos resultantes são mais facilmente utilizáveis pelas bactérias lácteas. Por adquirir uma doçura maior devido ao desdobramento da molécula, pode-se acrescentar uma quantidade menor de açúcar no iogurte diminuindo suas calorias (ZADOW, 1993).

Em queijos maturados, a enzima proporciona um menor tempo de maturação. Já em queijos como o Minas frescal, que é muito consumido no Brasil, já é possível a adição da  $\beta$ -galactosidase em sua composição juntamente com probióticos para que ocorra a quebra da lactose, possibilitando seu consumo por pessoas intolerantes, além de atender à demanda por alimentos saudáveis (SANTIAGO, 2004).

### 3 ALIMENTOS FUNCIONAIS E PROBIÓTICOS

Alimentos que auxiliem na melhoria da saúde e por consequência na qualidade de vida estão sendo cada vez mais procurados. Pesquisas demonstram que bons hábitos alimentares podem reduzir o risco de aparecimento de doenças cardiovasculares, cerebrais, câncer, entre outras (MORAES; COLLA, 2006).

Com a preocupação em reduzir custos com medicamentos e aumentar a utilização de alimentos, surgiu pela primeira vez, o termo alimento funcional. Esse termo foi utilizado no Japão, um país que se preocupa com a qualidade de vida e tem a expectativa de vida alta (ROBERFROID, 2002).

Os alimentos funcionais são alimentos modificados, semelhantes aos alimentos convencionais, que além de promoverem funções nutricionais básicas, exercem efeitos benéficos à saúde do hospedeiro, úteis na manutenção de uma boa saúde física e mental, podendo auxiliar na redução do risco de doenças crônico-degenerativas (BERGAMINI et al., 2005; MICHIDA et al., 2006).

Os alimentos que possuem em sua composição micro-organismos probióticos são caracterizados como funcionais. Existem várias definições para o termo probióticos, entretanto, a aceita atualmente internacionalmente é que probióticos são micro-organismos vivos, administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001; SANDERS, 2003).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada na faixa de  $10^8$  a  $10^9$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC) na recomendação diária do produto pronto para o consumo, conforme indicação do fabricante (ANVISA, 2008).

Bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são mais frequentemente empregadas como probióticos em alimentos, uma vez que elas têm sido isoladas de todas as porções do trato gastrointestinal do humano saudável (CHARTERIS et al., 1998; BIELECKA, BIEDRZYCKA, MAJKOWSKA et al., 2002).

Vários efeitos positivos à saúde do humano são atribuídos ao uso contínuo de probióticos, como estimulação do sistema imune, controle da microbiota intestinal após o uso de medicamentos como antibióticos, resistência contra a

colonização por patógenos, promoção da digestão da lactose, alívio nos casos de constipações, maior absorção de minerais e vitaminas (SAAD, 2006).

Utilizado também em casos de diarreia aguda infecciosa para o tratamento e prevenção (ISOLAURI, 2003; CANANI et al., 2007). Ao realizar-se ensaios terapêuticos, verificou-se diferenças significativas entre os grupos que consumiram probióticos e os grupos que não consumiram com relação a duração e intensidade da diarreia, ao número de dias de internamento e dos dias em que os vírus são eliminados no caso da diarreia e rotavírus (ROLFE, 2000; JUNTUNEN, et al., 2001; PANT et al., 2007).

Os probióticos podem atuar de três formas distintas no organismo: provocando uma supressão em micro-organismos patógenos no trato intestinal através da produção de substâncias antibacterianas como, por exemplo, peróxido de hidrogênio, ácido láctico, bacteriocinas, ácido láctico e acético. Além disso, vão competir por nutrientes e sítios de adesão no epitélio intestinal (ROY, 2005; SAAD, 2006). Alterando o metabolismo microbiano do trato intestinal pelo aumento da atividade enzimática e por fim, a última forma, através do estímulo da imunidade do hospedeiro com o aumento dos níveis de anticorpos e o aumento da atividade dos macrófagos (SAAD, 2006).

O aumento da expectativa de vida vem fazendo com que as pessoas procurem melhorar também sua qualidade. Concomitantemente, o mercado alimentício vem investindo em novos alimentos com propriedades funcionais, que de algum modo façam bem a saúde (KOMATSU, 2008).

Sanders (1998), enumerou seis fatores que causam a procura pelo aumento do consumo de alimentos funcionais: prevenção de doenças, diminuição dos custos médicos, uma vez que se previne as doenças, não há a necessidade de tratamento, educação alimentar, os consumidores estão mais cientes sobre a relação entre a saúde e os alimentos, redução de envelhecimento e cientificamente tem sido cada vez mais comprovado a eficácia dos alimentos funcionais.

A maior parte dos produtos funcionais encontrados no mercado, são os alimentos lácteos como iogurtes e leites fermentados devido as condições favoráveis para multiplicação e sobrevivência dos micro-organismos apesar de serem mantidos sobre refrigeração e possuírem uma vida de prateleira curta (AKIN, 2005; DING; SHAH, 2008; RAVULA; SHAH, 2000).

Apesar dos iogurtes e leites fermentados serem os principais

produtos encontrados com micro-organismos probióticos, o aumento na demanda de produtos funcionais trás inovações para o mercado que vem investindo em sorvetes, queijos, mousse, sucos e outros alimentos, todos com a utilização de probióticos em suas formulações (AKIN, 2005; DING; SHAH, 2008; RAVULA; SHAH, 2000).

Visando uma melhor compreensão do rótulo funcional e embasamento científico sobre a afirmação alimento funcional ou de saúde, a ANVISA, na Resolução nº 18 de 1999, estabeleceu normas a serem seguidas em um processo contínuo, onde os fabricantes somente poderão utilizar esse rótulo após a aprovação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 1999).

Dentro dos alimentos funcionais, pode-se citar os probióticos, que para possuírem essa alegação devem contribuir para o equilíbrio da flora intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis. São listados como probióticos pela ANVISA os seguintes micro-organismos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei variedade rhamnosus*, *Lactobacillus casei variedade defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *Bifidobacterium longum* e *Enterococcus faecium* (ANVISA, 2005).

Dentre os alimentos inovadores com propriedades funcionais, o sorvete tem um grande potencial devido às temperaturas elevadas em um país como o Brasil, porém aspectos característicos do sorvete como sabor, textura, devem ser preservados e ao final, o número de probióticos existente deve estar dentro dos padrões exigidos pela ANVISA (SOUZA et al., 2011b).

Outro aspecto que deve ser levado em consideração para a viabilidade das colônias de bactérias probióticas é o tempo de estocagem. Análises realizadas por outros pesquisadores já mostraram uma certa alternância nesse período, podendo se manter estável até 60 dias dependendo da cultura utilizada (ROSSI; MIGUEL, 2003). Tais produtos devem manter suas características sensoriais e físico-químicas ao longo do armazenamento (MOSQUIM, 1999). Em estudo desenvolvido por SOUZA et al. (2011b), observou-se que a introdução do micro-organismo probiótico *Lactobacillus casei* em sorvete não alterou suas características sensoriais e microbiológicas, quando comparado a um sorvete convencional durante 60 dias de armazenamento a - 25°C.



### 3.1 *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*

Existem alguns micro-organismos que se destacam na microbiota intestinal, dentre eles os *Bifidobacterium*, Bacteroides, *Eubacterium* e em menor número os *Streptococcus*, *Clostridium* e *Lactobacillus* (HOLZAPFEL; SCHILLINGER, 2002).

*Bifidobacterium* e *Lactobacillus* são as bactérias mais utilizadas tratando-se de probióticos e alimentos lácteos por terem comprovadamente sua eficácia e serem encontradas naturalmente no cólon e no íleo do trato gastrointestinal (BIELECKA; BIEDRZICKA; MAJKOWSKA, 2002).

Alguns tipos de queijo possuem em suas formulações cepas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, entre eles: Cheddar (GARDINER et al., 1998), Gouda (GOMES; MALCATA, 1998), Cottage (BLANCHETTE et al., 1996), entre outros.

Os lactobacilos são Gram-positivos que conseguem sobreviver na presença de pouco oxigênio e se enquadram no grupo das bactérias lácticas. Esses micro-organismos obtêm energia através do metabolismo fermentativo sendo o produto final como resultado da degradação dos carboidratos, o ácido lático (GOMES; MALCATA, 1999).

Esses micro-organismos podem vir a colaborar na digestão da lactose em pessoas que possuam algum tipo de intolerância minimizando a constipação e a diarreia (NOVIK et al., 2006).

Ao se descrever as bifidobactérias, pode-se afirmar que são micro-organismos gram-positivos, anaeróbias, crescem em um pH entre 4,5 – 8,5, seu local preferido para colonização é o cólon (ROKKA; RANTAMAKI, 2010). Sua temperatura ótima de crescimento está entre 37°C a 41°C, se ultrapassado a temperatura chegando a 45°C, seu crescimento é inibido, assim como se o pH for inferior a 4,5 ou superior a 8,5 (BARBOSA et al., 2001).

Não possuem flagelos, não formam esporos, não produzem bacteriocinas. Sua morfologia pode possuir formas diferentes como bacilos curtos, curvados e bifurcados em forma de Y (SGORBATI et al., 1995).

Esses micro-organismos tem seu desenvolvimento mais elevado em meio sintético ao em vez de leite, porém, além desses meio serem caros, podem fornecer sabores desagradáveis nos produtos finais. Sendo assim, a adição de

fontes de nitrogênio ou de outras substância que venham reduzir o potencial redox do meio, bem como a seleção de linhagens menos exigentes podem vir a superar esses problemas de desenvolvimento ao meio láctico tornando possível sua utilização em grandes escalas (GOMES, MALCATA, 1999).

São conhecidas como bifidobactérias 29 espécies, mas nem todas são classificadas como probióticas (SHAH, 2007).

As bifidobactérias possuem características que favorecem alguns pontos da saúde do consumidor como: estimular o sistema imunológico, produzir vitamina B, inibir o crescimento de micro-organismos patógenos, diminuir a concentração de colesterol e amônia no sangue, reestabelecer a microbiota intestinal após o uso de antibióticos (MANNING; GIBSON, 2004).

### 3.2 *Lactobacillus Acidophilus*

Diversos pesquisadores afirmam que o *Lactobacillus acidophilus* é o micro-organismo mais indicado como probiótico se for comparado a outras espécies de *Lactobacillus*, uma vez que ele consegue se aderir ao epitélio intestinal e sobreviver ao suco gástrico. Trata-se de um micro-organismo Gram-positivo, em forma de bacilo, com extremidades arredondadas, podendo ser encontrado como células livres ou aos pares em cadeias curtas, além do que, produz bacteriocina com atividade de amplo espectro (GARCIA et al., 2006). São incapazes de formar esporos, não possuem flagelos, anaeróbios, tendo uma temperatura ótima de crescimento entre 37 e 42°C (GOMES; MALCATA, 1999).

As cepas do *Lactobacillus acidophilus* produzem ácido fólico, niacina, tiamina, riboflavina e vitamina k, porém, o produto do seu metabolismo principal é o ácido láctico (SHAH, 2007).

Por possuir meios de crescimento complexos, a temperatura de incubação e a atmosfera gasosa, devem ser bem definidas para um representativo crescimento. O meio utilizado para seu crescimento e manutenção deve conter: várias vitaminas do complexo B, minerais, ácidos graxos, carboidratos fermentescíveis, aminoácidos e ácidos nucléicos (TRABULSI, ATERHUM, 2004).

Sua viabilidade pode ser melhorada nos produtos onde fazem parte da fabricação através da seleção das cepas adequadas e resistentes a acidez

estomacal e a bile, adaptação ao estresse, incorporação de peptídeos e aminoácidos (GOMES; MALCATA, 1999).

O uso de probióticos, vêm aumentando cada vez mais, substituindo os antibióticos adicionados as rações para controle de doenças (PARDO; REIS, 2008).

Ao utilizarem-se probióticos na alimentação dos animais, são produzidas bacteriocinas, que são substâncias produzidas por diferentes bactérias probióticas e que atuam como barreiras antimicrobianas, reduzindo os micro-organismos patógenos, melhora da digestibilidade e melhora do sistema imunológico (NOGUEIRA, 2011).

Por possuir características favoráveis á sua sobrevivência e multiplicação em alimentos como: ser pouco afetado pela salinidade do meio, tolerar valores baixos de pH, ser microaeróbio, o *Lactobacillus acidophilus* é um dos probióticos mais utilizados na fabricação de alimentos (SALMINEN; VON WRIGHT, 1993).

Quando utilizado o *Lactobacillus acidophilus* juntamente com outro probiótico e um prebiótico, a sobrevivência dos micro-organismos pode ser favorecida. Um exemplo foi a junção do *Lactobacillus acidophilus* com *Bifidobacterium lactis* e inulina em sorvetes. A inulina estimulou o crescimento dos micro-organismos no produto (AKIN, 2005).

Os micro-organismos probióticos podem ser adicionados ao sorvete através de inoculação ou sob a forma de iogurte congelado (LEANDRO, 2006).

Estudos realizados demonstram que o sorvete que teve em sua formulação *Lactobacillus acidophilus*, pode ser armazenado por até 60 dias, a uma temperatura de -25°C, sem alteração nas suas características sensoriais e microbiológicas (ANDRIGHETTO; GOMES, 2003).

Pesquisas demonstram que o consumo de sorvete com *Lactobacillus acidophilus* durante 10 dias, pode reduzir os níveis salivares que estão relacionados às bactérias que provocam cárie (ÇAGLAR, 2007).

O uso do *Lactobacillus acidophilus* em iogurtes pode atuar como agente profilático na redução da reincidência de doenças como candidíase vaginal (ANTUNES et al., 2007).

## 4 OBJETIVO

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um sorvete com lactose hidrolisada adicionado da cultura probiótica de *Lactobacillus acidophilus* La-5.

### 4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Avaliar o efeito da hidrólise da lactose sobre as características físico-químicas dos produtos desenvolvidos, comparando-os com o sorvete controle (sem hidrólise).

Verificar o efeito da hidrólise da lactose sobre as populações do probiótico.

Avaliar a viabilidade do probiótico *Lactobacillus acidophilus* La-5 durante a vida de prateleira das diferentes formulações de sorvetes desenvolvidas.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 INGREDIENTES E FABRICAÇÃO DO SORVETE

Para as produções das diferentes formulações de sorvetes foram utilizados os seguintes ingredientes: leite integral UHT (Frimesa, Capanema, Brasil), açúcar refinado (União, São Paulo, Brasil), creme de leite UHT (Nestlé, Araçatuba, Brasil), leite condensado (Nestlé, Carazinho, Brasil), emulsificante Emustab (Duas Rodas Industrial Ltda, Jaraguá do Sul, Brasil), estabilizante (Duas Rodas Industrial Ltda, Jaraguá do Sul, Brasil), enzima  $\beta$ -galactosidase Maxilactis (DSM, São Paulo, Brasil), aroma de baunilha (Mix, São Bernardo do Campo, Brasil) e cultura probiótica de *Lactobacillus acidophilus* (Christian Hansen, Hoersholm, Dinamarca), nas quantidades indicadas na tabela 1.

**Tabela 1** – Ingredientes para formulações realizadas.

<b>Ingredientes</b>	<b>Quantidade</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>
Leite UHT	6 litros	X	X	X
Açúcar	1.300 gramas	X	X	X
Creme de leite	800 gramas	X	X	X
Leite condensado	1.580 gramas	X	X	X
Emulsificante	100 gramas	X	X	X
Estabilizante	100 gramas	X	X	X
Aroma de baunilha	15 ml	X	X	X
<i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5	4 gramas	–	X	X
Enzima $\beta$ -galactosidase	4 ml	–	–	X

x = Presença. – = Ausência.

Foram produzidas três formulações de sorvete de acordo com as variáveis apresentadas na Tabela 2. Todas as formulações foram produzidas em triplicata. Os produtos foram obtidos de acordo com as etapas descritas na figura 3.

**Tabela 2** – Variáveis empregadas na fabricação dos sorvetes.

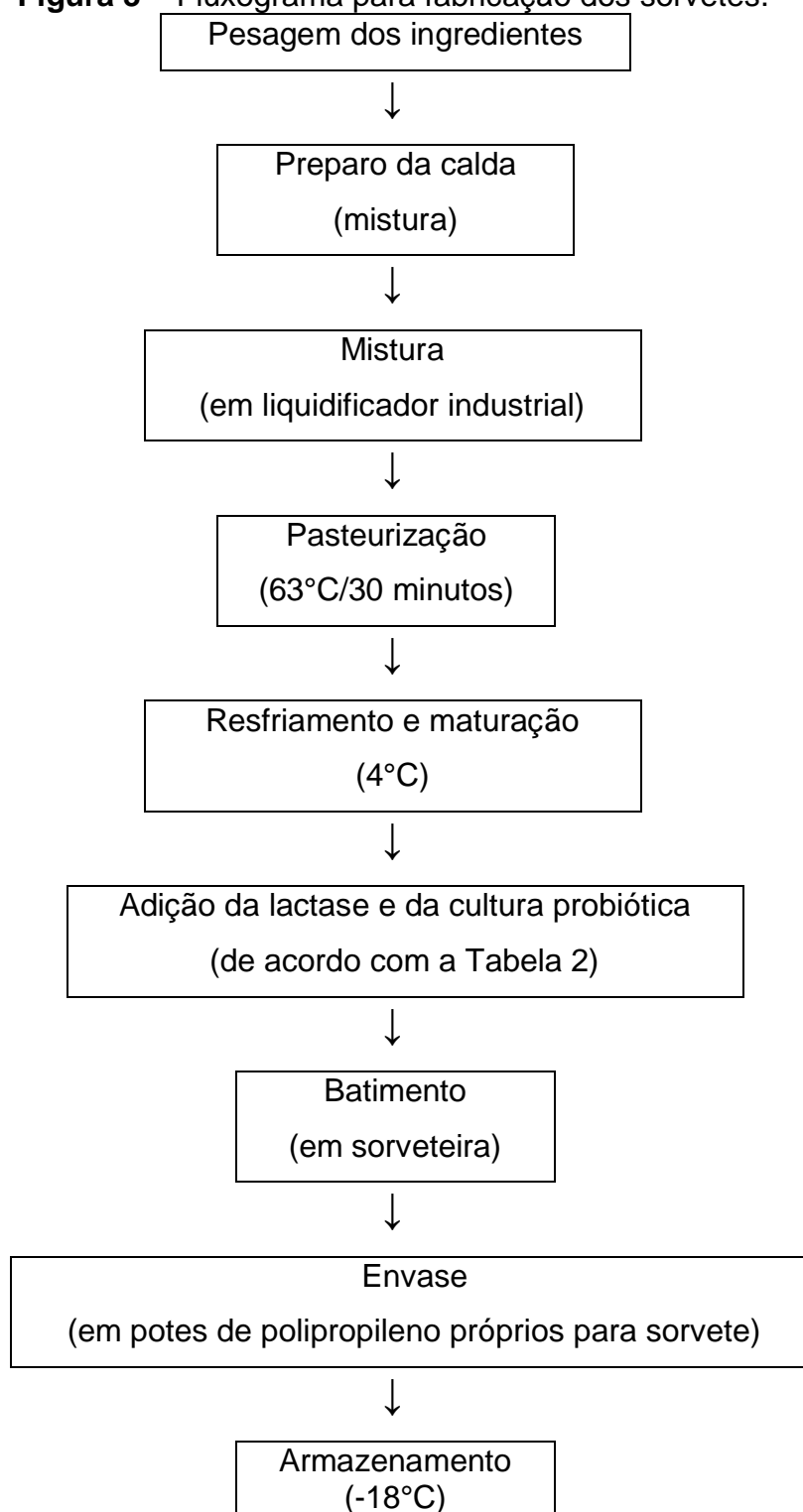
<b>Sorvetes</b>	<b>Cultura probiótica*</b>	<b>Hidrólise da Lactose**</b>
<b>T1***</b>	-	-
<b>T2</b>	+	-
<b>T3</b>	+	+

+ = Presença. – = Ausência.

\* Cultura probiótica: *Lactobacillus acidophilus* (La-5, Christian Hansen, Hoersholm, Dinamarca).

\*\* Enzima Maxilactis (DSM, São Paulo, Brasil).

\*\*\* T1: formulação controle.

**Figura 3** – Fluxograma para fabricação dos sorvetes.

Para o desenvolvimento da formulação com hidrólise, esperou-se a calda obter a temperatura de 37°C e adicionou-se a enzima. O tempo de ação foi de 4 horas de acordo com Campos et al. (2009).

## 5.2 PERÍODO DE ARMAZANAMENTO E AMOSTRAGEM

As formulações desenvolvidas foram armazenadas e congeladas em freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$  por um período de 28 dias para realização das análises. Durante esse período, foram realizadas análises microbiológicas e físico-químicas, semanalmente iniciando-se após o 7º dia de congelamento, visto que no primeiro dia de armazenamento o produto ainda não estava totalmente congelado para as análises.

## 5.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

### 5.3.1 Avaliação das populações de *Lactobacillus acidophilus* La-5

Decorridos os tempos de armazenamento descritos no item 6, porções de 25 gramas de sorvete foram homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1% (diluição  $10^{-1}$ ), utilizando-se um “Bag Mixer” (Interscience, St. Nom, França). Diluições decimais subsequentes foram preparadas, utilizando-se o mesmo diluente. Para a quantificação da cultura probiótica *Lactobacillus acidophilus* La-5, alíquotas de 1 mL de cada diluição das amostras foram transferidas para placas de Petri estéreis. Em seguida, foi adicionado ágar DeMan-Rogosa-Sharpe (MRS), fundido e resfriado a  $45^{\circ}\text{C}$  (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1995). As análises foram realizadas em duplicatas.

## 5.4 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Decorridos os tempos de armazenamento descritos no item 6, foram realizadas as seguintes análises físico-químicas, em triplicata:

- acidez livre titulável (AOAC, 2003).
- pH, em pHmetro, modelo Tec 3MP (Tecnal, Piracicaba, Brasil).

## 5.5 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

As determinações de umidade, proteínas, lipídios e cinzas foram realizadas para todas as formulações de sorvetes produzidas, de acordo com metodologia preconizada pela *Association of Official Agricultural Chemists* (AOAC,

1995). O teor de carboidrato foi calculado por diferença. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

## 5.6 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE GLICOSE

A determinação da concentração de glicose foi realizada para formulação T3 (adição de *Lactobacillus acidophilus* La-5 + hidrólise da lactose), pelo método glicose-oxidase, utilizando-se o kit glicose PP (Gold Analisa Diagnóstica Ltda, Belo Horizonte, Brasil). A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 505 nm. Os resultados foram calculados em mg/dL de glicose e expressos em porcentagem (CAMPOS et al., 2009).

## 5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A comparação dos resultados obtidos após a realização das análises entre os diferentes tratamentos propostos foi realizada através de Análise de Variância (ANOVA). Previamente a realização da análise de variância, foi avaliada a normalidade dos resultados, através do teste de Shapiro-Wilks, adotando-se um valor de  $\alpha$  de 0,05. Da mesma forma, foi analisada a homogeneidade de variâncias entre os diferentes tratamentos, através do teste de Brown-Forsythe, com  $\alpha$  de 0,05. Após a aplicação dos testes citados e a realização da ANOVA, foram utilizados testes para observação dos contrastes entre as médias (quando a análise de variância for significativa) (BOWER, 1998a; BOWER, 1998b; CALLEGARI-JAQUES, 2003).



## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 POPULAÇÕES DE *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*

Os resultados obtidos para as populações de *Lactobacillus acidophilus* La-5 para as formulações T2 e T3 são apresentados na tabela 3. No 14º dia de armazenamento T3 apresentou populações de *Lactobacillus acidophilus* La-5 superiores quando comparadas com T2.

**Tabela 3** – Populações de *Lactobacillus acidophilus* La-5 (média  $\pm$  desvio-padrão) obtidas para os sorvetes T2 (adição de *L. acidophilus* sem hidrólise da lactose) e T3 (adição de *L. acidophilus* e hidrólise da lactose), após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a -18°C.

Tempo (dias)	Populações de <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 (log UFC/g)	
	Sorvetes	
	T2	T3
7	7,36 $\pm$ 0,11 <sup>Aa</sup>	7,61 $\pm$ 0,17 <sup>Aa</sup>
14	7,39 $\pm$ 0,18 <sup>Aa</sup>	8,13 $\pm$ 0,06 <sup>Bb</sup>
21	7,51 $\pm$ 0,44 <sup>Aa</sup>	7,57 $\pm$ 0,13 <sup>Aa</sup>
28	7,71 $\pm$ 0,24 <sup>Aa</sup>	7,67 $\pm$ 0,30 <sup>Aa</sup>

<sup>A,B</sup>: letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes sorvetes estudados para o mesmo período de armazenamento.

<sup>a,b</sup>: letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes períodos de armazenamento para cada sorvete estudado.

Shah (2000), afirmou que a variação da viabilidade probiótica, bem como as diferenças comportamentais dos micro-organismos devem-se a fatores como pH, acidez, presença de outras bactérias e disponibilidade de oxigênio dissolvidos no leite. No entanto, tais fatores não afetaram a viabilidade de La-5 o presente trabalho.

Ambas as formulações apresentaram populações dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira para serem considerados alimentos probióticos, (contagem de micro-organismos probióticos devem estar entre  $10^8$  e  $10^9$  UFC após o produto pronto para o consumo) (ANIVISA, 2008).

Para a formulação T2, as populações de *Lactobacillus acidophilus* La-5, não apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ), ao longo armazenamento.

Para T3 o mesmo comportamento foi observado, no entanto, ao 14º

dia de armazenamento, as populações de La-5 foram significativamente superiores, em comparação a T2 ( $p < 0,05$ ).

Por ocorrerem injúrias nos micro-organismos durante os processos de aeração e congelamento, a população de probióticos podem sofrer danos e por consequência uma redução de micro-organismos de até 1 log UFC/g (CRUZ, et al., 2011). Porém, ao se observar os dados da tabela 3, nota-se que as populações de *Lactobacillus acidophilus* La-5, não apresentaram redução significativa em suas populações durante o período de armazenamento (28 dias).

Resultados positivos com o uso de cepas probióticas já foram relatados por outros autores que fizeram uso de micro-organismos em sorvetes e sobremesas lácteas congeladas durante o período de armazenamento. Favaro-Trindade et al. (2007), desenvolveram sorvete fermentado de cajá, onde foram utilizados *Lactobacillus acidophilus* 74-2, *Lactobacillus acidophilus* Lac 4 e culturas starter. Foi observado que a viabilidade apresentadas pelos probióticos estava acima de 6 log UFC/g durante um período de armazenamento de 105 dias em uma temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Turgut; Cakmaci (2009) investigaram alguns tipos de probióticos na produção de sorvete. Para isso foram utilizados diferentes concentrações de creme (5% e 10%) e diferentes cepas de bactérias probióticas entre elas *Lactobacillus acidophilus* e *Bifdobacterium bifdum*, que permaneceram viáveis, com populações acima de  $10^6$  UFC/g durante 90 dias de armazenamento.

Trabalhos realizados por Favaro-Trindade et al. (2006), Kailasapathy e Sultana (2003), Miguel e Rossi (2003) e Haynes e Playne (2002), também demonstraram a viabilidade do uso de cepas probióticas em sorvetes.

Favaro-Trindade et al. (2006), desenvolveu um sorvetes fermentados de acerola e cajá. Foram realizadas 6 amostras com acerola e 12 com cajá. A autora utilizou cepas de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifdobaterium* e observou viabilidade da utilização dos micro-organismos inoculados no sorvete durante a vida de prateleira.

Miguel Rossi (2003) utilizou um misto de diferentes cultivos: *Enterococcus faecium* + *Lactobacillus jugurti* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* + *Streptococcus thermophilus*. O autor verificou que todos os sorvetes desenvolvidos podem ser considerados como um alimento satisfatório para a inoculação de bactérias convencionais e probióticas.

Kailasapathy e Sultana (2003), avaliaram a atividade de sobrevivência e D-galactosidase de encapsulados e na forma livre de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* em sorvetes desenvolvendo três formulações diferentes, sendo: 1- com cultura probiótica livre, 2- com cultura probiótica encapsulada e 3 com cultura probiótica encapsulada + fermentado pela adição de culturas probióticas encapsulados, em conjunto com o *Streptococcus thermophilus*. Os resultados demonstraram que as formulações com *L. acidophilus* mostraram uma média de 2,52 log na diminuição das células livres após 24 semanas de análises, enquanto as formulações com micro-organismo encapsulado da mesma cepa mostraram decréscimos de 2,06 log e 2,27 log nos gelados não fermentados e fermentados, respectivamente. *B. lactis* mostrou 1,80 log e 2,42 reduções de log no estado livre. No sorvete fermentado, a queda foi de 2,02 log. Foi constatado que o encapsulamento das culturas probióticas não influenciaram significativamente o aumento do período de sobrevivência dos micro-organismos nos sorvetes, porém os sorvetes demonstraram-se bons veículos para inoculação de probióticos.

Haynes e Playne (2002), demonstraram que é possível a sobrevivência de culturas probióticas de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* e *Lactobacillus paracasei* em sorvete com teor reduzido de gordura, do mesmo modo que aquele com teor mais elevado, através da adição direta dessas culturas no produto, obtendo-se valores próximos de  $1,0 \times 10^6$  UFC/g, ao longo de 12 meses de armazenamento a  $-25^{\circ}\text{C}$ , mostrando assim a viabilidade da inoculação de micro-organismos probióticos em gelados comestíveis.

## 6.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Os resultados para as análises físico-químicas (pH e acidez livre titulável) para as formulações T1, T2 e T3, são apresentados na tabela 4.

**Tabela 4** – Parâmetros físico-químicos (média  $\pm$  desvio-padrão) obtidos para os sorvetes T1 (controle, sem adição de *L. acidophilus*), T2 (adição direta de *L. acidophilus* sem hidrólise) e T3 (adição direta de *L. acidophilus* com hidrólise), após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Sorvetes	Tempo de armazenamento (Dias)	pH	Acidez titulável (%)
T1	7	6,68 $\pm$ 0,26 <sup>Aa</sup>	0,14 $\pm$ 0,01 <sup>Aa</sup>
	14	7,06 $\pm$ 0,34 <sup>Ab</sup>	0,13 $\pm$ 0,00 <sup>Aa</sup>
	21	6,94 $\pm$ 0,35 <sup>Aab</sup>	0,14 $\pm$ 0,01 <sup>Aa</sup>
	28	6,67 $\pm$ 0,30 <sup>Aa</sup>	0,14 $\pm$ 0,01 <sup>Aa</sup>
T2	7	6,52 $\pm$ 0,06 <sup>Aa</sup>	0,19 $\pm$ 0,05 <sup>Ba</sup>
	14	6,55 $\pm$ 0,30 <sup>Ba</sup>	0,19 $\pm$ 0,05 <sup>Ba</sup>
	21	6,60 $\pm$ 0,22 <sup>Aa</sup>	0,17 $\pm$ 0,04 <sup>Ba</sup>
	28	6,61 $\pm$ 0,10 <sup>Aa</sup>	0,18 $\pm$ 0,06 <sup>Ba</sup>
T3	7	6,52 $\pm$ 0,28 <sup>Aa</sup>	0,16 $\pm$ 0,01 <sup>Aa</sup>
	14	6,85 $\pm$ 0,11 <sup>Aa</sup>	0,15 $\pm$ 0,01 <sup>Aa</sup>
	21	6,24 $\pm$ 0,13 <sup>Ba</sup>	0,14 $\pm$ 0,01 <sup>Aa</sup>
	28	6,58 $\pm$ 0,06 <sup>Aa</sup>	0,15 $\pm$ 0,00 <sup>Aa</sup>

<sup>A,B</sup>: letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes sorvetes estudados para o mesmo período de armazenamento.

<sup>a,b</sup>: letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes períodos de armazenamento para cada sorvete estudado.

Quando todos os sorvetes foram comparados em um mesmo período de armazenamento, as formulações adicionadas de *L. acidophilus* La-5 apresentaram pH inferiores, quando comparados à formulação controle (T1). Tais resultados estão de acordo com o observado por Alamprese et al. (2002) e Alamprese et al. (2005), em estudos desenvolvidos com sorvetes suplementados com as cepas probióticas *Lactobacillus johnsonii* La1 e *Lactobacillus rhamnosus* GG, respectivamente. Diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) foram detectadas para este parâmetro apenas entre T1 e T2 ao 14<sup>o</sup> dia de armazenamento, bem como entre T1 e T3 ao 21<sup>o</sup> dia de armazenamento.

Com relação aos valores de acidez livre titulável, todas as formulações não apresentaram variações estatisticamente significativas ao longo do

período de armazenamento (28 dias) ( $p > 0,05$ ). A acidez livre titulável observada para a formulação contendo o microrganismo probiótico (T2) foi estatisticamente superior ( $p < 0,05$ ) aos valores observados para a formulação controle (T1)

### 6.3 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

Os resultados obtidos para a análise centesimal para as formulações T1, T2 e T3, são apresentados na tabela 5.

**Tabela 5** – Composição centesimal e umidade (média\*  $\pm$  desvio - padrão) obtidos para os sorvetes T1 (controle – sem adição de *L. acidophilus*), T2 (adição de *L. acidophilus* sem hidrólise da lactose) e T3 (adição de *L. acidophilus* e hidrólise da lactose) no produto final (matéria úmida) - após um dia de armazenamento a  $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Sorvetes	Umidade	Gordura	Proteína	Cinzas	Carboidratos
T1	74,50 $\pm$ 0,39 <sup>A</sup>	7,36 $\pm$ 0,10 <sup>A</sup>	3,57 $\pm$ 0,08 <sup>A</sup>	0,82 $\pm$ 0,02 <sup>A</sup>	13,75 $\pm$ 0,54 <sup>A</sup>
T2	76,28 $\pm$ 0,41 <sup>A</sup>	7,23 $\pm$ 0,26 <sup>A</sup>	3,68 $\pm$ 0,50 <sup>A</sup>	0,83 $\pm$ 0,00 <sup>A</sup>	11,99 $\pm$ 0,85 <sup>A</sup>
T3	78,64 $\pm$ 0,47 <sup>A</sup>	8,20 $\pm$ 0,92 <sup>A</sup>	3,71 $\pm$ 0,03 <sup>A</sup>	0,83 $\pm$ 0,00 <sup>A</sup>	8,62 $\pm$ 1,17 <sup>B</sup>

\* Valores em porcentagem.

<sup>A,B</sup>: letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes sorvetes estudados.

Para os parâmetros umidade, gordura, proteína e cinzas, não foram observadas diferenças significativas entre T1, T2 e T3 ( $p > 0,05$ ), no entanto, para carboidrato, T3 apresentou uma diferença significativa quando comparado com T1 e T2, havendo uma redução em T3 ( $p < 0,05$ ).

A umidade nas três formulações variou entre 74,50% em T1 e 78,64% em T3, não apresentando diferenças significantes. Proteína variou entre 3,57 em T1 e 3,71 em T3 sem diferenças significativas. Cinzas a variação ocorreu entre 0,82 e 0,83. Entre T2 e T3 o teor de cinzas foi exatamente o mesmo (0,83). Para as 3 formulações, não houve diferenças significativas para cinzas. Carboidratos variou entre 13,75 em T1 e 8,62 em T3, havendo uma diferença significativa somente em T3 quando comparado com T1 e T2.

## 7 CONCLUSÃO

A cepa probiótica de *Lactobacillus acidophilus* La-5 apresentou boa adaptação a matriz do sorvete visto que, as populações se mantiveram acima do exigido pela legislação brasileira durante o processo de produção, finalização e armazenamento do produto pronto para o consumo.

Não houve diferença significativa entre as populações analisadas em T2 e T3, exceto no 14º de T3.

A hidrólise da lactose ocorreu 66% e influenciou estatisticamente a multiplicação do micro-organismo *Lactobacillus acidophilus* La-5 somente no 14º dia em T3.

As características físico-químicas das formulações quando comparadas com a controle, sofreram alterações no pH no 14º dia em T2 e no 21º dia em T3. Acidez titulável sofreu alteração em todos os dias de análises em T2.

O sorvete hidrolisado é uma boa alternativa na alimentação de pessoas que possuam intolerância secundária, porém não deve ser consumido por pessoas que possuam um alto grau de deficiência da lactose, como a deficiência congênita e primária, visto que ainda restam 44% da lactose sem hidrólise.

## REFERÊNCIAS

ABIS, Associação Brasileira de Indústrias de Sorvetes -. **Estatística**. Disponível em: <<http://www.abis.com.br/estat.asp>>. Acesso em: 17 set. 2013.

ABIS. Associação Brasileira da Indústria de Sorvete. **Aumento na produção e no consumo per capita**. Disponível em: <[http://www.abis.com.br/noticias\\_2010\\_3.html](http://www.abis.com.br/noticias_2010_3.html)>. Acesso em 20 fev. 2012.

ABIS. Associação Brasileira da Indústria de Sorvete. **Brasil deve produzir mais de 1 bilhão de litros de sorvete em 2010**. Disponível em: <[http://www.abis.com.br/noticias\\_2010\\_3.html](http://www.abis.com.br/noticias_2010_3.html)>. Acesso em: 20 fev. 2012.

ABIS. Associação Brasileira da Indústria de Sorvete. **Consumo de sorvete no Brasil**. Disponível em: [http://www.abis.com.br/noticias\\_2012\\_2.html](http://www.abis.com.br/noticias_2012_2.html). Acesso em 29 set. 2012.

ABIS. Associação Brasileira da Indústria de Sorvete. **Para não perder a vez, sorveterias inovam durante o inverno**. Disponível em: <[http://www.abis.com.br/noticias\\_2007\\_4.html](http://www.abis.com.br/noticias_2007_4.html)>. Acesso em 12 ago. 2012.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Alimentos**. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144>>. Acesso em 17 set. 2012.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Comissões de assessoramento tecnocientífico em alimentos funcionais e novos alimentos**. Aprova alimentos com alegações de propriedades funcionais ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. Lista das alegações aprovadas de 11 de janeiro de 2005. Atualizada em julho de 2008. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissões/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissões/tecno_lista_alega.htm)>. Acesso em: 01 nov. 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Portaria nº 379, de 26 de abril de 1999. **Aprova o regulamento técnico referente a gelados comestíveis, preparados, pós para o preparo e bases para gelados comestíveis**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias>>. Acesso em: 01 abr. 2012.

AKIN, M.S. Effects of inulin and different sugar levels on viability of probiotic bacteria and the physical and sensorial characteristics of probiotic fermented ice cream. **Harran University Agricultural**, v.60, p.297-301, 2005.

ALKOSA. **Mercado de sorvetes**. 2011. Disponível em: <<http://www.alkosa.com.br/curiosidade/index.php?noticia=65&titulo=22/02/2011%20-%20Mercado%20de%20Sorvetes>>. Acesso em: 16 jan. 2012.

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

ANTUNES, A. E. C. Probióticos: agentes promotores de saúde. **Nutrire: Revista Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v.32, n.3, p.13-132, dez. 2007.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 15 ed. Washington, 1995. 109 p.

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.

BARBOSA, F.H.F.; SILVA, A.M.; DUARTE, R.; NICOLI, J.R. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de *Bifidobacterium bifidum* Bb12 e *Bifidobacterium longum* Bb46. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.1, n.2, p.1-11, 2001.

BERGAMINI, C.V; HYNES, E.R; QUIBERONI, A.; SUÁREZ, V.B.; ZALAZAR, C.A. Probiotic bacteria as adjunct starters: influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. **Food Research International**, v.38, p.597-604, 2005.

BERNE, R.M. **Fisiologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 636 p.

BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. **Food Research International**, v.35, n.2/3, p.125-131, 2002.

BLANCHETTE, L. Production of cottage cheese using dressing fermented by bifidobacteria. **Journal of Dairy Science**, v.79, n.1, p.8-15, 1996.

BOWER, J.A. Statistics for food science – V part C: non-parametric ANOVA. **Nutrition and Food Science**, v.28, n.2, p.102-108, 1998b.

BOWER, J.A. Statistics for food science – V: ANOVA and multiple comparisons (part B). **Nutrition and Food Science**, v.28, n.1, p.41-48, 1998a.

BRASIL. Resolução no 18, de 30 de abril de 1999. Regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 3 mai. 1999. Seção 1, p.11. 1999.

ÇAGLAR E.; KAVALOGLU, S.C.; KUSCU, O.O.; SANDALLI, N.; HOLGERSON, P.L., TWETMAN, S. Effect of chewing gums containing xylitol or probiotic bacteria on salivary mutans streptococci and lactobacilli. **Clinical Oral Investigations**, v.11, p.425-429, 2007.

CALLEGARI-JACQUES, S.M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. São Paulo: Artmed, 2003. 256p.

CAMPOS, T.C.A; ALMEIDA, W.K.; ALEGRO, L.C.A.; ROIG, S.M.; SUGUIMOTO, H.H. Utilização da  $\beta$ -galactosidase na hidrólise da lactose do leite em baixa temperatura. **UNOPAR Científica**, v.11, p.51-54, 2009.

CANANI, R.B.; CIRILLO, P.; TERR, I.G.; CESARANO, L.; SPAGNUOLO, M.I.; VINCENZ, O.A.; ALBANO, F.; PASSARIELLO, A.; MARCO, G.; MANGUSO, F.;



GUARINO, A. Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: randomised clinical trial of five different preparations. **British Medical Journal**, v.335, n.7614, p.340, 2007

CHARTERIS, W.P.; KELLY, P.M.; MORELLI, L.; COLLINS, J.K. Ingredient selection criteria for probiotic microorganisms in functional dairy foods. **International Journal of Dairy Technology**, v.51, n.4, p.123-136, 1998.

COSTA, O. P.; LUSTOZA, D C. Aspectos tecnológicos envolvidos na fabricação de sorvetes. **Revista Sorveteria Brasileira**, v.123, p.47-60, 1998.

CRUZ, A.G.; ANTUNES, A.E.C.; HARAMI, J.B.; SOUZA, A.L.O.P.; FARIA, J.A.F.; SAAD,S.M.I. **Probióticos e prebióticos em alimentos**: fundamentos e aplicações tecnológicas. São Paulo. p.359-388, 2011.

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

DEBOER, R.; ROBERTSEN, T.A. Purified, hydrolysed lactose syrup made from ultrafiltration permeate. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, v.35, n.2, p.95-111, 1981.

DING, W.K.; SHAH, N.P. Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. **International Food Research Journal**, v.15,, p.219-232, 2008.

FAVARO – TRINDADE, C.S.; BERNARDI, S.; BODINI, R.B.; BALIEIRO, J.C.C.; ALMEIDA, E. Sensory acceptability and stability of probiotic microorganisms and vitamin C in fermented acerola (*Malpighia emarginata* DC.) ice cream. **Journal of Food Science**, v.71, n.6, p.S492-S495, 2006

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

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, cap.1, p.1-7, 1997.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Córdoba, 2001. 34p. Disponível em: <[ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport\\_en.pdf](ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf)>. Acesso em: 03 fev. 2005. [Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation].

GARCIA, G.R.; SCHOCKEN-INTURRINO, R.P.; POIAT, M.L.; RAGAZANI, A.V.F.; HATAYDE, M.C; CHIODA, T.P.; COAN, R.M.; PIGATTO, C.P.; TROVO, C.V.P. Inibição do crescimento de bactérias patogênicas por *Lactobacillus acidophilus*. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, n.101, p.263-268, 2006.

GARDINER, G. Development of a probiotic cheddar cheese containing human-derived *Lactobacillus paracasei* strains. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v.64, p.2192-2199, 1998.

GASPARIN, F.S.R.; TELES, J.M.; ARAÚJO, S.C. Alergia à proteína do leite de vaca versus intolerância à lactose: as diferenças e semelhanças. **Revista Saúde e Pesquisa**, v.3, n.1, p.107-114, 2010.

GIST-BROCADES. Dairy Ingredients Group. Maxilact: the dairy yeast lactase. In: Biotechnology contributing to food, health and the environment. The Netherlands: Gist-Brocades BSD B.V., p.12, 2004.

GOFF, H. D. Ice cream undercontrol. **Dairy Industries International**, v.66, n.1, p.26-30, 2001.

GOMES, A.M.P.; MALCATA, X. F. Agentes probióticos em alimentos, aspectos fisiológicos e terapêuticos e aplicação tecnológica. **Boletim de Biotecnologia, Lisboa**, n.64, p.12-22, 1999.

GOMES, A.M.P; MALCATA, F.X. Development of probiotic cheese manufactured from goat milk response surface analysis via technological manipulation. **Journal Dairy Science**, v.81, n.6, p.1492-1507, 1998.

GOMES, D.E.. Detecção de micro-organismos em sorvetes fabricados e comercializados no município de Muriaé-Mg e região. **Revista Científica FAMINAS Muriaé**, v.2, n.1, p.35, jan/abr, 2006.

GONZÁLEZ, F.A. Intolerancia a la lactosa y otros disacáridos. **Gastroenterologia Latinoamericana**, v.18, n.2, p.152-156, 2007.

HAYNES, I.N.; PLAYNE, M.J. Survival of probiotic cultures in low-fat ice-cream. **The Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v. 57, n. 1, p. 10-14, 2002.

HOLZAPFEL, W.H; SCHILLINGER, U. Introduction to pre- and probiotics. **Food Research International**, v.35, n.2/3, p.109-116, 2002.

HOMAYOUNI, A. Growth and survival of some probiotic strains in simulated ice cream conditions. **Journal Applied Sciences**, v. 8, n. 2, p. 379-382, 2008.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Fermented and non-fermented milk products**. Detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus*. Culture media. Bulletin of the IDF 306. Brussels: IDF, p.23-33, 1995.

INTERNATIONAL DAIRY FOOD ASSOCIATION - IDFA. **History of Ice Cream**. Disponível em: <<http://www.idfa.org/facts/icecream/history.htm>> Acesso em: 02 abr.2002.

ISOLAURI, E. **Probiotics for infectious diarrhoea**. Gut, London, v.52, n.3, p.436-437, 2003.

JUNTUNEN, M.; KIRJAVAINEN, P.; OUWEHAND, A.C.; SALMINEN, S.; ISOLAURI, E. Adherence of probiotic bacteria to human intestinal mucus in healthy infants and

during rotavirus infection. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.8, n.2, p.293-296, 2001.

KAILASAPATHY, K.; SULTANA, K. Survival and D-galactosidase activity of encapsulated and free *L. acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in ice cream. **The Australian Journal of Dairy Technology**, Highett, v. 58, n. 3, p. 223-227, 2003.

KATO, N. M. **Propriedades tecnológicas de formulações de sorvete contendo concentrado protéico de soro (CPS)**. 2002. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2002.

KILARA, A. **Ingredients. Sugar, corn sweeteners and other sweetening agents**. The Penn State Ice Cream Short Course, cap.2, p.35-43, 1997.

KLEIN, M.P.; JONG, E.V.; RÉVILLION, J.P.P. Utilização da  $\beta$ -galactosidase para prevenção da cristalização em doce de leite. **Ciências Agrotecnicas**, v.34, n.6, p.1530-1535, 2010.

KOMATSU, T.R.; BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n.3, p.330-339, 2008.

LEANDRO, E. Sobrevivência de *Lactobacillus delbrueckii* UVF H2b20 em sorvete. **Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v.64, p.300-303, 2006.

LONGO, G. **Influência da adição de lactase na produção de iogurtes**. 2006. 89f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

MADRID, V.A.; CENZANO, I.; V.J.M. **Manual de indústrias dos alimentos**, 599p, 1995.

MAHONEY, R.R. Lactose: enzymatic modification. **Advanced Dairy Chemistry**. Londres, ed. P.F. Fox, v.3, p.77-125, 1997.

MALANDRIN, R.; PAISANO, M.; COSTA, O. Sorvetes: um mercado sempre pronto para crescer com inovações. **Food Ingredients**, n.15, p.42-48, nov./dez. 2001.

MANNING, T.S.; GIBSON, G.R. Prebiotics. Best Practice. **Research Clinical Gastroenterology**, v.18, p.287-298, 2004.

MICHIDA, H.; TAMALAMPUDI, S.; PANDIELLA, S.S., WEBB, C.; FUKUDA, H.; KONDO, A. Effect of cereal extracts and cereal fiber on viability of *Lactobacillus plantarum* under gastrointestinal tract conditions. **Biochemical Engineering Journal**, v.28, p.73-78, 2006.

MIGUEL, D.P.; ROSSI, E.A. Viabilidade de bactérias ácido lácticas em sorvetes de iogurte durante o período de estocagem. **Alimentos e Nutrição, Araraquara**, v.14, n.1, p.93-96, 2003.

MONDINI L, MONTEIRO CA. Mudanças no padrão de alimentação da população

urbana brasileira. **Saúde Pública**, dez.1994, v.28, nº.6, p.433-439.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.3, n.2, p.109-122, 2006.

MOSQUIM, A.C.M. **Fabricando sorvetes com qualidade**. São Paulo: Metha, 1999. 140p.

NOGUEIRA, J.C.R; GONÇALVES, M.C.R. Probiotics in allergic rhinitis. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v.77, n.1, p.129-134, jan./fev. 2011.

NOVIK, G.I.; SAMARTSEV, A.A.; ASTAPOVICH, N.I.; KAVRUS, M.A.; MIKHALYUK, A.N. Biological activity of probiotic microorganisms. **Applied Biochemistry of Microbiology**, v.42, p.166-172, 2006.

OLIVEIRA, K.H; SOUZA, J.A.R; MONTEIRO, A.R. Caracterização reológica de sorvetes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, p.592-598, 2008.

ORDOÑEZ, J.A. **Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Artmed, 2005. 279p.

PANT, N.; MARCOTTE, H.; BRÜSSOW, H.; SVENSSON, L.; HAMMARSTRÖM, L. Effective prophylaxis against rotavirus diarrhea using a combination of *Lactobacillus rhamnosus* GG and antibodies. **Microbiology**, v.7, n.86, p.1-9, 2007.

PARDO,P.E; REIS, L.S.L.S. Nutrientes e nutracêuticos em grandes animais. **Manual de terapêutica veterinária**, 3d. São Paulo, 2008.p.808-814.

PEREIRA, M.C.S.; BRUMANO, L.P., KAMIYAMA, C.M.; PERERIA, J.P.F, RODARTE, M.P, PINTO, M.A.O. Lácteos com baixo teor de lactose: uma necessidade para portadores de má digestão da lactose e um nicho de mercado. **Revista do Instituto. De Laticínios Cândido Tostes**, nov/dez, n.389, p.57-65, 2012;

PRAY, W.S. Lactose intolerance: the norm among the world's peoples. **American Journal of Pharmaceutical Education**, v.64, p.205-206, 2000.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**, v.34, n.2, p.105-10, 2002.

ROKKA, S.; RANTAMAKI, P. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. **European Food Research and technology**, v.231, p.1-12, 2010.

ROLFE, R.D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. **Journal of Nutrition**, v.130, n.2, p.396-402, 2000

ROSSI, E.A.; MIGUEL, D.P. Viability of lactic acid bacteria in frozen yogurt during the period of storage. **Alimento e Nutrição**, v.14, n.1, p. 93-96, 2003.

ROY, D. Technological aspects related to the use of bifidobacteria in dairy products. **Institute of nutraceuticals and functional foods and center STELA**, v.85, p.39-

56, 2005

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, n.1, p.1-12, 2006.

SALMINEN, S.; VON, W.A. Lactic acid bacteria. New York: **Marcel Dekker**, 1993.442 p.

SANDERS, M.E. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v.8, p.341-347, 1998.

SANDERS, M.E. Probiotics: considerations for human health. **Nutrition Reviews**, v.61, n.3, p.91-93, 2003.

SANTIAGO, P.A.; MARQUEZ, L.D.S.; CARDOSO, V.L.; RIBEIRO, E.J. Estudo da produção de beta-galactosidase por fermentação de soro de queijo com *Kluyveromyces marxianus*. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.4, p.567-572, 2004.

SGORBATI, B.; BIAVATI, B.; PALENZONA, D. The genus Bifidobacterium. **The lactic Acid Bacteria**. v.2, cap.8, p.279-306, 1995.

SHAH, N.P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v.17, p.1262-1277, 2007

SHAH, N.P. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.83, n.4, p. 894-907, 2000.

SHAH, N.P.; RAVULA, R.R. Microencapsulation of probiotic bacteria and their survival in frozen fermented dairy desserts. **Australian Journal Dairy Technology**, v.55, p.139-144, 2000.

SILBERNAGEL, K.M.; JECHOREK, R.P.; CARVER, C.N. 3M™ Petrifilm™ Staph Express count plate method for the enumeration of *Staphylococcus aureus* in selected dairy foods: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.86, n.5, p.963-970, 2003.

SILVESTRINI, A. **Sorvetes, alta de 54% em 5 anos**. Supermercado moderno. 2011. Disponível em: <http://www.sm.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=8&inford=15818>. Acesso em: 12 jan. 2012.

SOUZA, J.C.B.; COSTA, M.R.; RENSIS, C.M.V.B.; SIVIERI, K. Sorvete: composição, processamento e viabilidade da adição de probiótico. **Revista de Alimentos e Nutrição**, v.21, n.1, p.155-165, 2011a.

SOUZA, J.C.B.; GUERGOLETTI, K.B.; GARCIA, S.; SIVIERI, K. Viabilidade da adição de *Lactobacillus casei* (LC-1) protegido com trealose e goma acácia em sorvetes. **Revista de Alimentos e Nutrição**, v.22, n.2, p.231-237, 2011b.

TRABULSI, L.R.; ALTERHUM, F. **Microbiologia**. São Paulo, Atheneu, 2004. 718p.

TURGUT, T.; ÇAKMAKCI, S. Investigation of the use of probiotics in ice cream manufacture. **Internacional Journal Of Dairy Technology**, v.62, n.3, p.444-451, 2009.

VARNAM, A.H; SUTHERLAND, J.P. **Leche y productos lácteos: tecnología, química e microbiología**. Zaragoza: Acribia; 1994.476p.

VOET, D. **Fundamentos de bioquímica: a vida em nível molecular**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 215 p.

VOGEL, F. **Genética Humana: problemas e abordagens**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 508- 511 p.

WEAVER ,C.M.; HEANEY R.P. **Food Sources, Supplements, and Bioavailability. Calcium in Human Health**, Totowa, Human Press. Weaver CM, Heaney RP, editors, 2006. p.129-142.

ZADOW, J.G. Economic considerations related to the production of lactose and lactose byproducts. **IDF Bulletin**, Londres, v.289, n.10, p.10-15,1993.